

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-540448

(P2024-540448A)

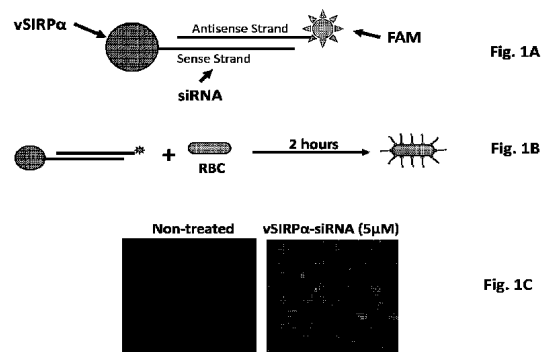
(43)公表日 令和6年10月31日(2024.10.31)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	47/64 (2017.01)	A 6 1 K	47/64	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 5	
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14	4 H 0 4 5	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全84頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-528584(P2024-528584)	(71)出願人	524034051	ケーアイエスティー (コリア インステ イテュート オブ サイエンス アンド テ クノロジー) 大韓民国, ソウル, ソンブクーク, ファ ランーロ, 1 4ーキル 5	
(86)(22)出願日	令和4年11月18日(2022.11.18)				
(85)翻訳文提出日	令和6年7月4日(2024.7.4)				
(86)国際出願番号	PCT/US2022/080167				
(87)国際公開番号	WO2023/092089				
(87)国際公開日	令和5年5月25日(2023.5.25)	(71)出願人	524179167	ケー2ピー セラピューティクス, イン コーポレイテッド アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メイン スト リート 7 0 0	
(31)優先権主張番号	63/281,370				
(32)優先日	令和3年11月19日(2021.11.19)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/392,323	(74)代理人	100078282		
(32)優先日	令和4年7月26日(2022.7.26)		弁理士 山本 秀策		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413	最終頁に続く	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA				
		最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 標的細胞への医薬品有効成分の赤血球媒介送達のための治療化合物

(57)【要約】

標的細胞への医薬品有効成分の赤血球媒介送達のための治療化合物が記載される。治療化合物は、赤血球の表面のCD47に結合するように、およびその後、標的細胞の表面のCD47へ移行されるように構成されており、したがって、治療化合物は、最終的に、エンドサイトーシスによって標的細胞に内在化される。標的細胞は、がん細胞、ウイルス感染細胞、または線維化細胞であり得る。CD47結合タンパク質は、共有結合、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス相互作用、およびこれらの組合せからなる群から選択される結合により、APIにコンジュゲートされ得る。CD47結合タンパク質は、リンカーによりAPIにコンジュゲートされ得、リンカーは、切断可能であり得る。リンカーは、リソソーム分解酵素により切断されるように構成され得る。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C D 4 7 を発現する標的細胞への哺乳動物対象における R B C 媒介送達のための治療化合物であって、

コンジュゲートを形成するように A P I にコンジュゲートされている C D 4 7 結合タンパク質を含み；

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、野生型トロンボスポンジン-1 (T S P - 1) (配列番号 7)、野生型 S I R P γ (配列番号 4)、v S I R P γ - 1 (配列番号 5)、v S I R P γ - 2 (配列番号 6)、A L X 1 4 8 (配列番号 9 6 2)、T T I - 6 6 1 (配列番号 9 6 3)、T T I - 6 6 2 (配列番号 9 6 4)、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球の C D 4 7 に結合させるように構成されており、したがって、(i) 前記コンジュゲートを前記赤血球の前記 C D 4 7 に結合させるように構成されている前記 C D 4 7 結合タンパク質が、前記標的細胞の前記 C D 4 7 に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-C D 4 7 複合体を形成するようにし、それによって、C D 4 7 を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としての C D 4 7 活性を阻害し、かつ (i i) 前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-C D 4 7 複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記 A P I を前記標的細胞に送達する、治療化合物。

【請求項 2】

C D 4 7 を発現する標的細胞への哺乳動物対象における R B C 媒介送達のための治療化合物であって、

コンジュゲートを形成するように A P I にコンジュゲートされている C D 4 7 結合タンパク質を含み；

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、野生型 S I R P α (配列番号 1)、v S I R P α (配列番号 3)、野生型トロンボスポンジン-1 (T S P - 1) (配列番号 7)、野生型 S I R P γ (配列番号 4)、v S I R P γ - 1 (配列番号 5)、v S I R P γ - 2 (配列番号 6)、A L X 1 4 8 (配列番号 9 6 2)、T T I - 6 6 1 (配列番号 9 6 3)、T T I - 6 6 2 (配列番号 9 6 4)、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球の C D 4 7 に結合させるように構成されており、したがって、(i) 前記コンジュゲートを前記赤血球の前記 C D 4 7 に結合させるように構成されている前記 C D 4 7 結合タンパク質が、前記標的細胞の前記 C D 4 7 に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-C D 4 7 複合体を形成するようにし、それによって、C D 4 7 を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としての C D 4 7 活性を阻害し、かつ (i i) 前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-C D 4 7 複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記 A P I を前記標的細胞に送達する、治療化合物。

【請求項 3】

C D 4 7 を発現する標的細胞への哺乳動物対象における R B C 媒介送達のための治療化合物であって、

コンジュゲートを形成するように A P I にコンジュゲートされている C D 4 7 結合タンパク質を含み；

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、抗 C D 4 7 抗体であり、前記抗 C D 4 7 抗体が、

(a) 配列番号 9 3 2、配列番号 9 3 3 および配列番号 9 3 4 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 9 3 5、配列番号 9 3 6 および配列番号 9 3 7 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域とを含むか；

(b) 配列番号 9 4 0、配列番号 9 4 1 および配列番号 9 4 2 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 9 4 3、配列番号 9 4 4 および配列番号 9 4 5 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域とを含むか；

(c) 配列番号 9 4 8、配列番号 9 4 9 および配列番号 9 5 0 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 9 5 1、配列番号 9 5 2 および配列番号 9 5 3 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域とを含むか；または

(d) 配列番号 9 5 6、配列番号 9 5 7 および配列番号 9 5 8 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 9 5 9、配列番号 9 6 0 および配列番号 9 6 1 をそれぞれ含む相補性決定領域 C D R 1、C D R 2 および C D R 3 を含む軽鎖可変領域とを含み；

前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球の C D 4 7 に結合させるように構成されており、したがって、(i) 前記コンジュゲートを前記赤血球の前記 C D 4 7 に結合させるように構成されている前記 C D 4 7 結合タンパク質が、前記標的細胞の前記 C D 4 7 に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-C D 4 7 複合体を形成するようにし、それによって、C D 4 7 を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としての C D 4 7 活性を阻害し、かつ(ii) 前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-C D 4 7 複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記 A P I を前記標的細胞に送達する、治療化合物。

【請求項 4】

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、共有結合、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス相互作用、およびこれらの組合せからなる群から選択される結合により、前記 A P I にコンジュゲートされている、前記請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 5】

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、リンカーにより前記 A P I にコンジュゲートされている、前記請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 6】

前記リンカーが、切断可能である、請求項 5 に記載の治療化合物。

【請求項 7】

前記リンカーが、リソソーム分解酵素により切断されるように構成されている、請求項 5 および 6 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 8】

前記 A P I が、R N A、D N A、R N A 誘導体、D N A 誘導体、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、前記請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 9】

前記 A P I が、s i R N A、s h R N A、m i R N A、a n t i m i R、および m R N A からなる群から選択される、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 10】

前記標的細胞が、がん細胞、ウイルス感染細胞、線維化細胞、およびこれらの組合せからなる群から選択される細胞である、前記請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 11】

10

20

30

40

50

前記標的細胞が、がん細胞である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 1 2】

前記標的細胞が、ウイルス感染細胞である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 1 3】

前記標的細胞が、線維化細胞である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 1 4】

前記がん細胞が、脳腫瘍、脊髄腫瘍、網膜芽細胞腫、口腔がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、咽頭がん、喉頭がん、頸部がん、頭頸部がん、黒色腫、皮膚がん、乳がん、甲状腺がん、悪性副腎腫瘍、内分泌がん、肺がん、胸膜腫瘍、気道がん、食道がん、胃がん、小腸がん、結腸がん、肛門がん、肝臓がん、胆道がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、陰茎がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、絨毛癌、卵巣がん；急性／慢性白血病、悪性リンパ腫および多発性骨髄腫を含む血液がん；骨腫瘍、軟部組織腫瘍、小児白血病、ならびに小児がんからなる群から選択されるがんに起因する腫瘍におけるものである、請求項 1 1 に記載の治療化合物。

10

【請求項 1 5】

前記がん細胞が、卵巣漿液性嚢胞腺癌、肺腺癌、子宮頸および子宮頸管がん、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、子宮体類内膜癌、前立腺癌、中皮腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、急性白血病、肺扁平上皮癌、急性リンパ性白血病、食道癌、粘液線維肉腫、膵臓腺癌、直腸腺癌、結腸腺癌、急性巨核芽球性白血病、浸潤性乳癌、胃腺癌、膀胱尿路上皮癌、胆管癌、白血病、胸腺癌、平滑筋肉腫、胸腺腫、未分化多形性肉腫、子宮癌肉腫、急性骨髄性白血病、多形性神経膠芽腫、肉腫、皮膚黒色腫、腎臓明細胞癌、脱分化型脂肪肉腫、リンパ腫、網膜芽細胞腫、神経芽細胞腫、骨肉腫、若年性骨髄単球性白血病、消化管間質腫瘍、胚芽異形成性神経上皮腫瘍、副腎皮質がん、分化系統不明瞭な急性白血病、褐色細胞腫および傍神経節腫、神経膠腫、精巣胚細胞腫瘍、テント上胎児性腫瘍 N O S、神経芽細胞腫、腎臓乳頭細胞癌、肝細胞癌、嫌色素性腎細胞癌、悪性末梢神経鞘腫瘍、上衣腫、副腎皮質癌、上咽頭癌、紡錘細胞／硬化性横紋筋肉腫、黒色腫、脈絡叢癌、未分化紡錘細胞癌、筋上皮癌、肺泡横紋筋肉腫、横紋筋肉腫、非定型奇形腫／ラブドイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、線維腫症、滑膜肉腫、ウィルムス腫瘍、筋線維腫症、線維層板型肝細胞癌、未分化肉腫 N O S、胎児性横紋筋肉腫、ブドウ膜黒色腫、ユーイング肉腫、肝芽腫、乳児型線維肉腫、I N I 依存性軟部組織肉腫 N O A、未分化肝肉腫、ならびに髄芽腫からなる群から選択されるがんに起因する、請求項 1 1 に記載の治療化合物。

20

30

【請求項 1 6】

前記ウイルス感染細胞が、S A R S - C o V - 2 ウイルスに感染している、請求項 1 2 に記載の治療化合物。

【請求項 1 7】

前記線維化細胞が、嚢胞性線維症に関連する、請求項 1 3 に記載の治療化合物。

【請求項 1 8】

前記 A P I が、s i R N A であり、前記 s i R N A が、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、

(a) 前記アンチセンス R N A 鎖が、長さ 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 8 ～ 7 4 7 および 7 7 1 ～ 8 2 4 からなる群から選択され、

(b) 前記センス R N A 鎖が、長さ 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドであり、前記アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ～ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖 R N A 分子が、長さ 1 4 ～ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ～ 5 ヌクレオチドの 3' オーバーハング領域とを有する、

請求項 1 1、1 4 および 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

40

50

【請求項 19】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号22～747および771～824からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

10

【請求項 20】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号22～37からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

20

【請求項 21】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号38～39からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

30

【請求項 22】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号40～43からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

40

【請求項 23】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号44～51からなる群から選択され、

50

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項24】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項12および16のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項25】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号482～486および748～765からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項12および16のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項26】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項13および17のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項27】

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号40～43および766～770からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項13および17のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項28】

10

20

30

40

50

前記 A P I が、s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ~ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ~ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

10

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 8 ~ 7 4 7 および 7 7 1 ~ 8 2 4 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 1 1、1 4 および 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

20

【請求項 2 9】

前記 A P I が、s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ~ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ~ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

30

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 2 2 ~ 7 4 7 および 7 7 1 ~ 8 2 4 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 1 1、1 4 および 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

40

【請求項 3 0】

前記 A P I が、s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ~ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ~ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

50

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 22～37 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 11、14 および 15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 31】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 38～39 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 11、14 および 15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 32】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 40～43 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 11、14 および 15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 33】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 44～51 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 11、14 および 15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 34】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 8～21、482～486、および 748～765 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 12 および 16 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 35】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の

10

20

30

40

50

配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 482～486 および 748～765 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 12 および 16 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 36】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 8～21、40～43、および 766～770 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 13 および 17 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 37】

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44～71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19～29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4～11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19～29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 40～43 および 766～770 からなる

10

20

30

40

50

群から選択され、

(d) 前記一本鎖RNA分子が、前記第1の領域が前記第3の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第2の領域がループを形成し、前記第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、
請求項13および17のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項38】

