

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-532961

(P2017-532961A)

(43) 公表日 平成29年11月9日(2017.11.9)

(51) Int.Cl.

**C 12 N 15/113** (2010.01)  
**C 12 N 15/09** (2006.01)  
**A 61 K 31/711** (2006.01)  
**A 61 K 31/7125** (2006.01)  
**A 61 K 48/00** (2006.01)

F 1

C 12 N 15/00  
C 12 N 15/00  
A 61 K 31/711  
A 61 K 31/7125  
A 61 K 48/00

Z N A G

テーマコード (参考)

4 C 08 4  
4 C 08 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-520449 (P2017-520449)  
(86) (22) 出願日 平成27年10月16日 (2015.10.16)  
(85) 翻訳文提出日 平成29年6月12日 (2017.6.12)  
(86) 國際出願番号 PCT/EP2015/074066  
(87) 國際公開番号 WO2016/059239  
(87) 國際公開日 平成28年4月21日 (2016.4.21)  
(31) 優先権主張番号 62/065,598  
(32) 優先日 平成26年10月17日 (2014.10.17)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 511134621  
ノグラ ファーマ リミテッド  
アイルランド国 2 ダブリン, サー  
ジョン ロジャーソンズ クエイ 33  
(74) 代理人 100078282  
弁理士 山本 秀策  
(74) 代理人 100113413  
弁理士 森下 夏樹  
(74) 代理人 100181674  
弁理士 飯田 貴敏  
(74) 代理人 100181641  
弁理士 石川 大輔  
(74) 代理人 230113332  
弁護士 山本 健策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドによる対象を処置するための方法および組成物

## (57) 【要約】

本発明は、S M A D 7 m R N A の多型体（例えば、一塩基多型を含有する多型体）に対するアンチセンスヌクレオチドを使用する炎症性腸疾患（例えば、クローン病および潰瘍性大腸炎）の処置に関する。よって、本発明は、S M A D 7 の多型体を有する対象のための処置方法、および多型を含有するS M A D 7 m R N A 転写物を特異的に標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドに関する。配列番号11のヌクレオチド配列を含むS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

配列番号 1 1 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。

**【請求項 2】**

配列番号 1 3 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドであって、X が、5'-メチル-2'-デオキシシチジンを含むヌクレオチドであり、すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。

**【請求項 3】**

配列番号 1 3 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドであって、X が、5'-メチル-2'-デオキシシチジンを含むヌクレオチドである、S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその相補体。 10

**【請求項 4】**

少なくとも 1 個のヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 3 に記載の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。

**【請求項 5】**

すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 4 に記載の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。

**【請求項 6】**

2'-デオキシリボヌクレオチドが、対応するリボヌクレオチドによって置き換えられている、請求項 3 に記載の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド。 20

**【請求項 7】**

請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドならびに薬学的に許容されるアジュvant および / または賦形剤を含む医薬組成物。

**【請求項 8】**

経口医薬組成物である、請求項 7 に記載の医薬組成物。

**【請求項 9】**

I B D を処置する方法であって、それを必要とする患者に有効量の請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドを投与するステップを含み、該 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、I B D を処置するのに有効である、方法。 30

**【請求項 10】**

前記 I B D が、クローン病である、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記 I B D が、潰瘍性大腸炎である、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記アンチセンスオリゴヌクレオチドが、経口投与される、請求項 9 から 1 1 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 13】**

コンセンサス S M A D 7 ヌクレオチド配列と異なる S M A D 7 の第 1 の多型体の少なくとも 1 つのコピーを担持する炎症性腸疾患 ( I B D ) を有する患者における I B D を処置または管理する方法であって、S M A D 7 の該第 1 の多型体を特異的に標的とする有効量の第 1 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドを該患者に投与するステップを含む方法。 40

**【請求項 14】**

前記多型体が、一塩基多型を含む、請求項 1 3 に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記多型体が、表 1 または表 2 に収載された多型を含む、請求項 1 3 または 1 4 に記載の方法。

**【請求項 16】**

10

20

30

40

50

前記第1の多型体が、配列番号1の核酸ポジション108～128に対応する領域内に多型を含む、請求項13から15のいずれかに記載の方法。

**【請求項17】**

前記第1のSMA D 7多型体が、配列番号1のポジション114においてアデニン(「A」)を含む、請求項15に記載の方法。

**【請求項18】**

前記第1のSMA D 7多型体が、配列番号9の核酸配列(5' - G C T G C G G A G A G A A G G G G C G A C - 3')を含む、請求項16に記載の方法。

**【請求項19】**

前記第1のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドが、配列番号11のヌクレオチド配列(5' - G T C G C C C C T T C T C T C C G C A G C - 3')を含む、請求項18に記載の方法。 10

**【請求項20】**

前記第1のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドが、次の配列：5' - G T X G C C C C T T C T C T C X G C A G C - 3' (配列番号13)を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、Xが、5'-メチル-2'-デオキシシチジンを含むヌクレオチドであり、すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項19に記載の方法。

**【請求項21】**

I B Dを有する患者におけるI B Dを処置または管理するための方法であって、 20

(a) 該患者における1種または複数種のSMA D 7多型体の存在または非存在を解析するステップと、

(b) 該多型体の存在または非存在に基づいて該患者に1種または複数種のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを投与するステップであって、

(i) 第1のSMA D 7多型体が該患者において存在する場合、該第1のSMA D 7多型体を標的とする第1のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを該患者に投与する、または

(ii) 第2のSMA D 7多型体が該患者において存在する場合、該第2のSMA D 7多型体を標的とする第2のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを該患者に投与する、または 30

(iii) 該第1および該第2のSMA D 7多型体が該患者において存在する場合、該第1および該第2のSMA D 7多型体を標的とする該第1および該第2のSMA D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドの一方もしくは両方を該患者に投与する、ステップとを含む方法。

**【請求項22】**

前記多型体が、一塩基多型を含む、請求項21に記載の方法。

**【請求項23】**

前記多型体が、表1または表2に収載された多型を含む、請求項21または22に記載の方法。

**【請求項24】**

前記第1の多型が、配列番号1の核酸ポジション108～128に対応する領域内に起こる、請求項21から23のいずれかに記載の方法。 40

**【請求項25】**

第1のSMA D 7多型バリアントが、配列番号1のポジション114においてグアニン(「G」)を含む、請求項22に記載の方法。

**【請求項26】**

前記第2のSMA D 7多型体が、配列番号1のポジション114においてアデニン(「A」)を含む、請求項22または25に記載の方法。

**【請求項27】**

前記第1のSMA D 7多型体が、配列番号3の核酸配列(5' - G C T G C G G G G A

50

G A A G G G G C G A C - 3' ) を含む、請求項 21 から 26 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 28】**

前記第 1 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、配列番号 5 のヌクレオチド配列 ( 5' - G T C G C C C C T T C T C C C C G C A G C - 3' ) を含む、請求項 27 に記載の方法。

**【請求項 29】**

前記第 1 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、次の配列 : 5' - G T X G C C C C T T C T C C C X G C A G C - 3' ( 配列番号 7 ) を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、X が、5'-メチル - 2' - デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 27 に記載の方法。

10

**【請求項 30】**

前記第 2 の S M A D 7 多型体が、配列番号 9 の核酸配列 ( 5' - G C T G C G G A G A G A A G G G G C G A C - 3' ) を含む、請求項 21 から 29 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 31】**

前記第 2 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、配列番号 11 のヌクレオチド配列 ( 5' - G T C G C C C C T T C T C T C C G C A G C - 3' ) を含む、請求項 30 に記載の方法。

20

**【請求項 32】**

前記第 2 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、次の配列 : 5' - G T X G C C C C T T C T C T C X G C A G C - 3' ( 配列番号 13 ) を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、X が、5'-メチル - 2' - デオキシシチジンを含むヌクレオチドであり、すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である、請求項 30 に記載の方法。

20

**【請求項 33】**

前記 1 種または複数種の S M A D 7 多型体の存在または非存在が、D N A シーケンシングまたは遺伝子 - 発現プロファイリングによって解析される、請求項 21 から 32 のいずれかに記載の方法。

30

**【請求項 34】**

前記 1 種または複数種の S M A D 7 多型体の存在または非存在が、次世代シーケンシングまたは遺伝子発現マイクロアレイ解析を使用して解析される、請求項 21 から 32 に記載の方法。

30

**【請求項 35】**

前記 1 種または複数種の S M A D 7 多型体の存在または非存在が、前記患者から得た試料において解析される、請求項 21 から 32 に記載の方法。

30

**【請求項 36】**

前記試料が、液体、生検試料または組織試料である、請求項 35 に記載の方法。

**【請求項 37】**

前記 I B D が、クローン病 ( C D ) または潰瘍性大腸炎 ( U C ) である、請求項 13 から 36 のいずれかに記載の方法。

40

**【請求項 38】**

前記第 1 および / または前記第 2 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、10 m g / 日 ~ 約 300 m g / 日の用量で I B D を有する前記患者に投与される、請求項 13 から 37 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 39】**

前記第 1 および / または前記第 2 の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドが、約 10 m g / 日、20 m g / 日、約 30 m g / 日、約 40 m g / 日、約 50 m g / 日、約 60 m g / 日、約 70 m g / 日、約 80 m g / 日、約 90 m g / 日、約 100 m g / 日、約 110 m g / 日、約 120 m g / 日、約 130 m g / 日、約 140 m g / 日、約 150 m g / 日、約 160 m g / 日、約 170 m g / 日、約 180 m g / 日、約 190 m g / 日、

50

約200mg/日、約210mg/日、約220mg/日、約230mg/日、約240mg/日、約250mg/日、約260mg/日、約270mg/日、約280mg/日、約290mg/日または約300mg/日の用量で投与される、請求項38に記載の方法。

#### 【請求項40】

前記第1および/または前記第2のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドが、約40mg/日、約80mg/日または約160mg/日の用量で投与される、請求項39に記載の方法。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【技術分野】

10

##### 【0001】

本願は、2014年10月17日に出願した米国仮出願第62/065,598号の利益を主張する。この出願の内容全体は、本明細書中に参考として援用される。

##### 【背景技術】

##### 【0002】

**背景**

炎症性腸疾患（IBD）は、米国においておよそ百万人の患者が患有、胃腸管の慢性炎症性障害である。IBDの2種の最も一般的な形態は、クローン病（CD）および潰瘍性大腸炎（UC）である。CDは、胃腸管全体に罹患し得るが、主に、回腸（小腸の遠位または下部）および大腸に罹患する。UCは、主に、結腸および直腸に罹患する。CDおよびUCの両方のための現在の処置は、アミノサリチレート（例えば、5-アミノサリチル酸、スルファサラジンおよびメサラミン）、抗生物質（例えば、シプロフロキサシンおよびメトロニダゾール）、コルチコステロイド（例えば、ブデソニドまたはプレドニゾン）、免疫抑制剤（例えば、アザチオプリンまたはメトトレキセート）および腫瘍壊死因子（TNF）アンタゴニスト（例えば、インフリキシマブ（Remicade（登録商標）））を含む。これらの治療法に対する患者応答は、疾患重症度と共に変動し、活動性炎症および寛解のサイクルにわたって変動し得る。さらに、IBDのための現在の治療法の多くは、望ましくない副作用を伴う。

##### 【0003】

CDおよびUCの病因は不明であるが、両者共に、腸粘膜の炎症性疾患であると考慮される。近年の研究は、TGF-1が、粘膜性腸炎症を制御することができる強力な免疫調節因子として作用することを実証した。TGF-1は、2個のサブユニット、TGF-1R1およびTGF-1R2を含有するヘテロ二量体膜貫通型セリン/スレオニンキナーゼ受容体に結合する。リガンド結合により、TGF-1R1受容体は、構成的に活性を有するTGF-1R2受容体によってリン酸化され、シグナルが、SMADファミリーに属するタンパク質によって核へと伝播される。活性化されたTGF-1R1は、SMAD2およびSMAD3タンパク質を直接的にリン酸化し、続いてこれらは、SMAD4と相互作用する。SMAD2/SMAD3/SMAD4の複合体は、核へと転位置し、ある特定の遺伝子の転写をモジュレートする。

20

##### 【0004】

さらなる研究が、別のSMADタンパク質、SMAD7も、炎症における役割を果たすことを実証した。細胞内タンパク質であるSMAD7は、TGF-1R1へのSMAD2/SMAD3の結合に干渉し、これらのタンパク質のリン酸化および活性化を防止することが示された。さらに、SMAD7タンパク質の発現増加は、TGF-1媒介性シグナリングの阻害に関連する。IBD患者由来の粘膜試料は、このような患者においてTGF-1媒介性シグナリングが損なわれていることを示す、高レベルのSMAD7および低下したレベルのリン酸化SMAD3によって特徴付けられる。

40

##### 【0005】

近年の研究は、IBDを患有患者を処置するための標的としてSMAD7に焦点を合わせている。かかる治療法は、抗SMAD7アンチセンス治療法を含む。

50

## 【発明の概要】

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

## 概要

本発明は、患者において存在するS M A D 7 の特定の多型体（複数可）に適応されたS M A D 7 に対するアンチセンス治療薬を使用して炎症性腸疾患を有する患者を処置するための方法の開発に基づく。特定の例において、アンチセンス治療薬モンジャーセンによって標的とされるS M A D 7 m R N A の領域に対応するS M A D 7 のコード配列のヌクレオチド108～128内に存在する一塩基多型（参照SNP rs144204026）の存在は、多型を含むモンジャーセンの修飾体を使用してこの領域を標的とすることを望ましいものにすることができる。したがって、本発明は、（例えば、正確にマッチする）多型遺伝子配列に特異的な配列を有するアンチセンス治療薬を使用してS M A D 7 m R N A 配列において多型（複数可）を有する対象を処置するための方法を特色とする。本発明は、多型配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドも特色とする。

10

## 【0007】

したがって、第1の態様では、本発明は、コンセンサスS M A D 7 ヌクレオチド配列と異なるS M A D 7 の第1の多型体の少なくとも1つのコピーを担持する炎症性腸疾患（I B D；例えば、クローン病（C D）または潰瘍性大腸炎（U C））を有する患者におけるI B Dを処置または管理するための方法を特色とする。本方法は、S M A D 7 の前記第1の多型体を特異的に標的とする有効量の第1のS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドを前記患者に投与するステップを含む。S M A D 7 の多型体は、一塩基多型（SNP）を含むことができるおよび/または表1もしくは表2に収載した多型を含むことができる。第1の多型体は、配列番号1の核酸ポジション108～128に対応する領域において多型を含み得（例えば、配列番号1のポジション114におけるアデノシン（「A」）またはグアニン（「G」））、例えば、多型体は、配列番号9の核酸配列

