(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2023年1月12日(12.01.2023)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2023/282345 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 31/70 (2006.01) *A61K 47/26* (2006.01)
A61K 31/7016 (2006.01) *A61P 13/12* (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) *A61P 39/02* (2006.01)
A61K 31/712 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
A61K 31/7125 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/027104

(22) 国際出願日： 2022年7月8日(08.07.2022)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2021-113563 2021年7月8日(08.07.2021) JP

(71) 出願人: 日本新薬株式会社(**NIPPON SHINYAKU CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒6018550 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町１４番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 堀内 貴至 (**HORIUCHI Takashi**); 〒6018550 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町１４番地 日本新薬株式会社内 Kyoto (JP).

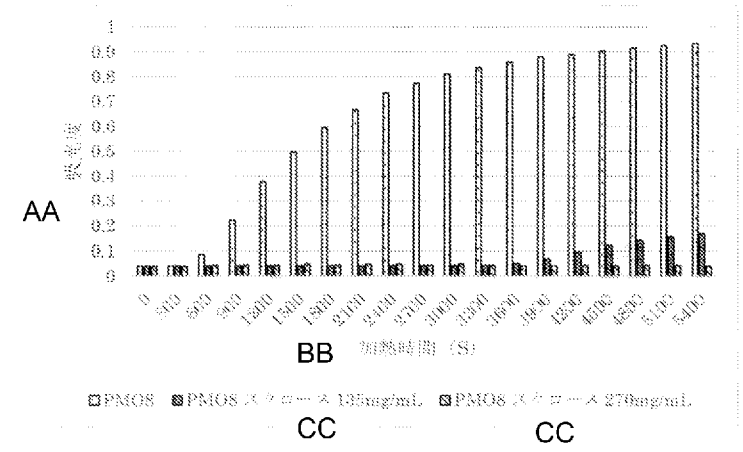
(74) 代理人: 小林 浩，外 (**KOBAYASHI Hiroshi** et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目８番７号 福岡ビル９階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

(54) **Title:** NEPHROTOXICITY REDUCING AGENT

(54) 発明の名称： 腎毒性軽減剤

[図5]



AA Absorbance
BB Heat application time
CC Sucrose

(57) **Abstract:** [Problem] In one embodiment, the present invention addresses the problem of providing: a nephrotoxicity reducing agent for a pharmaceutical composition containing an antisense oligomer; and a method for reducing nephrotoxicity of said pharmaceutical composition. [Solution] In one embodiment, the present invention pertains to a nephrotoxicity reducing agent that is for an pharmaceutical composition containing an antisense oligomer and that contains a sugar which is not glucose and which is contained at a concentration of 1-400 mg/mL in the pharmaceutical composition.

WO 2023/282345 A1

[続葉有]

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(57) 要約: 【課題】一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤、当該医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法を提供することを課題とする。 【解決手段】一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、グルコースではない糖を含み、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で使用される、腎毒性軽減剤に関する。

明　細　書

発明の名称 ： 腎毒性軽減剤

技術分野

[0001] 本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤、当該医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法、アンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物などに関する。

背景技術

[0002] アンチセンスオリゴマーは、標的とするmRNA及びmRNA前駆体に配列特異的にハイブリダイゼーションする核酸である。アンチセンスオリゴマーは、mRNA及びmRNA前駆体の分解、エキソンスキッピング、エキソンインクルージョン、翻訳阻害等を介してその作用を発揮し、幾つかの疾患の治療薬として用いられている。例えば、特開2015-91229（特許文献１）は、ＳＶＡ型レトロトランスポゾンの挿入変異を有するフクチン遺伝子の異常スプライシングを正常化することにより、福山型筋ジストロフィー等を治療し得るアンチセンス核酸を開示している。

[0003] しかし、アンチセンスオリゴマーに関しては、例えばモルホリノオリゴマーが腎臓に集積すること（非特許文献１、図２）、モルホリノオリゴマー投与により腎毒性が発現すること（非特許文献２、図３、表５）、モルホリノオリゴマー投与により腎臓尿細管に好塩基性物質が認められること（非特許文献３、図１）が知られていた。この腎毒性及び尿細管内の好塩基性物質の出現を回避する方法は不明であった。一方、単量体形態におけるよりも高い毒性を凝集体形態において有するオリゴヌクレオチドについて、凝集を崩壊させるマンニトール等の化学種を使用して加熱することで、治療用オリゴヌクレオチドの製剤中での多量体形成を抑制可能であること（特許文献２）、液体製剤中の糖、糖アルコール類がオリゴヌクレオチドの凝集を抑制すること（特許文献３）が知られていた。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2015-91229

特許文献2：国際公開2002/036767

特許文献3：国際公開2010/009038

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Heemskerk HA, de Winter CL, de Kimpe SJ, van Kuik-Romeijn P, Heuvelmans N, Platenburg GJ, van Ommen GJ, van Deutekom JC, Aartsma-Rus A. In vivo comparison of 2'-O-methyl phosphorothioate and morpholino antisense oligonucleotides for Duchenne muscular dystrophy exon skipping. J Gene Med. 2009 Mar;11(3):257-66. doi: 10.1002/jgm.1288.

非特許文献2：Sazani P, Ness KP, Weller DL, Poage D, Nelson K, Shrewsbury AS. Chemical and mechanistic toxicology evaluation of exon skipping phosphorodiamidate morpholino oligomers in mdx mice. Int J Toxicol. 2011 May;30(3):322-33. doi: 10.1177/1091581811403504. Epub 2011 May 3.

非特許文献3：Carver MP, Charleston JS, Shanks C, Zhang J, Mense M, Sharma AK, Kaur H, Sazani P. Toxicological Characterization of Exon Skipping Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers (PMOs) in Non-human Primates. J Neuromuscul Dis. 2016 Aug 30;3(3):381-393. doi: 10.3233/JND-160157.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 従来、アンチセンスオリゴマーを含有する医薬組成物には腎毒性の問題があることが知られている。このような状況において、改善されたアンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物を提供することが望まれている。

課題を解決するための手段

[0007] すなわち、本発明は、以下に記載するアンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤、当該医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法、アンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物などを提供する。

（１）アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、グルコースではない糖を含み、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で使用される、腎毒性軽減剤。

（２）前記医薬組成物中のグルコースではない糖の濃度が5mg/mL～340mg/mLになる量で使用される、（１）に記載の腎毒性軽減剤。

（３）前記医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度が、0.5mg/mL～200mg/mLである、（１）又は（２）に記載の腎毒性軽減剤。

（４－１）アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、グルコースではない糖を含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30となる量で使用される、腎毒性軽減剤。

（４－２）前記医薬組成物と腎毒性軽減剤が別々に投与される、（４－１）に記載の腎毒性軽減剤。

（５）アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.1～13.3となる量で使用される、（４－１）又は（４－２）に記載の腎毒性軽減剤。

（６）糖が、二糖類の糖である、（１）～（５）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（７）糖が、スクロースである、（１）～（６）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

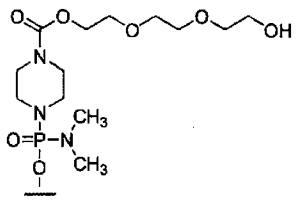
（８）糖が、トレハロースである、（１）～（６）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（９）アンチセンスオリゴマーがモルホリノオリゴマーである、（１）～（８）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（１０）アンチセンスオリゴマーがホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーである、（１）～（９）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（１１）アンチセンスオリゴマーの5’末端が、下記化学式（１）～（２）：

[0008] [化1]



(1)



(2)

[0009] のいずれかの基である、（１）～（１０）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（１２）前記アンチセンスオリゴマーが、その塩基配列中に４つの連続するプリン塩基を含む、（１）～（１１）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（１３）前記４つの連続するプリン塩基のうちの少なくとも２つがグアニンである、（１２）に記載の腎毒性軽減剤。

（１４）前記アンチセンスオリゴマーが、配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列を含む、（１）～（１３）のいずれかに記載の腎毒性軽減剤。

（１５－１）アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法であって、グルコースではない糖を、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で添加することを含む、方法。

（１５－２）グルコースではない糖を、前記医薬組成物中の糖の濃度が5mg/mL～340mg/mLになる量で添加する、（１５－１）に記載の方法。

（１５－３）前記医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度が、0.5mg/mL～200mg/mLである、（１５－１）又は（１５－２）に記載の方法。

（１６－１）アンチセンスオリゴマーを投与した対象において、アンチセンスオリゴマーの腎毒性を軽減するための方法であって、グルコースではない糖を前記対象に投与することを含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30となる量で投与される、方法。

（１６－２）前記アンチセンスオリゴマーと前記糖が別々に投与される、（１６－１）に記載の方法。

（１６－３）糖が、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.1～13.3となる量で使用される、（１６－１）又は（１６－２）に記載の方法。

（１７－１）アンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物であって、グルコースではない糖を含む腎毒性軽減剤を1mg/mL～400mg/mLの濃度で含む、医薬組成物。

（１７－２）グルコースではない糖を含む腎毒性軽減剤を5mg/mL～340mg/mLの濃度で含む、（１７－１）に記載の医薬組成物。

（１７－３）前記医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度が、0.5mg/mL～200mg/mLである、（１７－１）又は（１７－２）に記載の医薬組成物。

（１８）糖が、二糖類の糖である、（１５－１）～（１７－３）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（１９）糖が、スクロースである、（１５－１）～（１８）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（２０）糖が、トレハロースである、（１５－１）～（１８）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

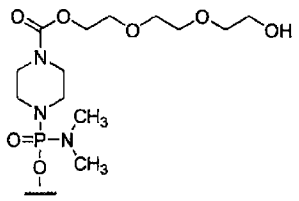
（２１）アンチセンスオリゴマーがモルホリノオリゴマーである、（１５－１）～（２０）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（２２）アンチセンスオリゴマーがホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーである、（１５－１）～（２１）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（２３）アンチセンスオリゴマーの5’末端が、下記化学式（１）～（２）：

[0010]

[化2]



(1)



(2)

[0011] のいずれかの基である、（１５－１）～（２２）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（２４）前記アンチセンスオリゴマーが、その塩基配列中に４つの連続するプリン塩基を含む、（１５－１）～（２３）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

（２５）前記４つの連続するプリン塩基のうちの少なくとも２つがグアニンである、（２４）に記載の方法又は医薬組成物。

（２６）前記アンチセンスオリゴマーが、配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列を含む、（１５－１）～（２４）のいずれかに記載の方法又は医薬組成物。

発明の効果

[0012] 本発明により、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤、当該医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法が提供される。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]ＰＭＯ Ｎｏ．８投与液（５０ｍｇ／ｍＬ ＰＭＯ Ｎｏ．８）を１０ｍＬ／ｋｇで投与した時の腎臓のヘマトキシリン・エオシン染色像を示す。

[図2]ＰＭＯ Ｎｏ．８投与液（５０ｍｇ／ｍＬ ＰＭＯ Ｎｏ．８、２０ｍｇ／ｍＬ スクロース）を１０ｍＬ／ｋｇで投与した時の腎臓のヘマトキシリン・エオシン染色像を示す。

[図3]ＰＭＯ Ｎｏ．８投与液（５０ｍｇ／ｍＬ ＰＭＯ Ｎｏ．８、５０ｍｇ／ｍＬ スクロース）を１０ｍＬ／ｋｇで投与した時の腎臓のヘマトキシ

リン・エオシン染色像を示す。

[図4]ＰＭＯ　Ｎｏ．８投与液（５０ｍｇ／ｍＬ　ＰＭＯ　Ｎｏ．８、１００ｍｇ／ｍＬ　スクロース）を１０ｍＬ／ｋｇで投与した時の腎臓のヘマトキシリン・エオシン染色像を示す。

[図5]表６に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図6]表７に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図7]表８に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図8]表９に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図9]表１０に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図10]表１１に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図11]表１２に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図12]表１３に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図13]表１８に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図14]表１９に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図15]表２０に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図16]表２１に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図17]表２２に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図18]表２３に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

[図19]表２４に示す条件での６２０nmにおける吸光度測定値を示す。

発明を実施するための形態

[0014]　一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤に関する。本明細書において、「腎毒性軽減剤」とはアンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物が有し得る腎毒性あるいはその原因となる現象（好塩基性物質の蓄積等）を軽減するための薬剤を意味する。投与されたアンチセンスオリゴマーが排泄の過程で高濃度に腎臓に分布し蓄積することにより、腎臓及び／又は腎臓尿細管の管腔内に好塩基性物質が認められることがある。腎毒性とは、腎臓でのアンチセンスオリゴマーの蓄積がより高度化することにより、組織に障害が生じること、又は腎機能が低下する

ことを意味する。腎臓の組織障害により、例えば尿細管の拡張、及び壊死が生じることが知られており、腎機能の低下により、例えば血中尿素窒素量（ＢＵＮ）値、及び血中クレアチニン（Ｃｒｅ）値が上昇することが広く知られている。アンチセンスオリゴマーの腎毒性を軽減することより、高用量のアンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物、当該医薬組成物を用いた疾患を治療するための方法が提供され得る。

[0015] 腎毒性軽減効果の有無は、例えば血中尿素窒素量（ＢＵＮ）値、及び血中クレアチニン（Ｃｒｅ）値を、例えばそれぞれウレアーゼ、ＧＩＤＨ法及び酵素法で実施例に記載のとおりに測定することにより決定することができる。例えば、腎毒性軽減剤を投与しない場合と比べて、腎毒性軽減剤を投与した場合にＢＵＮ値及び／又はＣｒｅ値が、例えば、5%以上、10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、又は50%以上低下した場合に、腎毒性軽減効果があると決定することができる。

[0016] 一実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、糖（グルコースを除く）からなるものでもよく、又は糖（グルコースを除く）を含むものであってもよい。糖は例えば二糖以上の糖であってもよく、二糖類の糖であってもよい。限定するものではないが、糖の例としては、スクロース、ラクトース、ラクツロース、トレハロース、マルトース、イソマルトース等の二糖；ラフィノース、メレジトース、マルトトリオース等の三糖；ガラクトース、マンノース、フルクトース、リボース、キシロース、アラビノース、及びリキソース等の単糖が挙げられる。一実施形態において、糖は、スクロースであるか、又はスクロースを含む。別の一実施形態において、糖は、トレハロースであるか、又はトレハロースを含む。