前記APIが、配列番号825～844、849～851、853、855、857、864、865、および867～883からなる群から選択されるmiRNAである、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項39】

前記APIが、antimiRであり、前記antimiRが、長さ12～25ヌクレオチドの一本鎖核酸分子であり、前記antimiRが、標的成熟miRNA産物配列における連続するヌクレオチドに相補的である連続する12～25ヌクレオチドの配列を有し、前記成熟miRNA産物配列が、配列番号884～908からなる群から選択され、前記成熟miRNA産物配列における前記連続するヌクレオチドが、5'から3'方向に、前記成熟miRNA産物配列のヌクレオチド2～8を含む、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項40】

前記APIが、メトトレキサート；ドキシソルビシン；ビンカアルカロイド；カンプトテシン類似体；微小管破壊剤；およびDNA損傷剤からなる群から選択される、小分子である、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項41】

前記APIが、タンパク質であり、前記タンパク質が、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項42】

前記APIが、タンパク質であり、前記タンパク質が、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項43】

前記APIが、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードするmRNAであり、前記mRNAが、前記アミノ酸配列を含むタンパク質を産生するように前記標的細胞において翻訳されるように構成されている、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項44】

前記APIが、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードするmRNAであり、前記mRNAが、前記アミノ酸配列からなるタンパク質を産生するように前記標的細胞において翻訳されるように構成されている、請求項11、14および15のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項45】

前記mRNAが、コドン最適化されている、請求項43および44のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項46】

それを必要とする哺乳動物対象におけるがんを処置する方法であって、請求項1から11、14、15、18から23、28から33、および38から45のいずれか一項に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。

【請求項47】

それを必要とする哺乳動物対象におけるウイルス感染症を処置する方法であって、請求項1から10、12、16、24、25、34、および35のいずれか一項に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 48】

それを必要とする哺乳動物対象における線維性疾患を処置する方法であって、請求項 1 から 10、13、17、26、27、36、および 37 のいずれか一項に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。

【請求項 49】

前記哺乳動物対象が、ヒトである、請求項 1 から 45 のいずれか一項に記載の治療化合物。

【請求項 50】

前記哺乳動物対象が、ヒトである、請求項 46 から 48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

請求項 1 から 45 および 49 のいずれか一項に記載の治療化合物と薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本願は、2021年11月19日に提出した米国仮特許出願第63／281，370号および2022年7月26日に提出した米国仮特許出願第63／392，323号に基づく優先権を主張するものであり、前記仮出願の各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

技術分野

本発明は、一般に、CD47に結合するように構成されている治療化合物に関し、より詳細には、赤血球の表面のCD47に結合するように、およびその後、標的細胞の表面のCD47へ移行されるように構成されているそのような化合物、したがって、最終的に、エンドサイトーシスによって標的細胞に内在化される治療用化合物に関する。

【背景技術】

【0003】

背景技術

インテグリン関連タンパク質である分化抗原群47（「CD47」）は、ファゴサイトーシスによるクリアランスまたは好中球遊走を阻害するプロセスに関与するマルチスパン形質膜タンパク質である。マクロファージおよび樹状細胞などの自然免疫細胞により発現される膜貫通タンパク質であるシグナル調節タンパク質アルファ（「SIRPα」）が、CD47の主受容体である。CD47へのSIRPαの結合は、SIRPα阻害シグナルを誘発し、このシグナルは、レシピエントマクロファージへの「don't eat me」シグナルとして作用し、その結果、それらのファゴサイトーシス活性化が防止される。したがって、SIRPα-CD47相互作用は、自然およびその後の適応免疫の負のチェックポイントとして機能する。他のタンパク質、例えば、シグナル調節タンパク質ガンマ（「SIRPγ」）およびトロンボスポンジン-1（「TSP-1」）も、CD47に結合し、それによって免疫応答の態様を阻害し得る。

【0004】

哺乳動物細胞は、典型的には、低レベルのCD47を発現して、それらをファゴサイトーシスから防御する。しかし、がん細胞は、回避機構としてCD47を過剰発現して、免疫監視および食細胞による攻撃から逃避する。いくつかのヒト固形腫瘍は、CD47を過剰発現する。すなわち、これらの固形腫瘍の細胞は、概して正常な細胞より多くのCD47を発現する（Willingham et al. PNAS 109(17):6662-6667 (2012)、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる）。それ故、CD47は、がん免疫療法の有望な新たな治療標的として浮上した（Willingham et al. PNAS 109(17):6662-6667 (2012); Weiskopf, Eur. J. Cancer 76:100-109 (2017); Weiskopf et al. J Clin Invest 126(7):2610-2620 (

10

20

30

40

50

2016)、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)。

【0005】

加えて、ウイルス感染細胞も、高レベルのCD47を発現する。これらのウイルス感染細胞は、COVID-19を引き起こすウイルスであるSARS-CoV-2に感染した細胞を含む(Cham et al. Cell Rep 14;31(2):107494 (2020) doi:10.1016/j.celrep.2020.03.058およびMcLaughlin et al. bioRxiv 2021.03.01.433404 (2021) doi:10.1101/2021.03.01.433404、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)。CD47阻害シグナル伝達の遮断は、ウイルス感染症に対する自然および適応免疫応答を増強することが実証されている。

10

【0006】

さらに、CD47発現の増加は、線維化線維芽細胞において観察されており、CD47を遮断することは、線維化促進性線維芽細胞のファゴサイトーシスを増加させることにより、および適応免疫に対する抑制効果を消失させることにより、線維症を好転させる(Cui et al. Nat Commun 11:2795 (2020); Wernig et al. PNAS 2017;114(18):4757-62; Boyd J Cyst Fibros Suppl 1:S54-S59 (2020); Lerbs et al. JCI Insight 2020;5(16):e140458 (2020)、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)。

それ故、CD47は、がん、ウイルス感染症、ならびに線維性疾患、例えば嚢胞性線維症の処置の有望な標的になる。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Willingham et al. PNAS 109(17):6662-6667 (2012)

【非特許文献2】Weiskopf, Eur. J. Cancer 76:100-109 (2017)

【非特許文献3】Weiskopf et al. J Clin Invest 126(7):2610-2620 (2016)

【非特許文献4】Cham et al. Cell Rep 14;31(2):107494 (2020) doi:10.1016/j.celrep.2020.03.058

【非特許文献5】McLaughlin et al. bioRxiv 2021.03.01.433404 (2021) doi:10.1101/2021.03.01.433404

30

【非特許文献6】Cui et al. Nat Commun 11:2795 (2020)

【非特許文献7】Wernig et al. PNAS 2017;114(18):4757-62

【非特許文献8】Boyd J Cyst Fibros Suppl 1:S54-S59 (2020)

【非特許文献9】Lerbs et al. JCI Insight 2020;5(16):e140458 (2020)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

実施形態の概要

本発明の一実施形態によれば、CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、コンジュゲートを形成するように医薬品有効成分(「API」)にコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み;CD47結合タンパク質が、野生型SIRPα(配列番号1)、vSIRPα(配列番号3)、野生型トロンボスポンジン-1(TSP-1)(配列番号7)、野生型SIRPy(配列番号4)、vSIRPy-1(配列番号5)、vSIRPy-2(配列番号6)、ALX148(配列番号962)、TTI-661(配列番号963)、TTI-662(配列番号964)、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、対象の循環系による標的細胞へのコンジュゲートの輸送を可能にするためにコンジュゲートを対象の赤血球のCD47に結合させるように構成されており、したがって、(i)コンジュゲートを赤血球のCD47に結合させるように構成されているCD4

40

50

7 結合タンパク質が、標的細胞のCD47に結合し、ひいては、コンジュゲートを赤血球から標的細胞へ移行させて、標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ(i i)コンジュゲートが、コンジュゲート-CD47複合体のエンドサイトーシスによって標的細胞に取り込まれ、それによって、標的細胞の免疫逃避機構をさらに阻害し、APIを標的細胞に送達する、治療化合物。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0009】

本発明の別の実施形態によれば、CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、コンジュゲートを形成するようにAPIにコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み；CD47結合タンパク質が、野生型トロンボスポンジン-1(TSP-1)(配列番号7)、野生型SIRPy(配列番号4)、vSIRPy-1(配列番号5)、vSIRPy-2(配列番号6)、ALX148(配列番号962)、TTI-661(配列番号963)、TTI-662(配列番号964)、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、対象の循環系による標的細胞へのコンジュゲートの輸送を可能にするためにコンジュゲートを対象の赤血球のCD47に結合させるように構成されており、したがって、(i)コンジュゲートを赤血球のCD47に結合させるように構成されているCD47結合タンパク質が、標的細胞のCD47に結合し、ひいては、コンジュゲートを赤血球から標的細胞へ移行させて、標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ(i i)コンジュゲートが、コンジュゲート-CD47複合体のエンドサイトーシスによって標的細胞に取り込まれ、それによって、標的細胞の免疫逃避機構をさらに阻害し、APIを標的細胞に送達する、治療化合物。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0010】

本発明の実施形態によれば、CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、コンジュゲートを形成するようにAPIにコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み；CD47結合タンパク質が、抗CD47抗体であり、抗CD47抗体が、(a)配列番号932、配列番号933および配列番号934をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号935、配列番号936および配列番号937をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；(b)配列番号940、配列番号941および配列番号942をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号943、配列番号944および配列番号945をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；(c)配列番号948、配列番号949および配列番号950をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号951、配列番号952および配列番号953をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；または(d)配列番号956、配列番号957および配列番号958をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号959、配列番号960および配列番号961をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含み；対象の循環系による標的細胞へのコンジュゲートの輸送を可能にするためにコンジュゲートを対象の赤血球のCD47に結合させるように構成されており、したがって、(i)コンジュゲートを赤血球のCD47に結合させるように構成されているCD47結合タンパク質が、標的細胞のCD47に結合し、ひいては、コンジュゲートを赤血球から標的細胞へ移行させて、標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ(i i)コンジュゲートが、コンジュゲート-

C D 4 7 複合体のエンドサイトーシスによって標的細胞に取り込まれ、それによって、標的細胞の免疫逃避機構をさらに阻害し、A P I を標的細胞に送達する、治療化合物。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0011】

C D 4 7 結合タンパク質は、共有結合、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス相互作用、およびこれらの組合せからなる群から選択される結合により、A P I にコンジュゲートされ得る。C D 4 7 結合タンパク質は、リンカーによりA P I にコンジュゲートされ得、リンカーは、切断可能であり得る。リンカーは、リソソーム分解酵素により切断されるように構成され得る。

【0012】

一部の実施形態では、A P I は、R N A、D N A、R N A 誘導体、D N A 誘導体、タンパク質、および小分子からなる群から選択される。R N A は、s i R N A、s h R N A、m i R N A、a n t i m i R、およびm R N A からなる群から選択され得る。

【0013】

標的細胞は、がん細胞、ウイルス感染細胞、線維化細胞、およびこれらの組合せからなる群から選択される細胞であり得る。一部の実施形態では、標的細胞は、がん細胞である。一部の実施形態では、標的細胞は、ウイルス感染細胞である。一部の実施形態では、標的細胞は、線維化細胞である。

【0014】

一部の実施形態では、がん細胞は、脳腫瘍、脊髄腫瘍、網膜芽細胞腫、口腔がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、咽頭がん、喉頭がん、頸部がん、頭頸部がん、黒色腫、皮膚がん、乳がん、甲状腺がん、悪性副腎腫瘍、内分泌がん、肺がん、胸膜腫瘍、気道がん、食道がん、胃がん、小腸がん、結腸がん、肛門がん、肝臓がん、胆道がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、陰茎がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、絨毛癌、卵巣がん；急性／慢性白血病、悪性リンパ腫および多発性骨髄腫を含む血液がん；骨腫瘍、軟部組織腫瘍、小児白血病、ならびに小児がんからなる群から選択されるがんに起因する腫瘍におけるものである。