20

## 【化1】

(5'-GCTGCGGAGAGAAGGGCGAC-3')

を含む。一部の実施形態では、第1の多型体は、配列番号3の核酸配列

30

## 【化2】

(5'-GCTGCGGGGGAGAAGGGCGAC-3')

を含むことができる。特定の実施形態では、第1のS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号11のヌクレオチド配列

## 【化3】

(5'-GTCGCCCTTCTCTCCGCAGC-3')

を含み、例えば、第1のS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、次の配列：

## 【化4】

5'-GT~~X~~GCCCTTCTCTCXGCAGC-3' (配列番号13)

40

を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、Xは、5-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である。他の特定の実施形態では、第1のS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号5のヌクレオチド配列

## 【化5】

(5'-GTCGCCCTTCTCCCCGCAGC-3')

を含み、例えば、第1のS M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、次の配列：

## 【化6】

*5'-GTXGCCCTTCTCCXGCAGC-3'* (配列番号 7)

を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、Xは、5-メチル-2' - デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である。

## 【0008】

別の態様では、本発明は、IBDを有する患者におけるIBD(例えば、CDまたはUC)を処置または管理するための方法を特色とする。本方法は、(a)患者における1種または複数種のSMAD7多型体の存在または非存在を解析するステップと、(b)前記多型体の存在または非存在に基づいて1種または複数種のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与するステップであって、(i)第1のSMAD7多型体(例えば、野生型形態)が患者において存在する場合、第1のSMAD7多型体を標的とする第1のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与する、または(ii)第2のSMAD7多型体が患者において存在する場合、第2のSMAD7多型体を標的とする第2のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与する、または(iii)第1および第2のSMAD7多型体が患者において存在する場合、第1および第2のSMAD7多型体を標的とする第1および第2のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドの一方もしくは両方を患者に投与する、ステップとを含む。多型は、SNPを含むことができ、および/または表1もしくは表2に収載した多型を含むことができる。第1の多型は、配列番号1の核酸ポジション108~128に対応する領域において起こり得る(例えば、第1のSMAD7多型バリアントは、配列番号1のポジション114においてグアニン('G')を含む)。第2のSMAD7多型体は、配列番号1のポジション114においてアデニン('A')を含み得る。ある特定の実施形態では、第1のSMAD7多型体は、配列番号3の核酸配列

## 【化7】

(*5'-GCTGCGGGGGAAGGGGCGAC-3'*)

を含む。特定の実施形態では、第1のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号5のヌクレオチド配列

## 【化8】

(*5'-GTCGCCCTTCTCCGCAGC-3'*)

を含み、例えば、第1のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、次の配列：

## 【化9】

*5'-GTXGCCCTTCTCCXGCAGC-3'* (配列番号 7)

を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、Xは、5-メチル-2' - デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である。ある特定の実施形態では、第2のSMAD7多型体は、配列番号9の核酸配列

## 【化10】

(*5'-GCTGCGGAGAGAAGGGGCGAC-3'*)

を含む。特定の実施形態では、第2のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号11のヌクレオチド配列

## 【化11】

(*5'-GTCGCCCTTCTTCCGCAGC-3'*)

を含み、例えば、第2のSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列

10

20

30

40

50

## 【化12】

5'-GTXGCCCTTCTCTCXGCAGC-3' (配列番号13)

を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドホスホロチオエートであり、Xは、5'-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である。1種または複数種のS M A D 7多型体の存在または非存在は、D N Aシーケンシングによって、遺伝子-発現プロファイリングによって、次世代シーケンシングを使用して、または遺伝子発現マイクロアレイ解析を使用して解析することができる。1種または複数種のS M A D 7多型体の存在または非存在は、患者から得た試料(例えば、液体、生検試料、または組織試料)において解析することができる。

10

## 【0009】

上記態様のいずれにおいても、第1および/または第2のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、10mg/日~約300mg/日の用量で、例えば、約10mg/日、20mg/日、約30mg/日、約40mg/日、約50mg/日、約60mg/日、約70mg/日、約80mg/日、約90mg/日、約100mg/日、約110mg/日、約120mg/日、約130mg/日、約140mg/日、約150mg/日、約160mg/日、約170mg/日、約180mg/日、約190mg/日、約200mg/日、約210mg/日、約220mg/日、約230mg/日、約240mg/日、約250mg/日、約260mg/日、約270mg/日、約280mg/日、約290mg/日または約300mg/日の用量でI B Dを有する患者に投与することができる。特定の実施形態では、第1および/または第2のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、約40mg/日、約80mg/日、または約160mg/日の用量で投与される。

20

## 【0010】

別の態様では、本発明は、(a)配列番号11のヌクレオチド配列を含むS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチド、(b)Xが5'-メチル-2'-デオキシシチジンを含むヌクレオチドであり、すべてのヌクレオチド間結合がホスホロチオエート結合である配列番号13のヌクレオチド配列を含むS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチド、もしくは(c)Xが5'-メチル-2'-デオキシシチジンである配列番号13のヌクレオチド配列を含むS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその相補体を特色とする。S M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート結合である少なくとも1個のヌクレオチド間結合を含むことができ、例えば、すべてのヌクレオチド間結合が、ホスホロチオエート結合である。オリゴヌクレオチドは、対応するリボヌクレオチドによって置き換えられた2'-デオキシリボヌクレオチドを有することができる。本発明は、S M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドならびに薬学的に許容されるアジュバントおよび/または賦形剤を含む医薬組成物(例えば、経口投与に適した組成物)も特色とする。

30

## 【0011】

別の態様では、本発明は、I B D(例えば、C DまたはU C)を処置する方法であって、それを必要とする患者に以前の態様の有効量のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを投与する(例えば、経口的に)ステップを含み、S M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドが、I B Dを処置するのに有効である、方法を特色とする。

40

## 【0012】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、標的遺伝子(例えば、S M A D 7の多型体)から転写されるメッセンジャーR N A(m R N A)に相補的な短い合成オリゴヌクレオチド配列である。アンチセンスオリゴヌクレオチド配列は、m R N Aとハイブリダイズし、D N A/R N Aハイブリッド鎖を分解するR N a s e H等、遍在性(ubiquitary)触媒酵素の活性化をもたらし得る二本鎖ハイブリッドを產生し、これにより、タンパク質翻訳を防止する。理論に制約されることなく、本明細書に提供されるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、R N AまたはD N Aとしてのその標的配列とハイブリダイズすることができる。よって、D N A配列が、標的として提供される場合であっても、対応するR N A配列(チ

50

ミンの代わりにウラシルを含む)が含まれる。

#### 【0013】

別の態様では、本発明は、医薬としての使用のための上述したS M A D 7に対するアンチセンス治療薬を提供する。本発明は、炎症性腸疾患を有する患者を処置するための方法における使用のための、患者において存在するS M A D 7の特定の多型体(複数可)に適応されたS M A D 7に対するアンチセンス治療薬を提供する。特定の例において、アンチセンス治療薬モンジャーセンによって標的とされるS M A D 7 m R N Aの領域に対応するS M A D 7のコード配列のヌクレオチド108～128内に存在する一塩基多型(参照SNP rs144204026)の存在は、多型を含むモンジャーセンの修飾体を使用してこの領域を標的とすることを望ましいものにすることができる。本発明は、S M A D 7 m R N A配列において多型(複数可)を有する対象を処置するための方法における使用のためのアンチセンス治療薬であって、(例えば、正確にマッチする)多型遺伝子配列に特異的な配列を有する、使用のためのアンチセンス治療薬も提供する。

10

#### 【0014】

本発明は、コンセンサスS M A D 7ヌクレオチド配列と異なるS M A D 7の第1の多型体の少なくとも1つのコピーを担持する炎症性腸疾患(I B D; 例えば、クローン病(C D)または潰瘍性大腸炎(U C))を有する患者におけるI B Dを処置または管理するための方法における使用のためのS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドも提供する。好ましくは、S M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、S M A D 7の前記第1の多型体を特異的に標的とする。S M A D 7の多型体は、一塩基多型(S N P)を含むことができるおよび/あるいは表1もしくは表2に収載したまたは段落[0007]に収載した多型を含むことができる。

20

#### 【0015】

本発明は、炎症性腸疾患(I B D; 例えば、クローン病(C D)または潰瘍性大腸炎(U C))を有する患者におけるI B Dを処置または管理する方法における使用のためのS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドも提供する。好ましくは、方法は、(a)患者における1種または複数種のS M A D 7多型体の存在または非存在を解析するステップと、(b)前記多型体の存在または非存在に基づいて1種または複数種のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与するステップであって、(i)第1のS M A D 7多型体(例えば、野生型形態)が患者において存在する場合、第1のS M A D 7多型体を標的とする第1のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与する、または(ii)第2のS M A D 7多型体が患者において存在する場合、第2のS M A D 7多型体を標的とする第2のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを患者に投与する、または(iii)第1および第2のS M A D 7多型体が患者において存在する場合、第1および第2のS M A D 7多型体を標的とする第1および第2のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドの一方もしくは両方に患者に投与する、ステップとを含む。多型は、S N Pを含むことができるおよび/あるいは表1もしくは表2に収載したまたは段落[0008]に収載した多型を含むことができる。

30

#### 【0016】

別の態様では、本発明は、I B D(例えば、C DまたはU C)を処置する方法における使用のための上述した有効量のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを提供し、前記方法は、それを必要とする患者に有効量のS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドを投与する(例えば、経口的に)ステップを含み、S M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドは、I B Dを処置するのに有効である。

40

#### 【0017】

コンセンサス配列と異なる遺伝子の多型体を「特異的に標的とする」アンチセンスオリゴヌクレオチドは、コンセンサス配列と比較して、アンチセンスオリゴヌクレオチドの多型体へのハイブリダイゼーションを増大させる、遺伝子または転写物コンセンサス配列と比べて置換を伴うヌクレオチド配列を含む。例えば、標的配列においてグアノシンからアデニンへの(G A)変化を含む多型体は、オリゴヌクレオチドの対応するポジションに

50

おいてシトシンからチミンへの( C → T )置換を含有するアンチセンスオリゴヌクレオチドによって特異的に標的とされるはずである。

【0018】

「コンセンサス」S M A D 7 ヌクレオチド配列は、参照データベースに記載した遺伝子の「野生型」配列に関連したRNA配列またはDNA配列を意味する。例えば、S M A D 7 のコンセンサス配列は、受託番号NM\_005904.3、NM\_001190821.1、NM\_001190822.1およびNM\_001190823.1の下で見出すことができ、これらは、国立バイオテクノロジー情報センター(N C B I)データベースにおけるヒトS M A D 7 の参照転写物である。

【0019】

「処置している」とは、処置されている疾患または状態に関連した少なくとも1つの症状を低下させることを意味する。

【0020】

用語「管理する」、「管理」、「管理している」などは、疾患の症状の重症度もしくは徵候の制御または疾患を処置する手段を一般に意味するように本明細書において使用される。一般に、管理は、所望の薬理学的および/または生理的効果を得るために使用される。効果は、疾患および/または疾患に起因する有害効果の部分的または完全治癒、あるいは疾患の特定の症状または徵候が、患者において起こらないもしくは再び起こらないまたは患者において望ましくないもしくは耐えられないレベルまで上がらないことの保証の観点から治療的であり得る。用語「管理」は、本明細書において使用される場合、哺乳動物、特に、ヒトにおける疾患のいずれかの管理を網羅し、(a)疾患の阻害、すなわち、疾患が重症度もしくは範囲を増加させることの防止、(b)疾患の軽減、すなわち、疾患の部分的もしくは完全緩解を引き起こすこと、または(c)疾患の再発の防止、例えば、疾患の症状の以前の処置成功もしくは疾患の処置後に疾患が活動性状態に戻ることの防止を含む。「管理」は、本明細書において使用される場合、疾患に特異的な処置、例えば、S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドの投与を参照して使用することもできる。

【0021】

本明細書に記載されている通り、「対象」または「患者」は、哺乳動物、靈長類およびヒトが挙げられるがこれらに限定されない、I B D のリスクがある、これを患うまたはこれであると診断されたいずれかの動物を指す。ある特定の実施形態では、対象は、例えば、ネコ、イヌまたはウマ等、非ヒト哺乳動物であり得る。好ましい実施形態では、対象は、ヒト対象である。対象は、I B D を発症する高リスクがあると診断された個体、I B D と診断されたことがある者、I B D を以前に患った者、またはI B D の症状もしくは兆候、例えば、高いC D A I 指数スコアに関して評価された個体であり得る。

【0022】

「I B D の患者」は、本明細書において使用する場合、I B D の症状もしくは徵候のいずれかを患う患者、I B D の症状もしくは徵候のいずれかを患い得る患者、またはI B D を処置するためもしくはその処置を評価するための本発明の方法の利益を得ることができるいずれかの患者を指す。必要としている患者は、I B D を発症するリスクがあると診断された患者、過去にI B D を患つことがある患者、またはI B D を以前に処置されたことがある患者を含むことができる。C R P、T N F および/またはI L 8 発現のレベル増加を伴うI B D を患う個体が、特に関連性がある。一部の実施形態では、I B D の患者は、クローン病(C D )患者である。一部の実施形態では、I B D の患者は、潰瘍性大腸炎(U C )患者である。

【0023】

本明細書において使用される場合、「クローン病活動性指数」または「C D A I」は、Bestら、GASTROENTEROLOGY、70巻：439～444頁(1976年)によって記載される通り、C D を患う患者の進行の査定に使用される測定値または指数を指す。150またはそれを下回るC D A I スコアは一般に、非活動性疾患に関連し、より高いスコアよりも優れた予後を示す。150を上回る値は一般に、活動性疾患に関連し、450を上回る値は

10

20

30

40

50

、極めて重度の疾患に関連する。CDAIスコアは、どの程度十分に患者が治療法に応答しているかの決定に使用することができ、寛解にある患者の同定に使用することができる。ある特定の実施形態では、ベンチマーク臨床応答は、対象が、少なくとも100ポイントのCDAIスコアの減少を示すことを意味する。臨床治験において、150またはそれを下回るCDAIスコアは一般に、寛解に関連する。