[0017] 本発明の腎毒性軽減剤が、糖以外の成分を含む場合、腎毒性軽減剤は、糖に薬学的に許容される担体又は添加剤（及び任意に本発明の腎毒性軽減剤）を適宜配合して製剤化してもよい。具体的には錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の経口剤；注射剤、輸液、坐剤、軟膏、パッチ剤等の非経口剤とすることができる。好ましくは、非経口

剤である。注射剤は凍結乾燥製剤としてもよい。担体または添加剤の配合割合については、医薬品分野において通常採用されている範囲に基づいて適宜設定すればよい。配合できる担体又は添加剤は特に制限されないが、例えば、水、生理食塩水、その他の水性溶媒、水性又は油性基剤等の各種担体、賦形剤、結合剤、ｐＨ調整剤、崩壊剤、吸収促進剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、香料等の各種添加剤が挙げられる。

[0018] 錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は通常の製剤業務（例えば有効成分を注射用水、天然植物油等の溶媒に溶解または懸濁させる等）に従って調製することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート８０™、ＨＣＯ－５０）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。さらに、凍結乾燥製剤としてもよい。

[0019] 本明細書において、アンチセンスオリゴマーは、オリゴヌクレオチド、モ

ルホリノオリゴマー、又はペプチド核酸（Peptide Nucleic Acid：ＰＮＡ）オリゴマーのいずれであってもよい（以下、それぞれを、「本明細書に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド」、「本明細書に記載のアンチセンスモルホリノオリゴマー」、又は「本明細書に記載のアンチセンスペプチド核酸オリゴマー」ともいう。）。

[0020] アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ヌクレオチドを構成単位とするアンチセンスオリゴマーであり、かかるヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、又は修飾ヌクレオチドのいずれであってもよい。

[0021] 修飾ヌクレオチドとは、リボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドを構成する核酸塩基、糖部分、及びリン酸結合部分の全部又は一部が修飾されているものをいう。

[0022] 核酸塩基としては、例えば、アデニン、グアニン、ヒポキサンチン、シトシン、チミン、ウラシル、又はそれらの修飾塩基を挙げることができる。かかる修飾塩基としては、例えば、シュードウラシル、３－メチルウラシル，ジヒドロウラシル、５－アルキルシトシン（例えば、５－メチルシトシン）、５－アルキルウラシル（例えば、５－エチルウラシル）、５－ハロウラシル（例えば、５－ブロモウラシル）、６－アザピリミジン、６－アルキルピリミジン（例えば、６－メチルウラシル）、２－チオウラシル、４－チオウラシル、４－アセチルシトシン、５－（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、１－メチルアデニン、１－メチルヒポキサンチン、２，２－ジメチルグアニン、３－メチルシトシン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－メトキシアミノメチル－２－チオウラシル、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メチルカルボニルメチルウラシル、５－メチルオキシウラシル、５－メチル－２－チオウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸、２－チオシトシン、プリン、２，６－ジアミノプリン、２－アミノプリン、イソグアニン、インドール、イミ

ダゾール、キサンチン等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

[0023] 糖部分の修飾としては、例えば、リボースの２’位の修飾及び糖のその他の部分の修飾を挙げることができる。リボースの２’位の修飾としては、例えば、リボースの２’位の－ＯＨ基を－ＯＲ、－Ｒ、－Ｒ’ＯＲ、－ＳＨ、－ＳＲ、－NH_2、－ＮＨＲ、－NR_2、－N_3、－ＣＮ、－Ｆ、－Ｃｌ、－Ｂｒ、－Ｉに置換する修飾を挙げることができる。ここで、Ｒはアルキル又はアリールを表す。Ｒ’はアルキレンを表す。

[0024] 糖のその他の部分の修飾としては、例えば、リボース又はデオキシリボースの４’位のＯをＳに置換したもの、糖の２’位と４’位を架橋したもの、例えば、ＬＮＡ（Locked Nucleic Acid）又はＥＮＡ（2’-O,4’-C-Ethylene-bridged Nucleic Acids）などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

[0025] リン酸結合部分の修飾としては、例えば、ホスホジエステル結合をホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、アルキルホスホネート結合、ホスホロアミデート結合、ボラノフォスフェート結合（例えば、Enya et al: Bioorganic & Medicinal Chemistry,2008, 18, 9154-9160を参照）に置換する修飾を挙げることができる（例えば、再公表特許公報第２００６／１２９５９４号及び再公表特許公報第２００６／０３８６０８号を参照）。

[0026] 本明細書において、アルキルとしては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数１～６のアルキルが好ましい。具体的には、例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ｔｅｒｔ－ペンチル、ｎ－ヘキシル、イソヘキシルが挙げられる。当該アルキルは置換されていてもよく、かかる置換基としては、例えば、ハロゲン、アルコキシ、シアノ、ニトロを挙げることができ、これらで１～３個置換されていてもよい。

[0027] 本明細書において、シクロアルキルとしては、炭素数３～１２のシクロアルキルが好ましい。具体的には、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、

シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、シクロデシル、シクロドデシルが挙げられる。

[0028] 本明細書において、ハロゲンとしては、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素を挙げることができる。

[0029] 本明細書において、アルコキシとしては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数１～６のアルコキシ、例えば、メトキシ、エトキシ、ｎ－プロポキシ、イソプロポキシ、ｎ－ブトキシ、イソブトキシ、ｓｅｃ－ブトキシ、ｔｅｒｔ－ブトキシ、ｎ－ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、ｎ－ヘキシルオキシ、イソヘキシルオキシ等を挙げることができる。とりわけ、炭素数１～３のアルコキシが好ましい。

[0030] 本明細書において、アリールとしては、炭素数６～１０のアリールが好ましい。具体的には、例えば、フェニル、α－ナフチル、β－ナフチルを挙げることができる。とりわけフェニルが好ましい。当該アリールは置換されていてもよく、かかる置換基としては、例えば、アルキル、ハロゲン、アルコキシ、シアノ、ニトロを挙げることができ、これらが１～３個置換されていてもよい。

[0031] 本明細書において、アルキレンとしては、直鎖状又は分枝鎖状の炭素数１～６のアルキレンが好ましい。具体的には、例えば、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、ヘキサメチレン、２－（エチル）トリメチレン、１－（メチル）テトラメチレンを挙げることができる。

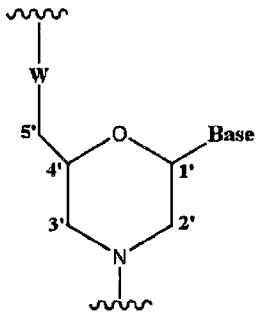
[0032] 本明細書において、アシルとしては、直鎖状若しくは分枝鎖状のアルカノイル又はアロイルを挙げることができる。アルカノイルとしては、例えば、ホルミル、アセチル、２－メチルアセチル、２，２－ジメチルアセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、２，２－ジメチルプロピオニル、ヘキサノイル等が挙げられる。アロイルとしては、例えば、ベンゾイル、トルオイル、ナフトイルを挙げることができる。かかるアロイルは置換可能な位置において置換されていてもよく、アルキルで置換されてい

てもよい。

[0033] 本明細書に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、各種自動合成装置（例えば、AKTA oligopilot plus 10 / 100 (GE Healthcare)）を用いて容易に合成することが可能であり、あるいは、第三者機関（例えば、Promega社又はTakara社）等に委託して作製することもできる。

[0034] 本明細書に記載のアンチセンスモルホリノオリゴマーは、下記一般式で表される基を構成単位とするアンチセンスオリゴマーである。

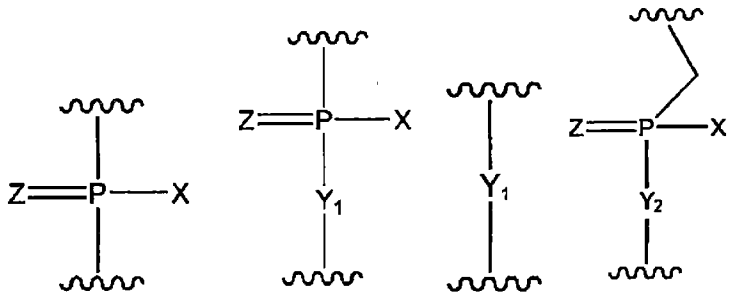
[0035] [化3]



[0036] （式中、Baseは、核酸塩基を表し；

Wは、以下のいずれかの式で表わされる基を表す。

[0037] [化4]



[0038] （式中、Xは、－CH_2R^1、－O－CH_2R^1、－S－CH_2R^1、－NR^2R^3、又はFを表し；

R^1は、H、アルキルを表し；

R^2及びR^3は、同一又は異なって、H、アルキル、シクロアルキル、又はアリールを表し；

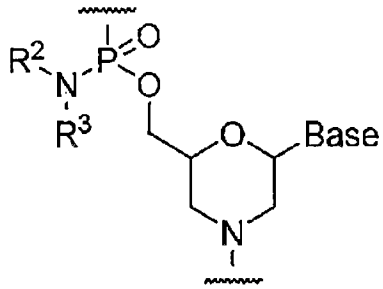
Y_1は、O、S、CH_2、又はNR^1を表し；

Y_2は、O、S、又はNR^1を表し；

Zは、O又はSを表す。））

本明細書において、モルホリノオリゴマーは、好ましくは、以下の式で表わされる基を構成単位とするオリゴマー（ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー（以下、「ＰＭＯ」という））である。

[0039] [化5]

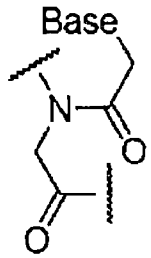


[0040] （式中、Base、R^2、R^3は、前記と同義である。）

モルホリノオリゴマーは、例えば、国際公開公報第１９９１／００９０３３号、又は国際公開公報第２００９／０６４４７１号に記載の方法に従って製造することができる。特に、ＰＭＯは、国際公開公報第２００９／０６４４７１号、又は国際公開公報第２０１３／１００１９０号に記載の方法に従って製造することができる。

[0041] 本明細書に記載のアンチセンスペプチド核酸オリゴマーは、下記一般式で表される基を構成単位とするアンチセンスオリゴマーである。

[0042] [化6]



[0043] （式中、Baseは、前記と同義である。）

ペプチド核酸オリゴマーは、例えば、以下の文献に従って製造することができる。

１）P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, Science, 254, 1497 (1991)２）M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen, R. H. Berg, JACS, 114, 1895 (1992)

３）K. L. Dueholm, M. Egholm, C. Behrens, L. Christensen, H. F. Hansen, T. Vulpius, K. H. Petersen, R. H. Berg, P. E. Nielsen, O. Buchardt, J. Org. Chem., 59, 5767 (1994)

４）L. Christensen, R. Fitzpatrick, B. Gildea, K. H. Petersen, H. F. Hansen, T. Koch, M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen, J. Coull, R. H. Berg, J. Pept. Sci., 1, 175 (1995)5) T. Koch, H. F. Hansen, P. Andersen, T. Larsen, H. G. Batz, K. Otteson, H. Orum, J. Pept. Res., 49, 80 (1997)

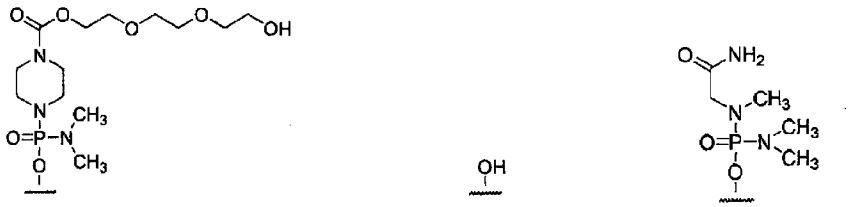
本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、その医薬的に許容可能な塩の形態、水和物の形態、又は医薬的に許容可能な塩の水和物の形態であってもよい。

[0044] 本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーの医薬的に許容可能な塩の例としては、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩などの金属塩；アンモニウム塩；ｔ－オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、Ｎ－メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、Ｎ－ベンジル－フェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン塩のような有機アミン塩；弗化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、沃化水素酸塩のようなハロゲン化水素酸

塩；硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩などの無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩；ベンゼンスルホン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩のようなアリールスルホン酸塩；酢酸塩、リンゴ酸塩、フマール酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩などの有機酸塩；グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩などが挙げられる。これらの塩は、公知の方法で製造することができる。あるいは、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、その水和物の形態にあってもよい。

[0045] 本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、５’末端が、下記化学式（１）～（３）のいずれかの基であってもよい。好ましくは（１）又は（２）のいずれかの基である。

[0046] [化7]



[0047] 以下、上記（１）、（２）、及び（３）で示される基を、それぞれ「基（１）」、「基（２）」、及び「基（３）」と呼ぶ。

[0048] 本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーの塩基配列は限定しないが、例えばその塩基配列中に４つの連続するプリン塩基を含んでもよい。また、４つの連続するプリン塩基のうちの少なくとも２つがグアニンであってよい。

[0049] 一実施形態において、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、（ｉ）配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列、（ｉｉ）配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列に対して80%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、又は99%以

上の配列同一性を有する塩基配列、又は（iii）配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列において1又は数個の塩基が付加、欠失、又は置換された塩基配列を含む、又はからなる。

[0050] 本明細書において塩基配列の「同一性」とは、2つの塩基配列をアライメントした場合に一致する塩基の割合を意味する。配列同一性は、FASTA（Science 227（4693）: 1435-1441,（1985））や、カーリン及びアルチュールによるアルゴリズムBLAST（Basic Local Alignment Search Tool）（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 872264-2268, 1990; Proc Natl Acad Sci USA 90: 5873, 1993）を用いて決定できる。BLASTのアルゴリズムに基づいたblastn、blastx、tblastnやtblastxと呼ばれるプログラムが開発されている（Altschul SF, et al: J Mol Biol 215: 403, 1990）。blastnを用いて塩基配列を解析する場合は、パラメーターは、例えばscore＝100、wordlength＝12とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合は、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。

[0051] 本明細書において、1又は数個の塩基が付加、欠失、又は置換された塩基配列における数個は、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、又は10個を意味する。

