

(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2020-518633

(P2020-518633A)

(43) 公表日 令和2年6月25日(2020.6.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/7125 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7125	4 B 0 6 3
<b>A 6 1 P 13/12 (2006.01)</b>	A 6 1 P 13/12	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
<b>A O 1 K 67/027 (2006.01)</b>	A O 1 K 67/027	
<b>C 1 2 N 15/113 (2010.01)</b>	C 1 2 N 15/113 Z	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-560355 (P2019-560355)	(71) 出願人	504456798
(86) (22) 出願日	平成30年5月4日 (2018.5.4)		サノファイ
(85) 翻訳文提出日	令和1年12月20日 (2019.12.20)		S A N O F I
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/031094		フランス国、エフ - 7 5 0 0 8 ・ パリ、リ
(87) 国際公開番号	W02018/204788		ュ・ラ・ボエティ・54
(87) 国際公開日	平成30年11月8日 (2018.11.8)		54 rue La Bo▲e▼tie,
(31) 優先権主張番号	62/501,699		F-75008 Paris, Franc
(32) 優先日	平成29年5月4日 (2017.5.4)		e
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100127926
			弁理士 結田 純次
		(74) 代理人	100140132
			弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルポート症候群を治療するための方法

## (57) 【要約】

本明細書で提供するのは、m i R - 2 1 を標的化した修飾オリゴヌクレオチドを使用する、アルポート症候群を治療するための方法である。特定の実施形態では、m i R - 2 1 を標的化した修飾オリゴヌクレオチドが、アルポート症候群を有する対象において腎機能を改善する、および/または線維症を低減する。特定の実施形態では、m i R - 2 1 を標的化した修飾オリゴヌクレオチドの投与が、アルポート症候群を有する対象において末期腎疾患の発症を遅延させる。特定の実施形態では、m i R - 2 1 を標的化した修飾オリゴヌクレオチドが、アルポート症候群を有する対象において透析または腎移植の必要を遅延させる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

アルポート症候群を有する対象に 2 つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを投与する工程を含む、アルポート症候群を治療するための方法であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19 の結合ヌクレオシドからなり、構造 5' - A<sub>E</sub> C<sub>S</sub> A T C<sub>S</sub> A G T C<sub>S</sub> T G A U<sub>S</sub> A A G C<sub>S</sub> T A<sub>E</sub> - 3' (配列番号 3) を有し、下付き文字の前にないヌクレオシドは、- D - デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2' - M O E ヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S - c E t ヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、投薬間に 2 週間の頻度で 1 . 5 m g / k g の用量が投与される、前記方法。

10

## 【請求項 2】

用量は、薬学的に許容される希釈剤中で送達される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

薬学的に許容される希釈剤は、生理食塩水溶液である、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

生理食塩水溶液は、0 . 3 % 塩化ナトリウム溶液である、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

薬学的に許容される希釈剤中の修飾オリゴヌクレオチドの濃度は、少なくとも 1 1 0 m g / m L である、請求項 2 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

## 【請求項 6】

用量は、修飾オリゴヌクレオチド 1 1 0 m g / m L の 1 回のボーラス注射である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 7】

医薬組成物は、皮下注射液として投与される、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 8】

皮下注射液は、対象の前方腹壁に投与される、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

臨床的、組織病理学的、および / または遺伝学的基準によりアルポート症候群と診断された対象を選択する工程を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

## 【請求項 10】

第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、3 0 m l / 分 / 1 . 7 3 m<sup>2</sup> の推算糸球体濾過量を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、4 5 m l / 分 / 1 . 7 3 m<sup>2</sup> ~ 9 0 m l / 分 / 1 . 7 3 m<sup>2</sup> の推算糸球体濾過量 ( e G F R ) を有する、請求項 1 5 に記載の方法。

## 【請求項 12】

第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象の推算糸球体濾過量は、5 m l / 分 / 1 . 7 3 m<sup>2</sup> / 年以上の量で減少している、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 13】

対象は、男性であり、X 連鎖性アルポート症候群と診断されており、1 8 歳 ~ 3 0 歳の年齢である、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 14】

第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、クレアチニン 1 グラムあたり 3 0 0 ミリグラムを超えるタンパク質のタンパク尿を有する、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 15】

50

修飾オリゴヌクレオチドの投与後、対象は：

- a．推算系球体濾過量；
- b．推算系球体濾過量の減少の速度；および
- c．Short Form 36 Health Survey（登録商標）を使用した生活の質

からなる群から選択される１つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を経験する、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１６】

修飾オリゴヌクレオチドの投与後、対象は：

- a．生検組織中のmiR-21；
- b．血液中尿素窒素；
- c．尿中タンパク質／アルブミン比；
- d．尿中アルブミン／クレアチン比；
- e．クレアチニン；
- f．尿中足細胞；
- g．腎損傷分子-1；
- h．-2マイクログロブリン；
- i．クラスτεリン；
- j．シスタチンC；
- k．非対称性ジメチルアルギニン；
- l．形質転換増殖因子-；
- m．結合組織増殖因子；および
- n．好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン

からなる群から選択される１つまたはそれ以上の腎臓バイオマーカーの改善を示す、請求項１～１５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１７】

クレアチニン、シスタチンC、腎損傷分子-1、-2マイクログロブリン、および／またはクラスτεリンの１つまたはそれ以上が対象の血液試料中で測定される、請求項１～１６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１８】

クレアチニン、シスタチンC、腎損傷分子-1、-2マイクログロブリン、および／またはクラスτεリンの１つまたはそれ以上が対象の尿試料中で測定される、請求項１～１６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１９】

第１の用量のオリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、少なくとも３０日間アンギオテンシンII変換酵素（ACE）阻害剤で治療されている、請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２０】

第１の用量のオリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、少なくとも３０日間アンギオテンシンII受容体遮断薬（ARB）で治療されている、請求項１～１９のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２１】

アンギオテンシンII変換酵素（ACE）阻害剤は、カプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、ベナゼプリル、クイナプリル、フォシノプリル、およびラミプリルから選択される、請求項１９に記載の方法。

【請求項２２】

アンギオテンシンII受容体遮断薬（ARB）は、カンデサルタン、イルベサルタン、オルメサルタン、ロサルタン、バルサルタン、テルミサルタン、およびエプロサルタンから選択される、請求項２０に記載の方法。

【請求項２３】

10

20

30

40

50

少なくとも 2.4 用量が対象に投与される、請求項 1 ~ 2.2 のいずれか 1 項に記載の方法

。【請求項 2.4】

対象におけるアルポート症候群を治療するための方法であって、

a. 臨床的、組織病理学的、および / または遺伝学的基準を使用してアルポート症候群と診断された対象を選択する工程；

b. 2 つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19 の結合ヌクレオチドからなり、構造 5' - A<sub>E</sub> C<sub>S</sub> A T C<sub>S</sub> A G T C<sub>S</sub> T G A U<sub>S</sub> A A G C<sub>S</sub> T A<sub>E</sub> - 3' (配列番号 3) を有し、下付き文字の前にはないヌクレオチドは、- D - デオキシリボヌクレオチドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオチドは、2' - M O Eヌクレオチドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオチドは、S - c E tヌクレオチドであり、各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が 1.5 mg / kg であり、投薬間に 2 週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

c. 医薬組成物の投与後、対象は：

i. 推算糸球体濾過量 (e G F R) ；

i i. e G F R の減少の速度；および

i i i. S h o r t F o r m 3 6 H e a l t h S u r v e y (登録商標) により測定した生活の質 (Q O L)

から選択される 1 つまたはそれ以上の A S 関連パラメーターの改善を示す、前記方法。

【請求項 2.5】

対象におけるアルポート症候群を治療するための方法であって、

a. 臨床的、組織病理学的、および / または遺伝学的基準を使用してアルポート症候群と診断された対象を選択する工程であって、対象が：

i. 少なくとも 30 ml / 分 / 1.73 m<sup>2</sup> の推算糸球体濾過量；

i i. 5 ml / 分 / 1.73 m<sup>2</sup> / 年以上の推算糸球体濾過量の量の減少；

i i i. クレアチニン 1 グラムあたり 300 mg 以上のタンパク質のタンパク尿を有し；

i v. 少なくとも 30 日間 A C E 阻害剤および / または A R B の安定的投薬レジメンで治療されている工程、

b. 2 つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19 の結合ヌクレオチドからなり、構造 5' - A<sub>E</sub> C<sub>S</sub> A T C<sub>S</sub> A G T C<sub>S</sub> T G A U<sub>S</sub> A A G C<sub>S</sub> T A<sub>E</sub> - 3' (配列番号 3) を有し、下付き文字の前にはないヌクレオチドは、- D - デオキシリボヌクレオチドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオチドは、2' - M O Eヌクレオチドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオチドは、S - c E tヌクレオチドであり、各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が 1.5 mg / kg であり、投薬間に 2 週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

c. 医薬組成物の投与後、対象は：

i. 推算糸球体濾過量 (e G F R) ；

i i. e G F R の減少の速度；および

i i i. S h o r t F o r m 3 6 H e a l t h S u r v e y (登録商標) により測定した生活の質 (Q O L)

から選択される 1 つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を示す、前記方法。

【請求項 2.6】

アルポート症候群を有する対象における経時的な腎機能の低下を減らすための方法であって、

10

20

30

40

50

a. 臨床的、組織病理学的、および／または遺伝学的基準によって確認しアルポート症候群と診断された対象を選択する工程であって、対象が：

i. 少なくとも  $30 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  の推算糸球体濾過量；

ii.  $5 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2 / \text{年}$  以上の推算糸球体濾過量の量の減少；

iii. クレアチニン  $1 \text{ g}$  あたり  $300 \text{ mg}$  以上のタンパク質のタンパク尿を有し；

iv. 少なくとも  $30$  日間 ACE 阻害剤および／または ARB の安定的投薬レジメンで治療されている工程、

b. 2 つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、 $19$  の結合ヌクレオシドからなり、構造  $5' - A_E C_S A T C_S A G T C_S T G A U_S A A G C_S T A_E - 3'$  (配列番号 3) を有し、下付き文字の前にはないヌクレオシドは、 $-D-$  デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、 $2'$  - MOE ヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、 $S-cEt$  ヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が  $1.5 \text{ mg} / \text{kg}$  であり、投薬間に 2 週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

10

c. 医薬組成物の投与後、対象は：

i. 推算糸球体濾過量 (eGFR)；

ii. eGFR の減少の速度；および

20

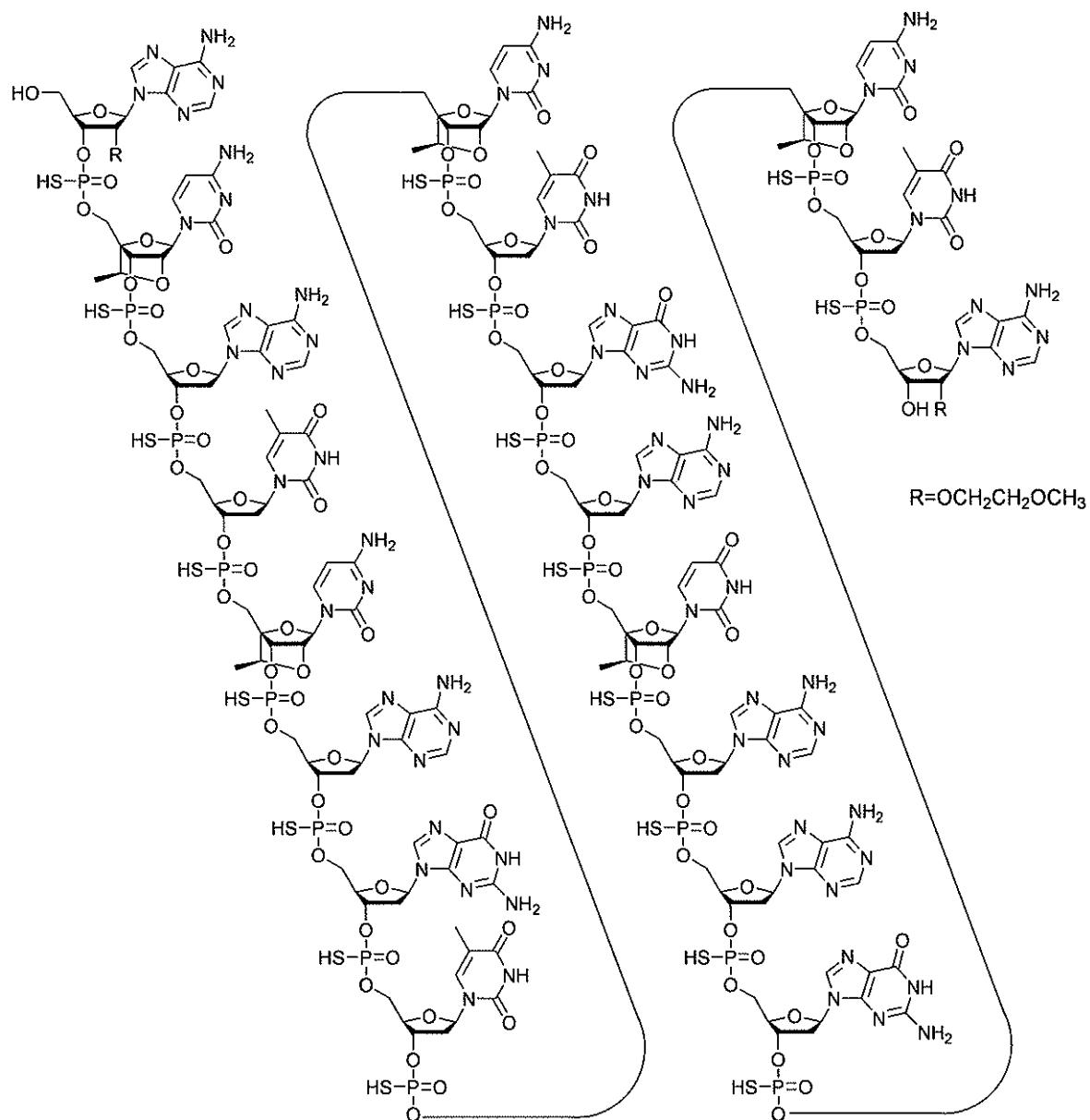
iii. Short Form 36 Health Survey (登録商標) により測定した生活の質 (QOL)

から選択される 1 つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を示す、前記方法。

【請求項 27】

修飾オリゴヌクレオチドは、構造：

## 【化 1】



10

20

30

(配列番号 3) ; またはその薬学的に許容される塩を有する、請求項 1 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 28】