#### 【0024】

本明細書において使用される場合、「潰瘍性大腸炎疾患活動性指数」または「UCDAI」は、Sutherlandら、Gastroenterology、92巻：1894～98頁（1987年）によって記載されている通り、UCを患う患者の進行の査定に使用される測定値または指數を指す。UCDAIは、排便回数、直腸出血、結腸内層の外観および疾患活動性に関する医師の評点を含むUCの症状に関する一連の修飾子である。これらの修飾子のそれぞれは、0～3の数を付与され、3が最高疾患活動性である。臨床治験において、寛解は多くの場合、1またはそれに満たないUCDAIスコアとして定義され、改善は、治験の初めにおけるスコアからの3またはそれを超えるポイントの低下である。UCDAIは、どの程度十分に患者が治療法に応答しているか決定するために臨床治験において使用することができ、寛解にある患者を同定するために使用することができる。UC患者における疾患重症度を測定するために他の一般的に使用される指數は、True loveおよびWitts指數、St. Markの指數、単純臨床大腸炎活動性指數（Simple Clinical Colitis Activity Index）（SCCAI）、Lichtiger指數、潰瘍性大腸炎症状スコア（UCSS）およびMayo Clinicスコアを含む。

10

20

30

40

50

#### 【0025】

本明細書において使用される場合、「SMAD7」（CRCS3、FLJ16482、MADH7、MADH8、MAD（マザーズ・アゲンスト・デカペントプレジック（mothers against decapentaplegic）、Drosophila）ホモログ7、MADホモログ8、SMAD、マザーズ・アゲンストDPPホモログ7、マザーズ・アゲンストDPPホモログ8としても公知）は、Entrez GeneID No. 4092によって同定される遺伝子およびそのアレルバリアントによってコードされるヒトタンパク質またはmRNA転写物のうちのいずれかを意味する。

#### 【0026】

本明細書において使用される場合、「CRP」（C反応性タンパク質、ペントラキシン関連；ペントラキシン；およびPTX1としても公知）は、Entrez GeneID No. 1401によって同定される遺伝子およびそのアレルバリアントによってコードされるヒトタンパク質またはmRNA転写物のうちのいずれかを意味する。

#### 【0027】

本明細書において使用される場合、「IL8」（インターロイキン-8（IL-8）；腫瘍壞死因子誘導性遺伝子1；NAF；顆粒球走化性タンパク質1（GCP1）；LECT；LUCT；タンパク質3-10C；ベータ-トロンボグロブリン様タンパク質；好中球活性化ペプチド1；好中球活性化タンパク質1（NAP1；NAP-1）；エモクタキン（Emoctakin）；GCP-1；LYNAP；リンパ球由来好中球活性化ペプチド；肺巨細胞癌由来走化性タンパク質；小型の誘導性サイトカインサブファミリーB、メンバー8；ベータ内皮細胞由来好中球活性化ペプチド；单球由来好中球走化性因子（MDNCF）；单球由来好中球活性化ペプチド（MONAP）；肺胞マクロファージ走化性因子I；C-X-Cモチーフケモカイン8；およびケモカイン（C-X-Cモチーフ）リガンド8（CXCL8）としても公知）は、Entrez GeneID No. 3576によって同定される遺伝子およびそのアレルバリアントによってコードされるヒトタンパク質またはmRNA転写物のうちのいずれかを意味する。

#### 【0028】

本明細書において使用される場合、「TNF」（腫瘍壞死因子、DIF、腫瘍壞死因子リガンドスーパーファミリーメンバー2（TNFSF2）、APC1タンパク質、カケクチン、腫瘍壞死因子A（TNFA）、腫瘍壞死因子-a（TNF-a）および腫瘍壞死

因子 - アルファ ( T N F - アルファ ) としても公知 ) は、 E n t r e z G e n e I D N o . 7 1 2 4 によって同定される遺伝子およびそのアレルバリエントによってコードされるヒトタンパク質または m R N A 転写物のうちのいずれかを意味する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 9 】

詳細な説明

本発明は、 S M A D 7 遺伝子の多型体を有する患者における炎症性腸疾患 ( I B D ; 例えは、クロール病および潰瘍性大腸炎 ) を処置するための方法に関する。このアプローチは、多型を含有する S M A D 7 転写物を標的とし、こうしてこのような患者をより大きい有効性を伴って標的とすることを可能にするように特別に設計されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用する。このアプローチは、以下でより詳細に説明される。

10

S M A D 7 多型バリエント

【 0 0 3 0 】

本発明の方法およびアンチセンスオリゴヌクレオチドは、いずれかの S M A D 7 多型を標的とすることができます。一般に、標的とされる多型は、 m R N A 配列において存在する。 S M A D 7 m R N A において見出される S N P として、表 1 に収載された S N P が挙げられる。表 1 の S M A D 7 S N P の配列は、 D N A 配列として示されているが、当業者は、チミン ( T ) の代わりにウラシル ( U ) を含有する R N A との細胞内のハイブリダイゼーションが起こり得ることを十分に理解するであろう。 S M A D 7 コード配列内の S N P は、表 2 に収載されている。

20

【表 1 - 1 】

表 1

mRNA ポジション	dbSNP rs# クラスター ID	機能	db SNP アレル	タンパク質 残基	コドン ポジション	アミノ酸 ポジション
3044	rs184940583	UTR-3 コンティグ参照	G A			
2795	rs16950112	UTR-3 コンティグ参照	C A			
2721	rs16950113	UTR-3 コンティグ参照	G A			
2650	rs142341429	UTR-3 コンティグ参照	A G			
2505	rs190053734	UTR-3 コンティグ参照	T C			
2470	rs8088297	UTR-3 コンティグ参照	G T			
2434	rs146277807	UTR-3 コンティグ参照	A G			
2433	rs112439201	UTR-3 コンティグ参照	T C			
2285	rs192920849	UTR-3 コンティグ参照	T C			
2179	rs375444823	UTR-3 コンティグ参照	A G			

30

40

【表1-2】

mRNA ポジション	dbSNP rs# クラスター ID	機能	db SNP アレル	タンパク質 残基	コドン ポジション	アミノ酸 ポジション
2162	rs138939641	UTR-3 コンティグ参照	C T			
2071	rs184768687	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1940	rs368597621	UTR-3 コンティグ参照	T C			
1912-1915	rs145497223	UTR-3 コンティグ参照	- AGTG			
1886	rs142857154	UTR-3 コンティグ参照	G C			
1880	rs150355680	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1879	rs189546111	UTR-3 コンティグ参照	T C			
1872-1873	rs35564009	UTR-3 コンティグ参照	G -			
1686-1687	rs370493054	UTR-3 コンティグ参照	T -			
1676	rs74509535	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1611	rs200839822	UTR-3 コンティグ参照	C T			
1591	rs181999754	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1590	rs371306207	UTR-3 コンティグ参照	T C			
1577	rs374817806	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1573	rs369794757	UTR-3 コンティグ参照	A G			
1572	rs201583721	UTR-3 コンティグ参照	T C			
1561-1562	rs35799462	フレームシフト コンティグ参照	C -	Pro [P] Arg [R]	2 2	426 426
1559-1560	rs137881631	フレームシフト コンティグ参照	CCCCCC -	[PP]	3	424
1558	rs76172388	ミスセンス コンティグ参照	C A	Thr [T] Asn [N]	2 2	424 424
1557	rs79500688	ミスセンス コンティグ参照	C A	His [H] Asn [N]	1 1	424 424
1535	rs143029140	シノニマス コンティグ参照	C G	Pro [P] Pro [P]	3 3	416 416
1509	rs200991750	ミスセンス コンティグ参照	C A	Pro [P] Thr [T]	1 1	408 408
1499	rs1052572	シノニマス コンティグ参照	T C	Gly [G] Gly [G]	3 3	404 404
1493	rs3809923	シノニマス コンティグ参照	G C	Gly [G] Gly [G]	3 3	402 402
1492	rs185241768	ミスセンス コンティグ参照	T G	Val [V] Gly [G]	2 2	402 402
1469	rs141213977	シノニマス コンティグ参照	T C	Thr [T] Thr [T]	3 3	394 394
1463	rs200233784	シノニマス コンティグ参照	T C	Gly [G] Gly [G]	3 3	392 392

10

20

30

40

【表1-3】

mRNA ポジション	dbSNP rs# クラスター ID	機能	db SNP アレル	タンパク質 残基	コドン ポジション	アミノ酸 ポジション
1460	rs34151545	シノニマス コンティグ参照	C G	Thr [T] Thr [T]	3 3	391 391
1430	rs373794913	シノニマス コンティグ参照	C T	Asn [N] Asn [N]	3 3	381 381
1400	rs138059462	シノニマス コンティグ参照	T C	Tyr [Y] Tyr [Y]	3 3	371 371
1394	rs199654760	シノニマス コンティグ参照	T C	Phe [F] Phe [F]	3 3	369 369
1373	rs149492644	シノニマス コンティグ参照	T C	Pro [P] Pro [P]	3 3	362 362
1337	rs189328316	シノニマス コンティグ参照	A G	Pro [P] Pro [P]	3 3	350 350
1319	rs143946125	シノニマス コンティグ参照	T C	Ser [S] Ser [S]	3 3	344 344
1260	rs146041673	ミスセンス コンティグ参照	T C	Trp [W] Arg [R]	1 1	325 325
1244	rs201042785	シノニマス コンティグ参照	T C	Cys [C] Cys [C]	3 3	319 319
1240	rs267605193	ミスセンス コンティグ参照	A G	Asp [D] Gly [G]	2 2	318 318
1229	rs139969232	シノニマス コンティグ参照	A G	Arg [R] Arg [R]	3 3	314 314
1196	rs144238958	シノニマス コンティグ参照	A G	Ser [S] Ser [S]	3 3	303 303
1190	rs376439212	シノニマス コンティグ参照	T C	Leu [L] Leu [L]	3 3	301 301
1181	rs3809922	シノニマス コンティグ参照	T C	Leu [L] Leu [L]	3 3	298 298
1133	rs142361633	シノニマス コンティグ参照	T C	Pro [P] Pro [P]	3 3	282 282
1126	rs369444426	ミスセンス コンティグ参照	G A	Arg [R] Gln [Q]	2 2	280 280
1124	rs139836741	シノニマス コンティグ参照	G C	Val [V] Val [V]	3 3	279 279
1100	rs373171169	シノニマス コンティグ参照	A G	Thr [T] Thr [T]	3 3	271 271
1099	rs147899611	ミスセンス コンティグ参照	T C	Met [M] Thr [T]	2 2	271 271
1059	rs201671248	シノニマス コンティグ参照	A C	Arg [R] Arg [R]	1 1	258 258
1054	rs376228389	ミスセンス コンティグ参照	A G	Glu [E] Gly [G]	2 2	256 256
1001	rs376292728	シノニマス コンティグ参照	A G	Thr [T] Thr [T]	3 3	238 238
984	rs141795046	ミスセンス コンティグ参照	A G	Thr [T] Ala [A]	1 1	233 233
983	rs145552668	シノニマス コンティグ参照	T C	Ser [S] Ser [S]	3 3	232 232
953-954	rs34000389	フレームシフト コンティグ参照	G -	Gly [G] Ala [A]	3 3	223 223
951	rs147707423	ミスセンス コンティグ参照	G A	Ala [A] Thr [T]	1 1	222 222
932	rs201983335	シノニマス コンティグ参照	A G	Pro [P] Pro [P]	3 3	215 215

10

20

30

40

【表1-4】

mRNA ポジション	dbSNP rs# クラスター ID	機能	db SNP アレル	タンパク質 残基	コドン ポジション	アミノ酸 ポジション
911	rs145686330	シノニマス シノニマス コンティグ参照	A T C	Pro [P] Pro [P] Pro [P]	3 3 3	208 208 208
909	rs113899618	ミスセンス コンティグ参照	T C	Ser [S] Pro [P]	1 1	208 208
895	rs375674516	ミスセンス コンティグ参照	G A	Gly [G] Glu [E]	2 2	203 203
845	rs368575800	シノニマス コンティグ参照	A C	Ile [I] Ile [I]	3 3	186 186
837	rs148818548	ミスセンス コンティグ参照	A G	Arg [R] Gly [G]	1 1	184 184
755	rs372890425	シノニマス コンティグ参照	T C	Pro [P] Pro [P]	3 3	156 156
749	rs375582985	シノニマス コンティグ参照	A G	Ser [S] Ser [S]	3 3	154 154
731	rs137930330	シノニマス コンティグ参照	A G	Gln [Q] Gln [Q]	3 3	148 148
701	rs369145467	シノニマス コンティグ参照	A G	Pro [P] Pro [P]	3 3	138 138
681	rs373908933	シノニマス コンティグ参照	T C	Leu [L] Leu [L]	1 1	132 132
434	rs368427729	シノニマス コンティグ参照	A G	Gly [G] Gly [G]	3 3	49 49
402	rs144204026	ミスセンス コンティグ参照	A G	Arg [R] Gly [G]	1 1	39 39
277	rs374325868	UTR-5 コンティグ参照	T C			
258	rs74507050	UTR-5 コンティグ参照	G A			

10

20

30

40

【表2-1】

1561-1562	rs35799462	フレームシフト コンティグ参照	C -	Pro [P] Arg [R]	2 2	426 426
1559-1560	rs137881631	フレームシフト コンティグ参照	CCCCCC	[PP]	3	424
1558	rs76172388	ミスセンス コンティグ参照	C A	Thr [T] Asn [N]	2 2	424 424
1557	rs79500688	ミスセンス コンティグ参照	C A	His [H] Asn [N]	1 1	424 424
1535	rs143029140	シノニマス コンティグ参照	C G	Pro [P] Pro [P]	3 3	416 416
1509	rs200991750	ミスセンス コンティグ参照	C A	Pro [P] Thr [T]	1 1	408 408
1499	rs1052572	シノニマス コンティグ参照	T C	Gly [G] Gly [G]	3 3	404 404
1493	rs3809923	シノニマス コンティグ参照	G C	Gly [G] Gly [G]	3 3	402 402
1492	rs185241768	ミスセンス コンティグ参照	T G	Val [V] Gly [G]	2 2	402 402

