

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成31年3月28日 (2019.3.28)

【公表番号】特表2018-516545(P2018-516545A)

【公表日】平成30年6月28日 (2018.6.28)

【年通号数】公開・登録公報2018-024

【出願番号】特願2017-554886(P2017-554886)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 15/00 G

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/28

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月15日 (2019.2.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞において、アラニン - グリオキシレートアミノトランスフェラーゼ (A G X T)、シトクロム P 4 5 0 3 A 4 (C Y P 3 A 4)、オルニチントランスカルバミラーゼ (O T C)、または肝細胞核因子 4 - アルファ (H N F 4 a) から選択される遺伝子の発現をアップレギュレートするための医薬組成物であって、C / E B P 遺伝子の発現をアップレギュレートする単離された合成 s a R N A を含み、前記 s a R N A が配列番号 77 の領域に対して少なくとも 80 % 相補的であり、前記 s a R N A が 14 ~ 30 ヌクレオチドを

有する、医薬組成物。

【請求項 2】

前記細胞が過増殖細胞である、請求項 1 に記載の 医薬組成物。

【請求項 3】

前記細胞が癌細胞である、請求項 2 に記載の 医薬組成物。

【請求項 4】

前記細胞が肝細胞癌（HCC）細胞である、請求項 3 に記載の 医薬組成物。

【請求項 5】

前記細胞が過増殖細胞でない、請求項 1 に記載の 医薬組成物。

【請求項 6】

前記細胞が一次ヒト肝細胞である、請求項 5 に記載の 医薬組成物。

【請求項 7】

治療を必要とする対象の肝線維症、肝不全、または非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の治療用の医薬組成物であって、C/EBP 遺伝子の発現をアップレギュレートする単離された合成 s a R N A を含み、前記 s a R N A が配列番号 77 の領域に対して少なくとも 80 % 相補的であり、前記 s a R N A が 14 ~ 30 ヌクレオチドを有する、医薬組成物。

【請求項 8】

前記肝不全が急性肝不全である、請求項 7 に記載の 医薬組成物。

【請求項 9】

前記対象の総ビリルビン（T B I L）レベル、循環アラニンアミノトランスフェラーゼ（A L T）レベル、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（A S T）レベル、アルカリホスファターゼ（A L P）レベル、ガンマ - グルタミル - トランスペプチダーゼ（G G T）レベル、肝ヒドロキシプロリンレベル、プロトロンビン時間、アンモニア、または肝トリグリセリド（肝 T G）レベルが減少される、請求項 7 に記載の 医薬組成物。

【請求項 10】

前記対象の血清中アルブミンレベル、総タンパク質レベルが増加される、請求項 7 に記載の 医薬組成物。

【請求項 11】

前記対象の線維組織または偽小葉の形成が低減される、請求項 7 に記載の 医薬組成物。

【請求項 12】

治療を必要とする対象の I I 型糖尿病またはインスリン抵抗性の治療用の医薬組成物であって、C/EBP 遺伝子の発現をアップレギュレートする単離された合成 s a R N A を含み、前記 s a R N A が配列番号 77 の領域に対して少なくとも 80 % 相補的であり、前記 s a R N A が 14 ~ 30 ヌクレオチドを有する、医薬組成物。

【請求項 13】

前記対象の肝コレステロールレベル、血清中 A S T レベル、空腹時グルコースレベル、トリグリセリド対 H D L - c 比、または肝臓対生体比が減少される、請求項 1 2 に記載の 医薬組成物。

【請求項 14】

前記対象のインスリンレベルが増加される、請求項 1 2 に記載の 医薬組成物。

【請求項 15】

リボソーム内にカプセル化された単離された合成 s a R N A を含む 医薬組成物であって、前記 s a R N A が C/EBP 遺伝子の発現をアップレギュレートし、前記 s a R N A が配列番号 77 の領域に対して少なくとも 80 % 相補的であり、前記 s a R N A が 14 ~ 30 ヌクレオチドを有する、医薬組成物。

【請求項 16】

前記リボソームが、1 - パルミトイル - 2 - オレオイル - s n - グルセロ - 3 - ホスホコリン（P O P C）、1, 2 - ジオレオイル - s n - グルセロ - 3 - ホスホエタノールアミン（D O P E）、コレステリル - ヘミスクシネート（C H E M S）、および 4 - （2 -

アミノエチル) - モルホリノ - コレステロールヘミスクシネート (MOCHOL) を含む、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

POPC : DOPE : CHEMS : MOCHOL のモル比が 6 : 24 : 23 : 47 である、請求項 16 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記リポソームのサイズが 50 nm ~ 150 nm である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記リポソームの前記サイズが 100 nm ~ 120 nm である、請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記 s a R N A が二本鎖であり、かつアンチセンス鎖とセンス鎖とを含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