修飾オリゴヌクレオチドは、薬学的に許容される塩の構造として存在する、請求項 27 に記載の方法。

40

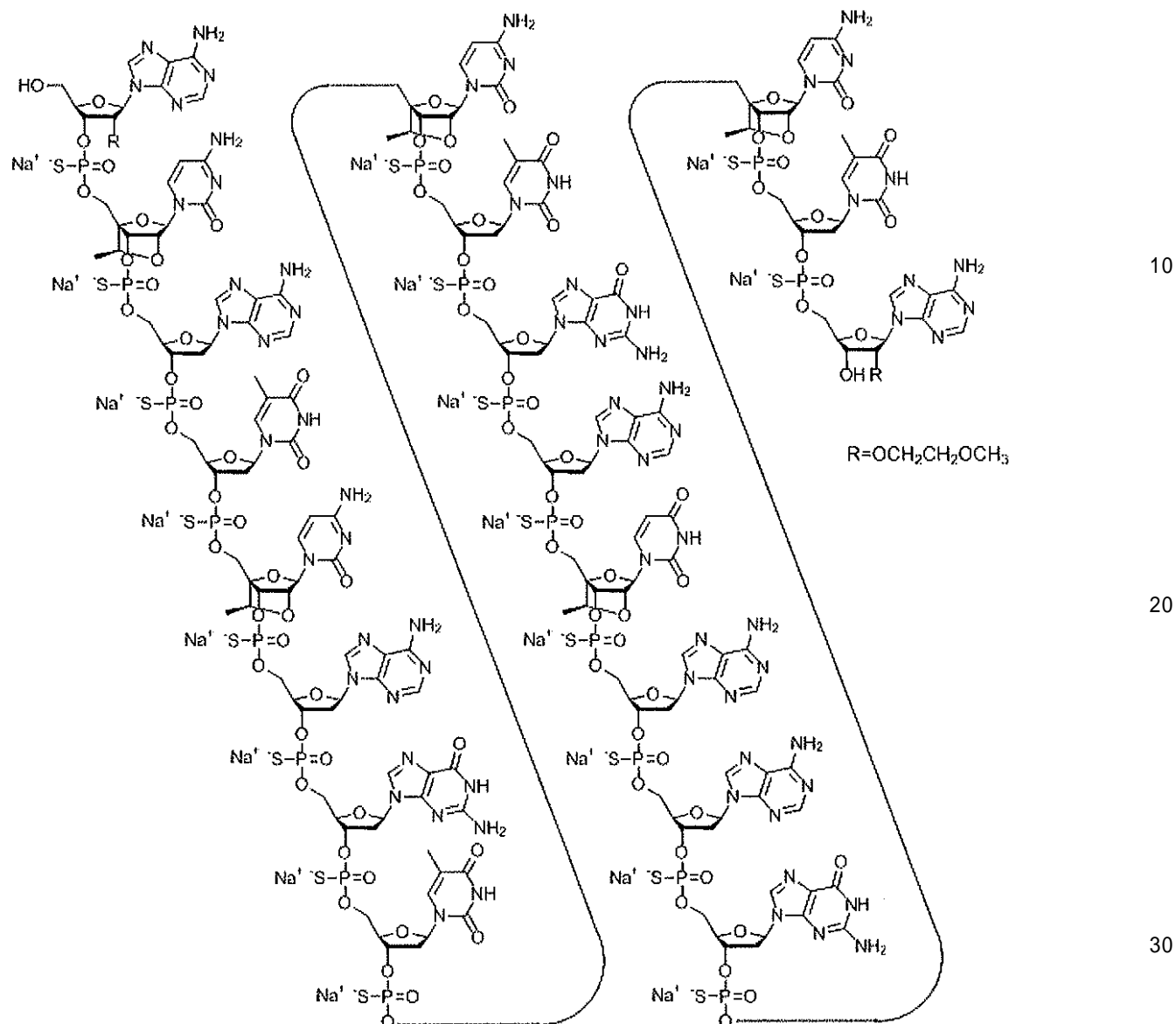
## 【請求項 29】

修飾オリゴヌクレオチドは、ナトリウム塩の構造として存在する、請求項 28 に記載の方法。

## 【請求項 30】

修飾オリゴヌクレオチドは、構造：

## 【化 2】



(配列番号 3) を有する、請求項 1 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 31】

慢性腎臓病疫学共同研究 (CKD-EPI) のクレアチニン式を使用して推算糸球体濾過量を計算する、請求項 10 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 32】

慢性腎臓病疫学共同研究 (CKD-EPI) のクレアチニン - シスタチン C 式を使用して推算糸球体濾過量を計算する、請求項 10 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、あらゆる目的でその全容を参照によって本明細書に組み入れる、2018年5月4日に提出された米国仮出願第62/501,699号の優先権を主張するものである。

## 【0002】

本明細書で提供するのは、アルポート症候群を治療するための方法および組成物である

50

。

## 【背景技術】

## 【0003】

I V型コラーゲン、基底膜の主成分は、6つの鎖、Ⅰ-1コラーゲン(I V型)、Ⅰ-2コラーゲン(I V型)、Ⅰ-3コラーゲン(I V型)、Ⅰ-4コラーゲン(I V型)、Ⅰ-5コラーゲン(I V型)、およびⅠ-6コラーゲン(I V型)のファミリーである。コラーゲンI VのⅠ-3、Ⅰ-4およびⅠ-6鎖は、腎臓による血液濾過の重要な機能を果たす、糸球体基底膜(G B M)のコラーゲンネットワークの基本成分である。

## 【0004】

アルポート症候群は、異常なタイプの糸球体基底膜(G B M)が生成され、間質性線維症、糸球体硬化症、および最終的な腎機能消失につながる遺伝型の腎疾患である。この疾患は、聴覚障害および眼球異常によって特徴付けられることも多い。アルポート症候群は、それぞれI V型コラーゲンのⅢ(I V)、Ⅳ(I V)、およびⅤ(I V)鎖をコードするC o l 4 a 3、C o l 4 a 4、またはC o l 4 a 5における突然変異によって引き起こされる。X染色体上のC o l 4 a 5遺伝子における突然変異は、この疾患の全症例の85%を占めるX連鎖性のアルポート症候群を引き起こす。常染色体劣性は、その各々が第2染色体上に位置するC o l 4 a 3またはC o l 4 a 4のいずれかの、各コピーにおける突然変異の遺伝によるものである。稀な常染色体優性は、C o l 4 a 3またはC o l 4 a 4遺伝子のいずれかにおけるドミナントネガティブ突然変異の遺伝によるものである。X連鎖性は女性より男性においてより重篤であり、男性における大部分の症例は末期腎疾患(E S R D)に進行する。常染色体性は男性と女性で同様の重症度である。この疾患の大部分の症例は遺伝性突然変異によるものであるが、幾つかの症例はC o l 4 a A遺伝子の1つにおけるd e n o v o突然変異によるものである。

10

20

## 【発明の概要】

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

実施形態1．アルポート症候群を有する対象に2つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを投与する工程を含む、アルポート症候群を治療するための方法であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19の結合ヌクレオシドからなり、構造5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>A T C<sub>S</sub>A G T C<sub>S</sub>T G A U<sub>S</sub>A A G C<sub>S</sub>T A<sub>E</sub>-3' (配列番号3)を有し、下付き文字の前のヌクレオシドは、Ⅰ-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、Ⅱ-M O Eヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、Ⅲ-S-c E tヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、投薬間に2週間の頻度で1.5mg/kgの用量が投与される、方法。

30

## 【0006】

実施形態2．用量は、薬学的に許容される希釈剤中で送達される、実施形態1に記載の方法。

## 【0007】

実施形態3．薬学的に許容される希釈剤は、生理食塩水溶液である、実施形態2に記載の方法。

40

## 【0008】

実施形態4．生理食塩水溶液は、0.3%塩化ナトリウム溶液である、実施形態3に記載の方法。

## 【0009】

実施形態5．薬学的に許容される希釈剤中の修飾オリゴヌクレオチドの濃度は、少なくとも110mg/mLである、実施形態2~4のいずれか1つに記載の方法。

## 【0010】

実施形態6．用量は、修飾オリゴヌクレオチド110mg/mLの1回のボラス注射である、実施形態1~5のいずれか1つに記載の方法。

50



## 【 0 0 1 1 】

実施形態 7 . 医薬組成物は、皮下注射液として投与される、実施形態 1 ~ 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 1 2 】

実施形態 8 . 皮下注射液は、対象の前方腹壁に投与される、実施形態 7 に記載の方法。

## 【 0 0 1 3 】

実施形態 9 . 臨床的、組織病理学的、および / または遺伝学的基準によりアルポート症候群と診断された対象を選択する工程を含む、実施形態 1 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 1 4 】

10

実施形態 10 . 第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、 $30 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  の推算系球体濾過量を有する、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 1 5 】

実施形態 11 . 第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、 $45 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2 \sim 90 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  の推算系球体濾過量 ( e G F R ) を有する、実施形態 15 に記載の方法。

## 【 0 0 1 6 】

実施形態 12 . 第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象の推算系球体濾過量は、 $5 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  / 年以上の量で減少している、実施形態 1 ~ 11 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

## 【 0 0 1 7 】

実施形態 13 . 対象は、男性であり、X連鎖性アルポート症候群と診断されており、18歳 ~ 30歳の年齢である、実施形態 1 ~ 12 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 1 8 】

実施形態 14 . 第 1 の用量の修飾オリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、クレアチニン 1 グラムあたり 300 ミリグラムを超えるタンパク質のタンパク尿を有する、実施形態 1 ~ 13 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 1 9 】

30

実施形態 15 . 修飾オリゴヌクレオチドの投与後、対象は :

a . 推算系球体濾過量 ;

b . 推算系球体濾過量の減少の速度 ; および

c . Short Form 36 Health Survey (登録商標) を使用した生活の質

からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を経験する、実施形態 1 ~ 14 のいずれか 1 つに記載の方法。

## 【 0 0 2 0 】

実施形態 16 . 修飾オリゴヌクレオチドの投与後、対象は :

a . 生検組織中の m i R - 21 ;

b . 血液中尿素窒素 ;

40

c . 尿中タンパク質 / アルブミン比 ;

d . 尿中アルブミン / クレアチニン比 ;

e . クレアチニン ;

f . 尿中足細胞 ( urine podocyturia ) ;

g . 腎損傷分子 - 1 ;

h . - 2 マイクログロブリン ;

i . クラスτεリン ;

j . シスタチン C ;

k . 非対称性ジメチルアルギニン ;

l . 形質転換増殖因子 - ;

50

m . 結合組織増殖因子 ; および

n . 好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン

からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上の腎臓バイオマーカーの改善を示す、実施形態 1 ~ 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 0 2 1 】

実施形態 17 . クレアチニン、シスタチン C、腎損傷分子 - 1、 - 2 マイクログロブリン、および / またはクラスτεリンの 1 つまたはそれ以上が対象の血液試料中で測定される、実施形態 1 ~ 16 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 0 2 2 】

実施形態 18 . クレアチニン、シスタチン C、腎損傷分子 - 1、 - 2 マイクログロブリン、および / またはクラスτεリンの 1 つまたはそれ以上が対象の尿試料中で測定される、実施形態 1 ~ 16 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【 0 0 2 3 】

実施形態 19 . 第 1 の用量のオリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、少なくとも 30 日間アンギオテンシン II 変換酵素 (ACE) 阻害剤で治療されている、実施形態 1 ~ 18 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 0 2 4 】

実施形態 20 . 第 1 の用量のオリゴヌクレオチドを得る前に、対象は、少なくとも 30 日間アンギオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) で治療されている、実施形態 1 ~ 19 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【 0 0 2 5 】

実施形態 21 . アンギオテンシン II 変換酵素 (ACE) 阻害剤は、カプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、ベナゼプリル、クイナプリル、フォシノプリル、およびラミプリルから選択される、実施形態 19 に記載の方法。

【 0 0 2 6 】

実施形態 22 . アンギオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) は、カンデサルタン、イルベサルタン、オルメサルタン、ロサルタン、バルサルタン、テルミサルタン、およびエプロサルタンから選択される、実施形態 20 に記載の方法。

【 0 0 2 7 】

実施形態 23 . 少なくとも 24 用量が対象に投与される、実施形態 1 ~ 22 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

【 0 0 2 8 】

実施形態 24 . 対象におけるアルポート症候群を治療するための方法であって、

a . 臨床的、組織病理学的、および / または遺伝学的基準を使用してアルポート症候群と診断された対象を選択する工程 ;

b . 2 つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19 の結合ヌクレオチドからなり、構造 5' - A<sub>E</sub> C<sub>S</sub> A T C<sub>S</sub> A G T C<sub>S</sub> T G A U<sub>S</sub> A A G C<sub>S</sub> T A<sub>E</sub> - 3' (配列番号 3) を有し、下付き文字の前でないヌクレオチドは、 - D - デオキシリボヌクレオチドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオチドは、2' - M O Eヌクレオチドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオチドは、S - c E tヌクレオチドであり、各ヌクレオチド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が 1 . 5 m g / k g であり、投薬間に 2 週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

40

c . 医薬組成物の投与後、対象は :

i . 推算糸球体濾過量 (e G F R) ;

i i . e G F R の減少の速度 ; および

i i i . S h o r t F o r m 3 6 H e a l t h S u r v e y (登録商標) により測定した生活の質 (Q O L)

から選択される 1 つまたはそれ以上の A S 関連パラメーターの改善を示す方法。

50

## 【0029】

実施形態25．対象におけるアルポート症候群を治療するための方法であって、

a．臨床的、組織病理学的、および／または遺伝学的基準を使用してアルポート症候群と診断された対象を選択する工程であって、対象が：

i．少なくとも30ml／分／1.73m<sup>2</sup>の推算糸球体濾過量；

ii．5ml／分／1.73m<sup>2</sup>／年以上の推算糸球体濾過量の量の減少；

iii．クレアチニン1グラムあたり300mg以上のタンパク質のタンパク尿を有し

；

iv．少なくとも30日間ACE阻害剤および／またはARBの安定的投薬レジメンで治療されている工程、

10

b．2つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19の結合ヌクレオシドからなり、構造5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>A<sub>T</sub>C<sub>S</sub>A<sub>G</sub>T<sub>C</sub>S<sub>T</sub>G<sub>A</sub>U<sub>S</sub>A<sub>A</sub>G<sub>C</sub>S<sub>T</sub>A<sub>E</sub>-3'（配列番号3）を有し、下付き文字の前にはないヌクレオシドは、-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S-cEtヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が1.5mg/kgであり、投薬間に2週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

c．医薬組成物の投与後、対象は：

20

i．推算糸球体濾過量（eGFR）；

ii．eGFRの減少の速度；および

iii．Short Form 36 Health Survey（登録商標）により測定した生活の質（QOL）

から選択される1つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を示す方法。

## 【0030】

実施形態26．アルポート症候群を有する対象における経時的な腎機能の低下を減らすための方法であって、

a．臨床的、組織病理学的、および／または遺伝学的基準によって確認しアルポート症候群と診断された対象を選択する工程であって、対象が：

30

i．少なくとも30ml／分／1.73m<sup>2</sup>の推算糸球体濾過量；

ii．5ml／分／1.73m<sup>2</sup>／年以上の推算糸球体濾過量の量の減少；

iii．クレアチニン1グラムあたり300mg以上のタンパク質のタンパク尿を有し

；

iv．少なくとも30日間ACE阻害剤および／またはARBの安定的投薬レジメンで治療されている工程、

b．2つまたはそれ以上の用量の修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を対象に投与する工程であって、修飾オリゴヌクレオチドは、19の結合ヌクレオシドからなり、構造5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>A<sub>T</sub>C<sub>S</sub>A<sub>G</sub>T<sub>C</sub>S<sub>T</sub>G<sub>A</sub>U<sub>S</sub>A<sub>A</sub>G<sub>C</sub>S<sub>T</sub>A<sub>E</sub>-3'（配列番号3）を有し、下付き文字の前にはないヌクレオシドは、-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S-cEtヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、修飾オリゴヌクレオチドの用量が1.5mg/kgであり、投薬間に2週間の頻度で用量が投与される、工程を含み、