表2

【表2-2】

1469	rs141213977	シノニマス コンティグ参照	T	Thr [T]	3	394
			C	Thr [T]	3	394
1463	rs200233784	シノニマス コンティグ参照	T	Gly [G]	3	392
			C	Gly [G]	3	392
1460	rs34151545	シノニマス コンティグ参照	C	Thr [T]	3	391
			G	Thr [T]	3	391
1430	rs373794913	シノニマス コンティグ参照	C	Asn [N]	3	381
			T	Asn [N]	3	381
1400	rs138059462	シノニマス コンティグ参照	T	Tyr [Y]	3	371
			C	Tyr [Y]	3	371
1394	rs199654760	シノニマス コンティグ参照	T	Phe [F]	3	369
			C	Phe [F]	3	369
1373	rs149492644	シノニマス コンティグ参照	T	Pro [P]	3	362
			C	Pro [P]	3	362
1337	rs189328316	シノニマス コンティグ参照	A	Pro [P]	3	350
			G	Pro [P]	3	350
1319	rs143946125	シノニマス コンティグ参照	T	Ser [S]	3	344
			C	Ser [S]	3	344
1260	rs146041673	ミスセンス コンティグ参照	T	Trp [W]	1	325
			C	Arg [R]	1	325
1244	rs201042785	シノニマス コンティグ参照	T	Cys [C]	3	319
			C	Cys [C]	3	319
1240	rs267605193	ミスセンス コンティグ参照	A	Asp [D]	2	318
			G	Gly [G]	2	318
1229	rs139969232	シノニマス コンティグ参照	A	Arg [R]	3	314
			G	Arg [R]	3	314
1196	rs144238958	シノニマス コンティグ参照	A	Ser [S]	3	303
			G	Ser [S]	3	303
1190	rs376439212	シノニマス コンティグ参照	T	Leu [L]	3	301
			C	Leu [L]	3	301
1181	rs3809922	シノニマス コンティグ参照	T	Leu [L]	3	298
			C	Leu [L]	3	298
1133	rs142361633	シノニマス コンティグ参照	T	Pro [P]	3	282
			C	Pro [P]	3	282
1126	rs369444426	ミスセンス コンティグ参照	G	Arg [R]	2	280
			A	Gln [Q]	2	280
1124	rs139836741	シノニマス コンティグ参照	G	Val [V]	3	279
			C	Val [V]	3	279
1100	rs373171169	シノニマス コンティグ参照	A	Thr [T]	3	271
			G	Thr [T]	3	271
1099	rs147899611	ミスセンス コンティグ参照	T	Met [M]	2	271
			C	Thr [T]	2	271
1059	rs201671248	シノニマス コンティグ参照	A	Arg [R]	1	258
			C	Arg [R]	1	258
1054	rs376228389	ミスセンス コンティグ参照	A	Glu [E]	2	256
			G	Gly [G]	2	256
1001	rs376292728	シノニマス コンティグ参照	A	Thr [T]	3	238
			G	Thr [T]	3	238
984	rs141795046	ミスセンス コンティグ参照	A	Thr [T]	1	233
			G	Ala [A]	1	233
983	rs145552668	シノニマス コンティグ参照	T	Ser [S]	3	232
			C	Ser [S]	3	232
953-954	rs34000389	フレームシフト コンティグ参照	G	Gly [G]	3	223
			-	Ala [A]	3	223
951	rs147707423	ミスセンス コンティグ参照	G	Ala [A]	1	222
			A	Thr [T]	1	222
932	rs201983335	シノニマス コンティグ参照	A	Pro [P]	3	215
			G	Pro [P]	3	215

10

20

30

40

## 【表2-3】

911	rs145686330	シノニマス シノニマス コンティグ参照	A T C	Pro [P] Pro [P] Pro [P]	3 3 3	208 208 208
909	rs113899618	ミスセンス コンティグ参照	T C	Ser [S] Pro [P]	1 1	208 208
895	rs375674516	ミスセンス コンティグ参照	G A	Gly [G] Glu [E]	2 2	203 203
845	rs368575800	シノニマス コンティグ参照	A C	Ile [I] Ile [I]	3 3	186 186
837	rs148818548	ミスセンス コンティグ参照	A G	Arg [R] Gly [G]	1 1	184 184
755	rs372890425	シノニマス コンティグ参照	T C	Pro [P] Pro [P]	3 3	156 156
749	rs375582985	シノニマス コンティグ参照	A G	Ser [S] Ser [S]	3 3	154 154
731	rs137930330	シノニマス コンティグ参照	A G	Gln [Q] Gln [Q]	3 3	148 148
701	rs369145467	シノニマス コンティグ参照	A G	Pro [P] Pro [P]	3 3	138 138
681	rs373908933	シノニマス コンティグ参照	T C	Leu [L] Leu [L]	1 1	132 132
434	rs368427729	シノニマス コンティグ参照	A G	Gly [G] Gly [G]	3 3	49 49
402	rs144204026	ミスセンス コンティグ参照	A G	Arg [R] Gly [G]	1 1	39 39

10

20

30

40

50

## 【0031】

## 対象におけるS M A D 7 多型バリエントの存在の決定

S M A D 7 多型バリエントの存在は、当技術分野で公知のいずれかの方法を使用して達成することができる。一般に、存在は、患者から採取した試料において検出される。患者におけるS M A D 7 多型の存在の同定は、ハイブリダイゼーションベース技法、シーケンシング技法およびアレイベース技法を含めた標準技法を使用して達成することができる。

## 【0032】

S M A D 7 多型バリエントの存在の決定は、いずれかの生体試料において検出することができ、S M A D 7 をコードする核酸（例えば、ゲノムD N A またはR N A ）を含有する患者または試験対象から得られるいずれかの検体であり得る。例示的な試料として、組織生検、細胞、体液（例えば、血液、血清、血漿、精液、尿、唾液、羊水、または脳脊髄液）が挙げられる。

## 【0033】

得られると、S M A D 7 多型バリエントの存在を、いずれかの適切な方法を使用して検出することができる。一部の実施形態では、ハイブリダイゼーションアプローチが使用される。ハイブリダイゼーションアプローチとしては、動的アレル特異的ハイブリダイゼーション（Howellら、Nat. Biotechnol.、17巻：87頁、1999年）が挙げられる。このアプローチは、多型を含まない配列と比較した多型を含有する配列間の示差融解温度（differential melting temperature）に依拠する。簡単に言えば、目的のD N A 領域がビオチン化（biotinylated）プライマーを使用してP C R によって増幅される。得られるP C R 産物は、ストレプトアビジン支持体に結合し、D N A デュプレックス結合蛍光性分子の存在下でアレル特異的プローブにハイブリダイズされる。デュプレックスは加熱され、デュプレックスが変性する温度が蛍光の損失に基づいて決定される。変性温度は、多型の存在または非存在を決定する。

## 【0034】

S N P を検出するための他のアプローチとして、Mhlangaら、Methods、25巻：463頁、2001年に記載された分子ビーコンの使用が挙げられる。このアプローチでは、システムループ構造を含有する一本鎖プローブの使用を伴う。構造のループ部分は、配列が正

確にマッチするとき当該のゲノムDNAにハイブリダイズすることができる配列を含有し、ステムの末端は、それぞれフルオロフォアおよびクエンチャーを含有する。ビーコンがその標的配列に結合するとき、フルオロフォアおよびクエンチャーが分離され、こうして蛍光が可能になり、それは、SNPの存在を示す。

#### 【0035】

SNPの存在を同定するための別のハイブリダイゼーションアプローチは、この目的のために設計された核酸アレイの使用である。例えば、ゲノムワイドヒトSNPアレイ6.0(Affymetrix、Part # 901182)を使用して、患者から採取した試料におけるある特定のSNPの存在を検出することができる。

#### 【0036】

SNPの同定のためのさらに他のアプローチとして、配列アプローチが挙げられる。ハイスループットゲノムスクリーニング(例えば、いわゆる「次世代」シーケンシング)が技術的に実現可能となるので、かかるアプローチも患者内のSNPの存在を同定するのに使用することができる。これらのアプローチとして、単分子リアルタイムシーケンシング(Pacific Biosciences)、イオン半導体(イオントレント配列決定; Life Technologies)、ピロシーケンシング(454 Life Sciences)、合成によるシーケンシング(Illumina Inc.)およびライゲーションによるシーケンシング(SOLIDシーケンシング; Applied Biosystems)が挙げられる。

#### 【0037】

**患者集団**  
アンチセンスオリゴヌクレオチドは、SMAD7活性の減少が望ましいいすれかの患者に投与することができる。SMAD7は、潰瘍性大腸炎およびクローン病等、炎症性腸障害における炎症に関連することが公知であるため、かかる患者におけるSMAD7活性を低下させることが有益であり得る。

#### 【0038】

本発明の組成物および方法を使用して、ステロイド抵抗性である患者、ステロイド依存性である患者、または別の抗SMAD7治療法に対して抵抗性(例えば、患者のゲノムにおいて存在する対応するヌクレオチドの少なくとも1種と比べてヌクレオチドミスマッチを有するオリゴヌクレオチドによる処置に対して抵抗性)である患者を処置することができる。

#### 【0039】

特定の実施形態では、患者は、IBDまたは炎症に関連するバイオマーカーの変更されたレベルを有すると同定された対象である。例えば、患者は、正常対照または正常対照値と比べて上昇したレベルのインターロイキン-8(IL-8)、腫瘍壞死因子-(TNF-)またはC反応性タンパク質(CRP)を有することができる。

#### 【0040】

特定の実施形態では、患者が抗SMAD7治療法に対する応答性のある程度の見込みを示す場合、患者が選択される。抗SMAD7治療法に対する応答性の見込みは、一部には、IBDの患者におけるCRP、TNF および/またはIL8のレベル、例えば、CRP、TNF および/またはIL8の既存のレベル(すなわち、SMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドの初期用量の投与前の患者におけるCRP、TNF および/またはIL8のレベル)あるいはSMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドの初期用量または1もしくは複数のその後の用量の後に決定されるCRP、TNF および/またはIL8のレベルの決定を前提とする。例えば、本発明の一部の実施形態では、患者は、絶対もしくは相対CRP、TNF および/もしくはIL8レベル、またはCRP、TNF および/もしくはIL8レベルの変化の検出または解析後に、SMAD7アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置またはさらに別の処置のために選択される。IBDの患者におけるCRP、TNF および/またはIL8のレベルは、CRP、TNF および/またはIL8の正常レベル、例えば、マッチした対照群におけるCRP、TNF および/もし

10

20

30

40

50

くは I L 8 レベル中央値または C R P 、 T N F および / もしくは I L 8 の絶対レベルによって定義される C R P 、 T N F および / または I L 8 の正常レベルと比較することができる。ある特定の実施形態では、血液中の C R P レベルが、 3 . 0 m g / m l 超、 3 . 5 m g / m l 超または 4 . 0 m g / m l 超である場合、患者は、抗 S M A D - 7 治療法による処置のために選択される。

#### 【 0 0 4 1 】

一部の実施形態では、患者における C R P 、 T N F および / または I L 8 のレベルが、マッチした対照群における C R P 、 T N F および / または I L 8 の平均、中央値または平均レベルと比べて 10 % 、 20 % 、 30 % 、 40 % 、 50 % 、 60 % 、 70 % 、 80 % 、 90 % または 100 % を超えて上昇した場合、患者は、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置またはさらに別の処置のために選択される。10

#### 【 0 0 4 2 】

一部の実施形態では、患者における C R P 、 T N F および / または I L 8 のレベルが、マッチした対照群における C R P 、 T N F および / または I L 8 の平均、中央値または平均レベルと比べて 2 倍を超えて、 3 倍を超えて、 4 倍を超えて、 5 倍を超えて、 6 倍を超えて、 7 倍を超えて、 8 倍を超えて、 9 倍を超えて、または 10 倍を超えて上昇した場合、患者は、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置またはさらに別の処置のために選択される。

#### 【 0 0 4 3 】

典型的には、 C R P 、 T N F および / または I L 8 レベルは、試料の容量、例えば、血液または組織の容量当たりの C R P 、 T N F および / または I L 8 タンパク質、ペプチドまたは R N A の濃度、例えば、質量の観点から測定される。よって、初期または継続処置のための患者の選択は、例えば、 C R P 、 T N F および / または I L 8 の高い初期レベルが、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド処置に対する応答性の潜在力を示すことができるよう、患者における C R P 、 T N F および / または I L 8 レベルに關係づけられ得る。さらに、高レベルの C R P 、 T N F および / または I L 8 ( すなわち、正常を上回るレベルの I L 8 ) は、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドの用量増加の必要を示すことができる一方、正常または正常を下回るレベルの C R P 、 T N F および / または I L 8 は、特に、 1 または複数の用量の後の、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドの用量減少または用量未変化の必要を示すことができる。あるいは、反復用量後の継続したレベルの正常を上回るレベルの C R P 、 T N F および / または I L 8 は、患者が、処置に対して応答性ではないことを示すことができる。20

#### 【 0 0 4 4 】

C R P 、 T N F および / または I L 8 の対照レベルは、抗 S M A D 7 治療法による処置前の対象から得られる試料（例えば、血液試料）における C R P 、 T N F および / または I L 8 タンパク質または m R N A 転写物のレベルを決定することにより決定することができる。 C R P 、 T N F および / または I L 8 の対照レベルは、処置に対する対象の応答をモニターするためのベースラインを提供することができる。対照試料は、抗 S M A D 7 治療法が初めて投与される日に（例えば、処置レジメンの 1 日目に）、例えば、少なくとも 1 種の抗 S M A D 7 治療法の投与の直後に対象から得ることができる。他の実施形態では、対照試料は、抗 S M A D 7 治療法の開始 1 日前に（例えば、処置レジメンの 0 日目に）対象から得ることができる。あるいは、対照試料は、抗 S M A D 7 治療法の開始 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 日またはそれよりも前に対象から得ることができる。例えば、 I L 8 濃度の増加または減少は、処置前に（例えば、対照試料において）、処置の最中におよび / または処置後に測定して、治療法、例えば、抗 S M A D 7 治療法に対する対象の応答をモニターすることができる。40

#### 【 0 0 4 5 】

一部の実施形態では、対照レベルは、対象における循環 C R P 、 T N F および / または I L 8 濃度の長期モニタリングに基づき、対象のために確立することができる。かかる事例において、対象が、抗 S M A D 7 治療法による複数ラウンドの処置を受けることで50

きることが意図される。複数ラウンドの処置後に検出される循環 C R P 、 T N F および / または I L 8 濃度は、対象の C R P 、 T N F および / または I L 8 の先の対照レベルと比較して、対象が、治療法に応答したか、および / または抗 S M A D 7 治療法によるさらなる処置に応答する可能性があるか決定することができる。他の実施形態では、対象の対照またはベースラインレベルは、経時的に得られる（例えば、数日間、数週間、数ヶ月間または数年間の経過にわたって得られる）複数のベースライン試料から決定される循環 C R P 、 T N F および / または I L 8 濃度の平均測定値に基づき確立することができる。したがって、本明細書に開示されている通りに行われるいずれかの検査またはアッセイは、以前のまたは確立された対照レベルと比較することができ、例えば、対象が、抗 S M A D 7 治療法による 2 ラウンド以上の処置を受けている場合、比較のために対象から新たな対照試料を得る必要がない場合がある。