【0015】

一部の実施形態では、がん細胞は、卵巣漿液性嚢胞腺癌、肺腺癌、子宮頸および子宮頸管がん、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、子宮体類内膜癌、前立腺癌、中皮腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、急性白血病、肺扁平上皮癌、急性リンパ性白血病、食道癌、粘液線維肉腫、膵臓腺癌、直腸腺癌、結腸腺癌、急性巨核芽球性白血病、浸潤性乳癌、胃腺癌、膀胱尿路上皮癌、胆管癌、白血病、胸腺癌、平滑筋肉腫、胸腺腫、未分化多形性肉腫、子宮癌肉腫、急性骨髓性白血病、多形性神経膠芽腫、肉腫、皮膚黒色腫、腎臓明細胞癌、脱分化型脂肪肉腫、リンパ腫、網膜芽細胞腫、神経芽細胞腫、骨肉腫、若年性骨髄単球性白血病、消化管間質腫瘍、胚芽異形成性神経上皮腫瘍、副腎皮質がん、分化系統不明瞭な急性白血病、褐色細胞腫および傍神経節腫、神経膠腫、精巣胚細胞腫瘍、テント上胎児性腫瘍N O S、神経芽細胞腫、腎臓乳頭細胞癌、肝細胞癌、嫌色素性腎細胞癌、悪性末梢神経鞘腫瘍、上衣腫、副腎皮質癌、上咽頭癌、紡錘細胞／硬化性横紋筋肉腫、黒色腫、脈絡叢癌、未分化紡錘細胞癌、筋上皮癌、肺胞横紋筋肉腫、横紋筋肉腫、非定型奇形腫／ラブドイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、線維腫症、滑膜肉腫、ウィルムス腫瘍、筋線維腫症(myofibromytosis)、線維層板型肝細胞癌、未分化肉腫N O S、胎児性横紋筋肉腫、ブドウ膜黒色腫、ユーイング肉腫、肝芽腫、乳児型線維肉腫、I N I 依存性軟部組織肉腫N O A、未分化肝肉腫、ならびに髄芽腫からなる群から選択されるがんに起因する。

【0016】

一部の実施形態では、ウイルス感染細胞は、S A R S - C o V - 2 ウイルスに感染している。一部の実施形態では、線維化細胞は、嚢胞性線維症に関連する。

【0017】

一部の実施形態では、A P I は、s i R N A であり、s i R N A は、アンチセンスR N

10

20

30

40

50

A鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a) アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～747および771～824からなる群から選択され、(b) センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c) 二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号22～747および771～824からなる群から選択される。一部の実施形態では、mRNA配列は、配列番号22～37からなる群から選択される。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号38～39からなる群から選択される。一部の実施形態では、mRNA配列は、配列番号40～43からなる群から選択される。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号44～51からなる群から選択される。

10

【0018】

一部の実施形態では、APIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a) アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、(b) センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c) 二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号482～486および748～765からなる群から選択される。

20

【0019】

一部の実施形態では、APIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a) アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、(b) センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c) 二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号40～43および766～770からなる群から選択される。

30

【0020】

APIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a) 第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b) 第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c) 第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～747および771～824からなる群から選択され、(d) 一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号22～747および771～824からなる群から選択される。一部の実施形態では、mRNA配列は、配列番号22～37からなる群から選択される。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号38～39からなる群から選択される。一部の実施形態では、mRNA配列は、配列番号40～43からなる群から選択される。

40

50

他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号44～51からなる群から選択される。

【0021】

一部の実施形態では、APIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号482～486および748～765からなる群から選択される。

10

【0022】

一部の実施形態では、APIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。他の実施形態では、mRNA配列は、配列番号40～43および766～770からなる群から選択される。

20

30

【0023】

一部の実施形態では、APIは、配列番号825～844、849～851、853、855、857、864、865、および867～883からなる群から選択されるmiRNAである。

【0024】

一部の実施形態では、APIは、antimiRであり、antimiRは、長さ12～25ヌクレオチドの一本鎖核酸分子であり、antimiRは、標的成熟miRNA産物配列における連続するヌクレオチドに相補的である連続する12～25ヌクレオチドの配列を有し、成熟miRNA産物配列は、配列番号884～908からなる群から選択され、成熟miRNA産物配列における連続するヌクレオチドは、5'から3'方向に、成熟miRNA産物配列のヌクレオチド2～8を含む。

40

【0025】

一部の実施形態では、APIは、メトトレキサート；ドキソルビシン；ビンカアルカロイド；カンプトテシン類似体；微小管破壊剤、例えば、アウリスタチン（例えば、MMAEおよびMMAF）およびメイタンシノイド（例えば、DM1およびDM4）；ならびにDNA損傷剤、例えば、DNAトポイソメラーゼI阻害剤（例えば、SN-38およびエキサテカン）、二本鎖切断剤（例えば、カリケアマイシン）、架橋剤（例えば、ピロロベ

50

ンゾジアゼピン二量体－PBD）、およびアルキル化剤（例えば、デュオカルマイシンおよびインドリノベンゾジアゼピン二量体－IGN）からなる群から選択される、小分子である。

【0026】

一部の実施形態では、APIは、タンパク質であり、タンパク質は、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、タンパク質は、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列からなる。

【0027】

一部の実施形態では、APIは、配列番号909～929およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードするmRNAであり、mRNAは、アミノ酸配列を含むタンパク質を産生するように標的細胞において翻訳されるように構成されている。他の実施形態では、mRNAは、アミノ酸配列からなるタンパク質を産生するように標的細胞において翻訳されるように構成されている。一部の実施形態では、mRNAは、コドン最適化されている。

【0028】

本発明の一実施形態によれば、それを必要とする哺乳動物対象におけるがんを処置する方法であって、本明細書に記載される治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む方法。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0029】

本発明の別の実施形態によれば、それを必要とする哺乳動物対象におけるウイルス感染症を処置する方法であって、本明細書に記載される治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0030】

本発明の実施形態によれば、それを必要とする哺乳動物対象における線維性疾患を処置する方法であって、本明細書に記載される治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。哺乳動物対象は、ヒトであり得る。

【0031】

本発明の別の実施形態によれば、本明細書に記載される治療化合物を含む医薬組成物。

【0032】

実施形態の上述の特徴は、添付の図面を参照して解釈される、後続の詳細な説明を参照することによって、より容易に理解されるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】図1Aは、本発明の実施形態によるFAMタグ付きvSIRPα-siRNAコンジュゲートを示す。図1Bは、図1AのFAMタグ付きvSIRPα-siRNAコンジュゲートとの赤血球のインキュベーションの説明図である。図1Cは、図1Aに示されているFAMタグ付きvSIRPα-siRNAコンジュゲートとともにインキュベートしなかった赤血球（左側）、および図1Aに示されているFAMタグ付きvSIRPα-siRNAコンジュゲートとともにインキュベートした赤血球（右側）の蛍光顕微鏡画像を示す。

【0034】

【図2】図2Aは、本発明の実施形態による、FAMタグ付きvSIRPα-siRNAと結合した赤血球とともにインキュベートする前およびした後のCaCO2細胞のフローサイトメトリ結果を示す。図2Bは、FAMタグ付きvSIRPα-siRNAと結合した赤血球とともにインキュベートする前およびした後のCT26、CL25細胞のフローサイトメトリ結果を示す。

【0035】

【図3】図3Aは、本発明の実施形態による、Alexa Fluor（登録商標）647抗マウスCD47モノクローナル抗体と結合した赤血球とともにインキュベートする前

10

20

30

40

50

およびした後のCaCO₂細胞のフローサイトメトリー結果を示す。図3Bは、Alexa Fluor（登録商標）647抗マウスCD47モノクローナル抗体と結合した赤血球とともにインキュベートする前およびした後のCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0036】

【図4】図4は、本発明の実施形態による、FAMタグ付きvSIRPα-siRNAと結合した赤血球とともにインキュベートする前（「未染色」）およびした後のCaCO₂細胞およびCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0037】

【図5】図5は、本発明の実施形態による、Cy5.5標識vSIRPαと結合した赤血球とともにインキュベートする前（「未染色」）およびした後のCaCO₂細胞およびCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0038】

【図6】図6は、本発明の実施形態による、Alexa Fluor（登録商標）647抗マウスCD47モノクローナル抗体と結合した赤血球とともにインキュベートする前（「未染色」）およびした後のCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0039】

【図7】図7は、本発明の実施形態による、CD47mAb-miR21-Cy5コンジュゲートと結合した赤血球とともにインキュベートする前（「未染色」）およびした後のCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0040】

【図8】図8は、本発明の実施形態による、Cy5.5標識マウストロンボスポンジン-1と結合した赤血球とともにインキュベートする前（「未染色」）およびした後のCaCO₂細胞およびCT26、CL25細胞のフローサイトメトリー結果を示す。

【0041】

【図9】図9は、本発明の実施形態による、未処置マウス、蛍光標識siRNAコンジュゲートを注射したマウス、および蛍光標識vSIRPα-siRNAコンジュゲートを注射したマウスから単離した赤血球を示す。

【発明を実施するための形態】

【0042】

特定の実施形態の詳細な説明

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、以下の用語は、文脈上他の意味に解すべき場合を除き、示される意味を有するものとする。

【0043】

本発明を説明する文脈において（特に、特許請求の範囲の文脈において）使用される用語「1つの（a）」、「1つの（an）」、「その（the）」および類似の言及は、本明細書中で別段の指示がない限り、または文脈上明らかな矛盾がある場合を除き、単数形と複数形の両方に及ぶと解釈されたい。本明細書における値の範囲の記述は、範囲内に入る別々の値各々に個々に言及する省略表現法として役立つことを目的としたものに過ぎない。本明細書中で別段の指示がない限り、個々の値各々は、それが本明細書で個々に述べられているかのごとく本明細書に組み込まれる。本発明の実施に不可欠な何らかの請求項不記載要素を示すと解釈すべき言葉は、本明細書には存在しない。

【0044】

「セット」は、少なくとも1つのメンバーを含む。

【0045】

用語「哺乳動物」などは、哺乳綱の任意の動物種を指す。哺乳動物の例としては、ヒト；実験動物、例えば、ラット、マウス、サルおよびモルモット；飼育動物、例えば、ウサギ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、イヌ、ウマ、ブタなどが挙げられる。

【0046】

「医薬品有効成分」、「API」などは、生物活性である、本発明の実施形態による、治療用化合物の非CD47結合タンパク質部分および非リンカー部分を意味する。好適な医薬品有効成分（「API」）としては、RNA（siRNA、miRNA、shRNA、およびmRNA）、DNA、antimimicオリゴヌクレオチド（RNA、DNA、およびその誘導体）、RNAおよびDNA誘導体（改変された骨格、糖および／または塩基を含む、改変RNAおよびDNAを含むが、これらに限定されない）、タンパク質、ならびに小分子が挙げられる。

【0047】

本明細書で使用される場合、所与のタンパク質などの「ホモログ」は、所与のタンパク質と少なくとも95%の配列同一性を有するタンパク質を意味するものとする。

【0048】

「相補性」は、核酸配列に関して本明細書で使用される場合、ワトソン-クリック塩基対合またはゆらぎ塩基対合により別の核酸配列と水素結合を形成する核酸の能力を指す。パーセント相補性は、第2の核酸配列のヌクレオチドと水素結合（例えば、ワトソン-クリック塩基対合）を形成することができる、核酸分子におけるヌクレオチドのパーセンテージ（例えば、10のうちの5、6、7、8、9、10は、50%、60%、70%、80%、90%および100%相補性である）を示す。「完全に相補的」などは、核酸配列の連続するヌクレオチドの全てが、第2の核酸配列における同数の連続するヌクレオチドと水素結合することになる（すなわち、核酸配列が100%相補性を有する）ことを意味する。「相補的」は、さらなるただし書きなしに本明細書で使用される場合、核酸配列の連続するヌクレオチドが、核酸配列の12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、またはそれより多くのヌクレオチド数の領域にわたって、第2の核酸配列の連続するヌクレオチドと、95%、96%、97%、98%、99%および100%相補性からなる群から選択されるパーセント相補性を有することを意味する。例えば、長さ19ヌクレオチドであり、第2の核酸配列の14ヌクレオチドに相補的である、核酸配列は、核酸配列の連続する14ヌクレオチドが、第2の核酸配列の連続するヌクレオチドと、95%、96%、97%、98%、99%および100%相補性からなる群から選択されるパーセント相補性を有することを意味する。長さ19ヌクレオチドであり、第2の核酸配列における連続するヌクレオチドに相補的である、核酸配列は、核酸配列の連続する19ヌクレオチドが、第2の核酸配列の連続するヌクレオチドと、95%、96%、97%、98%、99%および100%相補性からなる群から選択されるパーセント相補性を有することを意味する。

【0049】

「コドン最適化された」は、mRNA転写物のコード配列が、コード配列のコドンの少なくとも60%について、所与の標的細胞／宿主細胞の種にとって最も好ましいまたは2番目に好ましいコドンを含むことを意味し、したがって、コドン最適化された配列は、標的細胞／宿主細胞において、最適化されていない配列と比べて効率的に翻訳される。

【0050】

用語「抗体」は、1本の「重」（H）鎖および1本の「軽」（L）鎖を各対が有する、同一の2対のポリペプチド鎖で典型的に構成される、免疫グロブリン分子を指す。ヒト軽鎖は、カッパ（κ）およびラムダ（λ）として分類される。重鎖は、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファまたはイプシロンとして分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgAおよびIgEとして規定する。各重鎖は、重鎖可変領域（VH）および重鎖定常領域から構成される。IgD、IgGおよびIgAの重鎖定常領域は、CH1、CH2およびCH3という3つのドメインから構成され、IgMおよびIgEの重鎖定常領域は、CH1、CH2、CH3およびCH4という4つのドメインから構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（VL）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、CLという1つのドメインから構成される。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）を含む、宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。VHおよびVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより高度