40

c．医薬組成物の投与後、対象は：

i．推算糸球体濾過量（eGFR）；

ii．eGFRの減少の速度；および

iii．Short Form 36 Health Survey（登録商標）に

50

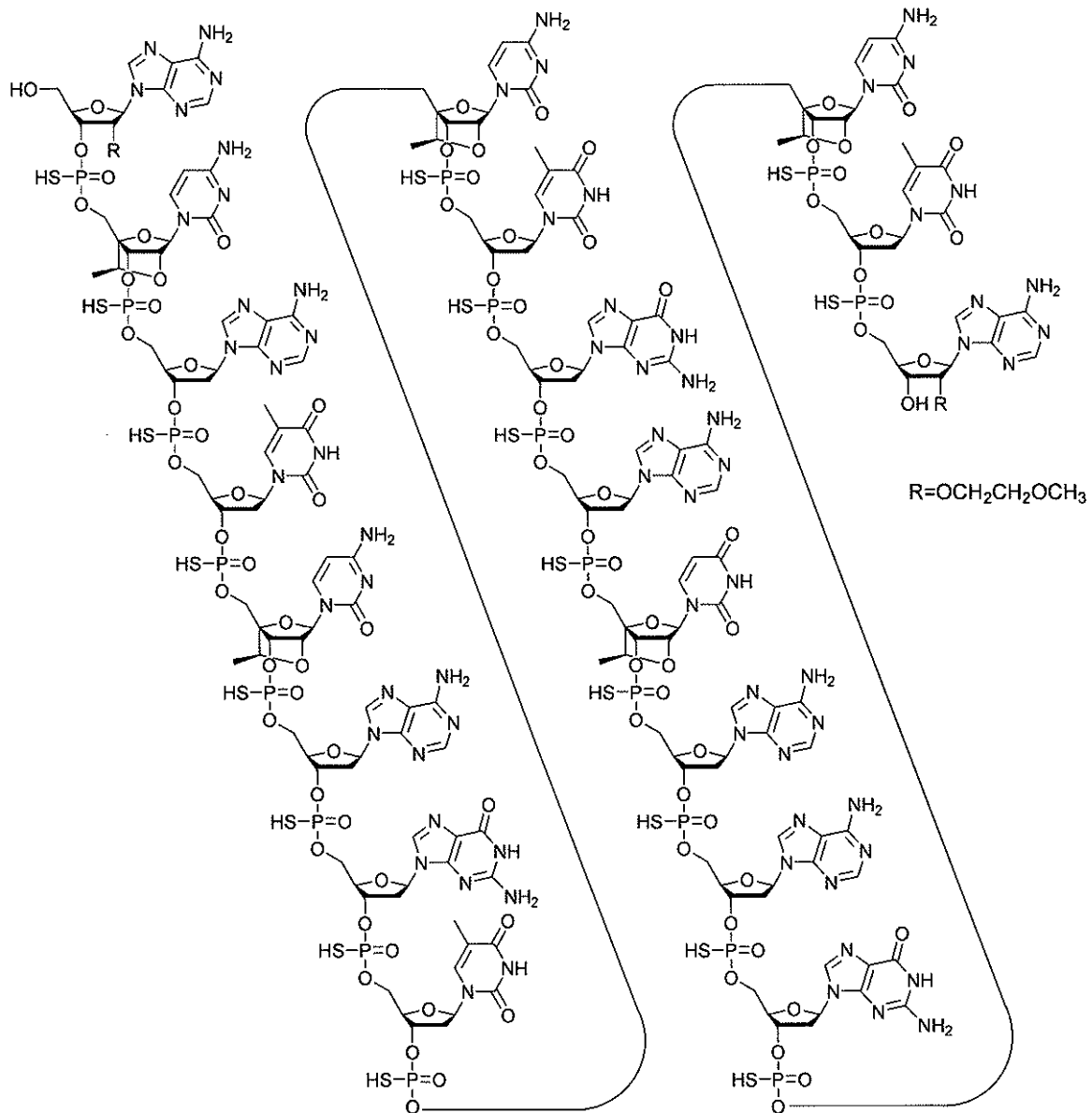
より測定した生活の質（QOL）

から選択される１つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善を示す方法。

【００３１】

実施形態２７．修飾オリゴヌクレオチドは、構造：

【化１】



（配列番号３）；またはその薬学的に許容される塩を有する、実施形態１～２６のいずれか１つに記載の方法。

【００３２】

実施形態２８．修飾オリゴヌクレオチドは、薬学的に許容される塩の構造として存在する、実施形態２７に記載の方法。

【００３３】

実施形態２９．修飾オリゴヌクレオチドは、ナトリウム塩の構造として存在する、実施形態２８に記載の方法。

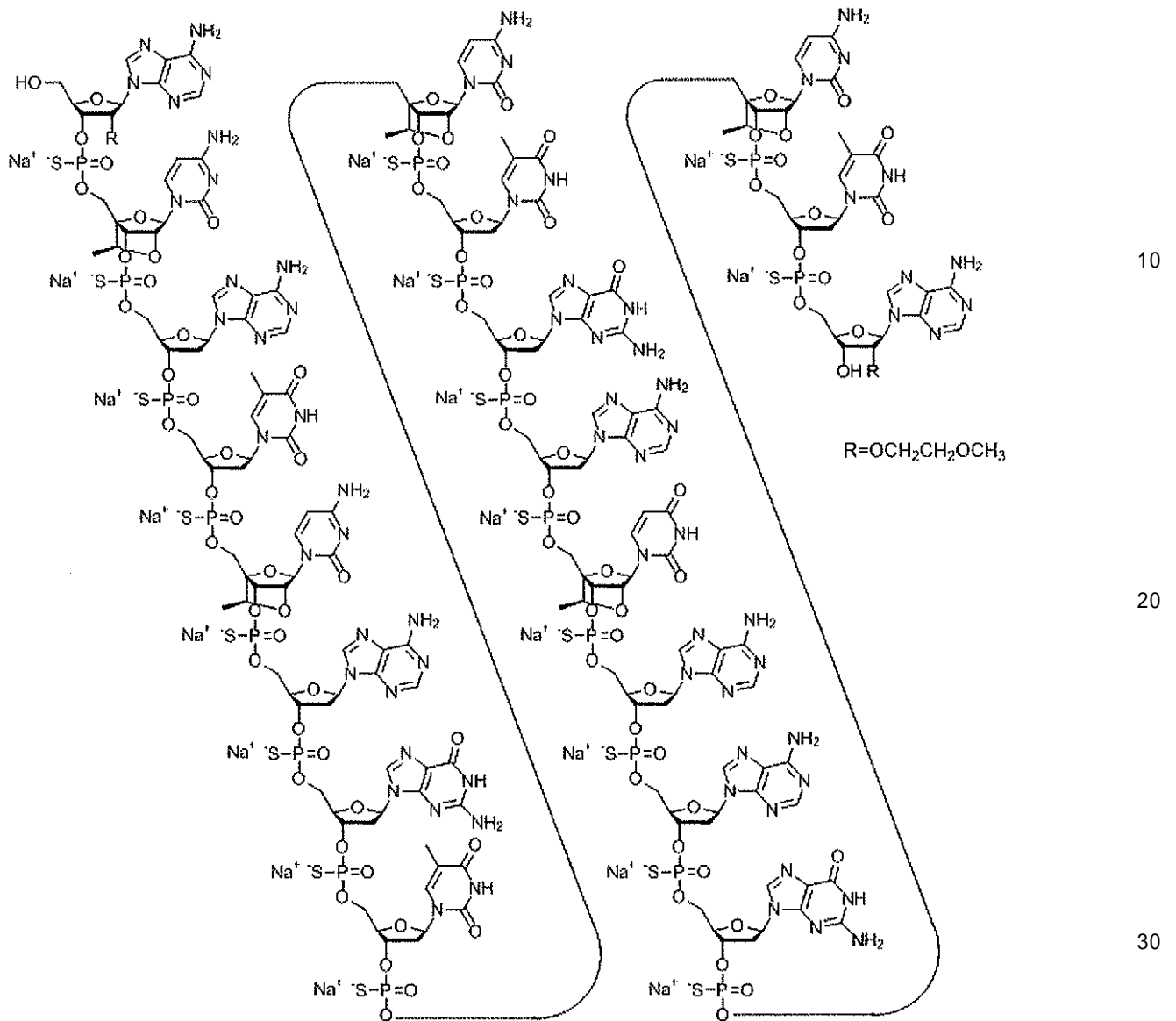
【００３４】

実施形態３０．修飾オリゴヌクレオチドは、構造：

40

50

【化 2】



( 配列番号 3 ) を有する、実施形態 1 ~ 29 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 0 3 5 】

実施形態 31. 慢性腎臓病疫学共同研究 (CKD-EPI) のクレアチニン式を使用して推算糸球体濾過量を計算する、実施形態 10 ~ 30 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 0 3 6 】

実施形態 3 2 . 慢性腎臓病疫学共同研究 ( C K D - E P I ) のクレアチニン - シスタチン C 式を使用して推算糸球体濾過量を計算する、実施形態 1 0 ~ 3 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 7 】

他に定義しない限り、本明細書中で使用する全ての技術および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されているものと同じ意味を有する。具体的な定義を与えない限り、本明細書中に記載する関連して利用する命名法、ならびに分析化学、合成有機化学、および医薬および製薬化学の手順と技法は、当技術分野でよく知られており一般に使用されるものである。本明細書中の用語に関して複数の定義が存在する場合、本セクション中の定義が優勢である。標準的技法を、化学合成、化学分析、医薬品調製

、製剤化および送達、および対象の治療に使用することができる。特定のこのような技法および手順は、あらゆる目的で参照によって本明細書に組み入れる、例えばSangvi and Cook、American Chemical Society、Washington D.C. 1994年によって編集された「Carbohydrate Modifications in Antisense Research」、および「Remington's Pharmaceutical Sciences」、Mack Publishing Co.、Easton、Pa、第18版、1990年中に見ることができる。許容される場合、他に記さない限り、本明細書中の開示全体を通じて言及する全ての特許、特許出願、公開出願および刊行物、GENBANK配列、ウェブサイトおよび他の公開材料は、その全容を参照によって本明細書に組み入れる。URLまたは他のこのような識別子もしくはアドレスを言及する場合、このような識別子は変わる可能性があり、インターネット上の個別の情報は変わる可能性があるが、同等の情報をインターネット検索により見つけることができることは理解される。それに関する言及は、このような情報の可用性および一般的拡散を示す。

10

20

30

40

50

#### 【0038】

本発明の組成物および方法を開示し記載する前に、本明細書中で使用する用語は、単に個別の実施形態を記載する目的のものであり、限定することを意図するものではないことを理解されたい。本明細書および添付の特許請求の範囲内で使用するように、文脈が明らかに他のことを示さない限り、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は複数形の言及を含むことを記さなければならない。

#### 【0039】

##### 定義

「アルポート症候群」は、異常なレベルの糸球体基底膜(GBM)が生成され、間質性線維症、糸球体硬化症、および最終的な腎機能消失につながる遺伝型の腎疾患である。この疾患は、聴覚障害および眼球異常によって特徴付けられることも多い。

#### 【0040】

「血尿」は尿中の赤血球細胞の存在を意味する。

#### 【0041】

「アルブミン尿」は尿中の過剰なアルブミンの存在を意味し、正常アルブミン尿、顕性アルブミン尿、ミクロアルブミン尿およびマクロアルブミン尿を非制限的に含む。通常、足細胞、糸球体基底膜および内皮細胞で構成される糸球体濾過透過制御壁が、尿中に血清タンパク質が漏出するのを妨げる。

#### 【0042】

アルブミン尿は糸球体濾過透過制御壁の損傷を反映し得る。アルブミン尿は、24時間尿試料、一晚尿試料または少量尿試料から計算することができる。

#### 【0043】

「顕性アルブミン尿」は、(i) 24時間あたりの尿中への15mgから<30mgのアルブミンの排出、および/または(ii) 男性において1.25mg/mmolから<2.5mg/mmol (または10mg/gから<20mg/g) または女性において1.75mg/mmolから<3.5mg/mmol (または15mg/gから<30mg/g) のアルブミン/クレアチニン比によって特徴付けられる増大アルブミン尿を意味する。

#### 【0044】

「ミクロアルブミン尿」は、(i) 24時間あたりの尿中への30~300mgのアルブミンの排出、および/または(ii) 男性において2.5mg/mmolから<25mg/mmol (または20mg/gから<200mg/g) または女性において3.5mg/mmolから<35mg/mmol (または30mg/gから<300mg/g) のアルブミン/クレアチニン比によって特徴付けられる増大アルブミン尿を意味する。

#### 【0045】

「マクロアルブミン尿」は、24時間あたりの尿中への300mgを超えるアルブミン

の排出、および／または ( i i ) 男性において  $> 25 \text{ mg / mmol}$  (または  $> 200 \text{ mg / g}$ ) または女性において  $> 35 \text{ mg / mmol}$  (または  $> 300 \text{ mg / g}$ ) のアルブミン／クレアチニン比によって特徴付けられる増大アルブミン尿を意味する。

【 0 0 4 6 】

「アルブミン／クレアチニン比」は尿中クレアチニン (  $\text{g / dL}$  ) あたりの尿中アルブミン (  $\text{mg / dL}$  ) の比であり、 $\text{mg / g}$  として表す。特定の実施形態では、少量尿試料からアルブミン／クレアチニン比を計算することができ、24時間の間にわたるアルブミン排出の推定値として使用することができる。

【 0 0 4 7 】

「糸球体濾過量 (  $\text{GFR}$  ) 」は腎臓からの濾過流体の流量を意味し、対象における腎機能の指標として使用する。特定の実施形態では、推算糸球体濾過量を計算することによって対象の  $\text{GFR}$  を決定する。特定の実施形態では、対象においてイヌリン方法を使用して、対象の  $\text{GFR}$  を直接測定する。

10

【 0 0 4 8 】

「推算糸球体濾過量 (  $\text{eGFR}$  ) 」は、腎臓がどの程度上手くクレアチニンを濾過しているかの測定値を意味し、これを使用して糸球体濾過量を見積もる。 $\text{GFR}$  の実測は複雑なので、臨床試験では  $\text{eGFR}$  が使用されることが多い。正常な結果は  $90 \sim 120 \text{ mL / 分 / } 1.73 \text{ m}^2$  の範囲であり得る。3カ月以上で  $60 \text{ mL / 分 / } 1.73 \text{ m}^2$  未満のレベルは慢性腎疾患の指標であり得る。 $15 \text{ mL / 分 / } 1.73 \text{ m}^2$  未満のレベルは腎不全の指標であり得る。

20

【 0 0 4 9 】

「タンパク尿」は尿中の過剰な血清タンパク質の存在を意味する。タンパク尿は、24時間あたりの尿中への  $> 250 \text{ mg}$  のタンパク質の排出、および／または  $0.20 \text{ mg / mg}$  の尿中タンパク質とクレアチニンの比によって特徴付けることができる。タンパク尿と関連して増大する血清タンパク質には、非制限的にアルブミンがある。

【 0 0 5 0 】

「血液中尿素窒素」または「 $\text{BUN}$ 」は、尿素の型での血液中の窒素量の測定値を意味する。肝臓は尿素回路においてタンパク質消化の老廃物として尿素を生成し、尿素は腎臓によって血液から除去される。正常なヒト成人の血液は、血液  $100 \text{ mL}$  あたり  $7 \text{ mg} \sim 21 \text{ mg}$  (  $7 \text{ mg} \sim 21 \text{ mg / dL}$  ) の尿素窒素を含有し得る。血液中尿素窒素の測定値は、腎臓の健康状態の指標として使用される。腎臓が正常に血液から尿素を除去できない場合、対象の  $\text{BUN}$  は増大する。

30

【 0 0 5 1 】

「末期腎疾患 (  $\text{ESRD}$  ) 」は、完全またはほぼ完全な腎機能不全を意味する。

【 0 0 5 2 】

「腎機能障害」は、正常な腎機能と比較して低下した腎機能を意味する。

【 0 0 5 3 】

「線維症」は、臓器または組織中の過剰な線維結合組織の形成または発達を意味する。特定の実施形態では、修復または反応プロセスとして線維症が生じる。特定の実施形態では、障害または損傷に応答して線維症が生じる。用語「線維症」は、臓器または組織の正常成分としての線維組織の形成とは対照的な、修復または反応プロセスとしての、臓器または組織中の過剰な線維結合組織の形成または発達として理解されたい。

40

【 0 0 5 4 】

「ベースライン」は、治療開始直前の対象における臨床パラメータの測定値を意味する。ベースライン測定値を使用して、対象が1つまたはそれ以上の選択医薬品を用いた治療に適していることを確認することができる。特定の実施形態では、ベースライン  $\text{eGFR}$  を、アルポート症候群を有する対象から得て、本明細書中に記載する1つまたはそれ以上の選択医薬品を用いた治療に対象が適していることを確認する。

【 0 0 5 5 】

「 $\text{Short Form 36 Health Survey}$  (登録商標)」または「

50

S F - 3 6」は、対象の健康状態および生活の質を評価する際に使用される、対象健康状態の36項目の対象報告型調査を意味する。S F - 3 6を使用して、疾患または状態の治療を施した対象の疾患負担をモニタリングし比較することができる。S F - 3 6は8個の個別ドメイン：身体機能、身体役割機能、身体の痛み、一般的健康知覚、活力、社会的役割機能、感情的役割機能、およびメンタルヘルスを含む。S F - 3 6は、例えばM c H o r n e y ら ( M e d C a r e , 1 9 9 3 年 3 月 3 1 日 ( 3 ) : 2 4 7 ~ 6 3 頁 ) によって記載されている。