10

## 【 0 0 4 6 】

C R P 、 T N F および / または I L 8 の正常レベルは、数的参照値に基づき、または健康対照群における C R P 、 T N F および / または I L 8 のレベルに関して決定することができる。

## 【 0 0 4 7 】

本発明の他の実施形態では、 C R P 、 T N F および / または I L 8 の正常レベルは、健康対照群における C R P 、 T N F および / または I L 8 のレベル中央値として定義される。

20

## 【 0 0 4 8 】

健康対照群は、患者における判断基準の同じセットにマッチする、遺伝的背景、習慣および身体的特質に関する様々な判断基準に基づき定義することができる。例えば、一部の実施形態では、健康対照群および I B D を有する患者は、年齢、性別、民族起源、喫煙習慣、食習慣、ボディ・マス・インデックス ( B M I ) 、レクリエーショナルドラッグ使用、医療用薬物使用、 I B D に関する薬物使用および / または運動習慣に関してマッチする。患者および対照群の間でマッチし得る他の因子として、臨床判断基準（例えば、 C D A I スコア、 M a y o スコア、 I B D 関連症状の重症度）、代謝、 I B D 患者の個人的病歴、遺伝因子、 I B D 患者の家族の病歴、環境因子（例えば、汚染物質、毒素、アレルゲン）への曝露およびライフスタイル（例えば、都市、郊外または地方勤務地および / または居住地）が挙げられるがこれらに限定されない。一部の実施形態では、対照群は、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドの初期用量を受ける前の、 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置を受けている患者である。一部の実施形態では、患者は、処置未経験患者である。

30

## 【 0 0 4 9 】

## S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド

本明細書に記載される方法および組成物において使用される抗 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、患者の特異的 S M A D 7 配列（例えば、 1 種または複数種の多型を含有する）を特異的に標的とする。 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、 S M A D 7 におけるいずれかの多型、例えば、患者において検出される多型の存在に対応する配列を組み込むことができる。多型は、 S M A D 7 転写物（例えば、表 1 を参照）または S M A D 7 コード領域（例えば、表 2 を参照）において記載される多型のいずれかを含み得る。

40

## 【 0 0 5 0 】

一例では、 S M A D 7 オリゴヌクレオチド配列は、モンジャーセン（配列番号 7 ）のものである。この配列は、 S M A D 7 コード配列の核酸 1 0 8 ~ 1 2 8 （配列番号 1 、これは、受託番号 N M \_ 0 0 5 9 0 4 . 3 の m R N A 転写物のヌクレオチド 3 9 6 ~ 4 1 6 に対応する）を標的とする。この領域は、 S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 を含有し、これは、 G A 置換に関与する。この多型の 1 または 2 つのコピーを有する患者について、その配列において対応する多型を含有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用することができる（例えば、配列番号 1 0 ~ 1 3 ）。本明細書に提供されるアンチセンスオリゴヌ

50

クレオチドは、正確な対応する配列を欠くオリゴヌクレオチドと比べて S M A D 7 発現の低下における有効性を増加させることができる。

#### 【 0 0 5 1 】

患者が、アンチセンス配列内で多型についてヘテロ接合性である（すなわち、S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 等、多型を含有する S M A D 7 遺伝子の 1 つのコピー、およびコンセンサス配列を含有する S M A D 7 の 1 つのコピーを有する）場合、コンセンサス配列（例えば、配列番号 1 および N M \_ 0 0 5 9 0 4 . 3 ）に対応するもの、ならびに多型を含有する配列（例えば、配列番号 9 および 1 0 ）に対応するものの混合物としてまたは 2 つの別個の組成物でアンチセンスオリゴヌクレオチドの組合せを投与することが望ましい場合がある。いずれかの特定の患者についての適切なオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドの組合せは、当該の患者が多型のキャリアであるかに基づいて決定することができる。いずれかの多型の存在（または非存在）の同定は、例えば、本明細書に記載される方法のいずれかを使用して達成することができる。10

#### 【 0 0 5 2 】

コンセンサス配列を標的とする一部の S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、配列番号 7 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドを、アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、配列番号 7 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドの正確な対応する標的配列を欠く S M A D 7 多型についてホモ接合性またはヘテロ接合性である患者に投与することができるが当業者によって十分に理解されるであろう。かかる S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、配列番号 7 のヌクレオチド配列を含む S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの正確な対応する標的配列を欠く S M A D 7 多型体の発現を低下させることができる。20

#### 【 0 0 5 3 】

ある特定の実施形態では、抗 S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ヒト S M A D 7 m R N A（例えば、N C B I 参照 N M \_ 0 0 5 9 0 4 . 3 ）の部位 4 0 3 、 2 3 3 、 2 9 4 、 2 9 5 、 2 9 6 、 2 9 8 、 2 9 9 および / または 5 3 3 （すなわち、それぞれヌクレオチド 4 0 3 、 2 3 3 、 2 9 4 、 2 9 5 、 2 9 6 、 2 9 8 、 2 9 9 および 5 3 3 ）を標的とすることができる。上述した r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 多型は、ヒト S M A D 7 配列のポジション 4 0 2 にある。よって、ヌクレオチド 4 0 3 を標的とするオリゴヌクレオチドは、r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 多型を組み込むように設計することができる。他の例では、部位 2 9 4 、 2 9 5 、 2 9 6 、 2 9 8 または 2 9 9（例えば、2 9 4 、 2 9 5 または 2 9 6 ）を標的とするオリゴヌクレオチドは、転写物のポジション 2 7 7 で r s 3 7 4 3 2 5 8 6 8 多型を含有する S M A D 7 m R N A を標的とすることができる。30

#### 【 0 0 5 4 】

S M A D 7 を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドは、C p G ペアにおけるシトシン残基が 5 ' - メチルシトシン（M e - d C と省略）で置き換えられた混合型骨格を含むことができる。メチルホスホネート結合は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの 5 ' および / または 3 ' 末端に置くこともできる（M e P と省略）。

#### 【 0 0 5 5 】

S M A D 7 の多型体を標的とする例示的なアンチセンスオリゴヌクレオチド治療法として、これらに限定されないが、40

#### 【 化 1 3 】

5'-G T X Y C C C C T T C T C T C X Y C A G C-3' (配列番号 21)

が挙げられ、X は、シトシンおよび 5 - メチルシトシンからなる群から選択される窒素含有 (nitrogenous) 塩基を含むヌクレオチド、または 2 ' - O - メチルシトシンヌクレオチドであり、Y は、グアニンおよび 5 - メチルグアニンからなる群から選択される窒素含有塩基を含むヌクレオチド、または 2 ' - O - メチルグアニンヌクレオチドであり、ただし任意選択で、ヌクレオチド X または Y の少なくとも一方が、メチル化窒素含有塩基を含50

み；

【0 0 5 6】

Xが5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合がホスホ口チオエート結合である

【化14】

5'-GTXGCCCTTCTCTCXGCAG-3' (配列番号 12)

;

【0 0 5 7】

Xが5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合がホスホ口チオエート結合である

【化15】

5'-GTXGCCCTTCTCTCXGCAGC-3' (配列番号 13)

;

【0 0 5 8】

Xが5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zが2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

【化16】

5'-ZTXGCCCTTCTCTCXGCAZ-3' (配列番号 18)

;

【0 0 5 9】

Xが5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zが2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

【化17】

5'-ZTXGCCCTTCTCTCXGCAZC-3' (配列番号 19)

;

【0 0 6 0】

Xが5'-メチル2'-デオキシシチジンである

【化18】

5'-GTXGCCCTTCTCTCXGCAGC-3' (配列番号 20)

。

【0 0 6 1】

開示されている治療法は、IBDを患う対象に経口投与される場合、患者の腸系に有効量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達することができる、例えば、患者の終末回腸および／または右結腸に有効量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達することができる。

【0 0 6 2】

意図されるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号5または配列番号11:5'-G T C \* G C C C C T T C T C (C / T) C C \* G C A G C - 3'を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、C \*は、5'-メチル-2'-デオキシシチジンを表す。一部の実施形態では、意図されるアンチセンスオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の少なくとも1個が、O,O結合型ホスホ口チオエートであり、例えば、配列番号5の20個のヌクレオチド間結合のそれぞれが、O,O結合型ホスホ口チオエートであり得る。一部の実施形態では、意図されるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号7または13を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、20個のヌクレオチド間結

10

20

30

40

50

合のそれぞれが、O，O結合型ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態では、意図されるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号7を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、20個のヌクレオチド間結合のそれぞれが、O，O結合型ホスホロチオエート結合であり、本明細書において、「モンジャーセン」と称される。一部の実施形態では、本明細書に開示されている意図される組成物は、1～20個のO，O結合型ホスホロチオエートヌクレオチド間結合を任意選択で含むことができる、配列番号5、7、11または13のアンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩、例えば、ナトリウム塩を含むことができる。オリゴヌクレオチドの意図される塩は、例えば、各ホスホロチオエート結合がNa<sup>+</sup>等のイオンと会合した、完全に中和された塩を含む。オリゴヌクレオチドは、天然起源の核酸塩基、糖および共有結合性ヌクレオチド間（骨格）結合、ならびに非天然起源の部分を含むことができる。  
10

#### 【0063】

表3は、例示的なS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドの標的配列、およびS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドによって標的とされる配列番号1のS M A D 7コード配列における領域を収載する。標的配列は、D N A 標的配列として示されている。しかし、対応するR N A 標的配列も、表3の収載されているS M A D 7アンチセンスオリゴヌクレオチドによって標的とされ得る。

【表3】

表3

SMAD7 アンチセンス オリゴヌクレオチド (配列番号)	SMAD7 アンチセンスオリゴヌクレオチド 標的配列*	配列番号1または 配列番号1の多型体に おけるポジション
配列番号 4	5'-CTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 109 -128
配列番号 5	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 6	5'-CTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 109 -128
配列番号 7	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 10	5'-CTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 109 -128
配列番号 11	5'-GTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 12	5'-CTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 109 -128
配列番号 13	5'-GCTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 14	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 15	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 16	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 17	5'-GCTGCGGG <u>G</u> AGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 18	5'-CTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 109 -128
配列番号 19	5'-GCTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 20	5'-GCTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128
配列番号 21	5'-GCTGCGG <u>A</u> GAGAAGGGCGAC-3'	ポジション 108 -128

\* 標的配列は、DNA配列として示されており、あるいは、  
TがUによって置き換えられたRNA配列であり得る。

## 【0064】

## 医薬組成物

本明細書中に開示されるもののような、SMAD7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含有する医薬組成物は、投薬量単位形態で提示することができ、いずれか適した方法によって調製することができる。医薬組成物は、その企図される投与経路と適合性となるように製剤化するべきである。有用な製剤は、医薬品技術分野において周知の方法によって調製することができる。例えば、Remington's: Pharmaceutical Sciences、第2

10

20

30

40

50

2版(Pharmaceutical Press and Philadelphia College of Pharmacy at University of the Sciences、2012年)を参照されたい。

【0065】

医薬品製剤は、好ましくは、無菌である。滅菌は、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって達成することができる。組成物が、凍結乾燥される場合、濾過滅菌は、凍結乾燥および再構成に先立ちまたはそれに続いて行うことができる。

【0066】

経口投与

本発明の一部の実施形態では、抗SMA D7治療法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの経口送達に適することができ、組成物が、例えば、患者の終末回腸および右結腸にアンチセンス化合物を送達することができるような、例えば、腸溶コーティング、例えば、胃抵抗性コーティングを含む錠剤であり得る。例えば、かかる投与は、対象の腸管の罹患部分へ直接アンチセンス化合物を実質的に局所的適用する、局所的効果をもたらすことができる。かかる投与は、一部の実施形態では、アンチセンス化合物の望まれない全身吸収を実質的に回避することができる。

10

【0067】

例えば、経口投与のための錠剤は、SMA D7に対する開示されているアンチセンス化合物、例えば、本明細書中に提供されるSMA D7アンチセンスオリゴヌクレオチドおよび薬学的に許容される賦形剤を含む、顆粒を含むことができる（例えば、顆粒で少なくとも部分的に形成される）。かかる錠剤は、腸溶コーティングでコーティングすることができる。意図される錠剤は、フィラー、結合剤、崩壊剤および／または滑沢剤等、薬学的に許容される賦形剤ならびに着色料、遊離剤、コーティング剤、甘味料、ウインターグリーン、オレンジ、キシリトール、ソルビトール、フルクトースおよびマルトデキストリン等の香味剤、および芳香剤、保存剤および／または抗酸化剤を含むことができる。

20

【0068】

一部の実施形態では、意図される医薬品製剤は、意図されるアンチセンス化合物または薬学的に許容される塩、例えば、本明細書中に提供されるSMA D7アンチセンスオリゴヌクレオチド、および薬学的に許容されるフィラーを含む粒内相を含む。例えば、本明細書中に提供されるSMA D7アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびフィラーは、任意選択で他の賦形剤と共に一体にブレンドし、顆粒に成形することができる。一部の実施形態では、粒内相は、湿式造粒法を使用して形成することができ、例えば、ブレンドされたアンチセンス化合物およびフィラーに液体（例えば、水）を加え、次にこの組合せを乾燥、粉碎および／または篩にかけて、顆粒を產生する。当業者であれば、他のプロセスを使用して、粒内相を達成することができることを理解するであろう。

30

【0069】

一部の実施形態では、意図される製剤は、粒外相を含み、これは、1種または複数種の薬学的に許容される賦形剤を含むことができ、粒内相とブレンドして、開示されている製剤を形成することができる。

【0070】

抗SMA D7治療製剤は、フィラーを含む粒内相を含むことができる。例示的なフィラーとして、セルロース、ゼラチン、リン酸カルシウム、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、微結晶性セルロース、ペクチン、ポリアクリレート、デキストロース、酢酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、部分的アルファ化デンプン、炭酸カルシウムおよびこれらの組合せを含むものなどが挙げられるがこれらに限定されない。

40

【0071】

一部の実施形態では、抗SMA D7治療製剤は、医薬品製剤の成分を一体に保持するために一般に機能し得る結合剤を含む、粒内相および／または粒外相を含むことができる。例示的な結合剤として、次のものが挙げられるがこれらに限定されない：デンプン、糖、セルロースまたはヒドロキシプロピルセルロース等の修飾セルロース、ラクトース、アル

50

ファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、糖アルコールおよびこれらの組合せを含むものなど。

#### 【0072】

例えば、粒内相および／または粒外相を含む、意図される抗SMA D7治療製剤は、デンプン、セルロース、架橋ポリビニルピロリドン、デンブングリコール酸ナトリウム、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、アルギネット、コーンスター、クロスカルメロース(crosmellose)ナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、アラビアゴムおよびこれらの組合せを含むもの等が挙げられるがこれらに限定されない、崩壊剤を含むことができる。例えば、粒内相および／または粒外相は、崩壊剤を含むことができる。