[0052] 一実施形態において、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、フクチン遺伝子のゲノム配列（GenBank ACCESSION: AB038490）にSVA型レトロトランスポゾン配列（GenBank ACCESSION: AB185332）が挿入された挿入変異型フクチン遺伝子のゲノム配列（配列番号１３）の第１１５９３７位～第１１５９８１位の範囲を標的配列とするものであるか、又は当該範囲を標的配列とするものではない。配列番号１３の第１１５９３７位～第１１５９８１位の範囲を標的配列とするアンチセンスオリゴマーの例として、配列番号１～７からなる群から選択される塩基配列を含むアンチセンスオリゴマーが挙げられる。配列番号１３の第１１５９３７位～第１１５９８１位の範囲を標的配列としないアンチセンスオリゴマーの例として、配列番号８～１２からなる群から選択される塩基配列を含むアンチセンスオリゴマーが挙げられる。

[0053] 一実施形態において、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーは、機能性ペプチド、例えば細胞浸透性ペプチド（ＣＰＰ）が結合しているコンジュゲートである。公知の機能性ペプチド又は市販の機能性ペプチドを本明細書において使用することができる。本明細書で使用することができる機能性ペプチドには、例えば、国際公開第２００８／０３６１２７号パンフレットに開示されているアルギニンリッチペプチド；又は国際公開第２００９／００５７９３号パンフレットに開示されている臓器を標的とするペプチド、例えば、ＲＸＲ、ＲＢＲなど；又は国際公開第２０１２／１５０９６０号パンフレットに開示されているアミノ酸サブユニットを含むペプチドが含まれる。細胞浸透性ペプチド（ＣＰＰ）は、哺乳動物細胞の細胞膜を通過することができ、したがって、細胞ドラッグデリバリーを改善することができる１０～約３０アミノ酸の短いペプチド配列を表す（例えば、Hum Mol Genet. 2011 Aug 15; 20(16): 3151-3160; Pharmacology & Therapeutics 154 (2015) 78-86を参照されたい）。公知のＣＰＰ又は市販のＣＰＰを本明細書において使用することができる。本明細書において使用することができるＣＰＰは、例えば、Pharmacology
& Therapeutics 154 (2015) 78-86の８０頁の表１に列挙されたＣＰＰが含まれ、例えば、ＴＡＴ（４８－６０）、ペネトラチン、ポリアルギニン、Ｏｃｔ４、ＷＴ１－ｐＴｊ、ＤＰＶ３、トランスポータン、ＭＡＰ、ＶＰ２２、Ｒｅｐ１、ＫＷ、ＫＦＧＦ、ＦＧＦ１２、インテフリンβ３ペプチド、Ｃ１０５Ｙ、ＴＰ２；特表２０１７－５００８５６明細書（国際公開第２０１５／０８９４８７号パンフレット）の段落［００８５］、表１に列挙されるＣＰＰ、例えばＤＰＶ１０／６、ＤＰＶ１５ｂ、ＹＭ－３、Ｔａｔ、ＬＲ１１、Ｃ４５Ｄ１８、Ｌｙｐ－１、Ｌｙｐ－２、ＢＭＶ　ＧＡＧ、ｈＬＦ１－２２、Ｃ４５Ｄ１８、ＬＲ２０などが挙げられる。ＣＰＰは、例えば、Ｆｕｎａｋｏｓｈｉ，Ｃｏ．，Ｌｔｄ．から市販されている。ＴＡＴ（Ｆｕｎａｋｏｓｈｉ，Ｃｏ．，Ｌｔｄ．）、ペネトラチン（Ｆｕｎａｋｏｓｈｉ，Ｃｏ．，Ｌｔｄ．）などの市販のＣＰＰ、又は公知のＣＰＰ、例えばＲ８などを

本明細書において使用することができる。本明細書において用いることができる好ましいＣＰＰは、例えば、ｈＬＩＭＫ、ＴＡＴ、ペネトラチン、Ｒ８などを含む（国際公開第２０１６／１８７４２５号パンフレット、国際公開第２０１８／１１８６６２号パンフレット、国際公開第２０１８／１１８５９９号パンフレット、国際公開第２０１８／１１８６２７号パンフレット、EBioMedicine 45 (2019) 630-645などを参照されたい）。ＣＰＰは、本明細書のアンチセンスオリゴマーに直接結合することができ、又はＣＰＰをアンチセンスオリゴマーに結合することができるリンカーを介して結合することができる。公知のリンカーを本明細書において使用することができる。このようなリンカーには、例えば、特表２０１７－５００８５６明細書（国際公開第２０１５／０８９４８７号パンフレット）、国際公開第２０１５／０８９４８７号パンフレット、国際公開第２００９／０７３８０９号パンフレット、国際公開第２０１３／０７５０３５号パンフレット、国際公開第２０１５／１０５０８３号パンフレット、国際公開第２０１４／１７９６２０号パンフレット、国際公開第２０１５／００６７４０号パンフレット、国際公開第２０１７／０１０５７５号パンフレットなどに記載されるものが含まれる。本明細書において使用することができる好ましいリンカーは、例えば、４－マレイミド酪酸、ジスルフィド結合を介して本明細書の機能性ペプチド又はアンチセンスオリゴマーに結合することができるリンカーなどを含む。本明細書のコンジュゲートは、当業者に公知の方法によって調製することができる。

[0054] 本明細書に記載の医薬組成物は、薬学的に許容される担体又は添加剤（及び任意に本発明の糖）を適宜配合して製剤化してもよい。医薬組成物について、薬学的に許容される担体又は添加剤及び製剤化については、アンチセンス核酸が有効成分であること以外は、本発明の腎毒性軽減剤に記載したのと同様である。

[0055] 一実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、本明細書に記載の医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mL、例えば5mg/mL～340mg/mLになる量で

使用される、及び／又は医薬組成物に添加される。一実施形態において本発明の腎毒性軽減剤は、例えば前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL以上、2.5mg/mL以上、3mg/mL以上、4mg/mL以上、5mg/mL以上、10mg/mL以上、15mg/mL以上、20mg/mL以上、30mg/mL以上、又は40mg/mL以上になる量で使用される、及び／又は医薬組成物に添加される。また、本発明の腎毒性軽減剤は、例えば前記医薬組成物中の糖の濃度が400mg/mL以下、350mg/mL以下、340mg/mL以下、335mg/mL以下、330mg/mL以下、300mg/mL以下、250mg/mL以下、又は200mg/mL以下になる量で使用される、及び／又は医薬組成物に添加される。

[0056] 一実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度は、0.5mg/mL～200mg/mL、例えば16mg/mL～130mg/mLである。一実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度は、0.5mg/mL以上、1mg/mL以上、2mg/mL以上、3mg/mL以上、4mg/mL以上、5mg/mL以上、10mg/mL以上又は16mg/mL以上であってよく、200mg/mL以下、180mg/mL以下、150mg/mL以下、140mg/mL以下、又は130mg/mL以下であってよい。

[0057] 一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、糖を含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30、例えば0.1～13.3となる量で使用される、腎毒性軽減剤に関する。アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物及び糖については上記のとおりである。一実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05以上、0.1以上、0.15以上、0.2以上、0.3以上、0.4以上、0.5以上、0.6以上、0.7以上、0.8以上、0.9以上、1以上、2以上、又は5以上となる量で使用される。一実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が30以下、25以下、20以下、15以下、13.3以下又は10以下となる量で使用される。

[0058] 一実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、本明細書に記載の医薬組成物中に含まれ、本明細書に記載の医薬組成物と共に投与される。例えば、

本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーを任意にグルコース等の担体と共に凍結乾燥したものを、注射用水等の溶媒に溶かした医薬組成物と、本明細書に記載の腎毒性軽減剤を混合し、その後任意に溶媒により量を調節して対象に投与してもよい。また、例えば、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーを本発明の腎毒性軽減剤と共に凍結乾燥したものを、注射用水等の溶媒に溶かして医薬組成物とし、その後任意に溶媒により量を調節して対象に投与してもよい。

[0059] 別の実施形態において、本発明の腎毒性軽減剤は、本明細書に記載の医薬組成物中に含まれず、本明細書に記載の医薬組成物とは別々に（同時に又は逐次的に）投与される。例えば、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーの凍結乾燥剤を、注射用水等の溶媒に溶かした医薬組成物と、本明細書に記載の腎毒性軽減剤を別々に対象に投与してもよい。本明細書において、腎毒性軽減剤及び医薬組成物を「同時に」投与するとは、腎毒性軽減剤及び医薬組成物を同一の時点で投与することを意味する。本明細書において、腎毒性軽減剤及び医薬組成物を「逐次的に」投与するとは、異なる時点で投与することを意味する。具体的には、腎毒性軽減剤の前又は後に投与することができ、この場合の腎毒性軽減剤と医薬組成物の投与間隔は、限定しないが、例えば数分間、数時間、又は一日程度までであってよい。

[0060] 本明細書において、医薬組成物及び／又は腎毒性軽減剤を投与する対象としては、限定しないが、例えば哺乳動物、例えばヒト等の霊長類、ラット、マウス、及びドブネズミ等の実験動物、ブタ、ウシ、ウマ、及びヒツジ等の家畜動物等が挙げられ、好ましくはヒトである。

[0061] 医薬組成物及び／又は腎毒性軽減剤を投与する際の用量としては、医薬組成物に含まれるアンチセンスオリゴマー及び腎毒性軽減剤に含まれる糖の種類、医薬組成物及び腎毒性軽減剤の剤形、年齢や体重等の対象の状態、投与経路、疾患の性質と症状を考慮した上で調整され得るが、アンチセンスオリゴマーの量として、例えば1日当たり0.1mg～10g/ヒトの範囲内、例えば1mg～1g/ヒトの範囲内、例えば10mg～100mg/ヒトの範囲内とすることができ、糖の

量として、例えば1日当たり0.1mg～200g/ヒトの範囲内、例えば1mg～100g/ヒトの範囲内、例えば10mg～50g/ヒトの範囲内、例えば100mg～50g/ヒトの範囲内、例えば100mg～40g/ヒトの範囲内、例えば100mg～30g/ヒトの範囲内、例えば100mg～20g/ヒトの範囲内、例えば1g～20g/ヒトの範囲内、例えば2g～20g/ヒトの範囲内、例えば1g～10g/ヒトの範囲内、例えば100mg～1g/ヒトの範囲内とすることができる。投与回数及び投与頻度は限定しないが、例えば1日1回から2、3回の投与回数で、1日から2、3日間の間隔をあけて投与することができる。また、例えば1回のみで投与することもでき、その数日後にもう一回投与して合計2回投与することもできる。

[0062] 一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法、又はアンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物を生産するための方法であって、糖を、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で添加することを含む、方法に関する。本実施形態において、アンチセンスオリゴマー、医薬組成物、糖、医薬組成物中の糖の濃度等については、本明細書に記載するとおりである。

[0063] 一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマー又はアンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物を投与した対象において、アンチセンスオリゴマーの腎毒性を軽減するための方法であって、糖又は腎毒性軽減剤を前記対象に投与することを含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30となる量で投与される、方法に関する。本実施形態において、アンチセンスオリゴマー、医薬組成物、糖、腎毒性軽減剤、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比等については、本明細書に記載するとおりである。

[0064] 一実施形態において、本発明は、アンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物であって、糖を含む腎毒性軽減剤を1mg/mL～400mg/mLの濃度で含む、医薬組成物に関する。本実施形態において、アンチセンスオリゴマー、医薬組成物、糖、医薬組成物中の糖の濃度等については、本明細

書に記載するとおりである。

実施例

[0065] ［実施例１：アンチセンスオリゴマー(ＰＭＯ)の製造］

国際公開公報WO2013/100190に記載の方法に従い、表１に示すアンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．１～１２（配列番号１～１２））を合成した。各アンチセンスオリゴマーの分子量の理論値及びＥＳＩ－ＴＯＦ－ＭＳによる実測値も示す。

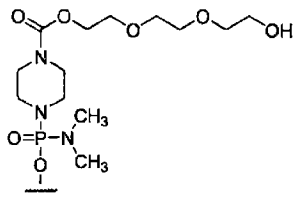
[0066] [表1]

表１　合成したアンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．１～１２）

PMO No.	配列	5'末端	分子量		配列番号
			理論値	実測値	
1	GCTCGGCATCAGAGGGAGACCG	基(2)	7353.55	7353.93	1
2	CTCGGCATCAGAGGGAGACC	基(2)	6643.31	6643.91	2
3	CGGCATCAGAGGGAGAC	基(2)	5682.99	5682.27	3
4	CCTTGGCTCGGCATCAGAGG	基(2)	6625.29	6625.31	4
5	CATCAGAGGGAGACCGTGTAA	基(2)	7021.45	7021.88	5
6	CTCGTGCATCAGAGGGAGACC	基(2)	6973.42	6974.13	6
7	CTCGCATCAGAGGGAGACC	基(2)	6288.19	6287.87	7
8	AGGAGGGCAGCGAACTCCTGGTTGT	基(2)	8383.90	8383.85	8
9	GTGGTTGAGCCAGAAGCTGGGAATT	基(2)	8422.91	8422.85	9
10	GTTGCCTCCGGTTCTGAAGGTGTTC	基(1)	8643.00	8642.94	10
11	CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG	基(1)	7580.66	7580.17	11
12	CCTCCGGTTCTGAAGGTGTTC	基(2)	6921.39	6921.66	12

[0067]　上記表における「基（１）」及び「基（２）」は以下の通りである。

[0068] [化8]



(1)



(2)

[0069] ［実施例２：スクロースによる腎毒性軽減作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．８、９（配列

番号８、９）について、医薬用途への有用性を検証するため、腎臓における安全性評価を行った。

（１）評価方法

ＰＭＯ　Ｎｏ．８、９の各アンチセンスオリゴマーを０．９％の塩化ナトリウムを含む注射用水に溶解し、各アンチセンスオリゴマーを表２、３に記載の濃度で含みスクロースを含まない対照の投与液を作製した。

[0070] 次に、ＰＭＯ　Ｎｏ．８、９の各アンチセンスオリゴマーを０．９％の塩化ナトリウムを含む注射用水に溶解し、さらにスクロース（富士フィルム和光純薬製）を生理食塩水で溶解した溶液を加えて、各アンチセンスオリゴマーとスクロースを各々表２、３に記載の濃度で含む投与液を作製した。