【 0 0 5 6 】

「生活の質」は、疾患および/または疾患の治療によって対象の身体、生理、および社会機能が損なわれる程度を意味する。生活の質は、アルポート症候群を含めた慢性疾患がある対象において損なわれる可能性がある。

10

【 0 0 5 7 】

「安定的投薬レジメン」は、対象における医薬品の治療レベルを維持する、対象に投与される医薬品の量を意味する。例えば、初回用量の医薬品を対象に与えることができ、対象が初回用量にどの程度応答するかに応じて、この用量をさらに多くまたは少なく調整することができる。所望の治療レベルをもたらす用量が確定した後、対象は安定的投薬レジメンを得ると考えられる。所望の治療レベルは、(血液などの)対象の組織中で望ましい医薬品のレベル、または1つまたはそれ以上の疾患症状の改善などの望ましい薬理学的効果であり得る。

【 0 0 5 8 】

20

「さらなる進行の遅延」は、医学的状态が進行状態に移行する速度の低減を意味する。

【 0 0 5 9 】

「さらなる進行の休止」は、医学的状态が進行状態に進行するのが止まることを意味する。

【 0 0 6 0 】

「透析時間の延引」は、透析治療の必要が遅れるほど十分な腎機能の維持を意味する。

【 0 0 6 1 】

「腎移植時間の延引」は、腎移植の必要が遅れるほど十分な腎機能の維持を意味する。

【 0 0 6 2 】

「平均余命の改善」は、対象における1つまたはそれ以上の疾患症状の治療による、対象の寿命の延長を意味する。

30

【 0 0 6 3 】

「アンチm i R」は、マイクロRNAと相補的な核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを意味する。特定の実施形態では、アンチm i Rは修飾オリゴヌクレオチドである。

【 0 0 6 4 】

「m i R - X」が特定マイクロRNAを指定する「アンチm i R - X」は、m i R - Xと相補的な核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを意味する。特定の実施形態では、アンチm i R - Xはm i R - Xと完全に相補的(すなわち100%相補的)である。特定の実施形態では、アンチm i R - Xはm i R - Xと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%相補的である。特定の実施形態では、アンチm i R - Xは修飾オリゴヌクレオチドである。

40

【 0 0 6 5 】

「m i R - 2 1」は、核酸塩基配列U A G C U U A U C A G A C U G A U G U U G A (配列番号1)を有する成熟m i R N Aを意味する。

【 0 0 6 6 】

「m i R - 2 1 ステムループ配列」は、核酸塩基配列U G U C G G G U A G C U U A U C A G A C U G A U G U U G A C U G U U G A A U C U C A U G G C A A C A C C A G U C G A U G G G C U G U C U G A C A (配列番号2)を有するステムループ配列を意味する。

【 0 0 6 7 】

50



「標的核酸」は、オリゴマー化合物がハイブリダイズするように設計された核酸を意味する。

【0068】

「標的化」は、標的核酸とハイブリダイズする核酸塩基配列の設計および選択の方法を意味する。

【0069】

「～を標的化する」は、標的核酸とハイブリダイゼーション可能な核酸塩基配列があることを意味する。

【0070】

「調節」は、機能、量、または活性の変動を意味する。特定の実施形態では、調節は機能、量、または活性の増大を意味する。特定の実施形態では、調節は機能、量、または活性の低下を意味する。

10

【0071】

「発現」は、遺伝子のコード情報が既存の構造に変換され細胞内で作用する、任意の機能および工程を意味する。

【0072】

「核酸塩基配列」は、何らかの糖、結合、および/または核酸塩基修飾とは無関係に、典型的には5'から3'方向に並んだ、オリゴマー化合物または核酸中の隣接核酸塩基の配列を意味する。

【0073】

20

「隣接核酸塩基」は、核酸中の互いにすぐ隣の核酸塩基を意味する。

【0074】

「核酸塩基相補性」は、水素結合を介して非共有結合対を形成する2つの核酸塩基の能力を意味する。

【0075】

「相補的」は、1つの核酸が別の核酸またはオリゴヌクレオチドとハイブリダイズ可能であることを意味する。特定の実施形態では、相補的は標的核酸とハイブリダイズ可能であるオリゴヌクレオチドを指す。

【0076】

「100%相補的」とも言う「完全に相補的」は、オリゴヌクレオチドの各核酸塩基が、標的核酸中のそれぞれの対応する位置で核酸塩基と塩基対形成することができることを意味する。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドはマイクロRNAと完全に相補的である、すなわちオリゴヌクレオチドの各核酸塩基は、マイクロRNA中の対応する位置で核酸塩基と相補的である。特定の実施形態では、各核酸塩基がマイクロRNAステムループ配列の領域内の核酸塩基と相補性を有するオリゴヌクレオチドは、マイクロRNAステムループ配列と完全に相補的である。

30

【0077】

「相補率」は、標的核酸の等しい長さ部分と相補的である、オリゴヌクレオチドの核酸塩基の割合を意味する。相補率は、標的核酸中の対応する位置で核酸塩基と相補的であるオリゴヌクレオチドの核酸塩基の数を、オリゴヌクレオチド中の核酸塩基の合計数で割ることによって計算する。

40

【0078】

「同一率」は、第1の核酸中の核酸塩基の合計数で割った、第2の核酸中の対応する位置における核酸塩基と同一である第1の核酸中の核酸塩基の数を意味する。特定の実施形態では、第1の核酸はマイクロRNAであり、第2の核酸はマイクロRNAである。特定の実施形態では、第1の核酸はオリゴヌクレオチドであり、第2の核酸はオリゴヌクレオチドである。

【0079】

「ハイブリダイズ」は、核酸塩基の相補性によって起こる相補的核酸のアニーリングを意味する。

50

## 【0080】

「ミスマッチ」は、第2の核酸の対応する位置における核酸塩基とワトソン・クリック塩基対形成できない第1の核酸の核酸塩基を意味する。

## 【0081】

核酸塩基配列の文脈における「同一」は、糖、結合、および/または核酸塩基修飾とは無関係に、任意の既存のピリミジンのメチル状態とは無関係に、同じ核酸塩基配列を有することを意味する。

## 【0082】

「マイクロRNA」は、酵素ダイサーによるプレ-マイクロRNAの切断産物である、18~25核酸塩基長の内在非コードRNAを意味する。成熟マイクロRNAの例は、miRBaseとして知られるマイクロRNAのデータベースにおいて見られる(<http://microma.sanger.ac.uk/>)。特定の実施形態では、マイクロRNAは「マイクロRNA」または「miR」と略す。

10

## 【0083】

「マイクロRNA制御転写産物」は、マイクロRNAによって制御される転写産物を意味する。

## 【0084】

「シード配列」は、成熟マイクロRNA配列の5'末端の核酸塩基6~8または1~9の隣接核酸塩基を含む核酸塩基配列を意味する。

## 【0085】

「シードマッチ配列」は、シード配列と相補的であり、シード配列と同じ長さである核酸塩基配列を意味する。

20

## 【0086】

「オリゴマー化合物」は、複数の結合モノマーサブユニットを含む化合物を意味する。オリゴマー化合物はオリゴヌクレオチドを含む。

## 【0087】

「オリゴヌクレオチド」は、その各々が互いに無関係に修飾または非修飾状態であり得る、複数の結合ヌクレオチドを含む化合物を意味する。

## 【0088】

「天然ヌクレオシド間結合」はヌクレオシド間の3'~5'ホスホジエステル結合を意味する。

30

## 【0089】

「天然糖」はDNA(2'-H)またはRNA(2'-OH)において見られる糖を意味する。

## 【0090】

「ヌクレオシド間結合」は、隣接ヌクレオシド間の共有結合を意味する。

## 【0091】

「結合ヌクレオチド」は、共有結合によって接合したヌクレオチドを意味する。

## 【0092】

「核酸塩基」は、別の核酸塩基と共有結合対形成できる複素環部分を意味する。

40

## 【0093】

「ヌクレオチド」は、糖部分と結合した核酸塩基を意味する。

## 【0094】

「ヌクレオチド」は、ヌクレオチドの糖部分と共有結合したリン酸基を有するヌクレオチドを意味する。

## 【0095】

幾つかの結合ヌクレオチド「からなる修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物」は、規定数の結合ヌクレオチドを有する修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を意味する。したがって、この化合物は追加的置換またはコンジュゲートを含み得る。他に示さない限り、修飾オリゴヌクレオチドは、その修飾オリゴヌクレオチドにハイブリダイズする相補鎖にハ

50

イブリダイズせず、その修飾オリゴヌクレオチドのもの以外は如何なる追加的ヌクレオシドも含まない。

【0096】

「修飾オリゴヌクレオチド」は、天然末端、糖、核酸塩基、および/またはヌクレオシド間結合と比較して、1つまたはそれ以上の修飾を有する一本鎖オリゴヌクレオチドを意味する。修飾オリゴヌクレオチドは非修飾ヌクレオシドを含み得る。

【0097】

「修飾ヌクレオシド」は、天然ヌクレオシドから何らかの変化があるヌクレオシドを意味する。修飾ヌクレオシドは、修飾糖および非修飾核酸塩基を有し得る。修飾ヌクレオシドは、修飾糖および修飾核酸塩基を有し得る。修飾ヌクレオシドは、天然糖および修飾核酸塩基を有し得る。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは二環式ヌクレオシドである。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは非二環式ヌクレオシドである。

10

【0098】

「修飾ヌクレオシド間結合」は、天然ヌクレオシド間結合からの何らかの変化を意味する。

【0099】

「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」は、非架橋原子の1つが硫黄原子であるヌクレオシド間の結合を意味する。

【0100】

「修飾糖部分」は、天然糖からの置換および/または何らかの変化を意味する。

20

【0101】

「非修飾核酸塩基」は、RNAまたはDNAの天然複素環塩基：プリン塩基アデニン(A)とグアニン(G)、およびピリミジン塩基チミン(T)、シトシン(C)(5-メチルシトシン含む)、およびウラシル(U)を意味する。

【0102】

「5-メチルシトシン」は、5位置に結合したメチル基を含むシトシンを意味する。

【0103】

「非メチル化シトシン」は、5位置に結合したメチル基を有していないシトシンを意味する。

【0104】

「修飾核酸塩基」は、非修飾核酸塩基ではない任意の核酸塩基を意味する。

30

【0105】

「糖部分」は、天然フラノシルまたは修飾糖部分を意味する。

【0106】

「修飾糖部分」は、置換糖部分または糖代替を意味する。

【0107】

「2'-O-メチル糖」または「2'-OMe糖」は、2'位置にO-メチル修飾がある糖を意味する。

【0108】

「2'-O-メトキシエチル糖」または「2'-MOE糖」は、2'位置にO-メトキシエチル修飾がある糖を意味する。

40

【0109】

「2'-フルオロ」または「2'-F」は、2'位置のフルオロ修飾がある糖を意味する。

【0110】

「二環式糖部分」は、4~7員環の2原子を結び第2の環を形成し二環式構造をもたらす架橋を含む、(フラノシルを非制限的に含めた)4~7員環を含む修飾糖部分を意味する。特定の実施形態では、4~7員環は糖環である。特定の実施形態では、4~7員環はフラノシルである。このような特定の実施形態では、架橋がフラノシルの2'-炭素と4'-炭素を結ぶ。二環式糖部分の非制限的かつ例示的な例には、LNA、ENA、cet

50

、S - c E t、およびR - c E tがある。

【0111】

「ロックド核酸(LNA)糖部分」は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間に(CH<sub>2</sub>) - O架橋を含む置換糖部分の意味する。

【0112】

「ENA糖部分」は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間に(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O架橋を含む置換糖部分の意味する。

【0113】

「制約型エチル(c E t)糖部分」は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間にCH(CH<sub>3</sub>) - O架橋を含む置換糖部分の意味する。特定の実施形態では、CH(CH<sub>3</sub>) - O架橋はS方向で制約されている。特定の実施形態では、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - OはR方向で制約されている。

10

【0114】

「S - c E t糖部分」は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間にS - 制約型CH(CH<sub>3</sub>) - O架橋を含む置換糖部分の意味する。

【0115】

「R - c E t糖部分」は、4'フラノース環原子と2'フラノース環原子の間にR - 制約型CH(CH<sub>3</sub>) - O架橋を含む置換糖部分の意味する。

【0116】

「2' - O - メチルヌクレオシド」は、2' - O - メチル糖修飾がある2' - 修飾ヌクレオシドを意味する。

20

【0117】

「2' - O - メトキシエチルヌクレオシド」は、2' - O - メトキシエチル糖修飾がある2' - 修飾ヌクレオシドを意味する。2' - O - メトキシエチルヌクレオシドは、修飾または非修飾核酸塩基を含み得る。

【0118】

「2' - フルオロヌクレオシド」は、2' - フルオロ糖修飾がある2' - 修飾ヌクレオシドを意味する。2' - フルオロヌクレオシドは、修飾または非修飾核酸塩基を含み得る。

30

【0119】

「二環式ヌクレオシド」は、二環式糖部分を有する2' - 修飾ヌクレオシドを意味する。二環式ヌクレオシドは、修飾または非修飾核酸塩基を有し得る。

【0120】

「c E tヌクレオシド」は、c E t糖部分を含むヌクレオシドを意味する。c E tヌクレオシドは、修飾または非修飾核酸塩基を含み得る。

【0121】

「S - c E tヌクレオシド」は、S - c E t糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0122】

「R - c E tヌクレオシド」は、R - c E t糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

40

【0123】

「 - D - デオキシリボヌクレオシド」は天然DNAヌクレオシドを意味する。

【0124】

「 - D - リボヌクレオシド」は天然RNAヌクレオシドを意味する。

【0125】

「LNAヌクレオシド」は、LNA糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0126】

「ENAヌクレオシド」は、ENA糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【0127】

「対象」は、治療または療法用に選択されるヒトまたは非ヒト動物を意味する。

50

【0128】

「それを必要とする対象」は、療法または治療の必要があると確認された対象を意味する。

【0129】

「～を有する疑いがある対象」は、1つまたはそれ以上の疾患の臨床指標を示す対象を意味する。

【0130】

「投与」は医薬品または組成物を対象に与えることを意味し、医療専門家による投与および自己投与を非制限的に含む。

【0131】

「非経口投与」は注射または注入による投与を意味する。非経口投与は、皮下投与、静脈内投与、および筋肉内投与を非制限的に含む。

【0132】

「皮下投与」は皮膚直下の投与を意味する。

【0133】

「静脈内投与」は静脈中への投与を意味する。

【0134】

「同時に投与」は、両方の薬理学的効果が対象において同時に表れる任意の形式での、2つ以上の作用物質の同時投与を指す。同時投与は、両方の作用物質を同じ剤形で、または同じ投与経路によって、1つの医薬組成物で投与することを必要としない。両方の作用物質の効果はそれ自体が同時に表れる必要はない。その効果は単に一定時間期間重複することが必要で、同時に広がる必要はない。

【0135】

「持続時間」は、その間に活性または事象が継続する時間期間を意味する。特定の実施形態では、治療の持続期間は、その間に医薬品または医薬組成物の投薬を施す時間期間である。

【0136】

「療法」は疾患の治療方法を意味する。特定の実施形態では、療法は、化学療法、放射線療法、または医薬品の投与を非制限的に含む。

【0137】

「治療」は、疾患の治療または軽減のために使用する、1つまたはそれ以上の具体的手順の施用を意味する。特定の実施形態では、具体的手順は1つまたはそれ以上の医薬品の投与である。

【0138】

「軽減」は、状態または疾患の少なくとも1つの指標の重症度の低下を意味する。特定の実施形態では、軽減は、状態または疾患の1つまたはそれ以上の指標の進行における遅延または鈍化を含む。指標の重症度は、当業者に知られている主観的または客観的測定によって決定することができる。

【0139】

「発症のリスクがある」は、対象にある状態または疾患を発症する素因がある状況を意味する。特定の実施形態では、ある状態または疾患を発症するリスクがある対象は、その状態または疾患の1つまたはそれ以上の症状を示すが、その状態または疾患があると診断するのに十分な数の症状は示さない。特定の実施形態では、ある状態または疾患を発症するリスクがある対象は、その状態または疾患の1つまたはそれ以上の症状を示すが、その状態または疾患があると診断する要求基準の程度は低い。