10

#### 【0073】

一部の実施形態では、意図される抗SMA D7治療製剤は、開示されているアンチセンス化合物、ならびにマンニトール、微結晶性セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびデンブングリコール酸ナトリウムまたはこれらの組合せから選択される賦形剤を含む粒内相と、微結晶性セルロース、デンブングリコール酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウムまたはこれらの混合物のうち1種または複数種を含む粒外相とを含む。

20

#### 【0074】

一部の実施形態では、意図される抗SMA D7治療製剤は、滑沢剤を含むことができ、例えば、粒外相は、滑沢剤を含有することができる。滑沢剤として、タルク、シリカ、脂肪、ステアリン、ステアリン酸マグネシウム、リン酸カルシウム、二酸化ケイ素(silicone dioxide)、ケイ酸カルシウム、リン酸カルシウム、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸金属塩、水素化植物油、コーンスター、安息香酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、酢酸ナトリウム、ステアリン酸カルシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、タルクおよびステアリン酸が挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0075】

一部の実施形態では、医薬品製剤は、腸溶コーティングを含む。一般に、腸溶コーティングは、消化進路に沿って薬物が吸収される位置を制御する、経口薬物適用のための障壁を作製する。腸溶コーティングは、pHに応じて異なる速度で崩壊するポリマーを含むことができる。腸溶コーティングは、例えば、酢酸フタル酸セルロース、メチルアクリレート-メタクリル酸コポリマー、酢酸コハク酸セルロース、フタル酸ヒドロキシルプロピルメチルセルロース、メタクリル酸メチル-メタクリル酸コポリマー、エチルアクリレート-メタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマーC型、ポリ酢酸ビニルフタレートおよび酢酸フタル酸セルロースを含むことができる。

30

#### 【0076】

例示的な腸溶コーティングは、Opadry(登録商標)AMB、Acryl-EZE(登録商標)、Eudragit(登録商標)グレードを含む。一部の実施形態では、腸溶コーティングは、意図される錠剤の重量で約5%～約10%、約5%～約20%、8～約15%、約8%～約18%、約10%～約12%または約12～約16%を構成することができる。例えば、腸溶コーティングは、エチルアクリレート-メタクリル酸コポリマーを含むことができる。

40

#### 【0077】

一実施形態では、抗SMA D7治療法(therapy)は、重量で約0.5%～約10%の本明細書中に記載されるアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩；重量で約30%～約50%マンニトール；および重量で約10%～約30%微結晶性セルロースを含む経口使用のための錠剤であり得る。

#### 【0078】

50

例えば、重量で約 0 . 5 % ~ 約 7 0 % 、例えば、約 0 . 5 % ~ 約 1 0 % または約 1 % ~ 約 2 0 % のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩（例えば、本明細書中に提供される S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド）を含むかまたはこれから本質的になる、抗 S M A D 7 治療法（therapy）が、錠剤の形態で提供される。かかる錠剤は、例えば、重量で約 0 . 5 % ~ 約 6 0 % のマンニトール、例えば、重量で約 3 0 % ~ 約 5 0 % マンニトール、例えば、重量で約 4 0 % マンニトール；および / または重量で約 2 0 % ~ 約 4 0 % の微結晶性セルロースもしくは重量で約 1 0 % ~ 約 3 0 % の微結晶性セルロースを含むことができる。例えば、意図される錠剤は、重量で約 3 0 % ~ 約 6 0 % 、例えば、約 4 5 % ~ 約 6 5 % あるいは重量で約 5 ~ 約 1 0 % の本明細書中に提供される S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド、重量で約 3 0 % ~ 約 5 0 % あるいは約 5 % ~ 約 1 5 % マンニトール、約 5 % ~ 約 1 5 % 微結晶性セルロース、約 0 % ~ 約 4 % または約 1 % ~ 約 7 % ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび重量で約 0 % ~ 約 4 % 、例えば、約 2 % ~ 約 4 % デンブングリコール酸ナトリウムを含む粒内相を含むことができる。

10

#### 【 0 0 7 9 】

本発明の例示的な実施形態では、重量で約 5 0 % の本明細書中に提供される S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド（またはその塩）、重量で約 1 1 . 5 % マンニトール、重量で約 1 0 % 微結晶性セルロース、重量で約 3 % ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび重量で約 2 . 5 % デンブングリコール酸ナトリウムを含むことができる粒内相と；重量で約 2 0 % 微結晶性セルロース、重量で約 2 . 5 % デンブングリコール酸ナトリウムおよび重量で約 0 . 5 % ステアリン酸マグネシウムを含むことができる粒外相とを含む、経口投与のための薬学的に許容される錠剤が提供される。錠剤は、腸溶コーティングを含むこともできる。

20

#### 【 0 0 8 0 】

別の例示的な実施形態では、重量で約 5 % ~ 約 1 0 % 、例えば、約 8 % の本明細書中に提供される S M A D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチド（例えば、ヌクレオシド間結合がそれぞれ O , O 結合型ホスホロチオエート（phosphorothioate）である、および / またはその塩、例えば、ナトリウム塩）、重量で約 4 0 % マンニトール、重量で約 8 % 微結晶性セルロース、重量で約 5 % ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび重量で約 2 % デンブングリコール酸ナトリウムを含むまたはこれから本質的になることができる粒内相と；重量で約 1 7 % 微結晶性セルロース、重量で約 2 % デンブングリコール酸ナトリウムおよび重量で約 0 . 4 % ステアリン酸マグネシウムを含むことができる粒外相とを含むまたはこれから本質的になる、経口投与のための薬学的に許容される錠剤が提供される。

30

#### 【 0 0 8 1 】

##### 非経口的投与

本発明の医薬組成物は、非経口的投与のために製剤化することができる、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、病巣内または腹腔内経路による注射のために製剤化することができる。S M A D 7 インヒビターを含有する水性医薬組成物等、水性組成物の調製は、本開示を踏まえた当業者に公知であろう。典型的には、かかる組成物は、液体溶液または懸濁液のいずれかとしての注射液として調製することができ；注射に先立つ液体の添加により溶液または懸濁液を調製するための使用に適した固形を調製することもでき；調製物は、乳化することもできる。

40

#### 【 0 0 8 2 】

注射用の使用に適した医薬品形態は、無菌水溶液または分散物；ゴマ油、ピーナッツ油または水性プロピレングリコールを含む製剤；および無菌注射用溶液または分散物の即時調製のための無菌粉末を含む。いずれの場合においても、形態は、無菌でなければならず、容易な注射針通過性（syringability）が存在する程度まで流動性でなければならない。これは、製造および貯蔵条件下で安定性でなければならず、細菌および真菌等、微生物の汚染作用から保存されなければならない。

#### 【 0 0 8 3 】

50

遊離塩基または薬理学的に許容される塩としての活性化合物の溶液は、ヒドロキシプロピルセルロース等、サーファクタントと適宜混合された水において調製することができる。分散物は、グリセロール、液体ポリエチレングリコールおよびこれらの混合物ならびに油において調製することもできる。加えて、溶媒または懸濁媒として無菌固定油を用いることができる。この目的のため、合成モノまたはジグリセリドを含むいずれか無刺激の固定油を用いることができる。加えて、注射液の調製においてオレイン酸等、脂肪酸を使用することができる。無菌注射用調製物は、例えば、1,3-ブタンジオールにおける溶液として、無毒性非経口的に許容される希釈剤または溶媒における無菌注射用溶液、懸濁液またはエマルジョンであってよい。許容される媒体および溶媒の中で、水、リングル溶液、U.S.P. および等張性塩化ナトリウム溶液を用いることができる。一実施形態では、S M A D 7 インヒビターは、1% (w/v) カルボキシルメチルセルロースナトリウムおよび0.1% (v/v) T W E E N (商標) 80 を含む担体流体に懸濁することができる。貯蔵および使用の通常条件下において、これらの調製物は、微生物の成長を防止するための保存剤を含有する。

10

## 【0084】

注射用調製物、例えば、無菌注射用水性または油性懸濁液は、適した分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を使用して、公知技術に従って製剤化することができる。一般に、分散物は、基本分散媒および上に列挙されているものの中から必要とされる他の成分を含有する無菌媒体へと様々な滅菌活性成分を取り込むことにより調製される。本発明の無菌注射用溶液は、必要に応じて上に列挙されている様々な他の成分と共に、必要な量の適切な溶媒において S M A D 7 インヒビターを取り込み、続いて濾過滅菌することにより調製することができる。無菌注射用溶液の調製のための無菌粉末の場合、好ましい調製方法は、真空乾燥およびフリーズドライ技法であり、これにより、以前に滅菌濾過されたその溶液から活性成分プラスいずれか追加的な所望の成分の粉末を生じる。注射用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを通した濾過により滅菌することができる。

20

## 【0085】

筋肉内注射のためのより濃縮または高度に濃縮された溶液の調製も意図される。これに関する、高濃度の、S M A D 7 インヒビターの極めて迅速な浸透、狭い区域への送達をもたらすため、溶媒としてのD M S O の使用が好ましい。

30

## 【0086】

かかる溶液における使用に適した保存剤は、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、クロロブタノール、チメロサールなどを含む。適したバッファーは、約pH 6 ~ pH 8 の間、好ましくは、約pH 7 ~ pH 7.5 の間ににおけるpHの維持に十分な量の、ホウ酸、炭酸水素ナトリウムおよびカリウム、ホウ酸ナトリウムおよびカリウム、炭酸ナトリウムおよびカリウム 1.0、酢酸ナトリウム、重リン酸ナトリウムなどを含む。適した浸透圧調節剤は、眼科用溶液の塩化ナトリウム当量が、範囲 0.9 ± 0.2 % になるような、デキストラン 40、デキストラン 70、デキストロース、グリセリン、塩化カリウム、プロピレングリコール、塩化ナトリウムなどである。適した抗酸化剤および安定剤は、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、チオ亜硫酸ナトリウム (sodium thiosulfite)、チオ尿素などを含む。適した湿潤剤および清澄化剤は、ポリソルベート 80、ポリソルベート 20、ポロクサマー 282 およびチロキサポールを含む。適した増粘剤は、デキストラン 40、デキストラン 70、ゼラチン、グリセリン、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルプロピルセルロース、ラノリン、メチルセルロース、ワセリン、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースなどを含む。

40

## 【0087】

例示的な実施形態では、S M A D 7 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下投与のための医薬組成物は、配列番号 7 によって表されるアンチセンスオリゴヌクレオチド等、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩（ナトリウム塩等）および薬学的に許容される担体を含む。

50

## 【0088】

意図される錠剤は、腸溶コーティングを含むこともでき、例えば、開示されている錠剤は、重量で約13%、約14%、約15%、約16%、約17%の腸溶コーティング、例えば、エチルアクリレート-メタクリル酸コポリマー（例えば、Acrylate（登録商標））を含むことができる。

## 【0089】

例えば、抗SMA7治療法は、粒内相（intra-granular phase）と粒外相（extra-granular phase）とを含む、経口使用のための薬学的に許容される錠剤の形態であり得、例えば、粒内相は、重量で約5%～約10%（例えば、重量で約8%）の配列番号7によって表されるアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩、重量で約40%マンニトール、重量で約8%微結晶性セルロース、重量で約5%ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび重量で約2%デンブングリコール酸ナトリウムを含み、例えば、粒外相は、重量で約17%微結晶性セルロース、重量で約2%デンブングリコール酸ナトリウムおよび重量で約0.4%ステアリン酸マグネシウムを含み、錠剤は、腸溶コーティングをさらに含み得る。

10

## 【0090】

意図される製剤、例えば、錠剤は、一部の実施形態では、患者に経口投与される場合、患者におけるオリゴヌクレオチドの最小血漿濃度をもたらすことができる。別の実施形態では、意図される製剤は、患者に経口投与される場合、患者の終末回腸および/または右結腸、例えば、患者の罹患または疾患部位に局所的に送達される。

20

## 【0091】

## 投与および投薬

例示的な製剤は、約10mg～約500mgのSMA7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むかまたは本質的にこれからなる剤形を含む。例えば、約10mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約35mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約200mgまたは約250mgのSMA7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む錠剤が、本明細書において意図される。一実施形態では、製剤は、約40mg、80mgまたは160mgのSMA7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むことができる。一部の実施形態では、製剤は、少なくとも100μgのSMA7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むことができる。例えば、製剤は、約0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、15mg、20mgまたは25mgのSMA7に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むことができる。投与される量は、処置しようとする疾患または兆候の種類および程度、患者の全体的な健康およびサイズ、アンチセンスオリゴヌクレオチド、医薬品製剤のin vivo効力、ならびに投与経路等、変数に依存する。初期投薬量は、所望の血液レベルまたは組織レベルを迅速に達成するために、上限レベルを超えて増加させることができる。あるいは、初期投薬量は、最適より少なくてよく、投薬量は、処置経過において漸進的に増加させることができる。ヒト投薬量は、例えば、40mgから160mgとなるよう設計された従来の第I相用量漸増試験において最適化させることができる。投薬頻度は、投与経路、投薬量および処置されている疾患等、因子に応じて変動し得る。例示的な投薬頻度は、1日に1回、1週間に1回および2週間に1回である。一部の実施形態では、投薬は、1日に1回を7日間である。

30

## 【0092】

## 併用処置

本発明の一部の実施形態では、抗SMA7治療法は、他の処置、例えば、ステロイド（単数または複数）、免疫調節物質（単数または複数）および/またはメサラミンが挙げられるがこれらに限定されない処置の後にまたはこれと同時に投与することができる。抗SMA7治療法は、これらの処置のいずれかの組合せの後にまたはこれと同時に投与す

40

50

ることができる。例えば、一部の実施形態では、抗SMA7治療法は、ステロイド（単数または複数）のみ、免疫調節物質（単数または複数）のみ、メサラミンのみ、ステロイド（単数または複数）および免疫調節物質（単数または複数）、ステロイド（単数または複数）およびメサラミン、または免疫調節物質（単数または複数）およびメサラミンと共に投与することができる。

#### 【0093】

免疫調節物質の例として、アザチオプリン、メルカプトプリン、メトレキセート、シクロスボリンAおよびタクロリムスが挙げられる。ステロイドの例として、コルチコステロイド、例えば、プレドニゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾンおよびブデソニドが挙げられる。一部の実施形態では、異なるサリチレート、例えば、スルファサラジンをメサラミンの代わりに投与することができる。本発明の一部の実施形態では、ステロイド（複数可）、免疫調節物質（複数可）またはメサラミンは、抗SMA7治療法と同じ経路（すなわち、経口）により投与することができる。本発明の一部の実施形態では、ステロイド（複数可）、免疫調節物質（複数可）またはメサラミンは、抗SMA7治療法とは異なる経路により投与することができる。例えば、ステロイド（複数可）、免疫調節物質（複数可）またはメサラミンは、非経口、直腸、静脈内、局所または吸入スプレーにより投与することができる。