[0071] これらの投与液をＣ５７ＢＬ／６Ｊ雄性６週齢マウス（Ｎ＝３）の尾静脈内へ１０、１２ｍＬ／ｋｇで投与した。翌日、マウスより血清を回収し、血中尿素窒素量（ＢＵＮ）値をウレアーゼ・ＧＩＤＨ法、及び血中クレアチニン（Ｃｒｅ）値を酵素法で、生化学自動分析装置ＪＣＡ－ＢＭ８０６０（日本電子製）を用いて測定した。また、ＰＭＯ　Ｎｏ．８のアンチセンスオリゴマーを投与した一部マウスを剖検し、腎臓のホルマリン固定パラフィン包埋標本を作製した。標本を薄切した切片をヘマトキシリン・エオシン染色し、病理組織学的検査を実施した。スクロースを含まない対照の投与液を投与したマウスと比較して、スクロースを含む投与液を投与したマウスにおいてＢＵＮ値及びＣｒｅ値の両方の値が低下した場合に、腎毒性が軽減したと判定した。

（２）評価結果

試験した各アンチセンスオリゴマーは、スクロースを含む投与液を投与したマウスにおいて、ＢＵＮ値及びＣｒｅ値の両方の値が低下したため、スクロースが腎毒性を軽減することを確認した。また、病理組織学的検査により、スクロースを含まない対照の投与液を投与したマウスの腎臓において尿細管の管腔内に好塩基性物質が認められた。この変化は核酸の析出を反映したものと考えられた。スクロース濃度に応じて析出物は減少し、腎毒性の軽減

作用と一致した。結果を、表２、３、４及び図１、２、３、４に示す。

[0072] [表2]

表２　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．８）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO濃度 (mg/mL)	スクロース濃度 (mg/mL)	スクロース/PMO量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
－	－	－	－	34.7	1.7	0.13	0.01
10	50	0	0	253.1	10.2	1.81	0.05
10	50	5	0.1	238.0	8.8	1.68	0.22
10	50	10	0.2	255.4	37.6	1.26	0.49
10	50	20	0.4	217.5	32.5	0.90	0.38
10	50	50	1	64.0	9.0	0.16	0.01
10	50	100	2	33.8	1.5	0.10	0.01

－：投与なし

[0073] [表3]

表３　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．９）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO濃度 (mg/mL)	スクロース濃度 (mg/mL)	スクロース/PMO量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
－	－	－	－	29.8	3.6	0.11	0.02
12	16.667	0	0	186.6	59.8	0.80	0.57
12	16.667	16.667	1	158.1	87.3	0.96	0.56
12	16.667	41.667	2.5	75.2	75.2	0.30	0.30
12	16.667	83.333	5	30.4	3.2	0.13	0.04
12	16.667	166.667	10	29.8	2.4	0.10	0.01
12	25	0	0	192.9	58.4	0.86	0.46
12	25	83.333	3.333	31.0	2.0	0.10	0.02
12	25	166.667	6.667	28.3	3.6	0.11	0.02
12	25	333.333	13.333	31.8	2.4	0.12	0.01

－：投与なし

[0074]

[表4]

表４　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．８）投与時の腎臓の病理組織学的検査

投与液量 (mL/kg)	PMO濃度 (mg/mL)	スクロース濃度 (mg/mL)	スクロース/PMO量比	尿細管内の好塩基性物質	尿細管の拡張	髄質外帯内層の尿細管壊死
－	－	－	－	－	－	－
10	50	0	0	2+ (3/3)	3+ (3/3)	± (3/3)
10	50	20	0.4	2+ (3/3)	3+ (3/3)	1+ (1/3) ± (2/3)
10	50	50	1	1+ (3/3)	2+ (1/3) 1+ (2/3)	± (1/3)
10	50	100	2	± (3/3)	－	－

－：変化なし

±：変化が非常に微弱であり、器官/組織は正常に機能していると考えられるもの

１＋：変化は明確だがその分布あるいは程度が限定しており、器官/組織の機能に対してほとんど影響を及ぼさないと考えられるもの

２＋：変化が明確で広範に認められ、器官/組織の機能に対してある程度の影響が及んでいると考えられるもの

３＋：変化が顕著であり、器官/組織の機能に対して明確な影響を及ぼしていると考えられるもの

[0075]　以上の結果より、スクロースはアンチセンスオリゴマー投与による腎毒性を軽減することが示された。

［実施例３：スクロースによる腎毒性軽減作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．１１（配列番号１１）について、医薬用途への有用性を検証するため、腎臓における安全性評価を行った。

（１）評価方法

ＰＭＯ　Ｎｏ．１１のアンチセンスオリゴマーを生理食塩水に溶解し、アンチセンスオリゴマーを表５に記載の濃度で含みスクロースを含まない対照の投与液を作製した。

[0076]　次に、ＰＭＯ　Ｎｏ．１１のアンチセンスオリゴマーとスクロースを生理食塩水に溶解し、アンチセンスオリゴマーとスクロースを表５に記載の濃度で含む投与液を作製した。

[0077] これらの投与液をＣ５７ＢＬ／６Ｊ雄性６週齢マウス（Ｎ＝５）の尾静脈内へ２０ｍＬ／ｋｇで投与した。翌日、マウスを剖検し、腎臓のホルマリン固定パラフィン包埋標本を作製した。標本を薄切した切片をヘマトキシリン・エオシン染色し、病理組織学的検査を実施した。スクロースを含まない投与液を投与したマウスと比較して、スクロースを含む投与液を投与したマウスにおいて腎臓の病理組織学的検査における毒性所見に改善が認められた場合に、腎毒性が軽減したと判定した。

（２）評価結果

試験したアンチセンスオリゴマーは、スクロースを含む投与液を投与したマウスにおいて、腎臓の病理組織学的検査における毒性所見で改善が認められたため、スクロースが腎毒性を軽減することを確認した。結果を、表５に示す。

[0078] [表5]

表５　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．１１）投与時の腎臓の病理組織学的検査における毒性所見

投与液量 (mL/kg)	PMO濃度 (mg/mL)	スクロース濃度 (mg/mL)	スクロース/PMO量比	髄質外帯外層の尿細管壊死	髄質外帯内層の出血/うっ血
20*	0	0	0	－	－
20	130	0	0	± (3/5)	± (2/5)
20	130	200	1.538	± (1/5)	－

*：生理食塩水を投与

－：変化なし

±：変化が非常に微弱であり、器官/組織は正常に機能していると考えられるもの

[0079] 以上の結果より、スクロースはアンチセンスオリゴマー投与による腎毒性を軽減することが示された。

［実施例４：スクロースによる析出抑制作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．８、９、１０、１１について、医薬用途への有用性をさらに検証するため、尿中を想定したイオン存在下での析出量及びスクロースによる析出抑制作用を評価した。生体内では、析出が抑制されることにより腎臓へのアンチセンスオリゴマー

の蓄積が軽減するのであれば、腎毒性の軽減につながることが予測される。

試験方法

各アンチセンスオリゴマーを注射用水又はスクロース水溶液に溶解し、尿を想定した塩化カリウム及び塩化ナトリウムを含む水溶液と混和した。評価した条件（溶液の組成）を、表６～１３に示す。混和した溶液をプレートリーダーＩｎｆｉｎｉｔｅ　Ｆ２００　Ｐｒｏ（ＴＥＣＡＮ社製）を用いて３７℃加温条件下、６２０nmでの吸光度を測定した。尿中でのアンチセンスオリゴマーの析出を想定した場合、アンチセンスオリゴマーの濃度、塩化カリウム濃度及び塩化ナトリウム濃度は、アンチセンスオリゴマーの投与量や尿量によって変動するため、配列ごとに注射用水を媒体に用いて析出がみられる条件を設定した。得られた条件から媒体のみをスクロース水溶液に変更した条件で測定し、両条件において得られた吸光度の比較を行った。吸光度が上昇した場合に、析出がみられたと判断し、析出がみられるまでの時間及び吸光度上昇値を評価した。スクロース水溶液を媒体とした場合に、注射用水を媒体とした場合よりも析出がみられるまでの時間が遅い、又は吸光度上昇値が小さい場合に、析出抑制作用があると判定した。

[0080] [表6]

表６　ＰＭＯ No. ８におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
8	16.5	100	77	0
8	16.5	100	77	135
8	16.5	100	77	270

[0081] [表7]

表７　ＰＭＯ No. ８におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
8	14.667	200	154	0
8	14.667	200	154	120

[0082] [表8]

表８　ＰＭＯ No. ８におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
8	16.5	100	77	0
8	16.5	100	77	90
8	16.5	100	77	72
8	16.5	100	77	45

[0083] [表9]

表９　ＰＭＯ No. ９におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
9	12.375	100	77	0
9	12.375	100	77	135
9	12.375	100	77	270

[0084] [表10]

表１０　ＰＭＯ No. ９におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
9	12.375	200	154	0
9	12.375	200	154	120

[0085] [表11]

表１１　ＰＭＯ No. ９におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
9	12.375	100	77	0
9	12.375	100	77	90
9	12.375	100	77	72
9	12.375	100	77	45

[0086]

[表12]

表１２　ＰＭＯ No.１０におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
10	110	1500	385	0
10	110	1500	385	75
10	110	1500	385	120

[0087] [表13]

表１３　ＰＭＯ No.１１におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
11	110	1800	462	0
11	110	1800	462	120
11	110	1800	462	60

[0088] 試験結果

試験した各アンチセンスオリゴマーは、全てスクロース水溶液を媒体とした場合に、析出がみられるまでの時間が遅延し、吸光度の上昇を抑制したことから、スクロースはアンチセンスオリゴマーの析出を抑制することが示された。それぞれの結果について、図５～１２に示す。

[0089] 以上の結果より、スクロースはアンチセンスオリゴマーの尿中での析出を抑制することが示された。

[0090] ［実施例５：スクロース及びトレハロースによる腎毒性軽減作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．１、８、９（配列番号１、８、９）について、医薬用途への有用性を検証するため、腎臓における安全性評価を行った。

[0091] （１）評価方法

ＰＭＯ　Ｎｏ．１、８、９の各アンチセンスオリゴマーを０．９％の塩化ナトリウムを含む注射用水に溶解し、各アンチセンスオリゴマーを表１４～１７に記載の濃度で含みスクロース及びトレハロースを含まない対照の投与液を作製した。

[0092] 次に、ＰＭＯ　Ｎｏ．１のアンチセンスオリゴマーを０．９％の塩化ナトリウムを含む注射用水に溶解し、さらにスクロース（富士フィルム和光純薬製）を生理食塩水で溶解した溶液を加えて、アンチセンスオリゴマーとスクロースを各々表１４に記載の濃度で含む投与液を作製した。また、ＰＭＯ　Ｎｏ．１、８、９の各アンチセンスオリゴマーを０．９％の塩化ナトリウムを含む注射用水に溶解し、さらにトレハロース（富士フィルム和光純薬製）を生理食塩水で溶解した溶液を加えて、各アンチセンスオリゴマーとトレハロースを各々表１５～１７に記載の濃度で含む投与液を作製した。

[0093] これらの投与液をＣ５７ＢＬ／６Ｊ雄性６週齢マウス（Ｎ＝２～３）の尾静脈内へ２０ｍＬ／ｋｇで投与した。翌日、マウスより血清を回収し、血中尿素窒素量（ＢＵＮ）値をウレアーゼ・ＧＩＤＨ法、及び血中クレアチニン（Ｃｒｅ）値を酵素法で、生化学自動分析装置ＪＣＡ－ＢＭ８０６０（日本電子製）を用いて測定した。スクロース及びトレハロースを含まない投与液を投与したマウスと比較して、スクロースあるいはトレハロースを含む投与液を投与したマウスにおいてＢＵＮ値及びＣｒｅ値の両方の値が低下した場合に、腎毒性が軽減したと判定した。

[0094] （２）評価結果

試験した各アンチセンスオリゴマーは、スクロースあるいはトレハロースを含む投与液を投与したマウスにおいて、ＢＵＮ値及びＣｒｅ値の両方の値が低下したため、スクロース及びトレハロースが腎毒性を軽減することを確認した。結果を表１４～１７に示す。

[0095]

[表14]

表１４　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．１）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO 濃度 (mg/mL)	スクロース濃度 (mg/mL)	スクロース/PMO 量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
–	–	–	–	29.4	1.7	0.1	0.02
20	300	0	0	221.8	122.3	0.91	0.69
20	300	300	1	32.5	7.4	0.11	0.03
20	300	1000	3.333	28.3	1.2	0.09	0.02

－：投与なし

[表15]

表１５　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．１）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO 濃度 (mg/mL)	トレハロース濃度 (mg/mL)	トレハロース/PMO 量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
–	–	–	–	29.4	1.7	0.1	0.02
20	300	0	0	221.8	122.3	0.91	0.69
20	300	300	1	32.5	7.4	0.11	0.03
20	300	1000	3.333	28.3	1.2	0.09	0.02
20	300	1500	5	28.3	1.2	0.09	0.02

－：投与なし

[表16]

表１６　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．８）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO 濃度 (mg/mL)	トレハロース濃度 (mg/mL)	トレハロース/PMO 量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
–	–	–	–	26.6	0.8	0.11	0.01
20	500	0	0	251.4	14.6	2.39	0.17
20	500	2000	4	25.8	4.1	0.13	0.03
20	500	4000	8	25.9	2.5	0.09	0.02

－：投与なし

[表17]

表１７　アンチセンスオリゴマー（ＰＭＯ　Ｎｏ．９）投与時のＢＵＮ値及びＣｒｅ値

投与液量 (mL/kg)	PMO 濃度 (mg/mL)	トレハロース濃度 (mg/mL)	トレハロース/PMO 量比	BUN (mg/dL)	BUN (mg/dL) 標準偏差	Cre (mg/dL)	Cre (mg/dL) 標準偏差
–	–	–	–	26.6	0.8	0.11	0.01
20	200	0	0	182.5	43.8	0.64	0.33
20	200	300	1.5	25.6	1.5	0.10	0.03
20	200	1000	5	25.1	1.0	0.12	0.01