【0140】

「～の発症の予防」は、疾患または状態を発症するリスクがある対象において、その状態または疾患の発症を予防することを意味する。特定の実施形態では、疾患または状態を発症するリスクがある対象は、既にその疾患または状態がある対象が受ける治療と同様の治療を受ける。

【0141】

10

20

30

40

50

「～の発症の遅延」は、疾患または状態を発症するリスクがある対象において、その状態または疾患の発症を遅延させることを意味する。特定の実施形態では、疾患または状態を発症するリスクがある対象は、既にその疾患または状態がある対象が受ける治療と同様の治療を受ける。

【0142】

「治療剤」は、疾患の治療、軽減または予防に使用する医薬品を意味する。

【0143】

「用量」は、1回の投与で与えられる医薬品の指定量を意味する。特定の実施形態では、2つまたはそれ以上のボラス、錠剤、または注射薬で用量を投与する。例えば、皮下投与が望ましい特定の実施形態では、所望用量には1回注射によって容易に収容されない体積が必要である。このような実施形態では、2回またはそれ以上の注射を使用して所望用量を得ることができる。特定の実施形態では、2回またはそれ以上の注射で用量を投与して、個体における注射部位反応を最少にすることができる。特定の実施形態では、徐放性注入薬として用量を投与する。

10

【0144】

「剤形単位」は医薬品が与えられる形を意味する。特定の実施形態では、剤形単位は、凍結乾燥オリゴヌクレオチドを含有するバイアルである。特定の実施形態では、剤形単位は、復元したオリゴヌクレオチドを含有するバイアルである。

【0145】

「治療有効量」は、動物に治療利益をもたらす医薬品の量を指す。

20

【0146】

「医薬組成物」は、医薬品を含む個体への投与に適した物質の混合物を意味する。例えば、医薬組成物は滅菌水溶液を含むことができる。

【0147】

「医薬品」は、対象に投与したとき治療効果をもたらす物質を意味する。

【0148】

「活性医薬成分」は、所望の効果をもたらす医薬組成物中の物質を意味する。

【0149】

「臓器機能の改善」は、正常限界に対する臓器機能の変化を意味する。特定の実施形態では、対象の血液または尿中に見られる分子の測定によって臓器機能を評価する。例えば、特定の実施形態では、血液中尿素窒素の減少、タンパク尿の減少、アルブミン尿の減少などによって腎機能の改善を測定する。

30

【0150】

「許容される安全性プロファイル」は、臨床的に許容される限界内にある副作用のパターンを意味する。

【0151】

「副作用」は、治療に起因する所望の効果以外の生理的応答を意味する。特定の実施形態では、副作用は、注射部位反応、肝機能試験の異常、腎機能の異常、肝毒性、腎毒性、中枢神経系の異常、およびミオパチーを非制限的に含む。このような副作用は、直接的または間接的に検出することができる。例えば、血清中の高いアミノトランスフェラーゼレベルは肝毒性または肝機能異常を示し得る。例えば、多量のビリルビンは肝毒性または肝機能異常を示し得る。

40

【0152】

「対象のコンプライアンス」は、対象による推奨または処方療法の順守を意味する。

【0153】

「準拠」は、対象による推奨療法の順守を意味する。

【0154】

「推奨療法」は、疾患の治療、軽減、または予防に関する医療専門家によって推奨される治療を意味する。

【0155】

50

本明細書中で使用する用語「血液」は、全血、および血清と血漿などの血液分画を包含する。

【0156】

概要

アルポート症候群は、異常なレベルの糸球体基底膜（GBM）が生成され、間質性線維症、糸球体硬化症につながり、典型的には末期腎疾患につながる遺伝型の腎疾患である。アルポート症候群の管理において、治療の主な目的は、腎機能を維持し末期腎疾患（ESRD）の発症を予防することであり、したがってこれによってアルポート症候群を有する対象の平均余命が改善する。

【0157】

アルポート症候群はGBM組成の欠陥が原因である進行性線維症によって特徴付けられ、したがってGBM形態および腎機能の改善が望ましい。

【0158】

以前、臨床試験記録によって開示されたRG-012に関する投薬レジメンは、1週間あたり110mg、および1週間あたり220mgの固定用量であった。前臨床モデルにおいて多種から、および多数回漸増用量試験における健常ボランティアからの薬物動態データの解析によって、2週毎に1回の低頻度間隔で投与した1.5mg/kgの重量ベース用量が、有効かつ適切に安全な用量レジメンであり得ることを示唆した。

【0159】

特定修飾オリゴヌクレオチド

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは構造5' - A<sub>E</sub> C<sub>S</sub> A T C<sub>S</sub> A G T C<sub>S</sub> T G A U<sub>S</sub> A A G C<sub>S</sub> T A<sub>E</sub> - 3'（配列番号3）を有し、下付き文字の前にはヌクレオシドは、- D - デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2' - M O Eヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S - c E tヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

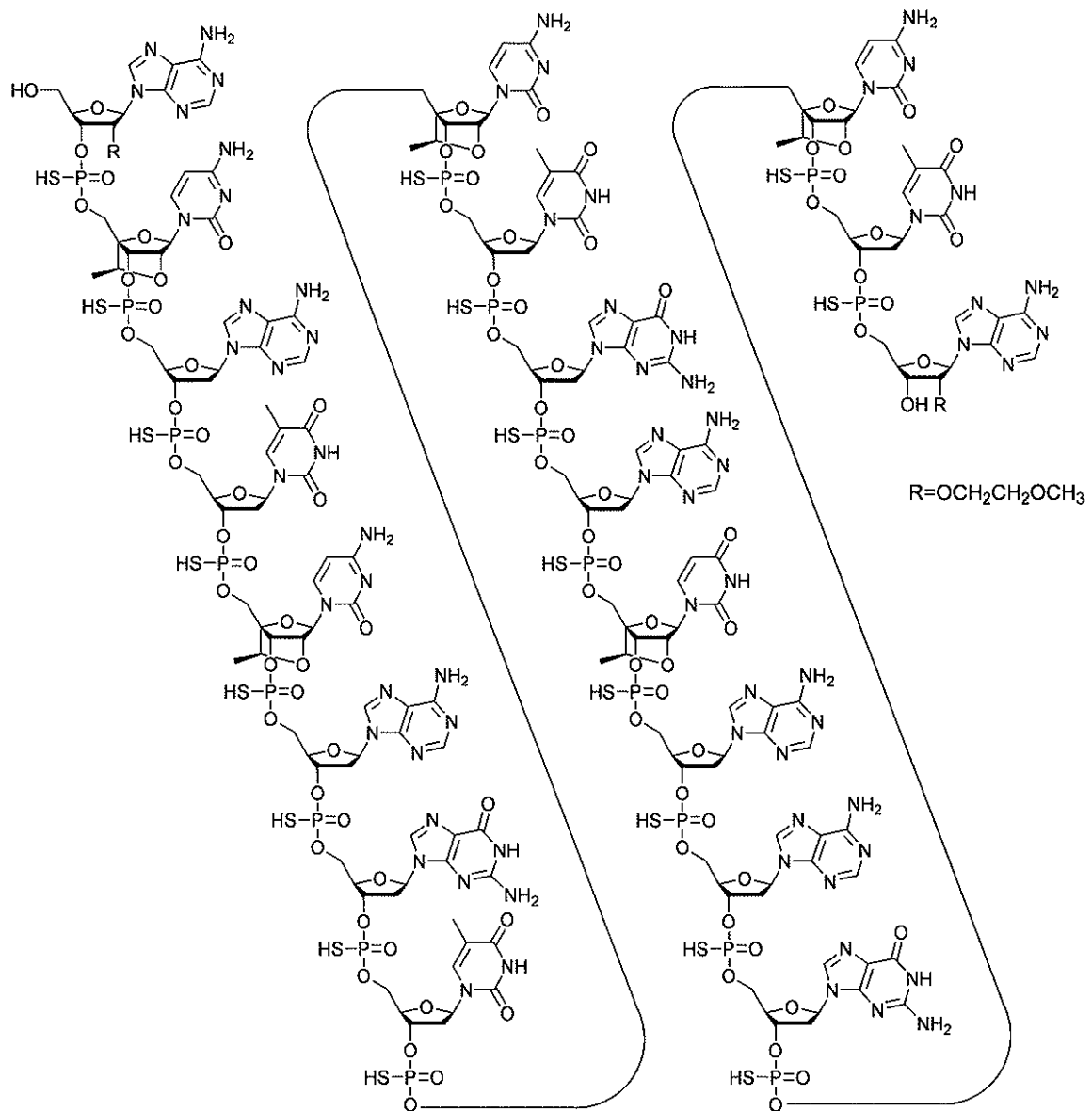
【0160】

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは構造：

10

20

## 【化 3】



10

20

30

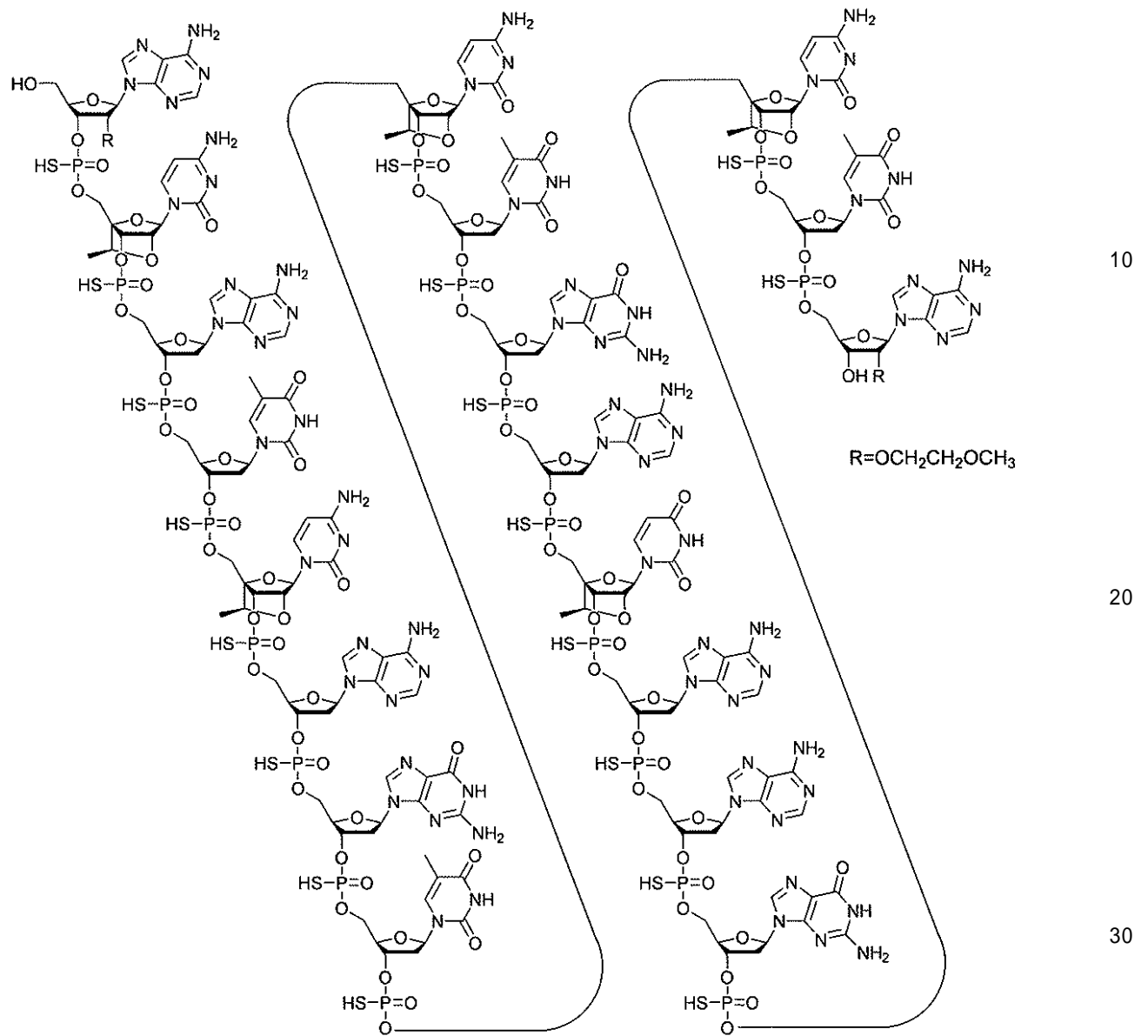
(配列番号 3) を有する。

## 【0161】

本明細書中では、修飾オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩も提供する。したがって幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは：

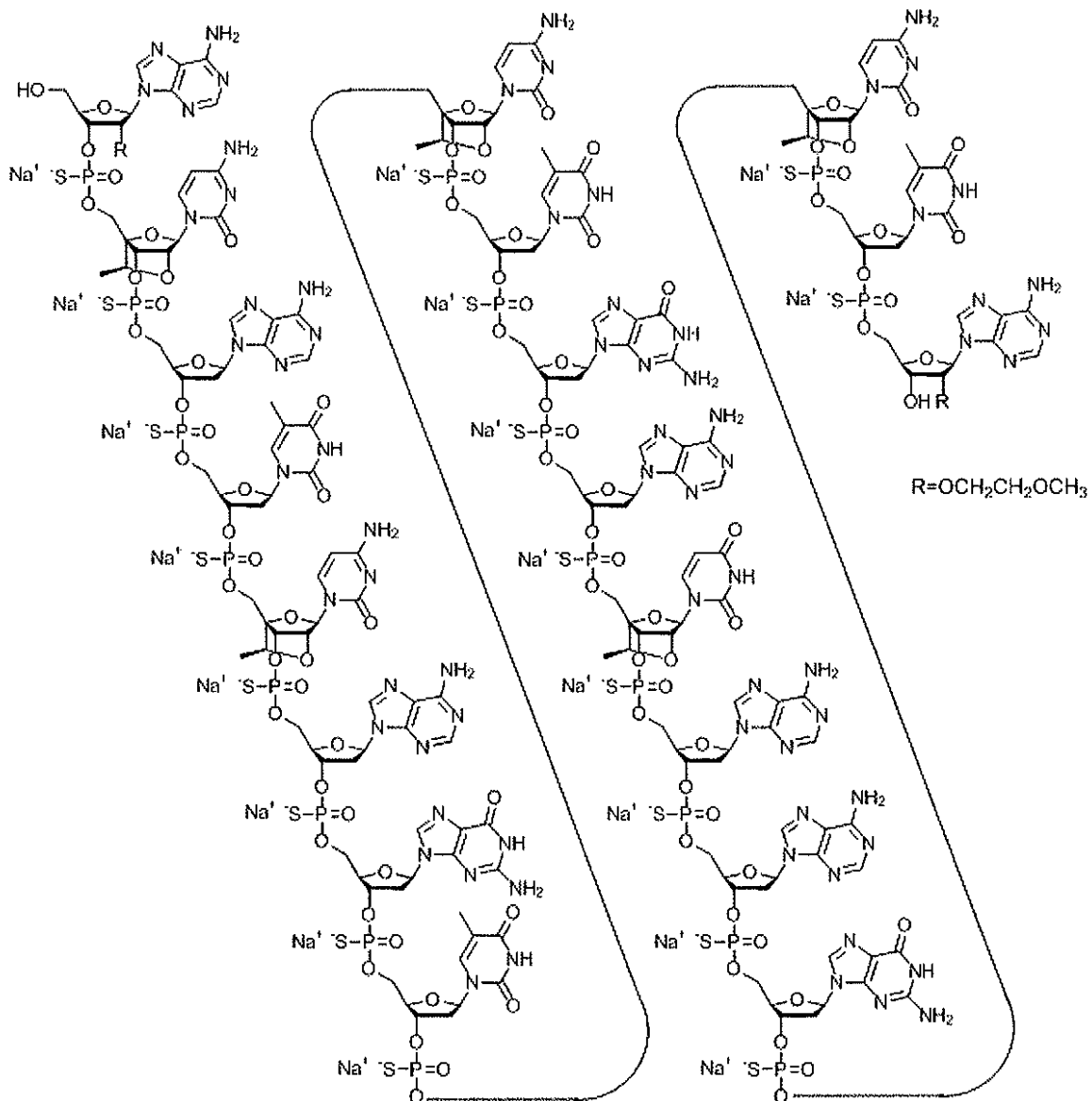


## 【化 4】



(配列番号 3) またはその薬学的に許容される塩の構造を有する。非制限的かつ例示的な修飾オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩は構造：