10

20

30

40

50

に保存される領域が散在している、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域に、さらに細分され得る。VHおよびVL各々は、3つのCDRおよび4つのFRで構成され、これらは、アミノ末端からカルボキシ末端へ次の順序で配列されている：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖／軽鎖対（VH／VL）各々の可変領域は、典型的に、抗体の抗原結合部位を形成する。用語「抗体」は、抗体を産生するいずれかの特定の方法により限定されない。例えば、それは、モノクローナル抗体、組換え抗体、およびポリクローナル抗体を含む。

【0051】

用語「ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリン配列のみのアミノ酸配列からなる抗体を指す。ヒト抗体は、マウスにおいて、マウス細胞において、またはマウス細胞に由来するハイブリドーマにおいて産生された場合、マウス糖鎖を含有し得る。ヒト抗体は、当技術分野において公知の様々な方法で調製され得る。

【0052】

用語「ヒト化抗体」は、抗体のフレームワークおよび定常領域が、ヒト抗体配列に由来するアミノ酸残基を含有する一方で、非ヒト動物抗体からのCDRの一部または全てを含有する、抗体を指す。ヒト化抗体は、マウス抗体からのCDRをヒトフレームワーク配列にグラフトし、続いて、ある特定のヒトフレームワーク残基での、起源抗体からの対応するマウス残基の復帰置換を行うことにより、典型的に産生される。用語「ヒト化抗体」は、典型的には1つまたは複数の可変領域における、ヒトT細胞および／またはB細胞エピトープを構成する傾向が強い1つまたは複数のエピトープが、免疫原性を低下させる目的で除去された、非ヒト起源の抗体も指す。エピトープのアミノ酸配列を完全にまたは部分的に除去することができる。しかし、典型的には、アミノ酸配列は、エピトープを構成するアミノ酸のうちの1つまたは複数で、1つまたは複数の他のアミノ酸を置換し、それによって、アミノ酸配列を、ヒトT細胞および／またはB細胞エピトープを構成しない配列に変化させることにより、変更される。アミノ酸は、場合によっては、対応するヒト可変重鎖または可変軽鎖における対応する位置に存在するアミノ酸により置換される。

【0053】

用語「薬学的に許容される担体」は、医薬化合物の投与に通常使用される、溶媒、担体剤、希釈剤などを意味する。

【0054】

CD47は、様々ながん細胞に、ウイルス感染細胞に、および線維化細胞に過剰発現され、したがって、様々ながん、ウイルス感染症、および線維性疾患の処置の有望な標的になる。これらの細胞におけるCD47シグナル伝達およびさらにはCD47自体の発現を遮断することにより、これらの細胞の免疫系回避を抑制することができ、それらの消失、および患者の疾患からのその後の回復が可能になる。

【0055】

例えば、CD47に対する高い親和性を有し、プローブにコンジュゲートされた、バリアントSIRPα（「vSIRPα」）の静脈内注射が、マウスの腫瘍形成性細胞に取り込まれることが判明している。加えて、CD47を標的とするsiRNAにコンジュゲートされたvSIRPαが、培養下でCT26、CL25がん細胞のファゴサイトーシスを増強することが示されている（Ko et al. Control Release 323:376-386 (2020)および米国特許出願公開第2021/0015931号、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【0056】

本発明者らは、赤血球（「RBC」）の細胞表面にならびにがん細胞、ウイルス感染細胞および線維化細胞などの標的細胞の細胞表面に存在するCD47を利用して、様々なAPIを前記標的細胞に新規機構によって送達することができることを、意外にも見出した。

【0057】

ここで、本発明者らは、哺乳動物対象におけるCD47を発現する標的細胞へのAPI

10

20

30

40

50

の R B C 媒介送達のための新規治療化合物を説明する。治療化合物は、A P I にコンジュゲートされている C D 4 7 結合タンパク質を含むコンジュゲートである。コンジュゲートの C D 4 7 結合タンパク質は、コンジュゲートを対象の赤血球の表面に存在する C D 4 7 に結合させ、それによって、対象の循環系による標的細胞へのコンジュゲートの輸送を可能にする。コンジュゲートは、R B C から標的細胞の表面に存在する C D 4 7 へ移行される。コンジュゲートが標的細胞の C D 4 7 に結合すると、対象の免疫系による攻撃を回避する標的細胞の能力は、低下する。さらに、コンジュゲートが標的細胞の C D 4 7 に結合すると、コンジュゲート-C D 4 7 複合体は、エンドサイトーシスによって内在化され、その結果、対象の免疫系による攻撃を回避する標的細胞の能力がさらに低下し、A P I が標的細胞に送達される。驚くべきことに、コンジュゲートが R B C の表面の C D 4 7 に結合しても、コンジュゲート-C D 4 7 は、R B C に内在化されない。一部の実施形態では、哺乳動物対象は、ヒトである。

10

【0058】

C D 4 7 結合タンパク質は、リンカーにより A P I にコンジュゲートされ得る。リンカーは、C D 4 7 結合タンパク質を A P I に接続する。リンカーは、標的細胞によりコンジュゲートが内在化されると切断され、それによって A P I を C D 4 7 結合タンパク質から放出する、切断可能なリンカーであり得る。

【0059】

一部の実施形態では、標的細胞は、がん細胞であり、治療化合物は、哺乳動物対象におけるがんを処置するために使用され得る。

20

【0060】

がん細胞は、脳腫瘍、脊髄腫瘍、網膜芽細胞腫、口腔がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、咽頭がん、喉頭がん、頸部がん、頭頸部がん、黒色腫、皮膚がん、乳がん、甲状腺がん、悪性副腎腫瘍、内分泌がん、肺がん、胸膜腫瘍、気道がん、食道がん、胃がん、小腸がん、結腸がん、肛門がん、肝臓がん、胆道がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、陰茎がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、絨毛癌、卵巣がん；急性／慢性白血病、悪性リンパ腫および多発性骨髄腫を含む血液がん；骨腫瘍、軟部組織腫瘍、小児白血病、ならびに小児がんからなる群から選択されるがんに起因する腫瘍におけるものであり得る。

【0061】

がん細胞は、卵巣漿液性嚢胞腺癌、肺腺癌、子宮頸および子宮頸管がん、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、子宮体類内膜癌、前立腺癌、中皮腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、急性白血病、肺扁平上皮癌、急性リンパ性白血病、食道癌、粘液線維肉腫、膵臓腺癌、直腸腺癌、結腸腺癌、急性巨核芽球性白血病、浸潤性乳癌、胃腺癌、膀胱尿路上皮癌、胆管癌、白血病、胸腺癌、平滑筋肉腫、胸腺腫、未分化多形性肉腫、子宮癌肉腫、急性骨髄性白血病、多形性神経膠芽種、肉腫、皮膚黒色腫、腎臓明細胞癌、脱分化型脂肪肉腫、リンパ腫、網膜芽細胞腫、神経芽細胞腫、骨肉腫、若年性骨髄単球性白血病、消化管間質腫瘍、胚芽異形成性神経上皮腫瘍、副腎皮質がん、分化系統不明瞭な急性白血病、褐色細胞腫および傍神経節腫、神経膠腫、精巣胚細胞腫瘍、テント上胎児性腫瘍 N O S、神経芽細胞腫、腎臓乳頭細胞癌、肝細胞癌、嫌色素性腎細胞癌、悪性末梢神経鞘腫瘍、上衣腫、副腎皮質癌、上咽頭癌、紡錘細胞／硬化性横紋筋肉腫、黒色腫、脈絡叢癌、未分化紡錘細胞癌、筋上皮癌、肺泡横紋筋肉腫、横紋筋肉腫、非定型奇形腫／ラブドイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、線維腫症、滑膜肉腫、ウィルムス腫瘍、筋線維腫症、線維層板型肝細胞癌、未分化肉腫 N O S、胎児性横紋筋肉腫、ブドウ膜黒色腫、ユーイング肉腫、肝芽腫、乳児型線維肉腫、I N I 依存性軟部組織肉腫 N O A、未分化肝肉腫、ならびに髄芽腫からなる群から選択されるがんに起因し得る。Gupta et al. Cancer Drug Resist 3:550-62 (2020)を参照されたく、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0062】

他の実施形態では、標的細胞は、ウイルス感染細胞であり、治療化合物は、哺乳動物対

50

象におけるウイルス感染症を処置するために使用され得る。ウイルス感染細胞は、S A R S - C o V - 2 ウイルスに感染していることがある。

【0063】

一部の実施形態では、標的細胞は、線維化細胞であり、治療化合物は、哺乳動物対象における線維性疾患を処置するために使用され得る。線維化細胞は、線維化線維芽細胞であり得る。一部の実施形態では、線維性疾患は、嚢胞性線維症である。

【0064】

C D 4 7 結合タンパク質

【0065】

本明細書に記載されるコンジュゲートに好適なC D 4 7 結合タンパク質は、野生型（「wt」）S I R P α（配列番号1）、バリエーションS I R P α（「v S I R P α」）（配列番号3）、wt T S P - 1（配列番号7）、wt S I R P γ（配列番号4）、バリエーションS I R P γ - 1（「v S I R P γ - 1」）（配列番号5）、バリエーションS I R P γ - 2（「v S I R P γ - 2」）（配列番号6）、および前述のもののいずれかのホモログを含む。A L X 1 4 8（配列番号962）、T T I - 6 6 1（配列番号963）、T T I - 6 6 2（配列番号964）、およびこれらのホモログも、本明細書に記載されるコンジュゲートに好適なC D 4 7 結合タンパク質である。A L X 1 4 8は、F cドメイン単量体に融合されたS I R P α D 1バリエーションである。例えば、米国特許第10,696,730号を参照されたく、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。T T I - 6 6 1は、ヒトI g G 1抗体の定常領域に融合されたヒトS I R P αバリエーション2のI g Vドメインであり、T T I - 6 6 2は、ヒトI g G 4抗体の定常領域に融合されたヒトS I R P αバリエーション2のI g Vドメインである。例えば、米国特許第9,969,789号を参照されたく、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0066】

他の好適なC D 4 7 結合タンパク質としては、抗C D 4 7抗体が挙げられる。

【0067】

一部の実施形態では、抗C D 4 7 結合タンパク質は、抗C D 4 7抗体、例えば、米国特許第9,017,675号および同第9,623,079号に記載されているB 6 H 1 2、5 F 9、8 B 6、C 3、およびH u 5 F 9 - G 4であり、前記参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0068】

一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号930を含む重鎖可変領域、および配列番号931を含む軽鎖可変領域を含む。一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号938を含む重鎖可変領域、および配列番号939を含む軽鎖可変領域を含む。一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号946を含む重鎖可変領域、および配列番号947を含む軽鎖可変領域を含む。一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号954を含む重鎖可変領域、および配列番号955を含む軽鎖可変領域を含む。

【0069】

一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号932、配列番号933および配列番号934をそれぞれ含む相補性決定領域C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む重鎖可変領域と、配列番号935、配列番号936および配列番号937をそれぞれ含む相補性決定領域C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む軽鎖可変領域とを含む。

40

【0070】

一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号940、配列番号941および配列番号942をそれぞれ含む相補性決定領域C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む重鎖可変領域と、配列番号943、配列番号944および配列番号945をそれぞれ含む相補性決定領域C D R 1、C D R 2およびC D R 3を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0071】

一部の実施形態では、抗C D 4 7抗体は、配列番号948、配列番号949および配列

50

番号 950 をそれぞれ含む相補性決定領域 CDR1、CDR2 および CDR3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 951、配列番号 952 および配列番号 953 をそれぞれ含む相補性決定領域 CDR1、CDR2 および CDR3 を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0072】

一部の実施形態では、抗 CD47 抗体は、配列番号 956、配列番号 957 および配列番号 958 をそれぞれ含む相補性決定領域 CDR1、CDR2 および CDR3 を含む重鎖可変領域と、配列番号 959、配列番号 960 および配列番号 961 をそれぞれ含む相補性決定領域 CDR1、CDR2 および CDR3 を含む軽鎖可変領域とを含む。

【0073】

一部の実施形態では、抗 CD47 抗体は、ヒト抗体である。一部の実施形態では、抗 CD47 抗体は、ヒト化抗体である。

【0074】

これらの抗 CD47 結合タンパク質の各々は、標的細胞の表面に存在する CD47 に結合する。

【0075】

一部の実施形態では、CD47 結合タンパク質は、共有結合、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス相互作用、およびこれらの組合せからなる群から選択される結合により、API にコンジュゲートされている。CD47 結合タンパク質を API に共有結合させるリンカーの例は、下に記載される。