10

#### 【0094】

##### 治療法のモニタリング

炎症性腸疾患の処置におけるアンチセンス治療法の有効性は、いずれか適切なアプローチを使用してモニターすることができる。いずれかの主観的または客観的臨床スケールがそうすることができるよう、例えば、炎症性腸疾患または過剰なSMA7活性に関連することができる。また、公知のバイオマーカーのいずれかを使用して、患者における治療法の有効性をモニターすることができる。処置のモニタリングは、処置有効性および安全性の査定、ならびに処置をモジュレートする必要の評価の観点から有用であり得る。処置のモニタリングは、患者に投与されているもしくは患者に投与することになるSMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの量を増加させるべきか減少させるべきか、またはアンチセンスが有効であるかに関する評価に有用でもあり得る。さらに、処置のモニタリングは、SMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの用量をモジュレートするべき、すなわち、増加または減少させるべき量または相対量の決定の観点から有用であり得る。

20

#### 【0095】

例えば、IBDを有する患者におけるバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せ（例えば、CRP、TNF およびIL8）のレベルのモニタリングは、SMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの初期用量の前に、その最中にまたはその後に開始することができる。さらに、モニタリングは、初期用量の後に続けることができる。例えば、モニタリングは、初期用量の投与後に行うことができる。モニタリングは、SMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドのその後の用量の前に、その最中にまたはその後に行うこともできる。例えば、SMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの各用量が患者に投与された後に、SMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの各用量が患者に投与される前に、またはSMA7アンチセンスオリゴヌクレオチドの各用量が患者に投与される前および後に、規則的な間隔でモニタリングを行うことができるよう、モニタリングは、連続的であっても不連続的であってもよい。モニタリングは、单一の日に複数回（例えば、单一の日に2回、3回、4回、約5回または約10回）、1日に1回、单一の週に複数回（例えば、单一の週に2回、3回、4回、約5回または約10回）、1週間に1回、单一の月に複数回（例えば、单一の月に2回、3回、4回、約5回または約10回）または1カ月に1回行うことができる。本発明の方法において、モニタリングは、投与ステップと比べた様々な時間で行うことができる。例えば、一部の実施形態では、モニタリングは、投与ステップの直後に、または少なくとも1日、少なくとも3日、少なくとも5日、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも1カ月、少なくとも2カ月、少なくとも4カ月もしくは少なくとも6カ月後に行うことができる。一部の実施形態では

30

40

50

、モニタリングは、投与ステップから約15日または約28日間後に行われる。

#### 【0096】

一部の事例では、SMA D 7 アンチセンスオリゴヌクレオチドのレベルを増加させるべきか、減少させるべきか、動かさずにおくべきか決定するために、バイオマーカーの正常または異常レベルの閾値を理解することが有用である。CRPの正常レベルは、特異的な値、例えば、約0.01 mg/L、約0.05 mg/L、約0.1 mg/L、約0.2 mg/L、約0.3 mg/L、約0.4 mg/L、約0.5 mg/L、約0.6 mg/L、約0.7 mg/L、約0.8 mg/L、約0.9 mg/L、約1.0 mg/L、約1.5 mg/L、約2.0 mg/L、約2.5 mg/Lまたは約3.0 mg/Lの値に関係づけることができる。TNF の正常レベルは、対照対象に依存して、約11 µg/L（例えば、11.2 µg/L）であり得る、または別の値（例えば、5、6、7、8、9、10、12、13、14または15 µg/L）であり得る。血清におけるIL 8 の正常レベルは、対照対象に依存して、約13 µg/L（例えば、12.9 µg/L）であり得る、または別の値（例えば、6、7、8、9、10、11、12、14、15、16または17 µg/L）であり得る。例えば、Aricanら、Mediators Inflamm. 2005卷：273頁、2005年を参照。一部の実施形態では、バイオマーカーの正常レベルは、様々な因子、例えば、年齢、性別、民族起源、喫煙習慣、食習慣、ボディマスインデックス（BMI）および/または運動習慣に関して患者とマッチした健康対照群におけるバイオマーカーのレベル中央値との比較により決定することができる。

10

#### 【0097】

バイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せ（例えば、CRP、TNF およびIL 8）のレベルは、患者から試料を得ることにより決定することができる。本明細書に記載されている方法において、試料は、組織試料（例えば、胃腸組織試料）または体液試料（例えば、唾液試料、糞便、尿試料またはいずれかの液体生検）であり得る。試料は、バイオマーカー発現細胞、例えば、上皮結腸組織細胞を含有する固形組織生検を含むことができる。試料は、患者組織生検、例えば、粘膜組織生検、例えば、腸粘膜組織生検から得られる試料であり得る。さらに、試料は、血液、血清または血漿試料であり得る。対象由來の血液試料は、当技術分野で周知の技法を使用して得ることができる。血液試料は、末梢血単核球（PMBC）、RBC 枯渇全血または血清を含むことができる。PBMCは、異なる密度勾配（例えば、フィコール密度勾配）遠心分離手順を使用して全血試料から分離することができる。例えば、全血（例えば、抗凝固剤処置した全血）を分離媒上に重層し、遠心分離する。遠心分離ステップの終わりに、次の層が上から下に視覚的に観察される：血漿 / 血小板、PBMC、分離媒および赤血球 / 顆粒球。

20

30

#### 【0098】

試料は、時間的パラメータに基づき患者から得るまたは抽出することもできる。例えば、試料は、所定の期間、例えば、約1時間、約6時間、約12時間、約1日間、約3日間、約1週間または約1ヶ月間を通して、異なる時点で、例えば、約30分間毎に、約1時間毎に、約3時間毎に、約6時間毎にまたは約12時間毎に、同じ患者から採取することができる。試料は、個々の食事の後に、例えば、食事の直後に、約30分後に、約1時間後に、約2時間後に、約3時間後に、約4時間後に、約5時間後にまたは約6時間後に採取することもできる。

40

#### 【0099】

処置をモニターする方法は、バイオマーカー（例えば、CRP、TNF およびIL 8）のレベル、CDAIスコア、臨床寛解およびIBD症状の存在または重症度が挙げられるがこれらに限定されない、他の因子をモニターする方法を含むこともできる。

#### 【0100】

本発明の実施形態では、バイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せ（例えば、CRP、TNF およびIL 8）のレベルが、測定される場合、様々な方法を使用して、バイオマーカーを測定することができる。例えば、バイオマーカー、例えば、IL 8、TNF またはCRPのレベルは、免疫化学および/またはヌクレオチド解析によって決定する

50

ことができる。例えば、公知容量の血液もしくは組織試料または血液もしくは組織試料の画分におけるバイオマーカーの量は、免疫化学によって決定することができる。免疫化学によってバイオマーカー濃度を決定する方法として、ウエスタンプロッティング、ELISAおよび免疫染色方法が挙げられるがこれらに限定されない。一部の実施形態では、免疫化学によってバイオマーカー濃度を決定する方法は、目的のバイオマーカーに結合することができる抗体、例えば、バイオマーカーに対する抗体を使用して行われる。免疫化学によるバイオマーカー濃度のアッセイは、例えば、バイオマーカーに対する少なくとも1種の抗体を必要とする。一次抗体に、検出可能標識、例えば、蛍光マーカーをタグ付けすることができる。あるいは、一次抗体の生物種アイソタイプに特異的に結合する、検出可能標識、例えば、蛍光マーカーをタグ付けされた二次抗体を使用して、免疫化学を行うことができる。免疫化学によってバイオマーカー濃度を決定する方法は、バッファー、プロッキング試薬、コンジュゲートなし一次抗体、ならびに蛍光プローブまたは基質特異的酵素等、抗体検出を可能にするタグにコンジュゲートされた一次および/または二次抗体の使用に関与することもできる。

10

#### 【0101】

ヌクレオチド解析によってバイオマーカー濃度を決定する方法として、ノーザンプロッティングおよびポリメラーゼ連鎖反応方法、例えば、定量的ポリメラーゼ連鎖反応方法等、バイオマーカー mRNA 転写物レベルを解析する方法が挙げられるがこれらに限定されない。ヌクレオチド解析は、バイオマーカーヌクレオチド配列（例えば、CRPヌクレオチド配列）に結合するオリゴヌクレオチドプローブ、またはポリメラーゼ連鎖反応、例えば、定量的ポリメラーゼ連鎖反応によりバイオマーカーヌクレオチド配列を增幅することができる一対のオリゴヌクレオチドプライマーを使用して行うことができる。オリゴヌクレオチドプローブおよびオリゴヌクレオチドプライマーは、例えば、蛍光タグ等、検出可能タグに連結することができる。ヌクレオチド解析によるバイオマーカー濃度の決定において、従事者は、試料における特定のバイオマーカーのmRNA 転写物濃度を評価することができる。あるいは、ヌクレオチド解析によるバイオマーカー濃度の決定において、従事者は、バイオマーカー mRNA 転写物存在量の尺度に基づきバイオマーカータンパク質濃度を推定するために、特定のバイオマーカーのmRNA 転写物存在量および特定のバイオマーカーのタンパク質存在量の間の相関を確立することができる。

20

#### 【0102】

特許請求されている発明の方法は、in vitroで行うことができるステップを含む。例えば、対象におけるバイオマーカーレベルを測定するステップ、試料におけるバイオマーカーのレベルを決定するステップ、および/またはCDAIスコアを決定するもしくはCDAIスコアの決定に必要な測定を行うステップをin vitroで行うことができる意図される。例えば、試料におけるバイオマーカーのレベルは、in vitroで試料において免疫化学またはヌクレオチド解析を行うことにより決定することができる。あるいは、本発明の一部の実施形態では、IBDを有する患者におけるバイオマーカーレベルを決定および解析するステップ、試料におけるバイオマーカーレベルを決定および解析するステップ、および/またはCDAIスコアを決定するもしくはCDAIスコアの決定に必要な測定を行うステップは、in vivoで行うことができる。

30

#### 【0103】

免疫化学に適した抗IL8抗体は、市販されており、Abcam製ヤギ抗ヒトIL8（カタログ番号ab10769）、Santa Cruz製マウス抗ヒトIL8（カタログ番号sc-73321、sc-52870およびsc-7302）、Pierce製マウス抗ヒトIL8（3IL8-H10）（カタログ番号M801）およびSigma-Aldrich製マウス抗ヒトIL8（カタログ番号WH0003576M5）抗体が挙げられるがこれらに限定されない。

40

#### 【0104】

免疫化学に適した抗TNF抗体は、市販されており、Abcam製ウサギ抗ヒトTNF（カタログ番号ab9635）、Cell Signaling Technology

50

gy 製ウサギ抗ヒトTNF（カタログ番号3707）、affymetrix eBioscience 製マウス抗ヒトTNF（カタログ番号14-7348-81）およびRockland Antibodies & Assays 製ウサギ抗ヒトTNF（カタログ番号209-401-3065）抗体が挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0105】

免疫化学に適した抗CRP抗体は、市販されており、例えば、Santa Cruz Biotechnology 製ヤギ抗ヒトCRPポリクローナル抗体（カタログ番号sc-18304 および sc-18306）、Santa Cruz Biotechnology 製ウサギ抗ヒトCRPポリクローナル抗体（カタログ番号sc-30047）、Santa Cruz Biotechnology 製マウス抗ヒトCRPモノクローナル抗体（カタログ番号sc-70883）、Sigma-Aldrich 製マウス抗ヒトCRPモノクローナル抗体（カタログ番号C1688-.2ML）、abcam 製ウサギ抗ヒトモノクローナル抗体（カタログ番号ab32412）、abcam 製マウス抗ヒトCRPモノクローナル抗体（カタログ番号ab13426）およびThermo Scientific 製ヤギ抗ヒトCRPポリクローナル抗体（カタログ番号G0301-1B）等が挙げられる。

#### 【0106】

本発明を現在一般に記載しているが、これは、本発明のある特定の態様および実施形態を単に説明する目的で含まれており、決して本発明を限定するように意図されていない次の実施例を参照してより容易に理解されるであろう。

10

20

30

#### 【実施例】

#### 【0107】

##### （実施例1）

rs144204026 SNPについてヘテロ接合性である患者

患者は、クローン病と診断されている。治療法を始める前に、患者のSMAD7 遺伝子配列を、標準的なシーケンシング技法を使用して患者において解析して、rs144204026 SNP の存在または非存在を決定する。

#### 【0108】

シーケンシングの結果として、患者は、SMAD7 遺伝子 rs144204026 多型（すなわち、ポジションにおいて「A」）の1つのコピーおよびコンセンサス配列（すなわち、ポジションにおいて「G」）の1つのコピーを有すると決定される。この決定に基づいて、患者に、1つがモンジャーセンの配列（すなわち、配列番号5）を有し、1つが rs144204026 多型に対応するヌクレオチドが置換されたモンジャーセンの配列（すなわち、配列番号11）を有する2つの異なるアンチセンス治療薬を投与する。

#### 【0109】

アンチセンス治療薬の組合せを使用した処置後に、患者は、クローン病に関連した症状の低下を経験する。

#### 【0110】

##### （実施例2）

rs144204026 SNPについてホモ接合性である患者

患者は、クローン病と診断されている。治療法を始める前に、患者のSMAD7 遺伝子配列を、標準的なシーケンシング技法を使用して患者において解析して、rs144204026 SNP の存在または非存在を決定する。

40

#### 【0111】

シーケンシングの結果として、患者は、SMAD7 遺伝子 rs144204026 多型（すなわち、ポジションにおいて「A」）の2つのコピーを有すると決定される。この決定に基づいて、患者に、rs144204026 多型に対応するヌクレオチドが置換されたモンジャーセンの配列（例えば、配列番号11）を有する単一のアンチセンス治療薬を投与する。

#### 【0112】

50

アンチセンス治療薬を使用した処置後に、患者は、クローン病に関連した症状の低下を経験する。

配列

配列番号1 ( N M \_ 0 0 5 9 0 4 . 3 ; Homo sapiens SMADファミリーメンバー7 ( SMAD7 ) 、転写物バリエント1、mRNAのコード配列CDS ( 288 ~ 1568 ) ) - モンジャーセン標的およびその誘導体の標的配列に下線を引き ( 108 ~ 128 ) ; SNP ( g / a ) に二重下線を引いた ;

