

【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P450 3A4(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saRNAを含み、前記saRNA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saRNA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（TBIL）レベル、循環アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）レベル、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）レベル、アルカリホスファターゼ（ALP）レベル、ガンマ-グルタミル-トランスペプチダーゼ（GGT）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TG）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II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saRNAを含み、前記saRNA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saRNA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ASTレベル、空腹時グルコースレベル、トリグリセリド対HDL-c比、または肝臓対生体比が減少される、請求項12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12に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

リポソーム内にカプセル化された単離された合成saRNAを含む医薬組成物であって、前記saRNAがC/EBP遺伝子の発現をアップレギュレートし、前記saRNA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saRNAが14~30ヌクレオチドを有する、医薬組成物。

【請求項 16】

前記リポソームが、1-パルミトイール-2-オレオイル-sn-グルセロ-3-ホスホコリン（POPC）、1,2-ジオレオイル-sn-グルセロ-3-ホスホエタノールアミン（DOPC）、コレステリル-ヘミスクシネート（CHEMS）、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ット (MOCHOL) を含む、請求項15に記載の医薬組成物。

【請求項17】

POPC : DOPPE : 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50nm ~ 150nm 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100nm ~ 120nm である、請求項18に記載の医薬組成物。

【請求項20】

前記saRNA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saRNA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saRNA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saRNA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saRNA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saRNA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saRNA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saRNAが2mg / mL ~ 5mg / 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saRNAが2.5mg / 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 pH 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 (HCC) 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HCCが進行HCC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 mg / m² 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15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saRNAをリポソーム内にカプセル化する方法であって、

前記saRNAを第1の緩衝液に溶解させてsaRNA溶液を形成する工程と、

前記saRNA溶液を0.2 μmフィルターに通して濾過する工程と、

前記濾過されたsaRNA溶液と脂質溶液とを注入モジュール内で混合してリポソーム配合物を形成する工程と、

前記リポソーム配合物に第2の緩衝液を添加する工程と
を含み、

前記saRNAがC/EBP遺伝子の発現をアップレギュレートし、前記saRNA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saRNAが14~30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Na/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saRNA溶液のpHが4.0である、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記saRNA溶液中の前記saRNAの濃度が2.38mg / mL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-パルミトイール-2-オレオイル-sn-グルセロ-3-ホスホコリン(POPC)、1,2-ジオレオイル-sn-グルセロ-3-ホスホエタノールアミン(DOPE)、コレステリル-ヘミスクシネート(ChEMS)、および4-(2-ア

ミノエチル) - モルホリノ - コlest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】

P O P C : D O P E : C H E M S : M O C H O L 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saRNA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saRNA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5_4 に記載の方法。

【請求項 5_6】

前記saRNA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5_4 に記載の方法。