【0076】

リンカー

【0077】

好適なリンカーとしては、切断可能なリンカー、例えば、ヒドラゾンリンカー、イミンリンカー、オキシムリンカー、カーボネートリンカー、アセタールリンカー、オルトエステルリンカー、シリルエーテルリンカー、ジスルフィドリンカー、トリオキソランリンカー、ペターグルクロニドリンカー、ペターガラクトシドリンカー、ピロホスフェートリンカー、ホスホロアミデートリンカー、アリールスルフェートリンカー、ヘプタメチンシアニンリンカー、ニトロベンジルリンカー、アリールボロン酸リンカー、ボロネートリンカー、チオエーテルリンカー、マレイミドカプロイル含有リンカー、酵素により切断可能なペプチドリンカー、およびパラアミノベンジルカルバメート含有リンカー、ならびに切断可能ではないリンカー、例えば、ポリエチレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0078】

本明細書に記載される CD47 結合タンパク質-API コンジュゲートは、カップリング反応、例えば、ビス(ビニルスルホン)ピペラジーン-ジスルフィドカップリング、N-メチル-N-フェニルビニルスルホンアミド-システインカップリング、白金(II)化合物-ヒスチジンカップリング、およびテトラジン-trans-シクロオクテンカップリングを使用して、CD47 結合タンパク質を API にリンカーを介して連結させることにより、作製することができる。好適なリンカーおよびカップリング反応は、当業者に公知である。例えば、Su et al. *Acta Pharmaceutica Sinica B* (2021), ISSN 2211-3835; Pan et al. *Med Res Rev.* 40:2682-2713 (2020); Khongorzulet al. *Mol Cancer Res* 18:3-19 (2020); Bargh et al. *Chem Soc Rev* 48:4361-4374 (2019); および Smith et al. *Pharm Res* 32:3526-3540 (2015) を参照されたく、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0079】

本発明の実施形態に従って、下で説明されるものなどの様々な、酵素により切断可能なペプチドリンカーを使用して CD47 結合タンパク質を API とカップリングさせて CD47 結合タンパク質-API コンジュゲートを形成することができる。これらのリンカーは、アミノ酸残基を含み、細胞内の特定の酵素、例えばリソソーム分解酵素、により切断

10

20

30

40

50

される。例えば、Kong et al. J Biol Chem 290:7160-7168 (2015); Por eba FEBS J 287:1936-1969 (2020); および Singh et al., Current Me dicinal Chemistry 15(18) (2008)を参照されたく、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。本発明の実施形態による使用に好適な例示的なペプチドリンカーは、下で説明される。

【0080】

例えば、ジペプチドリンカーは、2つのアミノ酸残基から構成され、これらの残基は、2番目のアミノ酸残基の後ろでカルボニルとアミンとのアミド結合を切断する酵素カテプシンBによる切断のための認識モチーフとして役立つ。カテプシンBにより切断されるジペプチドリンカーとしては、Phe-Arg、Phe-Cit、Phe-Lys、Ala-Arg、Ala-Cit、Val-Ala、Val-Arg、Val-Lys、Val-Cit、およびArg-Argが挙げられる。カテプシンBは、同様に、テトラペプチドリンカーGly-Phe-Leu-GlyおよびAla-Leu-Ala-Leuを4番目のアミノ酸残基の後ろで認識し、切断する。

【0081】

加えて、トリペプチドリンカーAla-Ala-Asnは、最後のアミノ酸残基の後ろで酵素レグマインにより切断される。テトラペプチドリンカーLys-Ala-Gly-Gly、Leu-Arg-Gly-Gly、およびArg-Lys-Arg-Argは、パイン様プロテアーゼ酵素により切断される。

【0082】

ペプチドリンカーArg-Arg-X、Ala-Leu-X、Gly-Leu-Phe-Gly-X、Gly-Phe-Leu-Gly-X、およびAla-Leu-Ala-Leu-X（これらの式中、Xは、任意のアミノ酸である）は、酵素カテプシンB、HおよびLにより切断される。カテプシンB、HおよびLは、タンパク質のリソソーム分解に関与する。

【0083】

ペプチドリンカーPhe-Ala-Ala-Phe(NO₂)-Phe-Val-Leu-OM₄P-XおよびBz-Arg-Gly-Phe-Phe-Pro-4mβNA（これらの式中、Xは、任意のアミノ酸である）は、酵素カテプシンDにより切断される。

【0084】

血清プラスミノゲン活性化因子は、多くの腫瘍細胞において産生される。プラスミノゲンは、プラスミンに変換され、その結果として、腫瘍細胞において高レベルのプラスミンを生じさせる。このプラスミンは、血漿中で迅速に分解されるため、腫瘍から遠い組織は、プラスミンに曝露されない。プラスミンは、線維素溶解および血漿タンパク質の分解に関与し、ペプチドリンカーD-Val-Leu-Lys-X、D-Ala-Phe-Lys-X、およびD-Ala-Trp-Lys-X（これらの式中、Xは、任意のアミノ酸である）を切断する。

【0085】

組織プラスミノゲン活性化因子（tPA）およびウロキナーゼ（uPA）は、プラスミン形成の活性化に関与し、各々が、ペプチドリンカーGly-Gly-Gly-Arg-Arg-Arg-Val-X（式中、Xは、任意のアミノ酸である）を切断することができる。

【0086】

前立腺特異抗原は、精液の液化に関与し、ペプチドリンカーモルホリノカルボニル-His-Ser-Ser-Lys-Leu-Gln-Leu-X（式中、Xは、任意のアミノ酸である）を切断する。

【0087】

マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP-2およびMM-9）は、細胞外基質およびコラーゲンの分解に関与し、ペプチドリンカーAc-Pro-Leu-Gln-Leu-XおよびGly-Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-X（これ

10

20

30

40

50

らの式中、Xは、任意のアミノ酸である）を切断する。

【0088】

A P I

【0089】

一部の実施形態によれば、A P Iは、小分子であり得る。例えば、がんの処置において有用な小分子A P Iとしては、メトトレキサート；ドキソルビシン；ビンカアルカロイド；カンプトテシン類似体；微小管破壊剤、例えば、アウリスタチン（例えば、M M A EおよびM M A F）およびメイタンシノイド（例えば、D M 1およびD M 4）；ならびにD N A損傷剤、例えば、D N AトポイソメラーゼI阻害剤（例えば、S N - 3 8およびエキサテカン）、二本鎖切断剤（例えば、カリケアマイシン）、架橋剤（例えば、ピロロベンゾジアゼピン二量体 - P B D）、およびアルキル化剤（例えば、デュオカルマイシンおよびインドリノベンゾジアゼピン二量体 - I G N）が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Khongorzulet al. Mol Cancer Res 18:3-19 (2020)；Salomon et al. Mol Pharm 16(12):4817-4825 (2019)；およびDrago et al. Nat Rev Clin Oncol 18, 327-344 (2021)を参照されたく、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0090】

他の部の実施形態によれば、A P Iは、低分子干渉RNA（「s i R N A」）であり得る。s i R N Aは、特定の遺伝子の発現を、二本鎖s i R N A分子の鎖と部分的相補性を共有するその遺伝子のm R N A転写物の分解を引き起こすことにより低下させることができる、二本鎖RNA分子である。s i R N Aを使用して遺伝子の発現を低下させるプロセスは、RNA干渉（「R N A i」）と呼ばれる。例えば、米国特許第7, 0 5 6, 7 0 4号、同第7, 0 7 8, 1 9 6号、同第8, 3 7 2, 9 6 8号を参照されたく、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0091】

いくつかの遺伝子は、様々な機構によってがんの進行およびがん細胞の増殖を促進することに関係している。これらの遺伝子、およびそれらのm R N A転写物は、表1に収載されている。表1からの1つまたは複数の遺伝子の発現を低下させることにより、がんの進行およびがん細胞の増殖を阻害することができる。したがって、表1に収載されている遺伝子の転写物は、s i R N A媒介R N A iを使用するがんの処置の肝要な標的に相当する。

30

【0092】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なA P Iは、s i R N Aであり、s i R N Aは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、（a）アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物m R N A配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、m R N A配列は、配列番号8～747および771～824からなる群から選択され、（b）センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、（c）二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

40

【0093】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なA P Iは、s i R N Aであり、s i R N Aは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、（a）アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物m R N A配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、m R N A配列は、配列番号22～747および771～824からなる群から選択され、（b）センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、（c）二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0094】

50

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号22～37からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0095】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号38～39からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0096】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号40～43からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0097】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号44～51からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0098】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1: siRNA および shRNA がん(がん細胞)標的転写物

遺伝子	GenBank 遺伝子 ID	GenBank cDNA RefSeq 受託	(mRNA) 配列番号
CD47	961	NM_001777.4	8
		NM_198793.3	9
		NM_001382306.1	10
		XM_005247909.2	11
		XM_017007536.1	12
		XR_241521.2	13
		XR_241522.2	14
		XR_924218.2	15
		XR_924219.2	16
		XR_924220.2	17
		XR_001740374.2	18
		XR_001740375.2	19
		XR_002959610.1	20
		XR_002959611.1	21
KRAS	3845	NM_004985.5	22
		NM_033360.4	23
		NM_001369786.1	24
		NM_001369787.1	25
		34 位が G→T 置換されている NM_004985.5	26
		34 位が G→T 置換されている NM_033360.4	27
		34 位が G→T 置換されている NM_001369786.1	28
		34 位が G→T 置換されている NM_001369787.1	29
		35 位が G→A 置換されている NM_004985.5	30
		35 位が G→A 置換されている NM_033360.4	31
		35 位が G→A 置換されている NM_001369786.1	32
		35 位が G→A 置換されている NM_001369787.1	33
		35 位が G→T 置換されている NM_004985.5	34
		35 位が G→T 置換されている NM_033360.4	35
c-MYC	4609	NM_002467.6	38
		NM_001354870.1	39
CD274	29126	NM_014143.4	40
		NM_001267706.2	41

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

		NM_001314029.2	42
		NR_052005.2	43
CD24	100133941	NM_001359084.1	44
		NM_013230.3	45
		NM_001291737.1	46
		NM_001291738.1	47
		NM_001291739.1	48
		NR_117089.1	49
		NR_117090.1	50
		XM_024446293.1	51
BIRC5	332	NM_001168.3	52
		NM_001012270.2	53
		NM_001012271.2	54
		XR_243654.5	55
		XR_934452.3	56
PKN3	29941	NM_013355.5	57
		NM_001317926.2	58
		XM_005251946.3	59
		XM_006717080.3	60
		XM_017014649.2	61
		XM_017014650.1	62
PLK1	5347	NM_005030.6	63
FGF1	2246	NM_000800.5	64
		NM_033136.4	65
		NM_033137.4	66
		NM_001144892.3	67
		NM_001144934.2	68
		NM_001144935.2	69
		NM_001257205.1	70
		NM_001257206.2	71
		NM_001257207.2	72
		NM_001257208.2	73
		NM_001257209.1	74
		NM_001257210.2	75
		NM_001257211.2	76
		NM_001257212.2	77
		NM_001354951.2	78
		NM_001354952.2	79
		NM_001354953.2	80
		NM_001354954.2	81
		NM_001354955.2	82
		NM_001354956.2	83

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

		NM_001354957.2	84	
		NM_001354958.2	85	
		NM_001354959.2	86	
		NM_001354961.2	87	
		NM_001354962.2	88	
		NM_001354963.2	89	
		NM_001354964.2	90	
FGF2	2247	NM_001361665.2	91	
		NM_002006.5	92	10
FGF5	2250	NM_004464.4	93	
		NM_033143.2	94	
		NM_001291812.2	95	
EGFR	1956	NM_005228.5	96	
		NM_201282.2	97	
		NM_201283.2	98	
		NM_201284.2	99	
		NM_001346897.2	100	
		NM_001346898.2	101	
		NM_001346899.2	102	
		NM_001346900.2	103	20
		NM_001346941.2	104	
VEGFA	7422	NM_003376.6	105	
		NM_001025366.3	106	
		NM_001025367.3	107	
		NM_001025368.3	108	
		NM_001025369.3	109	
		NM_001025370.3	110	
		NM_001033756.3	111	
		NM_001171622.2	112	
		NM_001171623.2	113	
		NM_001171624.2	114	30
		NM_001171625.2	115	
		NM_001171626.2	116	
		NM_001171627.2	117	
		NM_001171628.2	118	
		NM_001171629.2	119	
		NM_001171630.2	120	
		NM_001204384.2	121	
		NM_001204385.2	122	
		NM_001287044.2	123	
		NM_001317010.1	124	
VEGFB	7423	NM_003377.5	125	40