－：投与なし

[0096] ［実施例６：スクロースによる析出抑制作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．１、２、７について、医薬用途への有用性をさらに検証するため、尿中を想定したイオン存在下での析出量及びスクロースによる析出抑制作用を評価した。生体内では、析出が抑制されることにより腎臓へのアンチセンスオリゴマーの蓄積が軽減するのであれば、腎毒性の軽減につながることが予測される。

[0097] 試験方法

各アンチセンスオリゴマーを注射用水又はスクロース水溶液に溶解し、尿

を想定した塩化カリウム及び塩化ナトリウムを含む水溶液と混和した。評価した条件（溶液の組成）を、表１８～２０に示す。混和した溶液をプレートリーダーＩｎｆｉｎｉｔｅ　Ｆ２００　Ｐｒｏ（ＴＥＣＡＮ社製）を用いて３７℃加温条件下、６２０nmでの吸光度を測定した。尿中でのアンチセンスオリゴマーの析出を想定した場合、アンチセンスオリゴマーの濃度、塩化カリウム濃度及び塩化ナトリウム濃度は、アンチセンスオリゴマーの投与量や尿量によって変動するため、配列ごとに注射用水を媒体に用いて析出がみられる条件を設定した。得られた条件から媒体のみをスクロース水溶液に変更した条件で測定し、両条件において得られた吸光度の比較を行った。吸光度が上昇した場合に、析出がみられたと判断し、析出がみられるまでの時間及び吸光度上昇値を評価した。スクロース水溶液を媒体とした場合に、注射用水を媒体とした場合よりも析出がみられるまでの時間が遅い、又は吸光度上昇値が小さい場合に、析出抑制作用があると判定した。

[0098] [表18]

表１８　PMO No. 1におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
1	24.75	100	77	0
1	24.75	100	77	135
1	24.75	100	77	45

[表19]

表１９　PMO No. 2におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
2	49.5	100	77	0
2	49.5	100	77	135
2	49.5	100	77	45

[表20]

表２０　ＰＭＯ No. ７におけるスクロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	スクロース (mg/mL)
7	264	400	154	0
7	264	400	154	120
7	264	400	154	80

[0099] 試験結果

試験した各アンチセンスオリゴマーは、全てスクロース水溶液を媒体とした場合に、析出がみられるまでの時間が遅延し、吸光度の上昇を抑制したことから、スクロースはアンチセンスオリゴマーの析出を抑制することが示された。それぞれの結果について、図１３～１５に示す。

[0100] 以上の結果より、スクロースはアンチセンスオリゴマーの尿中での析出を抑制することが示された。

[0101] ［実施例７：トレハロースによる析出抑制作用の評価］

表１に示すアンチセンスオリゴマーのうち、ＰＭＯ　Ｎｏ．１、２、７、８について、医薬用途への有用性をさらに検証するため、尿中を想定したイオン存在下での析出量及びトレハロースによる析出抑制作用を評価した。生体内では、析出が抑制されることにより腎臓へのアンチセンスオリゴマーの蓄積が軽減するのであれば、腎毒性の軽減につながることが予測される。

[0102] 試験方法

各アンチセンスオリゴマーを注射用水又はトレハロース水溶液に溶解し、尿を想定した塩化カリウム及び塩化ナトリウムを含む水溶液と混和した。評価した条件（溶液の組成）を、表２１～２４に示す。混和した溶液をプレートリーダーＩｎｆｉｎｉｔｅ　Ｆ２００　Ｐｒｏ（ＴＥＣＡＮ社製）を用いて３７℃加温条件下、６２０nmでの吸光度を測定した。尿中でのアンチセンスオリゴマーの析出を想定した場合、アンチセンスオリゴマーの濃度、塩化カリウム濃度及び塩化ナトリウム濃度は、アンチセンスオリゴマーの投与量

や尿量によって変動するため、配列ごとに注射用水を媒体に用いて析出がみられる条件を設定した。得られた条件から媒体のみをトレハロース水溶液に変更した条件で測定し、両条件において得られた吸光度の比較を行った。吸光度が上昇した場合に、析出がみられたと判断し、析出がみられるまでの時間及び吸光度上昇値を評価した。トレハロース水溶液を媒体とした場合に、注射用水を媒体とした場合よりも析出がみられるまでの時間が遅い、又は吸光度上昇値が小さい場合に、析出抑制作用があると判定した。

[0103] [表21]

表２１　ＰＭＯ No. １におけるトレハロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	トレハロース (mg/mL)
1	24.75	100	77	0
1	24.75	100	77	45
1	24.75	100	77	90
1	24.75	100	77	135

[表22]

表２２　ＰＭＯ No. ２におけるトレハロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	トレハロース (mg/mL)
2	49.5	100	77	0
2	49.5	100	77	45

[表23]

表２３　ＰＭＯ No. ７におけるトレハロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	トレハロース (mg/mL)
7	264	400	154	0
7	264	400	154	80

[表24]

表２４　ＰＭＯ No. ８におけるトレハロースによる析出抑制評価条件

PMO No.	PMO (mg/mL)	KCl (mmol/mL)	NaCl (mmol/mL)	トレハロース (mg/mL)
8	16.5	100	77	0
8	16.5	100	77	45
8	16.5	100	77	90
8	16.5	100	77	135

[0104] 試験結果

試験した各アンチセンスオリゴマーは、全てトレハロース水溶液を媒体とした場合に、析出がみられるまでの時間が遅延し、吸光度が最大時の上昇幅を抑制したことから、トレハロースはアンチセンスオリゴマーの析出を抑制することが示された。それぞれの結果について、図１６～１９に示す。

以上の結果より、トレハロースはアンチセンスオリゴマーの尿中での析出を抑制することが示された。

請求の範囲

[請求項1] アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、グルコースではない糖を含み、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で使用される、腎毒性軽減剤。

[請求項2] 前記医薬組成物中の糖の濃度が5mg/mL～340mg/mLになる量で使用される、請求項１に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項3] 前記医薬組成物中のアンチセンスオリゴマーの濃度が、0.5mg/mL～200mg/mLである、請求項１又は２に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項4] アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性軽減剤であって、グルコースではない糖を含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30となる量で使用される、腎毒性軽減剤。

[請求項5] アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.1～13.3となる量で使用される、請求項４に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項6] 糖が、二糖類の糖である、請求項１～５のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項7] 糖が、スクロースである、請求項１～６のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

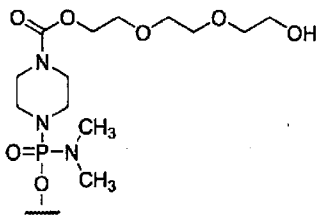
[請求項8] 糖が、トレハロースである、請求項１～６のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項9] アンチセンスオリゴマーがモルホリノオリゴマーである、請求項１～８のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項10] アンチセンスオリゴマーがホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーである、請求項１～９のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項11] アンチセンスオリゴマーの5’末端が、下記化学式（１）～（２）：

[化1]



(1)



(2)

のいずれかの基である、請求項１～１０のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項12] 前記アンチセンスオリゴマーが、その塩基配列中に４つの連続するプリン塩基を含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項13] 前記４つの連続するプリン塩基のうちの少なくとも２つがグアニンである、請求項１２に記載の腎毒性軽減剤。

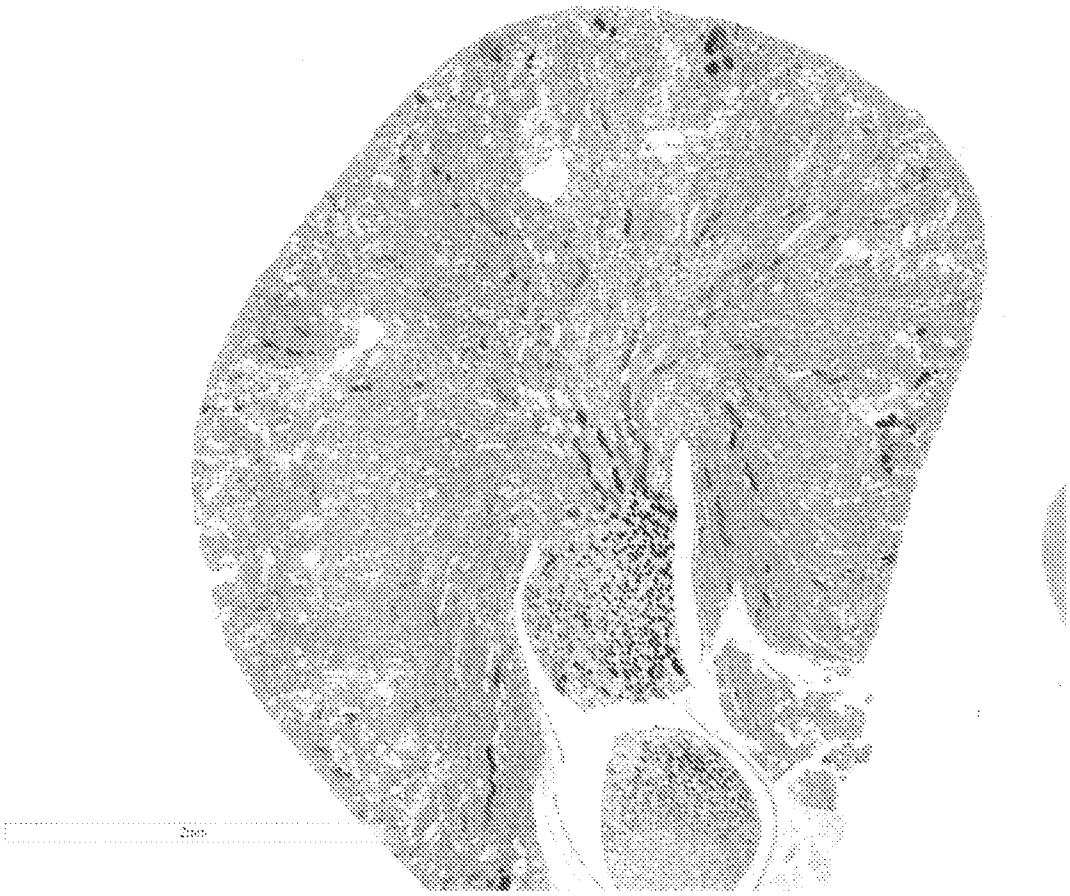
[請求項14] 前記アンチセンスオリゴマーが、配列番号１～１２からなる群から選択される塩基配列を含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の腎毒性軽減剤。

[請求項15] アンチセンスオリゴマーを含む医薬組成物の腎毒性を軽減するための方法であって、グルコースではない糖を、前記医薬組成物中の糖の濃度が1mg/mL～400mg/mLになる量で添加することを含む、方法。

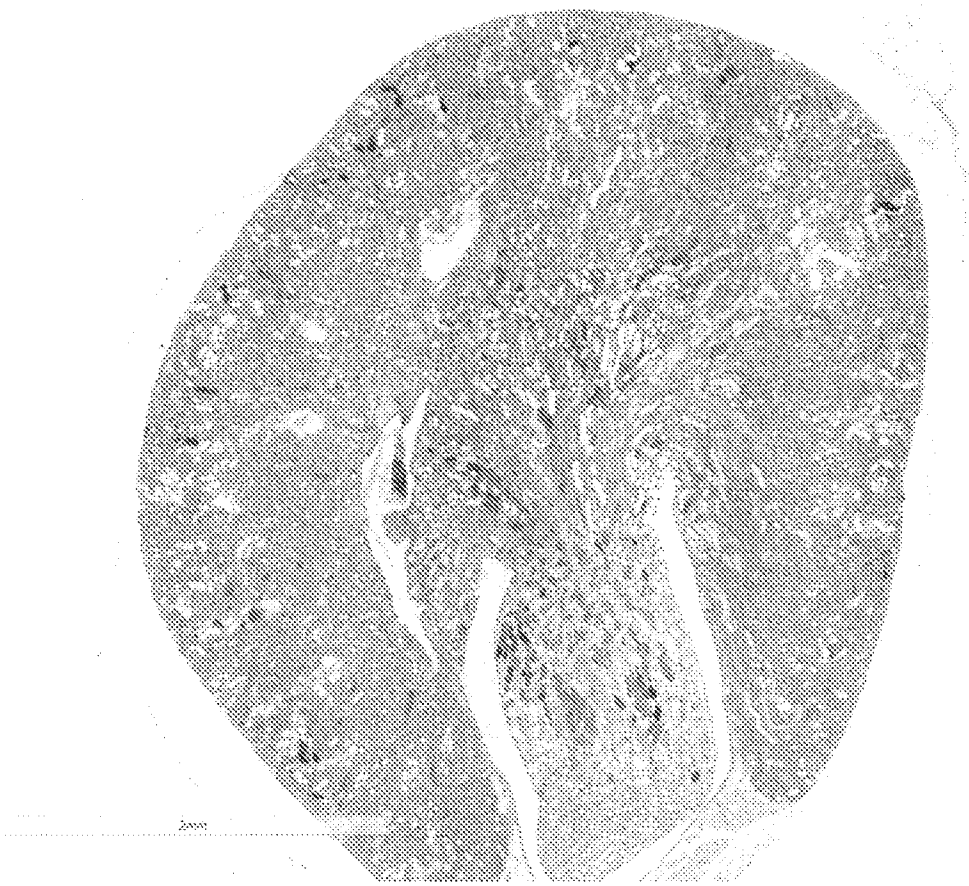
[請求項16] アンチセンスオリゴマーを投与した対象において、アンチセンスオリゴマーの腎毒性を軽減するための方法であって、グルコースではない糖を前記対象に投与することを含み、アンチセンスオリゴマーを1としたときの糖の重量比が0.05～30となる量で投与される、方法。

[請求項17] アンチセンスオリゴマーを含む腎毒性が軽減された医薬組成物であって、グルコースではない糖を含む腎毒性軽減剤を1mg/mL～400mg/mLの濃度で含む、医薬組成物。