## 【化 5】



(配列番号 3) を有する。

## 【0162】

幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩は、分子あたりにホスホロチオエート結合が存在する（すなわち、幾つかのホスホロチオエートがプロトン化されている）場合より少ない陽イオン性対イオン（Na<sup>+</sup> など）を含む。幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩は、修飾オリゴヌクレオチドの分子あたりに 18 個より少ない陽イオン性対イオン（Na<sup>+</sup> など）を含む。すなわち幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩は、修飾オリゴヌクレオチドの分子あたりに平均して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、または 17 個の陽イオン性対イオンを含む可能性があり、残りのホスホロチオエートはプロトン化されている。

## 【0163】

本発明の特定の使用

本明細書で提供するのは、アルポート症候群を有するかまたは有する疑いがある対象に本明細書で提供する修飾オリゴヌクレオチドを投与する工程を含む、アルポート症候群を

40

50

治療するための方法である。

【0164】

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの投与前に、対象はアルポート症候群を有すると診断されている。アルポート症候群の診断は、対象の家族歴、(タンパク尿、アルブミン尿、血尿、例えばeGFRの測定によって決定するGFRの悪化、難聴および/または眼部変化を非制限的に含む)臨床的特徴、および組織生検の結果を非制限的に含むパラメーターの評価によって実施することができる。腎生検は、I V型コラーゲンの3鎖、4鎖、および5鎖の有無に関して試験することができる。さらに、糸球体の構造変化は腎生検材料の電子顕微鏡検査によって検出することができる。皮膚生検は、通常皮膚内に存在しX連鎖性アルポート症候群である男性対象にはほぼ常に存在しない、I V型コラーゲンの5鎖の存在に関して試験することができる。アルポート症候群の診断は、COL4A3、COL4A4、またはCOL4A5遺伝子の1つまたはそれ以上における突然変異に関するスクリーニングも含み得る。

10

【0165】

特定の実施形態では、アルポート症候群を有する対象は少なくとも30ml/分/1.73m<sup>2</sup>のeGFRを有する。特定の実施形態では、アルポート症候群を有する対象は45~90ml/分/1.73m<sup>2</sup>のeGFRを有する。特定の実施形態では、アルポート症候群を有する対象はクレアチニン1グラムあたり300mg以上のタンパク質のタンパク尿を有する。

【0166】

20

特定の実施形態では、アルポート症候群を有する対象の腎臓中でmiR-21のレベルが増大する。特定の実施形態では、対象は投与前に、腎臓中に高レベルのmiR-21を有すると決定される。miR-21のレベルは腎生検材料から測定することができる。特定の実施形態では、対象は投与前に、対象の尿または血液中に高レベルのmiR-21を有すると決定される。

【0167】

特定の実施形態では、miR-21と相補的な修飾オリゴヌクレオチドの投与は、1つまたはそれ以上のアルポート症候群関連パラメーターの改善をもたらす。特定の実施形態では、投与は推算糸球体濾過量を改善する。特定の実施形態では、投与は実測糸球体濾過量を改善する。特定の実施形態では、投与は糸球体濾過量の減少の速度を遅らせる。特定の実施形態では、投与は対象の生活の質を改善する。

30

【0168】

特定の実施形態では、投与は腎機能を改善する。特定の実施形態では、投与は末期腎疾患の発症を遅延させる。特定の実施形態では、投与は透析時間を延引する。特定の実施形態では、投与は腎移植時間を延引する。特定の実施形態では、投与は対象の平均余命を改善する。

【0169】

特定の実施形態では、投与は腎臓線維症を低減する。特定の実施形態では、投与は腎臓線維症のさらなる進行を遅らせる。特定の実施形態では、投与は腎臓線維症のさらなる進行を休止させる。特定の実施形態では、投与は血尿を低減する。特定の実施形態では、投与は血尿の発症を遅延させる。特定の実施形態では、投与はタンパク尿を低減する。特定の実施形態では、投与はタンパク尿の発症を遅延させる。

40

【0170】

アルポート症候群を有するかまたは有する疑いがある対象は、I V型コラーゲンの3鎖をコードする遺伝子(COL4A3)における突然変異、I V型コラーゲンの4鎖をコードする遺伝子(COL4A4)における突然変異、またはI V型コラーゲンの5鎖をコードする遺伝子(COL4A5)における突然変異を有し得る。特定の実施形態では、対象は男性である。特定の実施形態では、対象は女性である。

【0171】

特定の実施形態では、対象には腎機能の悪化がある。特定の実施形態では、対象は腎機

50

能の改善の必要がある。特定の実施形態では、対象には腎機能の悪化があると確認される。特定の実施形態では、対象は血尿を有すると確認される。特定の実施形態では、対象はタンパク尿を有すると確認される。

#### 【0172】

本明細書中で提供するいずれかの実施形態では、対象に特定試験を施して腎機能を評価することができる。このような試験は、対象における血液中尿素窒素の測定、対象の尿中のクレアチニンの測定、対象の血液中のクレアチニンクリアランスの測定、対象におけるタンパク尿の測定、対象におけるアルブミン：クレアチン比の測定、対象における推算糸球体濾過量の測定、および対象における尿量の測定を非制限的に含む。

#### 【0173】

特定の実施形態では、対象における足細胞尿を、対象の尿中の足細胞数および足細胞特異的mRNAの解析によって評価する。

#### 【0174】

本明細書中で提供するいずれかの実施形態では、尿または血液中に存在するタンパク質を使用して腎機能を評価することができる。このような腎機能の試験は、対象の尿中のN-アセチル-D-グルコースアミニダーゼ(NAG)タンパク質の測定、対象の尿中の好中球ゼラチナーゼ結合性リボカリン(NGAL)タンパク質の測定、対象の尿中の腎損傷分子-1(KIM-1)タンパク質の測定、対象の尿中のインターロイキン-18(IL-18)タンパク質の測定、対象の尿中の結合組織増殖因子(CTGF)レベルの測定、対象の尿中の単球走化性タンパク質1(MCP1)レベルの測定、対象の尿中のコラーゲンIV(CoIV)断片の測定、対象の尿中のコラーゲンIII(CoIII)断片レベルの測定、対象の血液中のシスタチンCタンパク質の測定、対象の血液中のトランスタンパク質(BTP)の測定、および対象の血液中の2-マイクログロブリン(B2M)の測定を非制限的に含む。本明細書中で提供するいずれかの実施形態では、足細胞損傷のマーカーを尿中で測定することができる。このようなタンパク質にはネフリンとポドシンがある。タンパク質は、例えば市販のキットを使用して、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、またはラジオイムノアッセイ(RIA)によって定量化することができる。

#### 【0175】

本明細書中で提供するいずれかの実施形態では、miR-21を標的化した修飾オリゴヌクレオチドの投与は、対象において1つまたはそれ以上の腎臓機能のマーカーを改善する。腎機能のマーカーの改善は、対象における血液中尿素窒素の低減、対象の血液中のクレアチニンの低減、対象におけるクレアチニンクリアランスの改善、対象におけるタンパク尿の低減、対象におけるアルブミン：クレアチン比の低減、対象における推算糸球体濾過量の改善、および/または対象における尿量の増大を非制限的に含む。

#### 【0176】

##### 特定医薬組成物

本明細書中で提供するのは、19の結合ヌクレオシドからなり、構造5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>ATC<sub>S</sub>AGTC<sub>S</sub>TGAU<sub>S</sub>AAGC<sub>S</sub>TA<sub>E</sub>-3'(配列番号3)を有し、下付き文字の前にないヌクレオシドは、-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S-cEtヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物、またはその薬学的に許容される塩である。

#### 【0177】

幾つかのこのような実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドはそのオクタデカナトリウム塩型で医薬組成物中に存在する。他に示さない限り、修飾オリゴヌクレオチド5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>ATC<sub>S</sub>AGTC<sub>S</sub>TGAU<sub>S</sub>AAGC<sub>S</sub>TA<sub>E</sub>-3'(配列番号3)の重量および用量は、オクタデカナトリウム塩型の修飾オリゴヌクレオチドの重量に基づく。非制限的な一例として、オクタデカナトリウム塩型の修飾オリゴヌクレオチド110mgは、遊

10

20

30

40

50

離酸型の修飾オリゴヌクレオチド 103.6 mg と同等である。

【0178】

特定の実施形態では、注射用に医薬組成物を調製する。特定の実施形態では、注射用に調製された医薬組成物は、滅菌水溶液中に 110 mg / mL の濃度で修飾オリゴヌクレオチドを含む。注射による適切な投与経路には、皮下注射および静脈内注射がある。

【0179】

特定の実施形態では、本明細書中で提供する医薬組成物はボーラス剤形単位の形態で投与される。幾つかの実施形態では、ボーラス剤形単位は滅菌水溶液中に 110 mg / mL の濃度で修飾オリゴヌクレオチドを含む。幾つかの実施形態では、ボーラス剤形単位は、滅菌 0.3% 塩化ナトリウム水溶液中に 110 mg / mL の濃度で修飾オリゴヌクレオチドを含む。幾つかの実施形態では、110 mg の修飾オリゴヌクレオチドの投薬に、110 mg / mL の修飾オリゴヌクレオチドを含む 1 mL ボーラス剤形単位を対象に投与する。特定の実施形態では、投与は皮下注射による投与である。

10

【0180】

特定の実施形態では、適切な希釈剤、例えば水溶液、水または生理的に適合したバッファなど、生理食塩水溶液、ハंकス液、およびリンガー液などで復元した滅菌凍結乾燥修飾オリゴヌクレオチドとして修飾オリゴヌクレオチドを提供する。復元した生成物は、皮下注射薬として、または静脈内注入薬として投与することができる。凍結乾燥薬品は、調製中酸または塩基で pH 7.0 ~ 9.0 に調整した注射用滅菌水溶液中で調製され、次いで凍結乾燥状態にした修飾オリゴヌクレオチドからなる。凍結乾燥薬品は、ゴムファスナーで栓をしてアルミ箔で密封した 2 mL のタイプ I、透明ガラスバイアル中にパッケージ化することができる。

20

【0181】

特定の実施形態では、本明細書中で提供する医薬組成物は、当技術分野で確立したその使用レベルで医薬組成物中に通常見られる、他の補助成分を追加的に含有し得る。したがって、例えば組成物は、例えば止痒薬、収斂薬、局所麻酔薬または抗炎症剤などの、追加的で、適合性があり、薬学的に活性がある物質を含有し得る。

【0182】

特定の実施形態では、本明細書中で提供する医薬組成物は、1つまたはそれ以上の賦形剤を含有する。このような特定の実施形態では、賦形剤は水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミラーゼ、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、流動パラフィン、ヒドロキシメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンから選択される。

30

【0183】

特定追加療法

アルポート症候群の治療は、本明細書中で提供するアンチ miR - 21 修飾オリゴヌクレオチド、および少なくとも1つの追加療法の投与を含み得る。特定の実施形態では、少なくとも1つの追加療法は医薬品を含む。

【0184】

特定の実施形態では、第1の用量の修飾オリゴヌクレオチドの投与前に、アルポート症候群を有する対象は、追加療法の安定的投薬レジメンで少なくとも30日間治療されている。特定の実施形態では、対象はアンギオテンシン II 受容体遮断薬の安定的投薬レジメンを施されている。特定の実施形態では、対象はアンギオテンシン II 変換酵素阻害剤の安定的投薬レジメンを施されている。

40

【0185】

特定の実施形態では、少なくとも1つの追加療法は医薬品を含む。

【0186】

特定の実施形態では、医薬品はアンギオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) を含む。特定の実施形態では、アンギオテンシン II 受容体遮断薬は、カンデサルタン、イルベサルタン、オルメサルタン、ロサルタン、バルサルタン、テルミサルタン、またはエプロサ

50

ルタンである。

【0187】

特定の実施形態では、医薬品はアンギオテンシンⅡ変換酵素（ACE）阻害剤を含む。特定の実施形態では、ACE阻害剤は、カプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、ベナゼプリル、クイナプリル、フォシノプリル、またはラミプリルである。

【0188】

特定の実施形態では、医薬品は降圧剤である。降圧剤を使用して対象の血圧を調整する。

【0189】

特定の実施形態では、医薬品はビタミンDアナログである。ビタミンDアナログを使用して、対象における副甲状腺ホルモンの生成を制限することができる。

10

【0190】

特定の実施形態では、医薬品は、食品中リン酸の吸収を低減する経口リン酸結合剤である。

【0191】

特定の実施形態では、医薬品は免疫抑制剤を含む。特定の実施形態では、免疫抑制剤はコルチコステロイド、シクロホスファミド、またはマイコフェノレートモフェチルである。

【0192】

特定の実施形態では、医薬品はシクロスポリン、HMG-CoA阻害剤、バソペプチダーゼ阻害剤、またはTGF- $\beta$ アンタゴニストである。

20

【0193】

特定の実施形態では、追加療法は遺伝子療法である。特定の実施形態では、遺伝子療法は正常COL4A3遺伝子をもたらす。特定の実施形態では、遺伝子療法は正常COL4A4遺伝子をもたらす。特定の実施形態では、遺伝子療法は正常COL4A5遺伝子をもたらす。

【0194】

特定の実施形態では、追加療法は透析である。特定の実施形態では、追加療法は腎移植である。

【0195】

特定の実施形態では、医薬品はアルドステロンアンタゴニストである。特定の実施形態では、アルドステロンアンタゴニストはスピロラク톤である。

30

【0196】

特定の実施形態では、医薬品は抗炎症剤を含む。特定の実施形態では、抗炎症剤はステロイド系抗炎症剤である。特定の実施形態では、ステロイド系抗炎症剤はコルチコステロイドである。特定の実施形態では、コルチコステロイドはプレドニソンである。特定の実施形態では、抗炎症剤は非ステロイド系抗炎症剤である。特定の実施形態では、非ステロイド系抗炎症剤はイブプロフェン、COX-1阻害剤、またはCOX-2阻害剤である。

【0197】

特定の実施形態では、医薬品は、線維形成シグナルに対する1つまたはそれ以上の応答を遮断する医薬品である。

40

【0198】

特定の実施形態では、医薬品は抗糖尿病剤を含む。抗糖尿病剤には、非制限的に、ビッグアニド、グルコシダーゼ阻害剤、インスリン、スルホニルウレア、およびチアゾリデジオンがある。

【0199】

特定修飾

本明細書中で提供する修飾オリゴヌクレオチドは、糖修飾ヌクレオシドおよび修飾ヌクレオシド間結合を含む。

【0200】

50

例えば細胞内取り込みの向上、他のオリゴヌクレオチドまたは核酸標的に対するアフィニティーの向上、およびヌクレアーゼの存在下での安定性の増大などの望ましい性質のため、修飾核酸塩基、糖、および/またはヌクレオシド間結合を非修飾型より選択することができる。