【表 1 - 4】

		NM_001243733.2	126
KDR	3791	NM_002253.4	127
ERBB2	2064	NM_004448.4	128
		NM_001005862.3	129
		NM_001289936.2	130
		NM_001289937.2	131
		NM_001289938.2	132
		NM_001382782.1	133
		NM_001382783.1	134
		NM_001382784.1	135
		NM_001382785.1	136
		NM_001382786.1	137
		NM_001382787.1	138
		NM_001382788.1	139
		NM_001382789.1	140
		NM_001382790.1	141
		NM_001382791.1	142
		NM_001382792.1	143
		NM_001382793.1	144
		NM_001382794.1	145
		NM_001382795.1	146
		NM_001382796.1	147
		NM_001382797.1	148
		NM_001382798.1	149
		NM_001382799.1	150
		NM_001382800.1	151
		NM_001382801.1	152
		NM_001382802.1	153
		NM_001382803.1	154
		NM_001382804.1	155
		NM_001382805.1	156
		NM_001382806.1	157
		NR_110535.2	158
		XM_024450641.1	159
		XM_024450642.1	160
		XM_024450643.1	161
EPHA2	1969	NM_004431.5	162
		NM_001329090.2	163
		XM_017000537.1	164
RRM2	6241	NM_001034.4	165
		NM_001165931.1	166
		NR_164157.1	167

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

PSMB9	5698	NM_002800.5	168
PSMB8	5696	NM_148919.4	169
		NM_004159.5	170
MCL1	4170	NM_021960.5	171
		NM_182763.3	172
		NM_001197320.2	173
CBLB	868	NM_170662.5	174
		NM_001321786.1	175
		NM_001321788.2	176
		NM_001321789.1	177
		NM_001321790.2	178
		NM_001321791.2	179
		NM_001321793.2	180
		NM_001321794.2	181
		NM_001321795.2	182
		NM_001321796.2	183
		NM_001321797.2	184
		NM_001321798.2	185
		NM_001321799.2	186
		NM_001321806.2	187
		NM_001321807.2	188
		NM_001321808.2	189
		NM_001321811.2	190
		NM_001321813.1	191
		NM_001321816.2	192
		NM_001321820.2	193
		NM_001321822.2	194
		NR_135806.2	195
		NR_135807.2	196
		NR_135808.2	197
		NR_135809.2	198
		NR_135810.2	199
		NR_135811.2	200
		NR_135812.1	201
		XM_011513257.1	202
		XM_011513259.3	203
		XM_017007395.1	204
		XM_017007397.1	205
		XM_017007396.1	206
		XM_017007399.1	207
		XM_017007398.1	208
		XM_017007400.1	209

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

		XR_001740338.1	210
		XR_001740339.1	211
RHOA	387	NM_001664.4	212
		NM_001313941.2	213
		NM_001313943.2	214
		NM_001313944.2	215
		NM_001313945.2	216
		NM_001313946.2	217
		NM_001313947.2	218
FLI1	2313	NM_002017.5	219
		NM_001167681.3	220
		NM_001271010.2	221
		NM_001271012.2	222
		XM_011542701.2	223
		XM_011542702.1	224
		XM_017017405.1	225
		XM_017017406.1	226
EWSR1	2130	NM_005243.4	227
		NM_013986.4	228
		NM_001163285.2	229
		NM_001163286.2	230
		NM_001163287.2	231
		XM_005261389.4	232
		XM_005261390.4	233
		XM_011529995.3	234
		XM_011529996.3	235
		XM_011529997.2	236
		XM_011529998.2	237
		XM_011529999.3	238
		XM_011530000.2	239
		XM_011530001.2	240
		XM_011530002.3	241
		XM_017028644.2	242
		XM_017028645.2	243
		XM_017028646.2	244
		XM_017028647.2	245
		XM_017028649.2	246
		XM_017028648.2	247
		XM_017028650.2	248
		XM_017028651.2	249
		XM_017028652.2	250
		XM_017028653.2	251

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

		XM_017028654.1	252	
		XM_017028655.1	253	
		XM_017028656.2	254	
		XM_017028657.2	255	
		XM_017028659.1	256	
		XM_017028658.1	257	
		XM_017028660.2	258	
		XM_017028661.2	259	
		XM_017028662.2	260	10
		XM_017028663.1	261	
		XM_017028664.2	262	
		XM_017028665.2	263	
		XM_017028666.2	264	
		XM_024452180.1	265	
		XM_024452181.1	266	
		XR_002958676.1	267	
STAT3	6774	NM_139276.3	268	
		NM_003150.4	269	
		NM_213662.2	270	
		NM_001369512.1	271	20
		NM_001369513.1	272	
		NM_001369514.1	273	
		NM_001369516.1	274	
		NM_001369517.1	275	
		NM_001369518.1	276	
		NM_001369519.1	277	
		NM_001369520.1	278	
		NM_001384984.1	279	
		NM_001384985.1	280	
		NM_001384986.1	281	
		NM_001384987.1	282	30
		NM_001384988.1	283	
		NM_001384989.1	284	
		NM_001384990.1	285	
		NM_001384991.1	286	
		NM_001384992.1	287	
		NM_001384993.1	288	
		XM_017024973.2	289	
		XM_024450896.1	290	
TW/ST1	7291	NM_000474.4	291	
		NR_149001.2	292	
FOLH1	2346	NM_004476.3	293	40

【表 1 - 8】

		NM_001014986.3	294	
		NM_001193471.3	295	
		NM_001193472.3	296	
		NM_001193473.3	297	
		NM_001351236.2	298	
		XM_011519958.3	299	
		XM_017017432.1	300	
		XM_017017433.2	301	
		XM_017017434.1	302	10
		XM_017017435.2	303	
		XM_017017444.2	304	
		XM_017017445.1	305	
		XM_017017446.1	306	
		XM_017017447.1	307	
		XM_017017448.1	308	
		XM_017017449.2	309	
		XM_017017450.2	310	
		XM_017017451.2	311	
		XM_024448411.1	312	
		XR_001747818.1	313	20
		XR_001747819.1	314	
HIF1A	3091	NM_001530.4	315	
		NM_181054.3	316	
		NM_001243084.2	317	
SERPINH1	871	NM_001235.5	318	
		NM_001207014.3	319	
		XM_011545327.1	320	
		XM_024448756.1	321	
PTK2	5747	NM_001387646.1	322	
		NM_005607.5	323	
		NM_153831.4	324	30
		NM_001199649.2	325	
		NM_001316342.2	326	
		NM_001352694.2	327	
		NM_001352695.2	328	
		NM_001352696.2	329	
		NM_001352697.2	330	
		NM_001352698.2	331	
		NM_001352699.2	332	
		NM_001352700.2	333	
		NM_001352701.2	334	
		NM_001352702.2	335	40

【表 1 - 9】

NM_001352703.2	336	
NM_001352704.2	337	
NM_001352705.2	338	
NM_001352706.2	339	
NM_001352707.2	340	
NM_001352708.2	341	
NM_001352709.2	342	
NM_001352710.2	343	
NM_001352711.2	344	10
NM_001352712.2	345	
NM_001352713.2	346	
NM_001352714.2	347	
NM_001352715.2	348	
NM_001352716.2	349	
NM_001352717.2	350	
NM_001352718.2	351	
NM_001352719.2	352	
NM_001352720.2	353	
NM_001352721.2	354	
NM_001352722.2	355	20
NM_001352723.2	356	
NM_001352724.2	357	
NM_001352725.2	358	
NM_001352726.2	359	
NM_001352727.2	360	
NM_001352728.2	361	
NM_001352729.2	362	
NM_001352730.2	363	
NM_001352731.2	364	
NM_001352732.2	365	
NM_001352733.2	366	30
NM_001352734.2	367	
NM_001352735.2	368	
NM_001352736.2	369	
NM_001352737.2	370	
NM_001352738.2	371	
NM_001352739.2	372	
NM_001352740.2	373	
NM_001352741.2	374	
NM_001352742.2	375	
NM_001352743.2	376	
NM_001352744.2	377	40

【表 1 - 1 0】

NM_001352745.2	378	
NM_001352746.2	379	
NM_001352747.2	380	
NM_001352748.2	381	
NM_001352749.2	382	
NM_001352750.2	383	
NM_001352751.2	384	
NM_001352752.2	385	
NM_001387584.1	386	10
NM_001387585.1	387	
NM_001387586.1	388	
NM_001387587.1	389	
NM_001387588.1	390	
NM_001387589.1	391	
NM_001387590.1	392	
NM_001387591.1	393	
NM_001387592.1	394	
NM_001387603.1	395	
NM_001387604.1	396	
NM_001387605.1	397	20
NM_001387606.1	398	
NM_001387607.1	399	
NM_001387608.1	400	
NM_001387609.1	401	
NM_001387610.1	402	
NM_001387611.1	403	
NM_001387612.1	404	
NM_001387613.1	405	
NM_001387614.1	406	
NM_001387615.1	407	
NM_001387616.1	408	30
NM_001387617.1	409	
NM_001387618.1	410	
NM_001387619.1	411	
NM_001387620.1	412	
NM_001387621.1	413	
NM_001387622.1	414	
NM_001387623.1	415	
NM_001387624.1	416	
NM_001387625.1	417	
NM_001387627.1	418	
NM_001387628.1	419	40

【表 1 - 1 1】

NM_001387629.1	420	
NM_001387630.1	421	
NM_001387631.1	422	
NM_001387632.1	423	
NM_001387633.1	424	
NM_001387634.1	425	
NM_001387635.1	426	
NM_001387636.1	427	
NM_001387637.1	428	10
NM_001387638.1	429	
NM_001387639.1	430	
NM_001387640.1	431	
NM_001387641.1	432	
NM_001387642.1	433	
NM_001387643.1	434	
NM_001387644.1	435	
NM_001387645.1	436	
NM_001387647.1	437	
NM_001387648.1	438	
NM_001387649.1	439	20
NM_001387650.1	440	
NM_001387651.1	441	
NM_001387652.1	442	
NM_001387653.1	443	
NM_001387654.1	444	
NM_001387655.1	445	
NM_001387656.1	446	
NM_001387657.1	447	
NM_001387658.1	448	
NM_001387659.1	449	
NM_001387660.1	450	30
NM_001387661.1	451	
NM_001387662.1	452	
NR_148036.2	453	
NR_148037.2	454	
NR_148038.2	455	
NR_148039.2	456	
NR_170670.1	457	
NR_170671.1	458	
NR_170672.1	459	
NR_170673.1	460	
XM_017013654.2	461	40

【表 1 - 1 2】

		XM_017013656.2	462
		XM_017013666.1	463
		XM_017013669.2	464
		XM_017013684.2	465
		XM_017013688.2	466
		XM_024447199.1	467
		XM_024447200.1	468
		XM_024447202.1	469
		XM_024447201.1	470
		XM_024447204.1	471
		XM_024447203.1	472
		XM_024447206.1	473
		XM_024447205.1	474
		XM_024447208.1	475
		XM_024447207.1	476
		XM_024447210.1	477
		XM_024447209.1	478
		XM_024447211.1	479
CEACAM6	4680	NM_002483.7	480
		XM_011526990.2	481
CXCR4	7852	NM_003467.3	482
		NM_001008540.2	483
		NM_001348056.2	484
		NM_001348059.2	485
		NM_001348060.2	486
CTNNB1	1499	NM_001904.4	487
		NM_001098209.2	488
		NM_001098210.2	489
		NM_001330729.2	490
		XM_006712983.2	491
		XM_006712985.1	492
		XM_017005738.1	493
		XM_024453356.1	494
		XM_024453357.1	495
		XM_024453358.1	496
		XM_024453359.1	497
		XM_024453360.1	498
BCL2	596	NM_000633.3	499
		NM_000657.3	500
		XM_011526135.3	501
		XM_017025917.2	502
		XR_935248.3	503

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 3】

BCL2L1	598	NM_138578.3	504
		NM_001191.4	505
		NM_001317919.2	506
		NM_001317920.2	507
		NM_001317921.2	508
		NM_001322239.2	509
		NM_001322240.2	510
		NM_001322242.2	511
		NR_134257.1	512
		XM_011528964.2	513
		XM_017027993.1	514
		XR_936599.3	515
		XR_001754364.2	516
SST	6750	NM_001048.4	517
RAF1	5894	NM_001354689.3	518
		NM_002880.4	519
		NM_001354690.3	520
		NM_001354691.3	521
		NM_001354692.3	522
		NM_001354693.3	523
		NM_001354694.3	524
		NM_001354695.3	525
		NR_148940.3	526
		NR_148941.3	527
		NR_148942.3	528
		XM_011533974.3	529
		XM_017006966.1	530
		XR_001740227.1	531
SKP2	6502	NM_005983.4	532
		NM_032637.4	533
		NM_001243120.2	534
		XM_011514082.3	535
		XM_011514083.3	536
		XM_017009753.1	537
		XR_001742203.2	538
PLAUR	5329	NM_002659.4	539
		NM_001005376.3	540
		NM_001005377.3	541
		NM_001301037.2	542
		XM_005258990.5	543
		XM_011527027.2	544
		XM_011527028.3	545