【化19】

ATG TTCAGGACCA AACGATCTGC GCTCGTCCGG CGTCTCTGGA GGAGCCGTGC  
 GCCCGGGCGGC GAGGACGAGG AGGAGGGCGC AGGGGGGAGGT GGAGGGAGGAG  
GCGAGCTGCG GGGAGAAAGGG GCGACGGACA GCCGAGCGCA TGGGGCCGGT  
 GGCAGGCGGCC CGGGCAGGGC TGGATGCTGC CTGGGCAAGG CGGTGCGAGG  
 TGCCAAAGGT CACCACCATC CCCACCCGCC AGCCGCGGGC GCCGGCGCGG  
 CCGGGGGCGC CGAGGCAGGAT CTGAAGGCAGC TCACGCACTC GGTGCTCAAG  
 AAACTGAAGG AGCGGCAGCT GGAGCTGCTG CTCCAGGCCG TGGAGTCCCG  
 CGGCAGGACG CGCACCGCGT GCCTCCTGCT GCCCGGCCGC CTGGACTGCA  
 GGCTGGGCCCG GGGGGCGCCC GCCGGCGCGC AGCCTGCGCA GCCGCCCTCG  
 TCCTACTCGC TCCCCCTCCT GCTGTGCAA GTGTTCAGGT GGCCGGATCT  
 CAGGCATTCC TCGGAAGTCA AGAGGCTGTG TTGCTGTGAA TCTTACGGGA  
 AGATCAACCC CGAGCTGGTG TGCTGCAACC CCCATCACCT TAGCCGACTC  
 TGCAGACTAG AGTCTCCCCC CCCTCCTTAC TCCAGATAACC CGATGGATTT

10

20

30

40

【化20】

TCTCAAACCA ACTGCAGACT GTCCAGATGC TGTGCCTTCC TCCGCTGAAA  
 CAGGGGGAAC GAATTATCTG GCCCCTGGGG GGCTTCAGA TTCCCAACTT  
 CTTCTGGAGC CTGGGGATCG GTCACACTGG TGCAGGGTGG CATACTGGGA  
 GGAGAAGACG AGAGTGGGA GGCTCTACTG TGTCCAGGAG CCCTCTCTGG  
 ATATCTTCTA TGATCTACCT CAGGGGAATG GCTTTGCCT CGGACAGCTC  
 AATTGGACA ACAAGAGTCA GCTGGTGCAG AAGGTGCGGA GCAAAATCGG  
 CTGCGGCATC CAGCTGACGC GGGAGGTGGA TGGTGTGTGG GTGTACAACC  
 GCAGCAGTTA CCCCATCTTC ATCAAGTCCG CCACACTGGA CAACCCGGAC  
 TCCAGGACGC TGTTGGTACA CAAGGTGTTG CCCGGTTTCT CCATCAAGGC  
 TTTCGACTAC GAGAAGGCAGT ACAGCCTGCA GCGGCCCAAT GACCACGAGT  
 TTATGCAGCA GCCGTGGACG GGCTTTACCG TGCAGATCAG CTTTGTGAAG  
 GGCTGGGCC AGTGTACAC CCGCCAGTTG ATCAGCAGCT GCCCGTGCTG  
 GCTAGAGGTC ATCTTCAACCA GCCGGTAG

配列番号2 ( トランケートされたモンジャーセン標的 - 配列 ; SNP rs144204026位置を強調した )

【化21】

5'-CTGCGGGGAGAAGGGCGAC-3'

配列番号3 ( モンジャーセン標的 - 配列 ; SNP rs144204026位置を強調した )

50

【化 2 2】

5'-GCTGCGGGGGAGAAGGGGGCGAC-3'

配列番号 4 (トランケートされたモンジャーセン配列；強調されたポジションは、S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 の位置に対応する)

【化 2 3】

5'-GTCGCCCCTTCTCCCCGCAG-3'

配列番号 5 (モンジャーセン配列；強調されたポジションは、S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 の位置に対応する)

【化 2 4】

5'-GTCGCCCCTTCTCCCCGCAGC-3'

配列番号 6 (トランケートされたモンジャーセン；強調されたポジションは、S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 の位置に対応する)

【化 2 5】

5'-GTXGCCCCTTCTCCCXGCAG-3'

Xは、5'-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である

配列番号 7 (モンジャーセン；強調されたポジションは、S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 の位置に対応する)

【化 2 6】

5'-GTXGCCCCTTCTCCCXGCAGC-3'

Xは、5'-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である

配列番号 8 (トランケートされたモンジャーセン標的 - 配列の多型バリエント；S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 ポジションを強調した)

【化 2 7】

5'-CTGCGGAGAGAAGGGGGCGAC-3'

配列番号 9 (モンジャーセン標的 - 配列の多型バリエント；S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 ポジションを強調した)

【化 2 8】

5'-GCTGCGGAGAGAAGGGGGCGAC-3'

配列番号 10 (トランケートされたモンジャーセン配列の多型バリエント；S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 を標的とするポジションを強調した)

【化 2 9】

5'-GTCGCCCCTTCTCTCCGCAG-3'

配列番号 11 (モンジャーセン配列の多型バリエント；S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 を標的とするポジションを強調した)

【化 3 0】

5'-GTCGCCCCTTCTCTCCGCAGC-3'

配列番号 12 (トランケートされたモンジャーセンの多型バリエント；S N P r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6 を標的とするポジションを強調した)

10

20

30

40

## 【化31】

5'-GTXGCCCTTCTCXGCAG-3'

Xは、5'-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である

配列番号13(モンジャーセンの多型バリアント；SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6を標的とするポジションを強調した)

## 【化32】

5'-GTXGCCCTTCTCXGCAGC-3'

Xは、5'-メチル-2'-デオキシシチジンであり、すべてのヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエート結合である

配列番号14(モンジャーセンのバリアント；強調されたポジションは、SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6の位置に対応する)

## 【化33】

5'-ZTXGCCCTTCTCCCXGCAZC-3'

Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zは、2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

配列番号15(トランケートされたモンジャーセンのバリアント；強調されたポジションは、SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6の位置に対応する)

## 【化34】

5'-ZTXGCCCTTCTCCCXGCAZ-3'

Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zは、2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

配列番号16(モンジャーセンのバリアント；強調されたポジションは、SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6の位置に対応する)

## 【化35】

5'-GTXGCCCTTCTCCCXGCAGC-3'

Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンである

配列番号17(モンジャーセンのバリアント；強調されたポジションは、SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6の位置に対応する)

## 【化36】

5'-GTYGCCCTTCTCCCXYCAGC-3'

Xは、シトシンおよび5'-メチルシトシンからなる群から選択される窒素含有塩基を含むヌクレオチドまたは2'-O-メチルシトシンヌクレオチドであり、Yは、グアニンおよび5'-メチルグアニンからなる群から選択される窒素含有塩基を含むヌクレオチドまたは2'-O-メチルグアニンヌクレオチドであり、ただし、ヌクレオチドXまたはYの少なくとも一方が、メチル化窒素含有塩基を含む

配列番号18(トランケートされたモンジャーセンの多型バリアント；SNP r s 1 4 4 2 0 4 0 2 6を標的とするポジションを強調した)

## 【化37】

5'-ZTXGCCCTTCTCXGCAZ-3',

Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zは、2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

配列番号19(モンジャーセンバリアントの多型バリアント；SNP r s 1 4 4 2 0

10

20

30

40

50

4026を標的とするポジションを強調した)

【化38】



Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンであり、Zは、2'-デオキシグアノシンメチルホスホネートである

配列番号20(モンジャーセンバリアントの多型バリアント; S N P r s 1 4 4 2 0  
4026を標的とするポジションを強調した)

【化39】



Xは、5'-メチル2'-デオキシシチジンである

配列番号21(モンジャーセンバリアントの多型バリアント; S N P r s 1 4 4 2 0  
4026を標的とするポジションを強調した)

【化40】



Xは、シトシンおよび5'-メチルシトシンからなる群から選択される窒素含有塩基を含むヌクレオチドまたは2'-O-メチルシトシンヌクレオチドであり、Yは、グアニンおよび5'-メチルグアニンからなる群から選択される窒素含有塩基を含むヌクレオチドまたは2'-O-メチルグアニンヌクレオチドであり、ただし、ヌクレオチドXまたはYの少なくとも一方が、メチル化窒素含有塩基を含む。

【0113】

均等物

対象発明の特異的な実施形態について考察してきたが、上述の明細書は、説明的であって制限的ではない。本明細書を概説することにより、本発明の多くの変形形態が、当業者には明らかになるであろう。本発明の全範囲は、その均等の全範囲と共に特許請求の範囲、およびかかる変形形態と共に本明細書を参照することにより決定されるべきである。

【0114】

他に断りがなければ、本明細書および特許請求の範囲において使用されている成分含量、反応条件等々を表現するあらゆる数は、あらゆる事例において、用語「約」によって修飾されているものとして理解されたい。したがって、それとは反対のことが示されていない限り、本明細書および添付の特許請求の範囲に表記されている数的パラメータは、本発明によって得ようとする所望の特性に応じて変動し得る近似値である。

【0115】

参照による援用

本明細書に引用されているあらゆる特許、公開特許出願、ウェブサイトおよび他の参考文献の内容全体は、これにより明確に、本明細書に参照によりそれらの内容全体を援用する。

【配列表】

2017532961000001.app

10

20

30

40

## 【国際調査報告】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>	International application No. PCT/EP2015/074066
<b>Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)</b>	
<p>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:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed: <input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file. <input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.</p> <p>c. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: <input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). <input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 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.</p> <p>3. Additional comments:</p>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/074066
---

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N15/113 A61K31/7088 C12Q1/68 ADD.
---

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) C12N A61K C12Q
---

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data
--

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
--

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/037970 A1 (NOGRA PHARMA LTD [IE]; MONTELEONE GIOVANNI [IT]; VITI FRANCESCA [IT];) 21 March 2013 (2013-03-21)	21,22, 24,25, 27-29, 37-40
Y	paragraph [0063] - paragraph [0073] claims; examples ----- DATABASE dbSNP [Online] "Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs144204026", XP002752629, retrieved from NCBI Database accession no. rs144204026 the whole document ----- -/-	1-40
Y		1-40

<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.
--

<input checked="" type="checkbox"/> 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
--

5 January 2016
----------------

25/01/2016
------------

Name and mailing address of the ISA/
--------------------------------------

Authorized officer
--------------------

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016
--

Andres, Serge
---------------

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/074066
---

## C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/087920 A1 (GIULIANI SPA [IT]; MONTELEONE GIOVANNI [IT]) 14 October 2004 (2004-10-14)  the whole document -----	21,22, 24,25, 27-29, 37-40
X	MONTELEONE G ET AL: "Phase i clinical trial of smad7 knockdown using antisense oligonucleotide in patients with active crohn's disease", MOLECULAR THERAPY, vol. 20, no. 4, April 2012 (2012-04), pages 870-876, XP008158192, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/MT.2011.290  the whole document -----	21,22, 24,25, 27-29, 37-40
X	MONTELEONE G ET AL: "BLOCKING SMAD7 RESTORES TGF-BETA1 SIGNALING IN CHRONIC INFLAMMATORY BOWEL DISEASE", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 108, no. 4, 1 August 2001 (2001-08-01), pages 601-609, XP001152527, ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JCI200112821  the whole document -----	21,22, 24,25, 27-29, 37-40
X	GIOVANNI MONTELEONE: "Role of Smad7 in inflammatory bowel diseases", WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, vol. 18, no. 40, 28 October 2012 (2012-10-28), pages 5664-5668, XP055197821, ISSN: 1007-9327, DOI: 10.3748/wjg.v18.i40.5664  the whole document -----	21,22, 24,25, 27-29, 37-40
X,P	GIOVANNI MONTELEONE ET AL: "Mongersen, an Oral SMAD7 Antisense Oligonucleotide, and Crohn's Disease", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 372, no. 12, 19 March 2015 (2015-03-19), pages 1104-1113, XP055195699, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1407250  the whole document -----	1-40
E	WO 2015/169966 A2 (NOGRA PHARMA LTD [IE]) 12 November 2015 (2015-11-12)  the whole document -----	1-40

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2015/074066

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2013037970 A1	21-03-2013	AU	2012307336 A1	27-03-2014
		CA	2848595 A1	21-03-2013
		CN	104040349 A	10-09-2014
		EP	2748611 A1	02-07-2014
		HK	1199095 A1	19-06-2015
		JP	2014531584 A	27-11-2014
		KR	20140059859 A	16-05-2014
		RU	2014114838 A	20-10-2015
		US	2015148245 A1	28-05-2015
		WO	2013037970 A1	21-03-2013
<hr/>				
WO 2004087920 A1	14-10-2004	AT	417102 T	15-12-2008
		AU	2004225666 A1	14-10-2004
		CA	2520541 A1	14-10-2004
		CN	1788086 A	14-06-2006
		CY	1108870 T1	02-07-2014
		DK	1608753 T3	14-04-2009
		EP	1608753 A1	28-12-2005
		ES	2316970 T3	16-04-2009
		JP	4559411 B2	06-10-2010
		JP	5039172 B2	03-10-2012
		JP	2006521815 A	28-09-2006
		JP	2010193906 A	09-09-2010
		KR	20050118705 A	19-12-2005
		MX	PA05010549 A	25-05-2006
		NO	334022 B1	18-11-2013
		NZ	542718 A	27-04-2007
		PT	1608753 E	16-02-2009
		RU	2339697 C2	27-11-2008
		SI	1608753 T1	30-04-2009
		US	9096854 B1	04-08-2015
		US	2007042985 A1	22-02-2007
		US	2007167385 A1	19-07-2007
		US	2009156539 A1	18-06-2009
		US	2010317719 A1	16-12-2010
		US	2012136043 A1	31-05-2012
		US	2013203839 A1	08-08-2013
		US	2014142163 A1	22-05-2014
		US	2014256788 A1	11-09-2014
		US	2015211011 A1	30-07-2015
		US	2015337312 A1	26-11-2015
		WO	2004087920 A1	14-10-2004
<hr/>				
WO 2015169966 A2	12-11-2015	NONE		
<hr/>				

---

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
**A 6 1 P 1/04 (2006.01)** A 6 1 P 1/04

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72) 発明者 モンテレオーネ, ジョヴァニ  
イタリア国 0 0 0 4 6 グロッタフェラータ, ヴィア XXIV マッジョ 1 2 8 , イエ  
ンネティー . 1 8

F ターム(参考) 4C084 AA13 MA01 MA52 NA14 ZA662  
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA02 MA05 MA52 NA14 ZA66