前記 s a R N A の前記アンチセンス鎖および / または前記センス鎖が 3' オーバーハングを含む、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

前記 s a R N A が修飾されている、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記 s a R N A が少なくとも 2 つの修飾を含む、請求項 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

前記修飾が 2' - F、2' - OMe、反転デオキシリボース、またはヌクレオチド間のホスホロチオエート結合のいずれかを含みうる、請求項 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

前記修飾が前記センス鎖にある、請求項 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記修飾が前記センス鎖および前記アンチセンス鎖の両方にある、請求項 22 に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記 s a R N A の前記アンチセンス鎖が、配列番号 109 (CEBPA51)、93 (AW51)、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、35、37、39、41、43、45、47、および 49 から選択される配列を含む、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記 s a R N A の前記センス鎖が、配列番号 110 (CEBPA51)、94 (AW51)、1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、34、36、38、40、42、44、46、および 48 から選択される配列を含む、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記 s a R N A が配列番号 109 のアンチセンス鎖と配列番号 110 のセンス鎖とを有する、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

前記 s a R N A が 2 mg / mL ~ 5 mg / mL の濃度を有する、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 31】

前記 s a R N A が 2 . 5 mg / mL の濃度を有する、請求項 30 に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

7 . 2 ~ 7 . 8 の pH を有する、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

7 . 5 の p H を有する、請求項 3 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

リン酸緩衝液を有する、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 5】

前記リン酸緩衝液がリン酸水素二ナトリウム二水和物およびリン酸二水素カリウムを含む、請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 6】

凍結保護剤を含む、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

前記凍結保護剤がスクロースである、請求項 3 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

イオン強度調整剤を含む、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 9】

前記イオン強度調整剤が塩化カリウムである、請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 0】

対象の癌の治療用の医薬組成物である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 1】

前記対象が肝細胞癌（H C C）を有する、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 2】

前記 H C C が進行 H C C である、請求項 4 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 3】

前記対象が二次肝腫瘍を有する、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 4】

前記医薬組成物の用量が 2 0 ~ 1 6 0 m g / m 2 である、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 5】

前記医薬組成物が 3 週間にわたり週 1 回、1 日目、8 日目、および 1 5 日目に静脈内注入により投与される、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 6】

単離された合成 s a R N A をリボソーム内にカプセル化する方法であって、
前記 s a R N A を第 1 の緩衝液に溶解させて s a R N A 溶液を形成する工程と、
前記 s a R N A 溶液を 0 . 2 μ m フィルターに通して濾過する工程と、
前記濾過された s a R N A 溶液と脂質溶液とを注入モジュール内で混合してリボソーム配合物を形成する工程と、

前記リボソーム配合物に第 2 の緩衝液を添加する工程と
を含み、

前記 s a R N A が C / E B P 遺伝子の発現をアップレギュレートし、前記 s a R N A が配列番号 7 7 の領域に対して少なくとも 8 0 % 相補的であり、前記 s a R N A が 1 4 ~ 3 0 ヌクレオチドを有する、方法。

【請求項 4 7】

前記第 1 の緩衝液が酢酸 N a / スクロースである、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記 s a R N A 溶液の p H が 4 . 0 である、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記 s a R N A 溶液中の前記 s a R N A の濃度が 2 . 3 8 m g / m L である、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記脂質溶液が、1 - パルミトイル - 2 - オレオイル - s n - グルセロ - 3 - ホスホコリン（P O P C）、1 , 2 - ジオレオイル - s n - グルセロ - 3 - ホスホエタノールアミン（D O P E）、コレステリル - ヘミスクシネート（C H E M S）、および 4 - （2 - ア

ミノエチル) - モルホリノ - コレステロールヘミスクシネート (MOCHOL) を含む、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 5 1】

POPC : DOPE : CHEMS : MOCHOL のモル比が 6 : 2 4 : 2 3 : 4 7 である、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記第 2 の緩衝液が 9 の pH を有する、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記第 2 の緩衝液が NaCl / Na₂HPO₄ である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記 s a R N A が二本鎖であり、かつアンチセンス鎖とセンス鎖とを含む、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 s a R N A の前記アンチセンス鎖が、配列番号 1 0 9 (C E B P A 5 1)、9 3 (A W 5 1)、2、4、6、8、1 0、1 2、1 4、1 6、1 8、2 0、2 2、2 4、2 6、2 8、3 5、3 7、3 9、4 1、4 3、4 5、4 7、および 4 9 から選択される配列を含む、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 s a R N A の前記センス鎖が、配列番号 1 1 0 (C E B P A 5 1)、9 4 (A W 5 1)、1、3、5、7、9、1 1、1 3、1 5、1 7、1 9、2 1、2 3、2 5、2 7、3 4、3 6、3 8、4 0、4 2、4 4、4 6、および 4 8 から選択される配列を含む、請求項 5 4 に記載の方法。