10

20

30

40

【表 1 - 1 4】

		XM_011527029.2	546
		XM_011527030.2	547
		XM_011527031.3	548
		XM_017026872.2	549
		XM_017026873.1	550
MDM2	4193	NM_002392.6	551
		NM_001145337.3	552
		NM_001145339.2	553
		NM_001145340.3	554
		NM_001278462.2	555
		NM_001367990.1	556
		XM_006719399.4	557
		XM_006719400.4	558
RAD51	5888	NM_002875.5	559
		NM_133487.4	560
		NM_001164269.2	561
		NM_001164270.2	562
		XM_006720626.3	563
		XM_011521857.2	564
		XM_011521858.2	565
		XM_011521859.2	566
		XM_011521860.2	567
		XM_011521861.2	568
		XM_011521862.3	569
EZH2	2146	NM_004456.5	570
		NM_152998.3	571
		NM_001203247.2	572
		NM_001203248.2	573
		NM_001203249.2	574
		XM_005249962.4	575
		XM_005249963.4	576
		XM_005249964.4	577
		XM_011515883.2	578
		XM_011515884.2	579
		XM_011515885.2	580
		XM_011515886.2	581
		XM_011515887.3	582
		XM_011515888.2	583
		XM_011515889.2	584
		XM_011515890.2	585
		XM_011515891.3	586
		XM_011515892.2	587

10

20

30

40

【表 1 - 1 5】

		XM_011515893.2	588	
		XM_011515894.2	589	
		XM_011515895.2	590	
		XM_011515896.2	591	
		XM_011515897.2	592	
		XM_011515898.2	593	
		XM_011515899.3	594	
		XM_011515901.3	595	
		XM_017011817.2	596	10
		XM_017011818.1	597	
		XM_017011819.1	598	
		XM_017011820.2	599	
		XM_017011821.1	600	
		XM_024446680.1	601	
		XR_001744581.1	602	
		XR_002956413.1	603	
		XR_002956414.1	604	
TP53	7157	NM_000546.6	605	
		NM_001126112.3	606	
		NM_001126113.3	607	20
		NM_001126114.3	608	
		NM_001126115.2	609	
		NM_001126116.2	610	
		NM_001126117.2	611	
		NM_001126118.2	612	
		NM_001276695.3	613	
		NM_001276696.3	614	
		NM_001276697.3	615	
		NM_001276698.3	616	
		NM_001276699.3	617	
		NM_001276760.3	618	30
		NM_001276761.3	619	
CCNB1	891	NM_031966.4	620	
		NM_001354844.2	621	
		NM_001354845.2	622	
MAD2L1	4085	NM_002358.4	623	
AKT1	207	NM_001382430.1	624	
		NM_005163.2	625	
		NM_001014431.2	626	
		NM_001014432.2	627	
		NM_001382431.1	628	
		NM_001382432.1	629	40

【表 1 - 1 6】

		NM_001382433.1	630
		XR_002957536.1	631
AKT2	208	NM_001626.6	632
		NM_001243027.3	633
		NM_001243028.3	634
		NM_001330511.1	635
		XM_011526614.1	636
		XM_011526615.1	637
		XM_011526616.1	638
		XM_011526618.1	639
		XM_011526619.1	640
		XM_011526620.1	641
		XM_011526622.2	642
		XM_017026470.2	643
		XM_024451416.1	644
		XM_024451417.1	645
AKT3	10000	NM_005465.7	646
		NM_181690.2	647
		NM_001206729.2	648
		NM_001370074.1	649
		XM_011544014.2	650
		XM_016999985.1	651
		XM_024446000.1	652
		XM_024446892.1	653
PECAM1	5175	XM_024447938.1	654
		NM_000442.5	655
		XM_005276880.1	656
		XM_005276881.1	657
		XM_005276882.1	658
		XM_005276883.2	659
		XM_011524889.2	660
		XM_011524890.1	661
		XM_017024738.1	662
		XM_017024739.1	663
KLF5	688	XM_017024740.1	664
		XM_017024741.1	665
PLXDC1	57125	NM_001730.5	666
		NM_001286818.2	667
PLXDC1	57125	NM_020405.5	668
UBE3A	7337	NM_130839.5	669
		NM_000462.5	670
		NM_130838.4	671

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 7】

		NM_001354505.1	672	
		NM_001354506.2	673	
		NM_001354507.2	674	
		NM_001354508.2	675	
		NM_001354509.2	676	
		NM_001354511.2	677	
		NM_001354512.2	678	
		NM_001354513.2	679	
		NM_001354523.2	680	10
		NM_001354526.1	681	
		NM_001354538.2	682	
		NM_001354539.2	683	
		NM_001354540.2	684	
		NM_001354541.2	685	
		NM_001354542.2	686	
		NM_001354543.2	687	
		NM_001354544.2	688	
		NM_001354545.2	689	
		NM_001354546.2	690	
		NM_001354547.2	691	20
		NM_001354548.2	692	
		NM_001354549.2	693	
		NM_001354550.2	694	
		NM_001354551.2	695	
		NM_001374461.1	696	
		NR_148916.2	697	
		XM_011521995.3	698	
		XM_017022547.2	699	
		XM_017022548.2	700	
		XM_017022550.2	701	
		XM_017022556.2	702	30
		XM_024450043.1	703	
RET	5979	NM_020975.6	704	
		NM_020630.6	705	
		NM_001355216.1	706	
SSX1	6756	NM_005635.4	707	
		NM_001278691.2	708	
SS18	6760	NM_001007559.3	709	
		NM_005637.4	710	
		NM_001308201.2	711	
		XM_006722527.2	712	
		XM_011526145.1	713	40

【表 1 - 1 8】

		XM_011526147.2	714
		XM_011526148.2	715
		XM_011526149.2	716
		XM_011526150.2	717
		XM_011526151.2	718
		XM_011526152.2	719
RECQL	5965	NM_002907.4	720
		NM_032941.3	721
		XM_005253461.3	722
		XM_005253462.5	723
		XM_005253463.4	724
		XM_005253464.4	725
RAN	5901	NM_006325.5	726
		NM_001300796.2	727
		NM_001300797.2	728
		XM_017019772.1	729
		XM_017019773.1	730
ABCB1	5243	NM_001348946.2	731
		NM_000927.5	732
		NM_001348944.2	733
		NM_001348945.2	734
ACTB	60	NM_001101.5	735
POSTN	10631	NM_006475.3	736
		NM_001135934.2	737
		NM_001135935.2	738
		NM_001135936.2	739
		NM_001286665.2	740
		NM_001286666.2	741
		NM_001286667.2	742
		NM_001330517.2	743
		XM_005266232.2	744
		XM_017020355.1	745
		XM_017020356.1	746
KIF11	3832	NM_004523.4	747
XIAP	331	NM_001167.4	771
		NM_001204401.2	772
		NM_001378590.1	773
		NM_001378591.1	774
		NM_001378592.1	775
		NR_037916.2	776
		NR_165803.1	777
TERT	7015	NM_198253.3	778

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 9】

		NM_001193376.3	779
		NR_149162.3	780
		NR_149163.3	781
IGF1R	3480	NM_000875.5	782
		NM_001291858.2	783
		XM_011521516.2	784
		XM_011521517.2	785
		XM_017022136.1	786
		XM_017022137.1	787
		XM_017022138.1	788
		XM_017022139.1	789
		XM_024449913.1	790
MMP9	4318	NM_004994.3	791
CCDC6	8030	NM_005436.5	792
NCOA4	8031	NM_001145263.2	793
		NM_005437.4	794
		NM_001145260.2	795
		NM_001145261.2	796
		NM_001145262.2	797
CD44	960	NM_000610.4	798
		NM_001001389.2	799
		NM_001001390.2	800
		NM_001001391.2	801
		NM_001001392.2	802
		NM_001202555.2	803
		NM_001202556.2	804
		NM_001202557.2	805
		XM_005253231.3	806
		XM_005253232.3	807
		XM_005253235.3	808
		XM_005253238.3	809
		XM_005253239.3	810
		XM_005253240.3	811
		XM_006718388.2	812
		XM_006718390.4	813
		XM_011520482.2	814
		XM_011520483.2	815
		XM_011520484.2	816
		XM_011520485.2	817
		XM_011520486.2	818
		XM_011520487.3	819
		XM_011520488.2	820

10

20

30

40

【表 1 - 2 0】

	XM_011520489.3	821
	XM_017018583.2	822
	XM_017018584.2	823
	XM_017018585.2	824

s i R N A 媒介 R N A i を使用して遺伝子の発現を低下させることは、ウイルス感染症の処置においても有用である。例えば、感染細胞が宿主の免疫系を回避することを可能にする遺伝子セット、またはウイルス複製に必要な遺伝子セットの発現を低下させることは、宿主におけるウイルスの増殖を妨げる。そのような遺伝子、およびそれらの m R N A 転写物は、表 2 に収載されている。したがって、表 2 に収載されている遺伝子の転写物は、s i R N A 媒介 R N A i を使用するウイルス感染症の処置の肝要な標的である。

【 0 1 0 0 】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物におけるウイルス感染症の処置に有用な A P I は、s i R N A であり、s i R N A は、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、(a) アンチセンス R N A 鎖は、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、m R N A 配列は、配列番号 8 ~ 2 1、4 8 2 ~ 4 8 6、および 7 4 8 ~ 7 6 5 からなる群から選択され、(b) センス R N A 鎖は、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、(c) 二本鎖 R N A 分子は、長さ 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ~ 5 ヌクレオチドの 3 ' オーバーハング領域とを有する。

【 0 1 0 1 】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるウイルス感染症の処置に有用な A P I は、s i R N A であり、s i R N A は、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、(a) アンチセンス R N A 鎖は、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、c D N A 配列は、配列番号 4 8 2 ~ 4 8 6 および 7 4 8 ~ 7 6 5 からなる群から選択され、(b) センス R N A 鎖は、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、(c) 二本鎖 R N A 分子は、長さ 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ~ 5 ヌクレオチドの 3 ' オーバーハング領域とを有する。

【 0 1 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2: siRNA およびshRNA ウイルス感染症(ウイルス感染細胞)標的転写物

遺伝子	GenBank 遺伝子ID	GenBank cDNA RefSeq 受託	(cDNA) 配列番号
CD47	961	NM_001777.4	8
		NM_198793.3	9
		NM_001382306.1	10
		XM_005247909.2	11
		XM_017007536.1	12
		XR_241521.2	13
		XR_241522.2	14
		XR_924218.2	15
		XR_924219.2	16
		XR_924220.2	17
		XR_001740374.2	18
		XR_001740375.2	19
		XR_002959610.1	20
		XR_002959611.1	21
ACE2	59272	NM_001371415.1	748
		NM_021804.3	749
		NM_001386259.1	750
		NM_001386260.1	751
		NM_001388452.1	752
		NM_001389402.1	753
CCR5	1234	NM_001394783.1	754
		NM_000579.4	755
		NM_001100168.2	756
CXCR4	7852	NM_003467.3	482
		NM_001008540.2	483
		NM_001348056.2	484
		NM_001348059.2	485
		NM_001348060.2	486
TAT	6898	NM_000353.3	757
PKN2	5586	NM_006256.4	758
		NM_001320707.2	759
		NM_001320708.2	760
		NM_001320709.2	761
		XM_011541772.2	762
		XM_017001782.2	763
		XM_017001783.2	764
EPHA1	2041	NM_005232.5	765

10

20

30

40

【0103】

CD47発現の増加は、線維化線維芽細胞において観察されており、CD47を遮断することは、線維化促進性線維芽細胞のファゴサイトーシスを増加させることにより、および適応免疫に対する抑制効果を消失させることにより、線維症を好転させる。CD47に加えて、表3に収載している他の遺伝子の発現は、線維症の促進に関連付けられている。siRNA媒介RNAiを使用してこれらの遺伝子の発現を低下させることは、線維性疾患の処置においても有用である。そのような遺伝子、およびそれらのmRNA転写物は、表3に収載されている。したがって、表3に収載されている遺伝子の転写物は、siRNA媒介RNAiを使用する線維性疾患の処置の肝要な標的に相当する。

50

【0104】

一部の実施形態では、哺乳動物における線維性疾患の処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0105】

一部の実施形態では、哺乳動物における線維性疾患の処置に有用なAPIは、siRNAであり、siRNAは、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、(a)アンチセンスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号40～43および766～770からなる群から選択され、(b)センスRNA鎖は、長さ19～29ヌクレオチドであり、アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、(c)二本鎖RNA分子は、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する。

【0106】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3: siRNA および shRNA 線維性疾患(線維化細胞)標的転写物

遺伝子	GenBank 遺伝子 ID	GenBank cDNA RefSeq 受託	(mRNA) 配列番号
CD47	961	NM_001777.4	8
		NM_198793.3	9
		NM_001382306.1	10
		XM_005247909.2	11
		XM_017007536.1	12
		XR_241521.2	13
		XR_241522.2	14
		XR_924218.2	15
		XR_924219.2	16
		XR_924220.2	17
		XR_001740374.2	18
		XR_001740375.2	19
		XR_002959610.1	20
		XR_002959611.1	21
CD274	29126	NM_014143.4	40
		NM_001267706.2	41
		NM_001314029.2	42
		NR_052005.2	43
JUN	3725	NM_002228.4	766
CFTR	1080	NM_000492.4	767
SCNN1A	6337	NM_001038.6	768
		NM_001159575.2	769
		NM_001159576.2	770