#### 【0201】

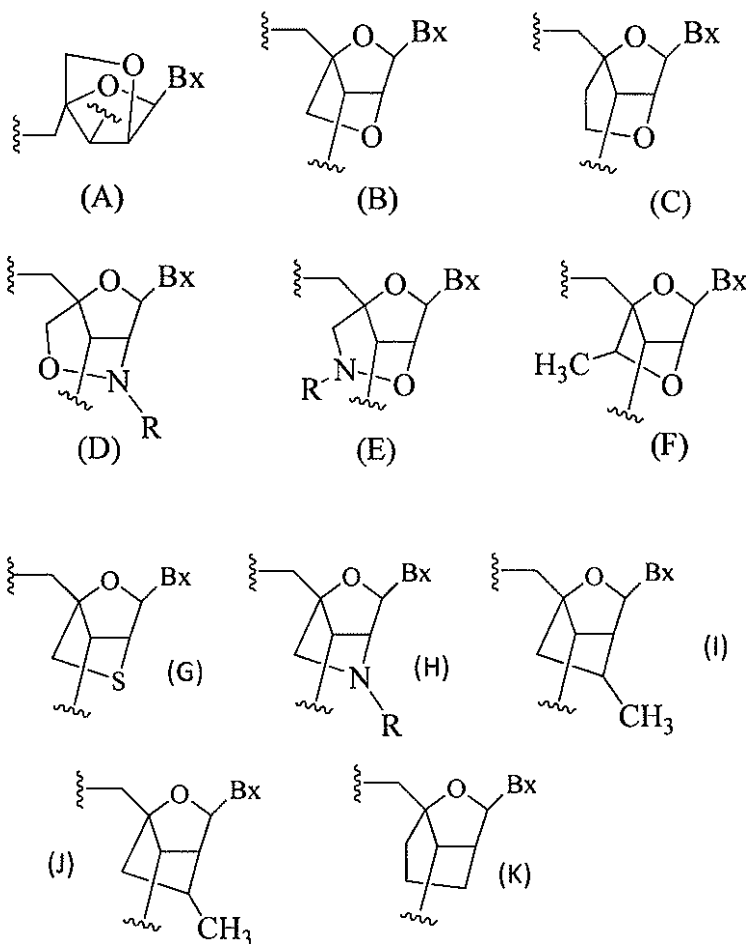
糖修飾ヌクレオシドは二環式糖部分を含む。特定の実施形態では、二環式糖部分は 立体配座の D 糖である。特定の実施形態では、二環式糖部分は 立体配座の D 糖である。特定の実施形態では、二環式糖部分は 立体配座の L 糖である。特定の実施形態では、二環式糖部分は 立体配座の L 糖である。

#### 【0202】

このような二環式糖部分を含むヌクレオシドは、二環式ヌクレオシドまたは BNA と呼ばれる。特定の実施形態では、二環式ヌクレオシドは、以下に示すような (A) - L - メチレンオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA; (B) - D - メチレンオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - 2') BNA; (C) エチレンオキシ (4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - O - 2') BNA; (D) アミノオキシ (4' - CH<sub>2</sub> - O - N(R) - 2') BNA; (E) オキシアミノ (4' - CH<sub>2</sub> - N(R) - O - 2') BNA; (F) メチル (メチレンオキシ) (4' - CH(CH<sub>3</sub>) - O - 2') BNA (制約型エチルまたは cEt と呼ばれる); (G) メチレン - チオ (4' - CH<sub>2</sub> - S - 2') BNA; (H) メチレン - アミノ (4' - CH<sub>2</sub> - N(R) - 2') BNA; (I) 炭素環式メチル (4' - CH<sub>2</sub> - CH(CH<sub>3</sub>) - 2') BNA; (J) c-MOE (4' - CH<sub>2</sub> - OMe - 2') BNA および (K) 炭素環式プロピレン (4' - (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> - 2') BNA を非制限的に含む。

#### 【0203】

#### 【化6】



上式で B x は核酸塩基部分であり、R は独立に H、保護基、または C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキルである。

#### 【0204】

特定の実施形態では、2' - 修飾ヌクレオシドは F、O C F<sub>3</sub>、O - C H<sub>3</sub>、O C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> O C H<sub>3</sub>、2' - O ( C H<sub>2</sub> )<sub>2</sub> S C H<sub>3</sub>、O - ( C H<sub>2</sub> )<sub>2</sub> - O - N ( C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、- O ( C H<sub>2</sub> )<sub>2</sub> O ( C H<sub>2</sub> )<sub>2</sub> N - ( C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、および O - C H<sub>2</sub> - C ( = O ) - N ( H ) C H<sub>3</sub> から選択される 2' - 置換基を含む。

#### 【0205】

特定の実施形態では、2' - 修飾ヌクレオシドは F、O - C H<sub>3</sub>、および O C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> O C H<sub>3</sub> から選択される 2' - 置換基を含む。

10

#### 【0206】

特定の実施形態では、糖修飾ヌクレオシドは 4' - チオ修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態では、糖修飾ヌクレオシドは 4' - チオ - 2' - 修飾ヌクレオシドである。4' - チオ修飾ヌクレオシドは、4' - O が 4' - S に置換された - D - デオキシリボヌクレオシドを有する。4' - チオ - 2' - 修飾ヌクレオシドは、2' - 置換基で置換された 2' - O H を有する 4' - チオ修飾ヌクレオシドである。適切な 2' - 置換基には、2' - O C H<sub>3</sub>、2' - O - ( C H<sub>2</sub> )<sub>2</sub> - O C H<sub>3</sub>、および 2' - F がある。

#### 【0207】

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは 1 つまたはそれ以上のヌクレオシド間修飾を含む。このような特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は修飾ヌクレオシド間結合である。特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合はリン原子を含む。

20

#### 【0208】

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは少なくとも 1 つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合はホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

#### 【0209】

##### 特定キット

本発明は、さらにキットを提供する。幾つかの実施形態では、キットは、本明細書中で提供するアンチ m i R - 21 修飾オリゴヌクレオチドを含む。幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドはバイアル内に存在し得る。複数、例えば 10 個のバイアルが、例えば分配パック中に存在し得る。幾つかの実施形態では、シリンジにアクセス可能であるようにバイアルが製造される。キットは、修飾オリゴヌクレオチドの使用に関する説明書も含有し得る。

30

#### 【0210】

幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドを投与するためキットを使用することができる。このような場合、修飾オリゴヌクレオチド以外に、キットは以下の：シリンジ、アルコールスワブ、コットンボール、および / またはガーゼパッドの 1 つまたはそれ以上をさらに含むことができる。幾つかの実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、バイアル中ではなく、(例えばニードルガードがある 27 ゲージ、1 / 2 インチニードルを有する 1 回用量シリンジなどの) 予め充填したシリンジ中に存在し得る。複数、例えば 10 個の予め充填したシリンジが、例えば分配パック中に存在し得る。キットは、修飾オリゴヌクレオチドの投与に関する説明書も含有し得る。

40

#### 【0211】

##### 特定実験モデル

特定の実施形態では、本発明は、実験モデルにおいて本発明の修飾オリゴヌクレオチドを使用および / または試験する方法を提供する。当業者は、このような実験モデルに関するプロトコールを選択および修正して、本発明の医薬品を評価することができる。

#### 【0212】

一般に、培養細胞において修飾オリゴヌクレオチドを最初に試験する。適切な細胞型は

50



、*in vivo*での修飾オリゴヌクレオチド送達が望ましい細胞型と関連があるものを含む。例えば、本明細書中に記載する方法の試験に適した細胞型には、初代細胞または培養細胞がある。

#### 【0213】

特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドが、*miR-21*の活性に干渉する程度を培養細胞において評価する。特定の実施形態では、細胞または組織中の*miR-21*レベルを測定することによって、*miR-21*活性の阻害を評価することができる。あるいは、予想または実測マイクロRNA制御転写産物のレベルを測定することができる。*miR-21*活性の阻害は、*miR-21*制御転写産物、および/または*miR-21*制御転写産物によってコードされるタンパク質の増大をもたらす可能性がある。さらに特定の実施形態では、特定の表現型結果を測定することができる。

10

#### 【0214】

ヒト疾患モデルにおける*miR-21*の試験用に、当業者は幾つかの動物モデルが利用可能である。例えば、アルポート症候群の実験モデル、例えば*Col4a3*ノックアウトマウス(*Col4a3*<sup>-/-</sup>マウス)において*miR-21*の阻害剤を試験することができる。マウスモデルにおける疾患の重症度は、*Col4a3*突然変異があるマウスの遺伝的背景に依存する。例えば、一般に疾患の発症と進行は、*C57BL/6J*背景と比較して*129X1/SvJ*においてより速い。したがって、*Col4a3*<sup>-/-</sup>マウスの遺伝的背景を選択して疾患の発症と進行を変えることができる。他のモデルには、イヌの*X連鎖性*、常染色体劣性または常染色体ドミナントアルポート症候群モデルがある。例えば、*Kashtan*、*Nephrol.Dial.Transplant*、2002年、17:1359~1361頁参照。

20

#### 【0215】

##### 特定定量アッセイ

修飾オリゴヌクレオチドの投与後、*miR-21*のアンチセンス阻害の効果を当技術分野で知られている様々な方法によって評価することができる。特定の実施形態では、これらの方法を使用して*in vitro*または*in vivo*で細胞または組織中のマイクロRNAレベルを定量化する。特定の実施形態では、マイクロRNAレベルの変化をマイクロアレイ解析によって測定する。特定の実施形態では、マイクロRNAレベルの変化を、幾つかの市販のPCRアッセイの1つ、*TaqMan*(登録商標)*MicroRNA*アッセイ(*Applied Biosystems*)などによって測定する。特定の実施形態では、*miR-21*のアンチセンス阻害を、*miR-21*の標的のmRNAおよび/またはタンパク質レベルの測定によって評価する。一般に*miR-21*のアンチセンス阻害は、マイクロRNAの標的のmRNAおよび/またはタンパク質レベルの増大をもたらす。

30

#### 【0216】

##### 標的関与アッセイ

アンチ*miR*またはマイクロRNA模倣体を用いたマイクロRNA活性の調節は、標的関与の測定によって評価することができる。特定の実施形態では、mRNAのマイクロアレイプロファイリングによって標的関与を測定する。アンチ*miR*またはマイクロRNA模倣体によって(増大または減少のいずれかに)調節されるmRNAの配列を、マイクロRNAシード配列に関して検索して、マイクロRNAの標的であるmRNAの調節とマイクロRNAの標的でないmRNAの調節を比較する。このようにして、アンチ*miR*と*miR-21*、または*miR-21*模倣体とその標的の相互作用を評価することができる。アンチ*miR*の場合、その発現レベルが増大したmRNAを、アンチ*miR*と相補的であるマイクロRNAとのシードマッチを含むmRNA配列に関してスクリーニングする。

40

#### 【実施例】

#### 【0217】

以下の実施例は、本発明の幾つかの実施形態をより完全に例証するために表す。しかしながら、それらは決して本発明の広範囲を制限するものとして解釈すべきではない。

50

## 【0218】

当業者は本発見の根本原理を容易に採り入れて、本発明の精神から逸脱せずに様々な化合物を設計する。

## 【実施例1】

## 【0219】

アルポート症候群を有する対象におけるフェーズ2試験

この試験は、多数の研究センターでアルポート症候群を有する対象に実施した、ランダムな、二重盲検、プラセボ対照の、マルチセンターでのフェーズ2試験である。アルポート症候群は、毛細血管基底膜コラーゲンIVをコードする遺伝子の突然変異によって引き起こされる遺伝型の腎疾患である。経時的に、アルポート症候群は腎臓に対する損傷を引き起こす。

10

## 【0220】

試験薬はRG-012であった。以前、臨床試験記録によって開示されたRG-012に関する投薬レジメンは、1週間あたり110mg、および1週間あたり220mgの固定用量であった。前臨床モデルにおいて多種から、および多数回漸増用量試験における健康ボランティアからの薬物動態データの解析によって、2週毎に1回の低頻度間隔で投与した1.5mg/kgの重量ベース用量が、有効かつ適切に安全な用量レジメンであり得ることを示唆した。

## 【0221】

RG-012中の活性成分(AI)は、下付き文字の前にないヌクレオシドは、-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S-cEtヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、構造5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>ATC<sub>S</sub>AGTC<sub>S</sub>TGAU<sub>S</sub>AAGC<sub>S</sub>TA<sub>E</sub>-3' (配列番号3)の19塩基、一本鎖、化学修飾オリゴヌクレオチドのオクタデカナトリウム塩である。

20

## 【0222】

0.3%塩化ナトリウムを含有するAIの水溶液としてRG-012を製剤化し、2週間毎に1回皮下(SC)経路によって投与した。

## 【0223】

幾つの場合、主要活性代謝物(AM)は、3'-末端2'-MOE修飾「A」ヌクレオシド：下付き文字の前にないヌクレオシドは、-D-デオキシリボヌクレオシドであり、下付き文字「E」の前のヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドであり、下付き文字「S」の前のヌクレオシドは、S-cEtヌクレオシドであり、各ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、5'-A<sub>E</sub>C<sub>S</sub>ATC<sub>S</sub>AGTC<sub>S</sub>TGAU<sub>S</sub>AAGC<sub>S</sub>T-3' (配列番号4)を欠いている。

30

## 【0224】

主要評価項目は、48週間の間週1回投与したときの、RG-012の安全性と許容性の評価であった。安全性と許容性は、有害事象、実験パラメーター、バイタルサイン、ECG、および注射部位反応などの変数によって評価した。

## 【0225】

副次評価項目は以下を含む：

- ・他の選択した血液、尿、および腎臓バイオマーカーに対するRG-012の効果の評価；

- ・RG-012投与後の親化合物(AI)およびその主要活性代謝物(AM)の薬物動態(PK)パラメーターの評価；

- ・RG-012投与後の抗薬物抗体(ADA)の形成可能性の評価；

- ・経時的に腎機能の低下を低減するRG-012の予備効果の評価；

- ・Short Form 36 Health Survey (登録商標)を使用したRG-012投与後の生活の質(QOL)の評価。

40

## 【0226】

50

【表 1】

試験群	指定介入
プラセボコンパレーター: プラセボ 1mL、週1回、48週間	薬物: プラセボ 2 $\mu$ g/mLリボフラビン0.9%塩化ナトリウム中
実験: 1.5mg/kgのRG-012、2週間毎、48週間	薬物: 皮下注射用RG-012、0.3%塩化ナトリウム中活性成分の製剤として注射用に供給、110mg/mLの規格濃度

10

## 【0227】

二重盲検、プラセボ対照治療期間 - 適格な対象を1 : 1 : 1の比で無作為に分けて、2週間に1回(2週間毎に)1.5mg/kgのRG-012、またはプラセボの皮下(SC)注射を48週間施した。

## 【0228】

試験者は、許容性に基づいて、個々の対象の2週間に1回のRG-012用量を0.75mg/kgまで滴定することができた。2週間に1回のRG-012用量を0.75mg/kgまで低減した対象は、試験者の判断に基づいて、その用量を1.5mg/kgに再調整することもできた。

20

## 【0229】

アンギオテンシンII変換酵素(ACE)阻害剤またはアンギオテンシンII受容体遮断薬(ARB)を得た対象は、安定的投薬レジメンで能動的治療期間の持続時間これらの作用物質を保持した。全ての他の同時与薬も安定的投薬レジメンで試験中保持された。

## 【0230】

オープンラベル延長期間 - 48週間の治療を終了した対象は、全ての対象が能動的治療を受ける48週間の延長試験における登録のスクリーニングに適していた。

30

## 【0231】

フォローアップ期間 - 試験治療の終了時に、全ての対象は、フォローアップ第2週に一時的家庭訪問、フォローアップ第4週に家庭訪問、およびフォローアップ第12週に現場訪問を含む12週間の治療後フォローアップ期間に入った。二重盲検、プラセボ対照治療期間は終了したがオープンラベル治療延長期間に入っていない対象は、治療後フォローアップ期間に直接入った。

## 【0232】

組み入れ基準:

1. 18 ~ 65歳(含む)の年齢の男性対象
2. アルポート症候群の確かな診断(臨床的、組織病理学的、および/または遺伝学的診断)
3. 慢性腎臓病疫学共同研究(CKD-EPI)のクレアチニンまたはクレアチニン-シスタチンC式を用いて推算、以下のeGFR基準を満たさなければならない:
  - a. 初期スクリーニング測定で40mL/分/1.73m<sup>2</sup> ~ 90mL/分/1.73m<sup>2</sup>のeGFR;
  - b. 前の52週から4回以上のeGFR測定の線形回帰勾配解析に基づく5mL/分/1.73m<sup>2</sup>/年以上のeGFRの減少。5mL/分/1.73m<sup>2</sup>/年以上のeGFRの減少は、-5mL/分/1.73m<sup>2</sup>/年以下のeGFR勾配と同等である。eGFR勾配、または経時的な対象のeGFRの変化は線形回帰を使用して計算する。
4. 初期スクリーニングおよびベースライン往診時のクレアチニン1gあたり300m