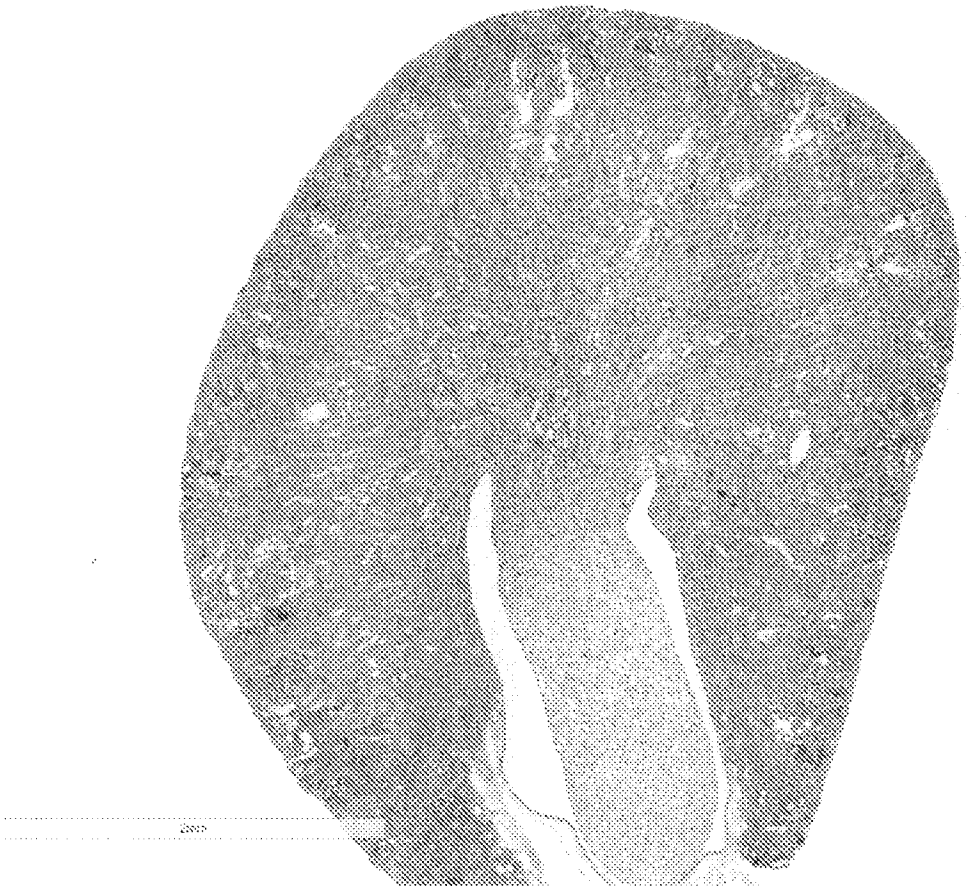
[図1]



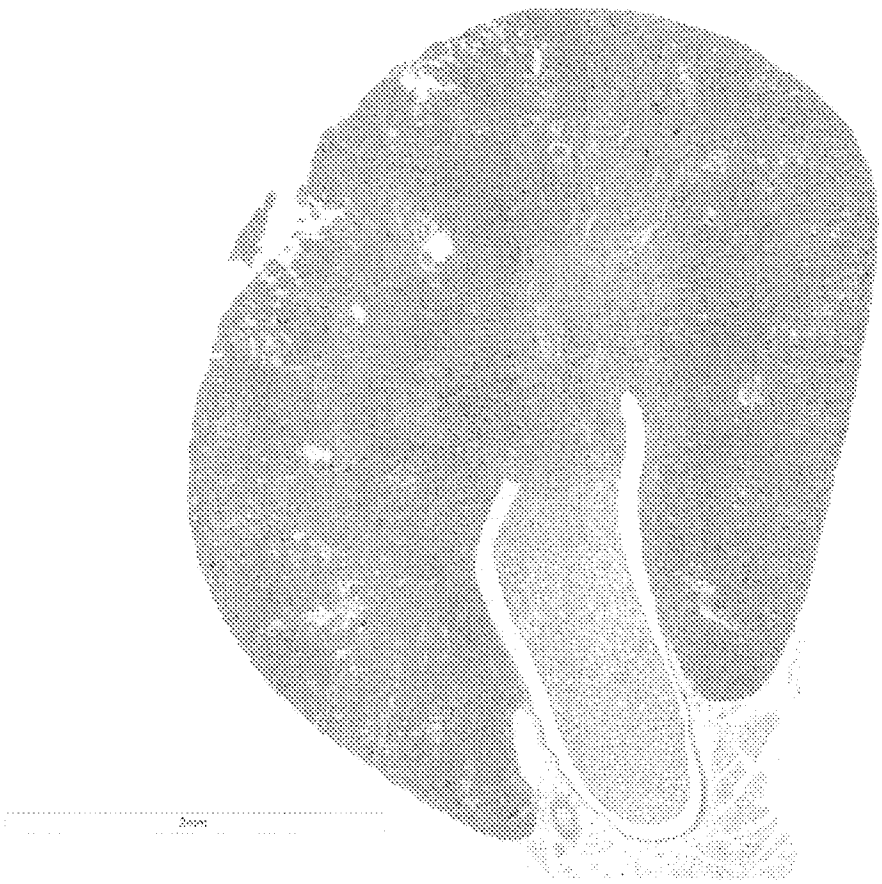
[図2]



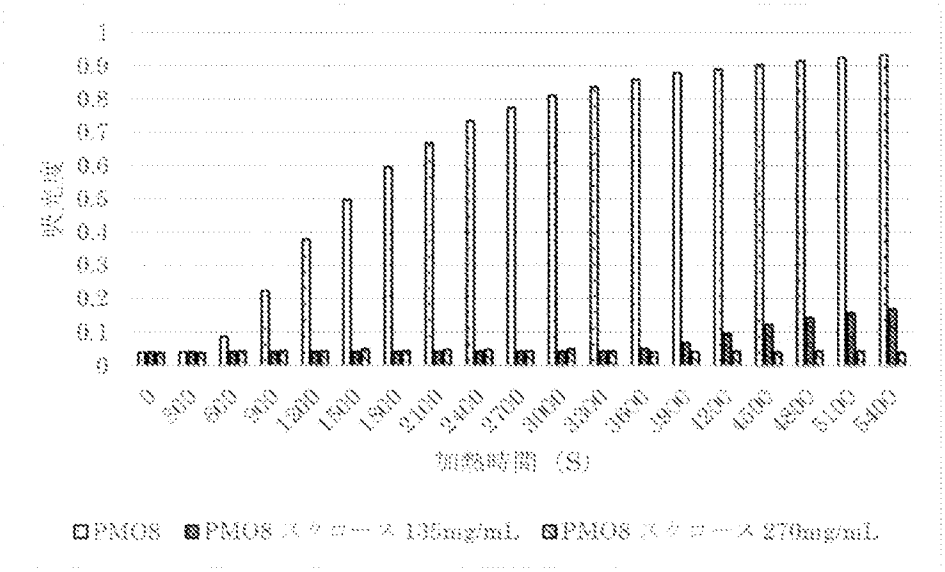
[図3]



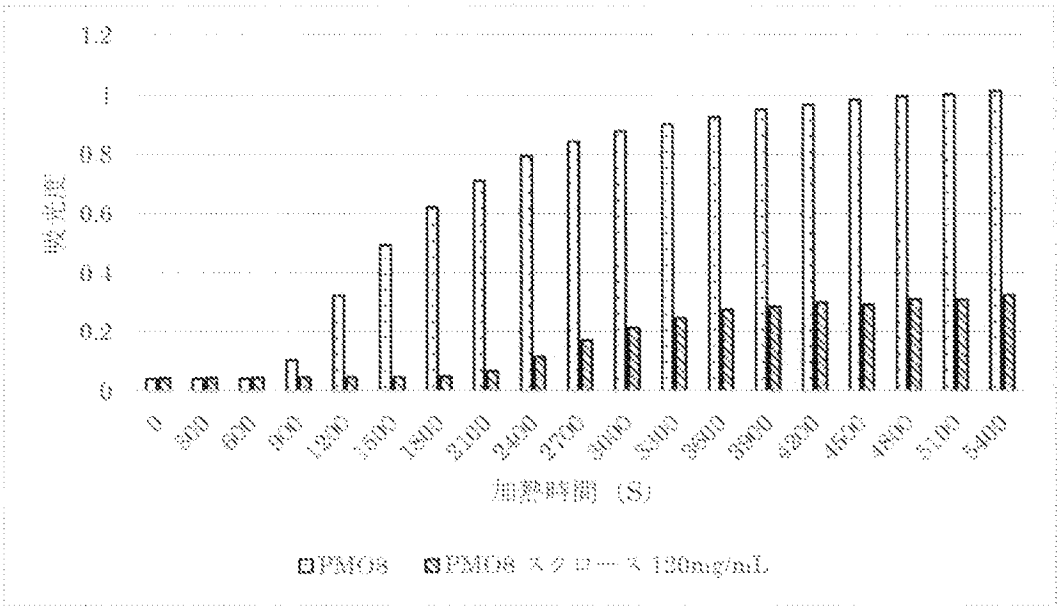
[図4]



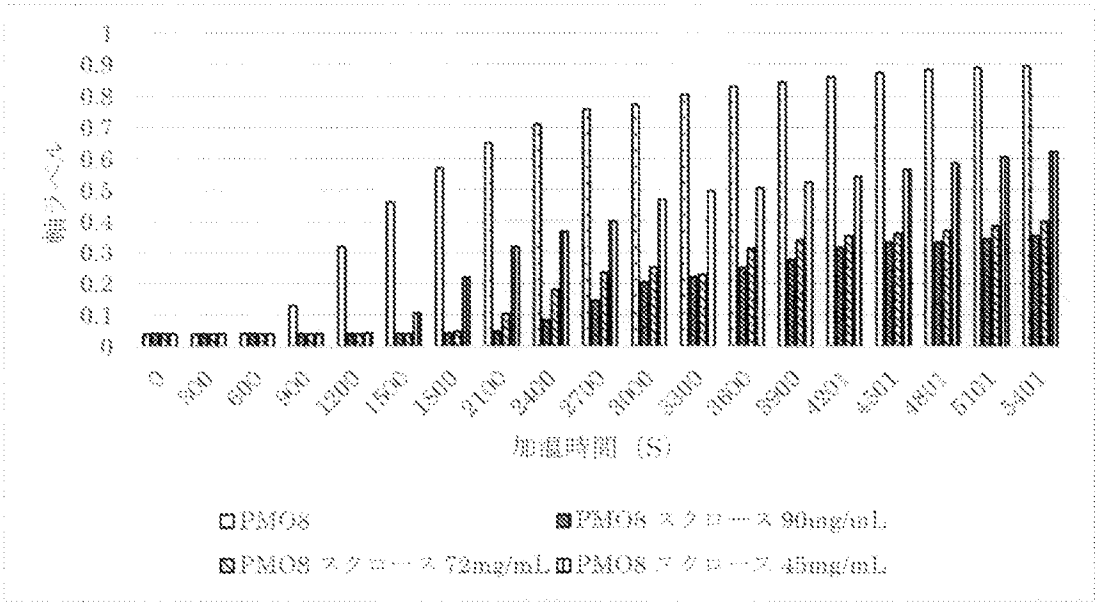
[図5]


1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加熱時間（S）
PMO8
PMO8 スクロース 135mg/mL
PMO8 スクロース 270mg/mL

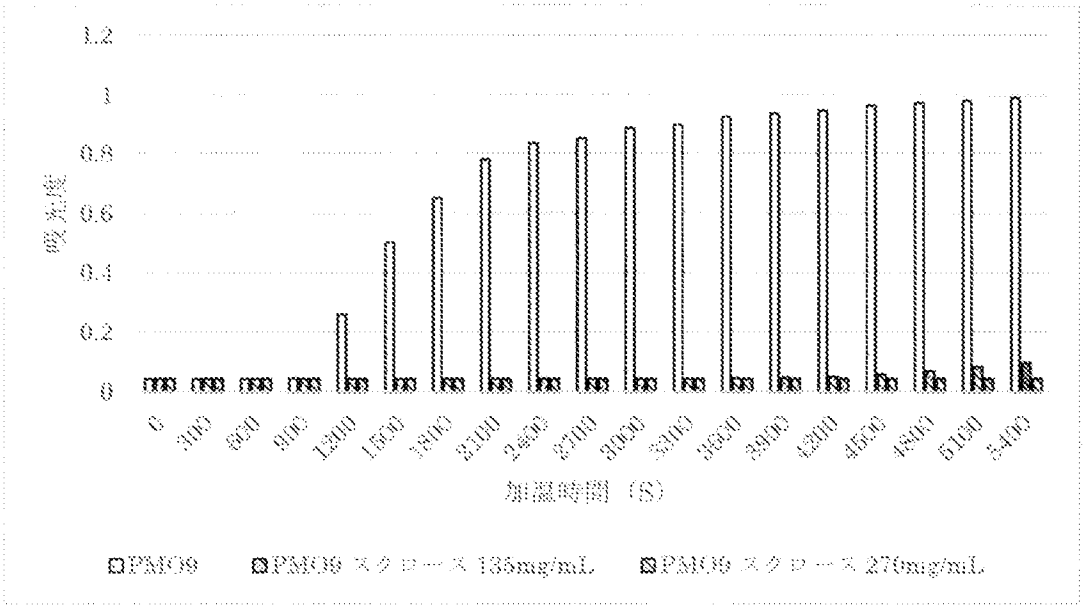
[図6]


1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加熱時間（S）
PMO8
PMO8 スクロース 130mg/mL