40

50

g 以上のタンパク質のタンパク尿。

【0233】

e G F R 勾配の計算を可能にするのに十分な数の事前 e G F R 測定を受けていない対象が、対象が男性であり、X L A S と診断されており、18～30歳（含む）の年齢である場合、試験に適格であり得る。

【0234】

A C E 阻害剤および / または A R B を得た対象は、スクリーニング前に30日以上 A C E 阻害剤および / または A R B の安定的投薬レジメン上になければならない。

【0235】

除外基準：

1. アルポート症候群とは別の慢性腎疾患の原因（糖尿病性ニューロパチー、高血圧性ニューロパチー、ループス、I g A ニューロパチーを非制限的に含む）。
2. 進行中の透析療法または腎移植の病歴によって証明される E S R D。
3. 担当臨床試験者の意見で、対象が試験を終了できないもしくは試験の手順と要件を順守できない可能性がある、または対象の安全性と健康状態にリスクをもたらす可能性がある、任意の他の状態または状況。

【0236】

薬力学的エンドポイントは、以下のものを含めた薬理学的およびバイオマーカーエンドポイントの経時的変化を含む：

- ・血液中尿素窒素 [ B U N ] ；
- ・尿中タンパク質 / アルブミン比および尿中アルブミン / クレアチン比 ；
- ・血清中と尿中両方のクレアチニン、シスタチン C、腎損傷分子 - 1 [ K I M - 1 ]、- 2 マイクログロブリン、およびクラスチリン ；
- ・血清中と尿中両方の非対称性ジメチルアルギニン ( A D M A )、形質転換増殖因子 - ( T G F )、結合組織増殖因子 ( C T G F )、および好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン ( N G A L ) ；
- ・尿中の顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 ( G M - C S F )、単球走化性タンパク質 - 1 ( M C P - 1 )、カルピンジン、インターロイキン - 18 ( I L - 18 )、および上皮増殖因子 ( E G F ) ；
- ・ならびに尿中の足細胞数および足細胞特異的 m R N A の分析によって測定される足細胞尿。

【0237】

薬物動態学的エンドポイントは、親化合物 ( A I ) とその主要活性代謝物 ( A M ) の血漿中濃度および実測 P K パラメーターを含む。

【0238】

効能のエンドポイントは以下のものを含む：

- ・ベースラインから第24、48、および96週の推算糸球体濾過量 ( e G F R ) の線形回帰勾配 ；
- ・ベースラインから第24、48、および96週の e G F R 値の絶対的および割合変化 ；
- ・以下の定義に基づきベースラインから第24、48、および96週の治療に応答する対象の割合：
  - e G F R 勾配 > - 2 m L / 分 / 1 . 7 3 m <sup>2</sup> / 年
  - e G F R 勾配 > - 5 m L / 分 / 1 . 7 3 m <sup>2</sup> / 年
  - e G F R 勾配 > - 1 0 m L / 分 / 1 . 7 3 m <sup>2</sup> / 年
  - e G F R 勾配 > - 1 5 m L / 分 / 1 . 7 3 m <sup>2</sup> / 年 ；
- ・以下の定義に基づきベースラインから第24、48、および96週の治療に応答する対象の割合：
  - ベースラインと比較した e G F R 値の < 5 % の低減
  - ベースラインと比較した e G F R 値の < 1 0 % の低減

10

20

30

40

50

ベースラインと比較した e G F R 値の < 20 % の低減  
 ベースラインと比較した e G F R 値の < 30 % の低減 ;  
 ・スクリーニング期間と治療期間の間の e G F R 勾配の差 ;  
 ・15 mL / 分 / 1.73 m<sup>2</sup> 以下の e G F R または血液透析もしくは腎移植の開始により定義して末期腎疾患 ( E S R D ) に達した対象の数と割合、および  
 ・Short Form 36 Health Survey ( 登録商標 ) ( S F - 36 ) を使用して測定する Q o L の経時的変化。

#### 【0239】

アルポート症候群を有する対象に2週間毎に1回投与する1.5 mg / kg 用量の R G - 012 は適切なセーフティーマージンを与え、効能のエンドポイントの改善、例えば腎機能の維持または改善をもたらすことが予想された。

#### 【実施例2】

#### 【0240】

糸球体濾過量の計算

米国腎臓財団は、対象における推算糸球体濾過量 ( e G F R ) を計算するため慢性腎臓病疫学共同研究 ( C K D - E P I ) によって開発された幾つかの式を与えた。1つまたはそれ以上のこれらの式を使用して、本明細書に記載するフェーズ2試験の関与に関してスクリーニングした対象における e G F R を測定した。

#### 【0241】

C K D - E P I のクレアチニン式 ( 2009 年 )

単一方程式 :  $e G F R = 141 \times \min ( S_{c r} / \text{ }、1 ) \times \max ( S_{c r} / \text{ }、1 )^{-1.209} \times 0.993^{\text{年齢}} \times 1.018 \text{ [ 女性の場合 ] } \times 1.159 \text{ [ アフリカン - アメリカンの場合 ] }$  として表す

#### 【0242】

略語 / 単位

e G F R ( 推算糸球体濾過量 ) = mL / 分 / 1.73 m<sup>2</sup>

S<sub>c r</sub> ( 血清中クレアチニン ) = mg / d L

S<sub>c y s</sub> ( 標準血清中シスタチン C ) = mg / l

= 0.7 ( 女性 ) または 0.9 ( 男性 )

= - 0.248 ( 女性 ) または - 0.207 ( 男性 )

$\min ( S_{c r} / \text{ } \text{または} 1 ) = S_{c r} / \text{ } \text{または} 1$  の最小値を示す

$\max ( S_{c r} / \text{ } \text{または} 1 ) = S_{c r} / \text{ } \text{または} 1$  の最大値を示す

$\min ( S_{c y s} / 0.8, 1 ) = S_{c y s} / 0.8, 1$  の最小値を示す

$\max ( S_{c y s} / 0.8, 1 ) = S_{c y s} / 0.8, 1$  の最大値を示す

年齢 = 歳

#### 【0243】

C K D - E P I のクレアチニン - シスタチン式 ( 2012 年 )

単一方程式 :  $e G F R = 135 \times \min ( S_{c r} / \text{ }、1 ) \times \max ( S_{c r} / \text{ }、1 )^{-0.601} \times \min ( S_{c y s} / 0.8, 1 )^{-0.375} \times \max ( S_{c y s} / 0.8, 1 )^{-0.711} \times 0.995^{\text{年齢}} \times 0.969 \text{ [ 女性の場合 ] } \times 1.08 \text{ [ アフリカン - アメリカンの場合 ] }$  として表す

#### 【0244】

略語 / 単位

e G F R ( 推算糸球体濾過量 ) = mL / 1 / 1.73 m<sup>2</sup>

S<sub>c r</sub> ( 標準血清中クレアチニン ) = mg / d L

= 0.7 ( 女性 ) または 0.9 ( 男性 )

= - 0.329 ( 女性 ) または - 0.411 ( 男性 )

$\min = S_{c r} / \text{ } \text{または} 1$  の最小値を示す

$\max = S_{c r} / \text{ } \text{または} 1$  の最大値を示す

年齢 = 歳

10

20

30

40

50

## 【実施例 3】

## 【0245】

生検によるフェーズ 1 試験

この試験は、アルポート症候群を有する対象に投与する R G - 0 1 2 の安全性、薬力学的性質、および薬物動態のフェーズ 1 試験である。このオープンラベル試験中に、全ての適格対象に R G - 0 1 2 を与えた。この試験は 2 パート（パート A とパート B）からなる。パート A 中、関係者の半分には 1 回用量の R G - 0 1 2 を与え、半分には 4 回用量の R G - 0 1 2 を与えた（6 週間にわたり 1 週間毎に 1 回用量）。全ての対象に 2 回の腎生検、1 回は R G - 0 1 2 投与前および 1 回は R G - 0 1 2 投与後を施して、腎臓に対する R G - 0 1 2 の効果を評価した。パート A の終了後、対象は試験のパート B に入ることができた。パート B の間、全ての対象に 4 8 週間にわたり 1 週間毎に R G - 0 1 2 を与えた。

10

## 【0246】

## 【表 2】

試験群	指定介入
実験: RG-012、1回用量1.5mg/kg、RG-012 皮下注射	薬物: RG-012 0.3%塩化ナトリウム中にRG-012
実験: 1週間毎にRG-012 1.5mg/kgのRG-012を1週間毎に皮下注射	薬物: RG-012 0.3%塩化ナトリウム中にRG-012

20

## 【0247】

主要評価項目の測定は以下を含む：

- ・有害事象の発生率と重症度、および
- ・腎臓 m i R - 2 1 に対する R G - 0 1 2 の効果。

## 【0248】

副次評価項目の測定は以下を含む：

- ・薬物動態（P K）パラメーター C m a x（最大実測血漿濃度）
- ・薬物動態（P K）パラメーター T m a x（最大実測血漿濃度までの時間）
- ・薬物動態（P K）パラメーター A U C（血漿濃度と時間の曲線下面積）

30

## 【0249】

組み入れ基準：

1. 18 ~ 65 歳の年齢の男性または女性
2. アルポート症候群の確かな診断
3.  $40 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2 \sim 90 \text{ ml} / \text{分} / 1.73 \text{ m}^2$  の e G F R
4. クレアチニン 1 g あたり少なくとも 300 mg のタンパク質のタンパク尿
5. A C E 阻害剤または A R B を与えた対象に関して、投薬レジメンはスクリーニング前に少なくとも 30 日間安定状態でなければならなかった。
6. 避妊要件を順守する意思があること。

40

## 【0250】

除外基準：

1. アルポート症候群とは別の慢性腎疾患の原因（糖尿病性ニューロパチー、高血圧性ニューロパチー、ループス腎炎、または I g A ニューロパチーなど）
2. 進行中の透析療法または腎移植の病歴によって証明される末期腎疾患（E S R D）
3. 対象の安全性と健康状態にリスクをもたらす可能性がある任意の他の状態
4. 妊娠期または授乳期にある女性対象

50

## 【 0 2 5 1 】

主要評価項目の測定は以下を含む：

- ・有害事象の発生率と重症度、および
- ・腎臓 *miR* - 2 1 に対する *RG* - 0 1 2 の効果。

## 【 0 2 5 2 】

副次評価項目の測定は以下を含む：

- ・薬物動態 ( *PK* ) パラメーター *C* *max* ( 最大実測血漿濃度 )
- ・薬物動態 ( *PK* ) パラメーター *T* *max* ( 最大実測血漿濃度までの時間 )
- ・薬物動態 ( *PK* ) パラメーター *AUC* ( 血漿濃度と時間の曲線下面積 )

## 【 0 2 5 3 】

10

この試験では、第 1 回目の *RG* - 0 1 2 の投与前、および第 1 回目の *RG* - 0 1 2 の投与後に対象に腎生検を施した。血液試料を回収した。*RNA* を腎臓から単離し、*miR* - 2 1 レベルを測定した。血液中および腎臓組織中の *RG* - 0 1 2 レベルを測定した。*miR* - 2 1 制御 *mRNA* 転写産物を測定することができた。

## 【 0 2 5 4 】

2 週間毎に 1 回の 1 . 5 *mg* / *kg* 用量は、腎臓中で *miR* - 2 1 に関与する ( すなわち阻害する ) のに十分なレベルの *RG* - 0 1 2 を与えることが予想された。

## 【 配列表 】

2020518633000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2018/031094

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/7125 A61P13/12 C12N15/113  
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)

A61K A61P C12N

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, EMBASE, WPI Data, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>ClinicalTrials.gov: "Study of RG-012 in Male subjects with syndrome (HERA)", NIH US National Library of Medicine</p> <p>4 August 2016 (2016-08-04), XP002783205, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T02855268?term=RG-012&amp;rank=2 [retrieved on 2018-07-12] the whole document, especially p. 2: detailed description, p. 3: arms and interventions: experimental arm -/-</p>	1-32

☒ 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 July 2018

Date of mailing of the international search report

07/09/2018

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Steinheimer, K



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/031094

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>-&amp; clinicaltrials.gov Archive: "History of Changes for Study NCT02855268", NIH US National Library of Medicine</p> <p>16 September 2016 (2016-09-16), XP002783207,</p> <p>Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/history/NCT02855268?V_2=view [retrieved on 2018-07-12] the whole document</p> <p>-----</p>	
Y	<p>US 2014/100263 A1 (DUFFIELD JEREMY [US] ET AL) 10 April 2014 (2014-04-10) sequence 3 paragraph [0183] paragraph [0253] paragraph [0274] paragraph [0270] example 1</p> <p>-----</p>	1-32
Y	<p>GOMEZ IVAN G ET AL: "Anti-microRNA-21 oligonucleotides prevent Alport nephropathy progression by stimulating metabolic pathways", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 125, no. 1, January 2015 (2015-01), pages 141-156, XP009506789, page 141 page 155</p> <p>-----</p>	1-32
A	<p>US 2013/289093 A1 (BHAT BALKRISHEN [US] ET AL) 31 October 2013 (2013-10-31) sequence 3</p> <p>-----</p>	1-32

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/031094

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014100263 A1	10-04-2014	AR 092940 A1	06-05-2015
		AU 2013329427 A1	02-04-2015
		BR 112015007709 A2	08-08-2017
		CA 2885605 A1	17-04-2014
		CL 2015000873 A1	14-08-2015
		CN 104718295 A	17-06-2015
		CR 20150236 A	30-06-2015
		EA 201590711 A1	30-07-2015
		EP 2906698 A1	19-08-2015
		HK 1212378 A1	10-06-2016
		JP 6272880 B2	31-01-2018
		JP 2015536301 A	21-12-2015
		JP 2018080190 A	24-05-2018
		KR 20150064072 A	10-06-2015
		NZ 630596 A	26-05-2017
		PH 12015500781 A1	15-06-2015
		SG 11201502748R A	28-05-2015
		TN 2015000099 A1	29-06-2016
		TW 201420120 A	01-06-2014
		UA 116639 C2	25-04-2018
		US 2014100263 A1	10-04-2014
		US 2015299704 A1	22-10-2015
		US 2016319283 A1	03-11-2016
		US 2017369879 A1	28-12-2017
		UY 35069 A	30-04-2014
		WO 2014058881 A1	17-04-2014
		ZA 201502087 B	29-06-2016
US 2013289093 A1	31-10-2013	AR 090825 A1	10-12-2014
		AU 2013251696 A1	16-10-2014
		BR 112014026639 A2	27-06-2017
		CA 2869639 A1	31-10-2013
		CL 2014002844 A1	13-02-2015
		CL 2017001195 A1	26-01-2018
		CN 104254607 A	31-12-2014
		CO 7111303 A2	10-11-2014
		CR 20140524 A	12-02-2015
		DO P2014000233 A	31-12-2014
		EA 201491953 A1	30-06-2015
		EP 2841579 A1	04-03-2015
		GT 201400221 A	17-01-2018
		HK 1207115 A1	22-01-2016
		JP 6322189 B2	09-05-2018
		JP 2015519891 A	16-07-2015
		KR 20150003846 A	09-01-2015
		MX 353562 B	17-01-2018
		NZ 630591 A	24-02-2017
		PE 24042014 A1	02-02-2015
		PH 12014502387 A1	22-12-2014
		SG 11201406931X A	27-11-2014
		TW 201345918 A	16-11-2013
		UA 117098 C2	25-06-2018
		US 2013289093 A1	31-10-2013
		US 2015218558 A1	06-08-2015
		US 2016244753 A1	25-08-2016
		US 2017240891 A1	24-08-2017
		WO 2013163258 A1	31-10-2013
		ZA 201407228 B	31-05-2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

### Information on patent family members

PCT/US2018/031094

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/87 (2006.01)</b>		C 1 2 N 15/87		Z
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)		C 1 2 Q 1/68		

(81) 指定国・地域 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, RO, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72) 発明者 ティモシー・ライト

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 1 2 1 . サンディエゴ . サイエンス・センター・ドライブ 1  
0 6 1 4

F ターム (参考) 4B063 QA19 QQ43 QR32

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA17 MA66 NA14 ZA81 ZB21