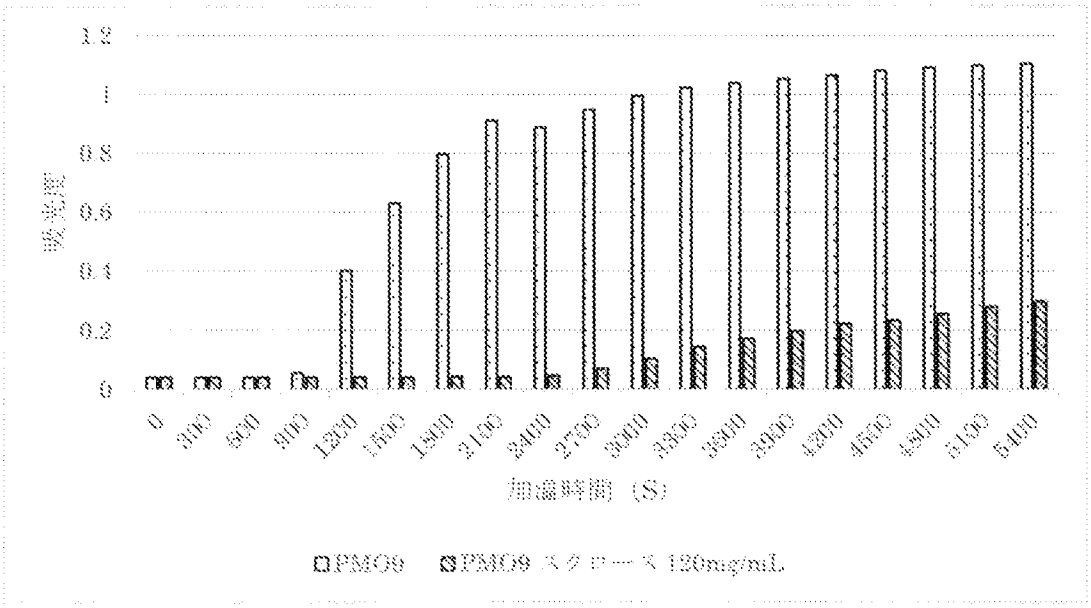
[図7]


1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
輝度ムラ
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4501
4801
5101
5401
加湿時間（S）
PMO8
PMO8 スクロース 90mg/mL
PMO8 スクロース 72mg/mL
PMO8 スクロース 45mg/mL

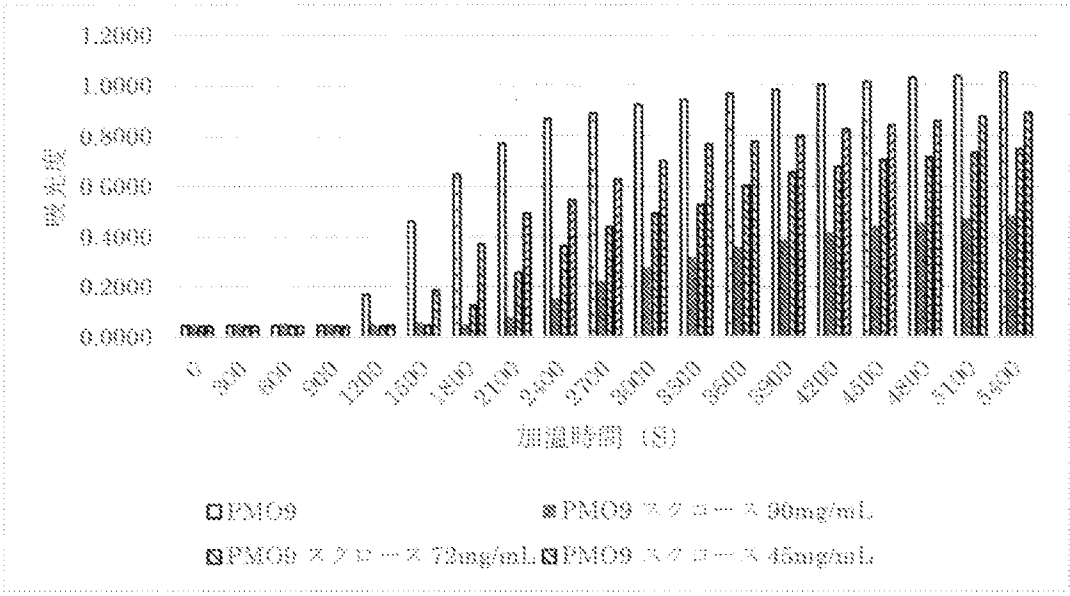
[図8]


1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加湿時間（S）
PMO9
PMO9 スクロース 135mg/mL
PMO9 スクロース 270mg/mL

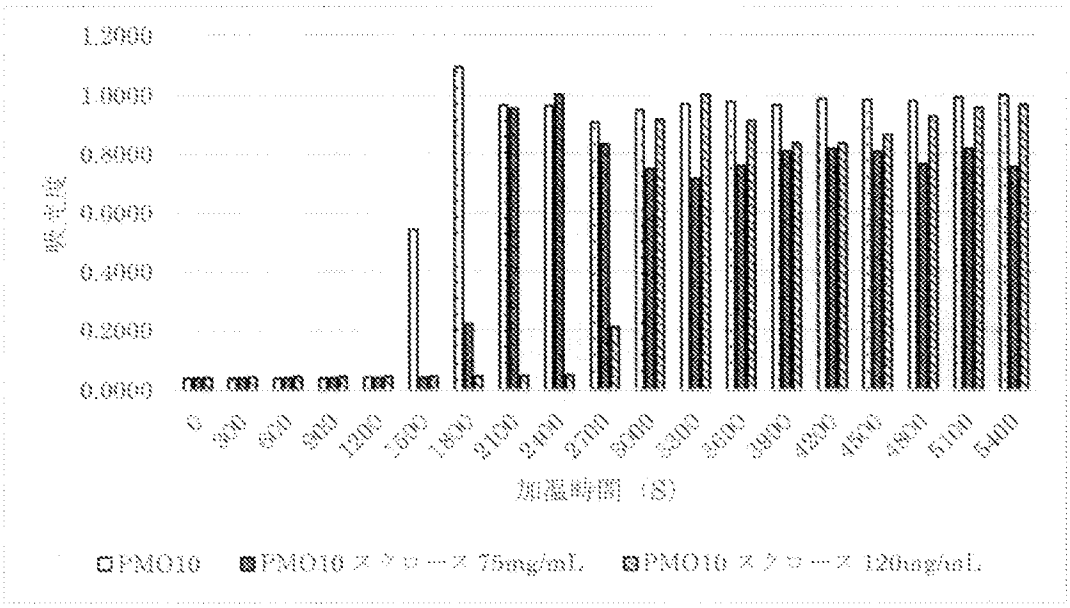
[図9]


1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
蛍光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO9
PMO9 スクロース 120mg/mL

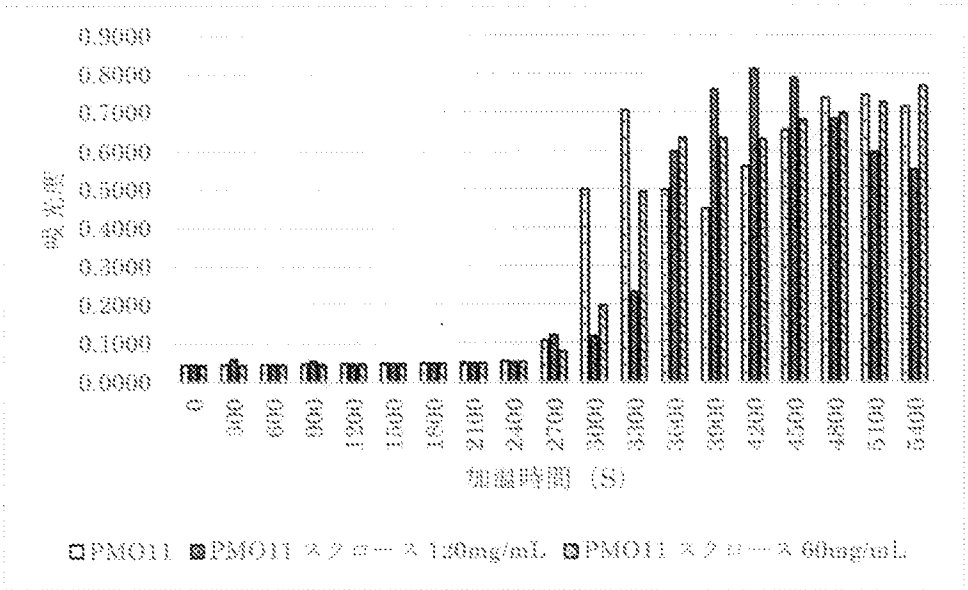
[図10]


1.2000
1.0000
0.8000
0.6000
0.4000
0.2000
0.0000
蛍光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO9
PMO9 スクロース 90mg/mL
PMO9 スクロース 72mg/mL
PMO9 スクロース 45mg/mL

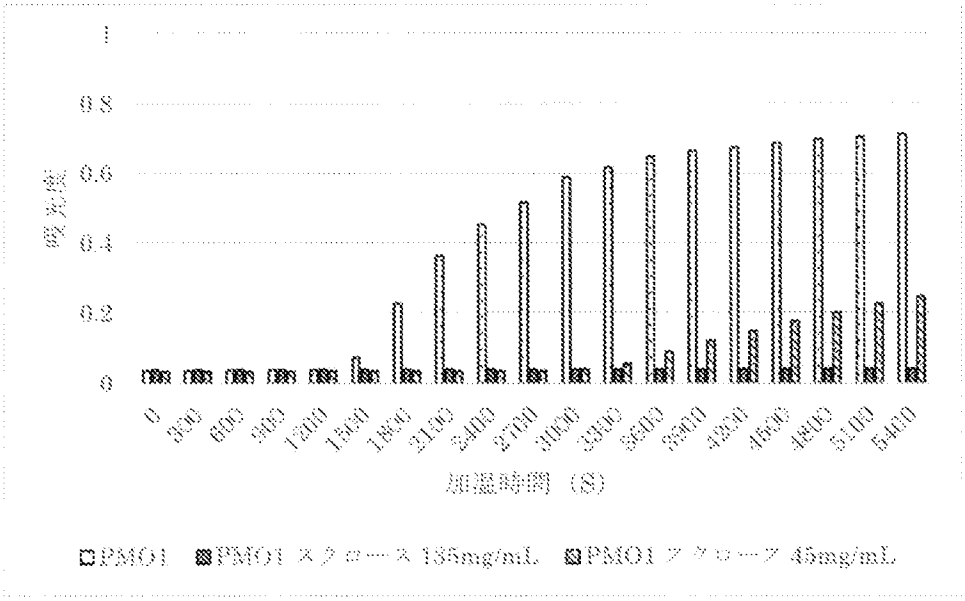
[図11]


1.2000
1.0000
0.8000
0.6000
0.4000
0.2000
0.0000
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO10
PMO10 スクロース 75mg/mL
PMO10 スクロース 120mg/mL

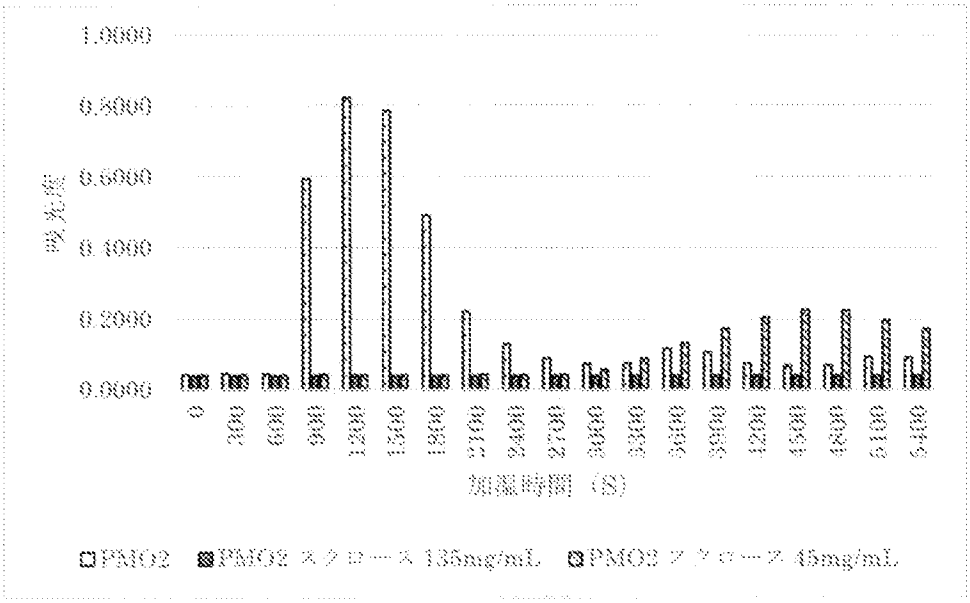
[図12]


0.9000
0.8000
0.7000
0.6000
0.5000
0.4000
0.3000
0.2000
0.1000
0.0000
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO11
PMO11 スクロース 120mg/mL
PMO11 スクロース 60mg/mL

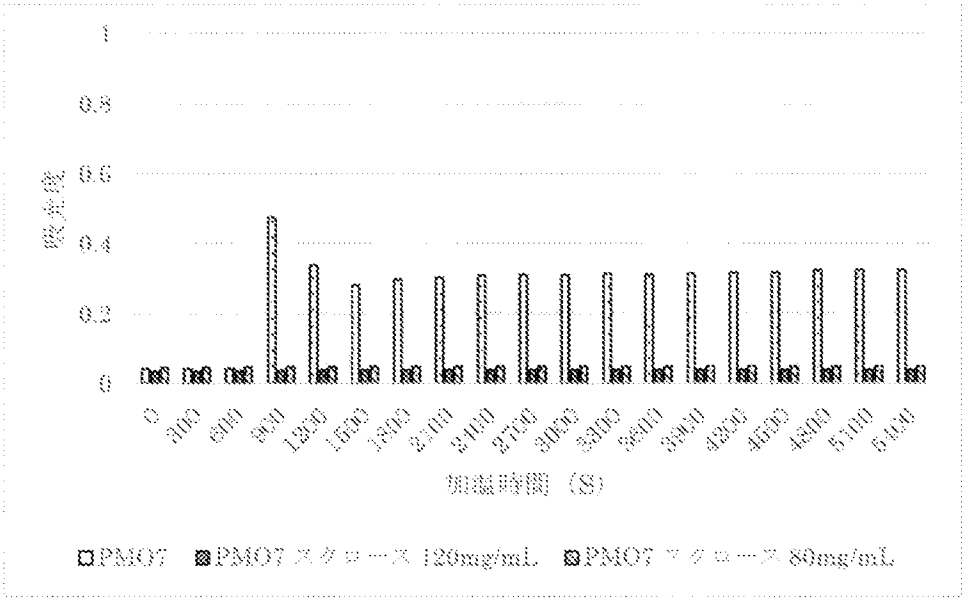
[図13]


1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO1
PMO1 スクロース 135mg/mL
PMO1 グルコース 45mg/mL

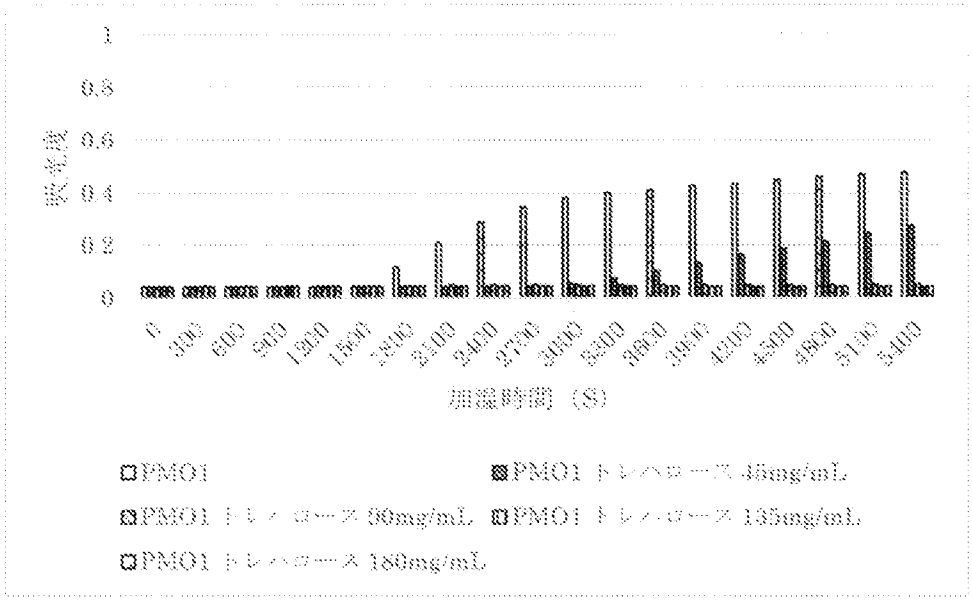
[図14]


1.0000
0.8000
0.6000
0.4000
0.2000
0.0000
吸光度
0
200
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO2
PMO2 スクロース 135mg/mL
PMO2 グルコース 45mg/mL

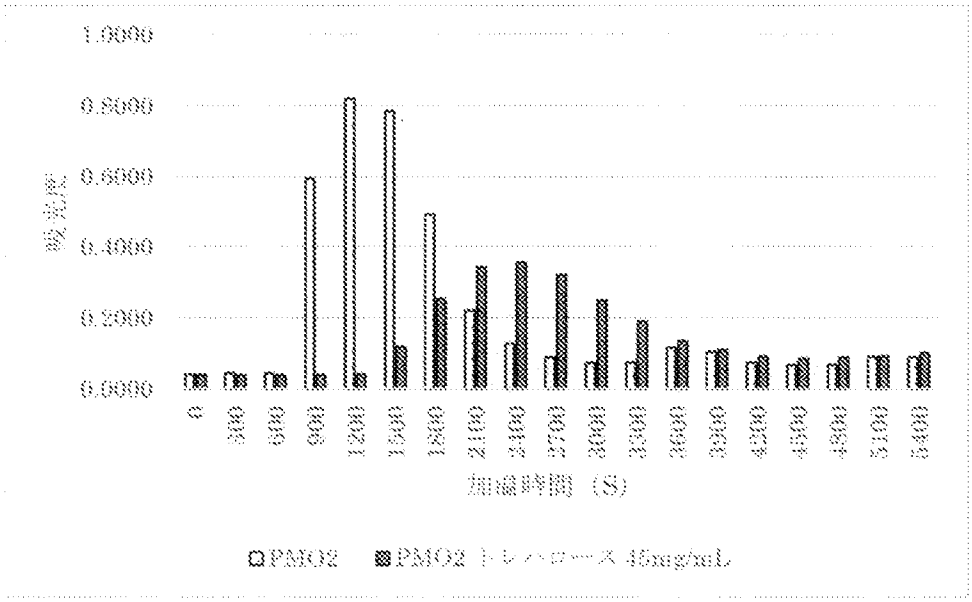
[図15]


1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO7
PMO7 マクロース 120mg/mL
PMO7 マクロース 80mg/mL

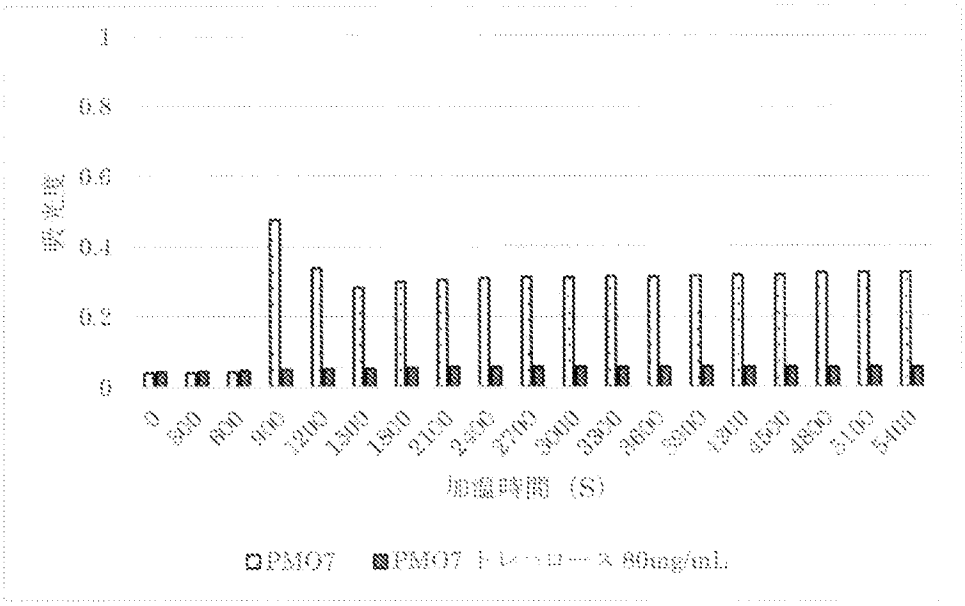
[図16]


1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO1
PMO1 トレハロース 45mg/mL
PMO1 トレハロース 90mg/mL
PMO1 トレハロース 135mg/mL
PMO1 トレハロース 180mg/mL

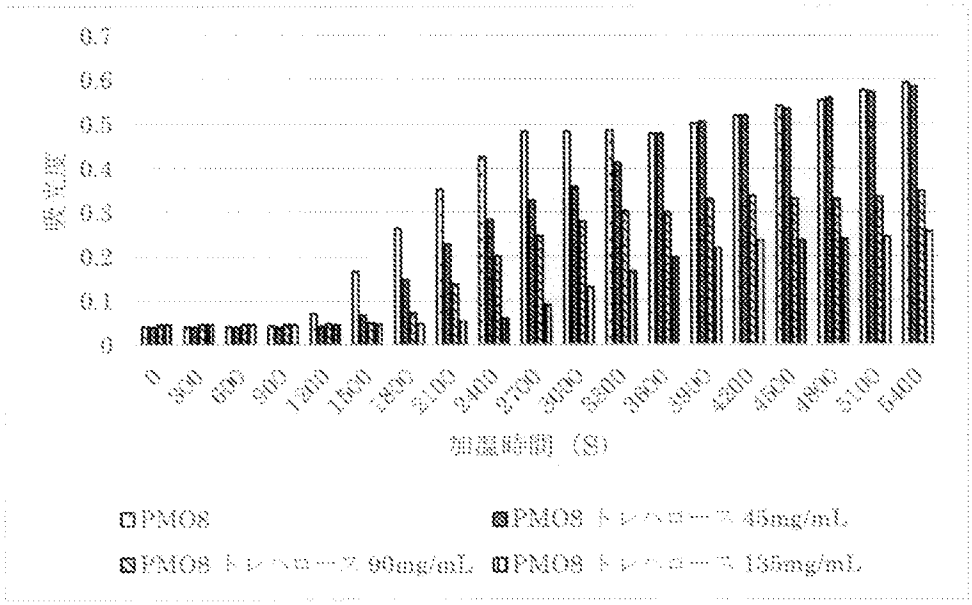
[図17]


1.0000
0.8000
0.6000
0.4000
0.2000
0.0000
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO2
PMO2 トレハロース 46mg/mL

[図18]


1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
吸光度
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO7
PMO7 トレハロース 80mg/mL

[図19]


0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
300
600
900
1200
1500
1800
2100
2400
2700
3000
3300
3600
3900
4200
4500
4800
5100
5400
加温時間（S）
PMO8
PMO8 トレハロース 45mg/mL
PMO8 トレハロース 90mg/mL
PMO8 トレハロース 135mg/mL

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/027104

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/70(2006.01)i; ***A61K 31/7016***(2006.01)i; ***A61K 31/7088***(2006.01)i; ***A61K 31/712***(2006.01)i; ***A61K 31/7125***(2006.01)i; ***A61K 47/26***(2006.01)i; ***A61P 13/12***(2006.01)i; ***A61P 39/02***(2006.01)i; ***C12N 15/113***(2010.01)i
FI: A61K31/70; A61K31/7016; A61K31/7088; A61K31/712; A61K31/7125; A61K47/26; A61P13/12; A61P39/02; C12N15/113 Z ZNA

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/70; A61K31/7016; A61K31/7088; A61K31/712; A61K31/7125; A61K47/26; A61P13/12; A61P39/02; C12N15/113

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2011-528657 A (ONCOGENEX TECHNOLOGIES INC.) 24 November 2011 (2011-11-24) claims, examples	1-7, 11, 12, 15, 17
A	claims, examples	8-10, 13, 14, 16
X	JP 2004-512383 A (INEX PHARMACEUTICALS CORP.) 22 April 2004 (2004-04-22) claims, paragraph [0015], examples	1-7, 9-13, 15, 17
A	claims, paragraph [0015], examples	8, 14, 16
X	JP 2008-520600 A (NOVOSOM AG) 19 June 2008 (2008-06-19) claims, paragraph [0059], examples	1, 2, 6, 7, 9-11, 15, 17
A	claims, paragraph [0059], examples	3-5, 8, 12-14, 16
X	CN 102989007 A (HUZHOU CENTER HOSPITAL) 27 March 2013 (2013-03-27) claims, examples	1-3, 6-8, 11, 15, 17
A	claims, examples	4, 5, 9, 10, 12-14, 16

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
07 September 2022	**20 September 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1868456 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIV.) 29 November 2006 (2006-11-29) claims, examples	1-6, 8, 11, 15, 17
A	claims, examples	7, 9, 10, 12-14, 16
A	JP 2015-91229 A (KOBE UNIV.) 14 May 2015 (2015-05-14) claims, paragraph [0033], examples	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/027104

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

The “form of an Annex C/ST.25 text file” is replaced with the “form of ST.26.”

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/027104

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2011-528657 A	24 November 2011	US 2011/0098343 A1 claims, examples EP 2300019 A2 KR 10-2011-0033194 A CN 102099041 A	
JP 2004-512383 A	22 April 2004	US 2003/0119768 A1 claims, paragraph [0022], examples EP 1330520 A2	
JP 2008-520600 A	19 June 2008	US 2006/0159737 A1 claims, paragraph [0068], examples	
CN 102989007 A	27 March 2013	(Family: none)	
CN 1868456 A	29 November 2006	(Family: none)	
JP 2015-91229 A	14 May 2015	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/027104

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 31/70(2006.01)i; A61K 31/7016(2006.01)i; A61K 31/7088(2006.01)i; A61K 31/712(2006.01)i; A61K 31/7125(2006.01)i; A61K 47/26(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; A61P 39/02(2006.01)i; C12N 15/113(2010.01)i
FI: A61K31/70; A61K31/7016; A61K31/7088; A61K31/712; A61K31/7125; A61K47/26; A61P13/12; A61P39/02; C12N15/113 Z ZNA

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K31/70; A61K31/7016; A61K31/7088; A61K31/712; A61K31/7125; A61K47/26; A61P13/12; A61P39/02; C12N15/113

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 2011-528657 A (オンコジェネックス・テクノロジーズ・インコーポレーテッド) 24.11.2011 (2011-11-24) 特許請求の範囲、実施例	1-7,11,12,15,17
A	特許請求の範囲、実施例	8-10,13,14,16
X	JP 2004-512383 A (アイネックス　ファーマシューティカルズ　コーポレイション) 22.04.2004 (2004-04-22) 特許請求の範囲、［００１５］、実施例	1-7,9-13,15,17
A	特許請求の範囲、［００１５］、実施例	8,14,16
X	JP 2008-520600 A (ノヴォソム アクチェンゲゼルシャフト) 19.06.2008 (2008-06-19) 特許請求の範囲、［００５９］、実施例	1,2,6,7,9-11,15,17
A	特許請求の範囲、［００５９］、実施例	3-5,8,12-14,16

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
07.09.2022	20.09.2022

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
谷合　正光 4C 7879
電話番号 03-3581-1101 内線 3457

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	CN 102989007 A (HUZHOU CENTER HOSPITAL) 27.03.2013 (2013-03-27) 特許請求の範囲、実施例	1-3,6-8,11,15,17
A	特許請求の範囲、実施例	4,5,9,10,12-14,16
X	CN 1868456 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIV.) 29.11.2006 (2006-11-29) 特許請求の範囲、実施例	1-6,8,11,15,17
A	特許請求の範囲、実施例	7,9,10,12-14,16
A	JP 2015-91229 A (国立大学法人神戸大学) 14.05.2015 (2015-05-14) 特許請求の範囲、［００３３］、実施例	1-17

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/027104

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

上記「附属書 C/ST.25テキストファイル形式」は「ST.26形式」と読み替える。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/027104

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2011-528657 A	24.11.2011	US 2011/0098343 A1 特許請求の範囲、実施例 EP 2300019 A2 KR 10-2011-0033194 A CN 102099041 A	
JP 2004-512383 A	22.04.2004	US 2003/0119768 A1 特許請求の範囲、［００２２］、実施例 EP 1330520 A2	
JP 2008-520600 A	19.06.2008	US 2006/0159737 A1 特許請求の範囲、［００６８］、実施例	
CN 102989007 A	27.03.2013	（ファミリーなし）	
CN 1868456 A	29.11.2006	（ファミリーなし）	
JP 2015-91229 A	14.05.2015	（ファミリーなし）	