【0107】

一部の実施形態によれば、APIは、短鎖ヘアピンRNA（「shRNA」）であり得る。短鎖ヘアピンRNAは、ステムループ構造を形成する一本鎖RNA分子であって、特定の遺伝子の発現を、shRNA分子の領域と部分的相補性を共有するその遺伝子のmRNA転写物の分解を引き起こすことにより低下させることができる、一本鎖RNA分子である。siRNAと同様に、shRNAを使用して遺伝子の発現を低下させるプロセスは、RNAiと呼ばれる。一般に、Rao et al. Adv Drug Deliv Rev 61(9):746-59（2009）を参照されたく、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0108】

いくつかの遺伝子は、様々な機構によってがんの進行およびがん細胞の増殖を促進することに関係している。これらの遺伝子、およびそれらのmRNA転写物は、表1に記載されている。表1からの1つまたは複数の遺伝子の発現を低下させることにより、がんの進行およびがん細胞の増殖を阻害することができる。したがって、表1に記載されている遺伝子の転写物は、shRNA媒介RNAiを使用するがんの処置の肝要な標的に相当する。

【0109】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、s

hRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～747および771～824からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

10

【0110】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号22～747および771～824からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

20

【0111】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号22～37からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

30

40

【0112】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3

50

の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号38~39からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

【0113】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44~71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19~29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4~11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19~29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号40~43からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

【0114】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44~71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19~29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4~11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19~29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号44~51からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

【0115】

shRNA媒介RNAiを使用して遺伝子の発現を低下させることは、ウイルス感染症の処置においても有用である。例えば、感染細胞が宿主の免疫系を回避することを可能にする遺伝子セット、またはウイルス複製に必要な遺伝子セットの発現を低下させることは、宿主におけるウイルスの増殖を妨げる。そのような遺伝子、およびそれらのmRNA転写物は、表2に収載されている。したがって、表2に収載されている遺伝子の転写物はまた、shRNA媒介RNAiを使用するウイルス感染症の処置の肝要な標的である。

【0116】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物におけるウイルス感染症の処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44~71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19~29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接す

る 4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

10

【0117】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるウイルス感染症の処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号482～486および748～765からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

20

【0118】

上述のとおり、CD47発現の増加は、線維化線維芽細胞において観察されており、CD47を遮断することは、線維化促進性線維芽細胞のファゴサイトーシスを増加させることにより、および適応免疫に対する抑制効果を消失させることにより、線維症を好転させる。CD47に加えて、表3に収載されている他の遺伝子の発現は、線維症の促進に関連付けられている。shRNA媒介RNAiを使用してこれらの遺伝子の発現を低下させることは、線維性疾患の処置においても有用である。そのような遺伝子、およびそれらのmRNA転写物は、表3に収載されている。したがって、表3に収載されている遺伝子の転写物はまた、shRNA媒介RNAiを使用する線維性疾患の処置の肝要な標的に相当する。

30

【0119】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物における線維性疾患の処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

40

50

【0120】

一部の実施形態では、哺乳動物における線維性疾患の処置に有用なAPIは、shRNAであり、shRNAは、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および第3の領域に直接隣接する、一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、(a)第1の領域は、第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、(b)第3の配列は、第1の配列の逆相補配列であり、(c)第3の領域は、哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、mRNA配列は、配列番号40～43および766～770からなる群から選択され、(d)一本鎖RNA分子は、第1の領域が第3の領域と塩基対合してステムを形成し、第2の領域がループを形成し、第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている。

10

【0121】

マイクロRNA(「miRNA」)ベースの治療薬は、miRNA(およびmiRNA模倣物)、およびmiRNAの阻害剤(「antimiR」)を含む。

【0122】

miRNAは、ステムループ構造を有する一本鎖RNA前駆体として転写され、その後、サイトゾル中でダイサー酵素によりプロセシングされ、その結果、成熟二本鎖産物(「成熟miRNA産物」)が産生される。これらの成熟miRNA産物は、mRNAとのそれらの相補性によって、RNAサイレンシングおよび遺伝子発現の転写後調節を含む、調節的な役割を有すると考えられる。

20

【0123】

表4に示されているmiRNAの発現は、様々ながんにおいて下方制御されることが公知であり、下方制御されたmiRNAの補充は、がんの処置のための有望な治療法になる。

【0124】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、配列番号825～844、849～851、853、855、857、864、865、および867～883からなる群から選択されるmiRNAである。

30

【0125】

40

50

【表 4－1】

表 4: 治療用がん(がん細胞) miRNA API

miRNA	miRNA 遺伝子	GenBank cDNA RefSeq 受託	(miRNA) 配列番号
miR-34a	MIR34A	NR_029610.1	825
miR-34b	MIR34B	NR_029839.1	826
miR-34c	MIR34C	NR_029840.1	827
miR-200a	MIR200A	NR_029834.1	828
miR-200b	MIR200B	NR_029639.1	829
miR-200c	MIR200C	NR_029779.1	830
miR-26a-1	MIR26A1	NR_029499.1	831
miR-506	MIR506	NR_030233.1	832
miR-520a	MIR520A	NR_030189.1	833
miR-520b	MIR520B	NR_030195.1	834
miR-520c	MIR520C	NR_030198.1	835

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

miR-520d	MIR520D	NR_030204.1	836
miR-520e	MIR520E	NR_030183.1	837
miR-520f	MIR520F	NR_030186.1	838
miR-520g	MIR520G	NR_030206.1	839
miR-520h	MIR520H	NR_030215.1	840
miR-15a	MIR15A	NR_029485.1	841
miR-15b	MIR15B	NR_029663.1	842
miR-16-1	MIR16-1	NR_029486.1	843
miR-16-2	MIR16-2	NR_029525.1	844
miR-Let-7a-1	MIRLET7A1 (LET7A1)	NR_029476.1	849
miR-Let-7f-1	MIRLET7F1 (LET7F1)	NR_029483.1	850
miR-Let-7d	MIRLET7D (LET7D)	NR_029481.1	851
miR-31	MIR31	NR_029505.1	853
miR-98	MIR98	NR_029513.1	855
miR-205	MIR205	NR_029622.1	857
miR-324	MIR324 (MIR324-5P)	NR_029896.1	864
miR-195	MIR195	NR_029712.1	865
miR-26a-2	MIR26A2	NR_029847.1	867
miR-101-1	MIR101-1	NR_029516.1	868
miR-101-2	MIR101-2	NR_029836.1	869
miR-145	MIR145	NR_029686.1	870
miR-331	MIR331	NR_029895.1	871
miR-29b-1	MIR29B1	NR_029517.1	872
miR-29b-2	MIR29B2	NR_029518.1	873
miR-7-1	MIR7-1	NR_029605.1	874
miR-7-2	MIR7-2	NR_029606.1	875
miR-7-3	MIR7-3	NR_029607.1	876
miR-33a	MIR33A	NR_029507.1	877
miR-21	MIR21	NR_029493.1	878
miR-203a	MIR203A	NR_029620.1	879
miR-203b	MIR203B	NR_039859.1	880
miR-4711	MIR4711	NR_039861.1	881
miR-4689	MIR4689	NR_039838.1	882
miR-122	MIR122	NR_029667.1	883

10

20

30

40

50

【0126】

miRNAとは対照的に、antimiR（「antagomir」としても公知）は、標的成熟miRNA産物の領域の配列に相補的である配列を有する一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド（「ASO」）である。成熟miRNA産物は、miRNA分子がサイトソル中でプロセッシングされた後に産生される、短い一本鎖RNA分子である。典型的には、5p RNA分子（これは、miRNAのステムとして形成された二重鎖の5'アームからプロセッシングされるため、そう名付けられた）および3p RNA分子（これは、miRNAのステムとして形成された二重鎖の3'アームからプロセッシングされるため、そう名付けられた）という2つの成熟miRNA産物が、miRNA分子から産生される。5pおよび3p分子は、互いに塩基対合して二重鎖を形成し得、各々の分子は、mRNAとのそれらの相補性によって細胞内で、機能性であり得る—実際には、別々の機能を果たし得る。一部の事例では、miRNA分子がプロセッシングされ、その結果、単一の機能性成熟miRNA産物のみが産生される。

【0127】

それらの標的成熟miRNA産物に相補的塩基対合によって結合することにより、antimiRは、成熟miRNA産物によるその標的への結合を遮断することができ、それによって、成熟miRNA産物が機能することを阻害することができる。成熟miRNA産物を阻害するためにantimiRを使用することは、miRNAノックダウンと呼ばれる。一般に、Quemener et al. Wiley Interdiscip Rev RNA (5):e1594 (2020)を参照されたく、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0128】

antimiRは、長さ12～25ヌクレオチドであり、標的成熟miRNA産物の連続ヌクレオチドに相補的である。異なるタイプの核酸を使用して、antimiRを生成することができる。好ましくは、antimiRは、RNA/RNAハイブリッドが非常に安定しているので、RNAを含む。加えて、antimiRは、DNAを含むことがあり、またはRNAヌクレオチドとDNAヌクレオチドの両方（本明細書では「キメラ」と呼ばれる）を含むことがある。antimiRは、成熟miRNA産物の5'末端からヌクレオチド2～8にわたる、成熟miRNA産物の「シード領域」に、相補的塩基対合によって、高い親和性で結合するはずである(Lennox et al. Gene Therapy 18: 1111-20 (2011)、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)。

【0129】

長年にわたって、antimiRの結合親和性、安定性および標的モジュレーション効果の有意な改善が、オリゴヌクレオチド骨格への化学的改変によって達成されてきた。それ故、antimiRは、RNA誘導体またはDNA誘導体であり得る。一部の実施形態では、antimiRは、追加の特性、例えば、エンドヌクレアーゼおよびRNaseHに対する耐性、安定性（例えば、体液中での）、ならびに毒性低下、をantimiRに備えさせる改変を含む。一部の実施形態では、改変は、2'-O-メチル-ホスホロチオエートオリゴヌクレオチド改変、2'-O-メトキシエチルオリゴヌクレオチド改変、およびこれらの組合せである。一部の実施形態では、antimiRは、ペプチド核酸、ロッキング核酸、またはモルホリノホスホロジアミデートを含む。一般に、Wahlestedt et al. PNAS 97, 5633-5638 (2000); Elayadi et al. Curr Opin Investig Drugs 2, 558-61 (2001); Larsen et al. Biochim Biophys Acta 1489, 159-166 (1999); Braasch et al. Biochemistry 41, 4503-4510 (2002); Summerton et al. Antisense Nucleic Acid Drug Dev 7, 187-195 (1997)を参照されたく、これらの参考文献の各々は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0130】

表5に示されているmiRNAの発現は、様々ながんにおいて上方制御されることが公知であり、表6に示されているようなそれらの成熟miRNA産物は、がんの処置のためのmiRNAノックダウンの好ましい標的である。

【0131】

したがって、一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用なAPIは、antimiRであり、antimiRは、長さ12～25ヌクレオチドの一本鎖核酸分子であり、antimiRは、標的成熟miRNA産物配列における連続するヌクレオチドに相補的である連続する12～25ヌクレオチドの配列を有し、成熟miRNA産物配列は、配列番号884～908からなる群から選択され、成熟miRNA産物配列における連続するヌクレオチドは、5'から3'方向に、成熟miRNA産物配列のヌクレオチド2～8を含む。

【0132】

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5: がんにおいて上方制御される miRNA 発現

miRNA 遺伝子	GenBank cDNA RefSeq 受託	miRNA	(miRNA) 配列番号
MIR10B	NR_029609.1	miR-10b	845
MIR221	NR_029635.1	miR-221	846
MIR155	NR_030784.1	miR-155	847
MIR630	NR_030359.1	miR-630	848
MIR27A	NR_029501.1	miR-27a	852
MIR96	NR_029512.1	miR-96	854
MIR182	NR_029614.1	miR-182	856
MIR93	NR_029510.1	miR-93	858
MIR375	NR_029867.1	miR-375	859
MIR25	NR_029498.1	miR-25	860
MIR106B	NR_029831.1	miR-106b	861
MIR512-1	NR_030180.1	miR-512-1	862
MIR512-2	NR_030181.1	miR-512-2	863
MIR18A	NR_029488.1	miR-18a	866

【 0 1 3 3 】

【表 6】

表 6: antimiR がん(がん細胞)標的成熟 miRNA 産物

miRNA	成熟 miRNA 産物	(成熟 miRNA 産物) 配列番号
miR-10b	hsa-miR-10b-5p	884
	hsa-miR-10b-3p	885
miR-221	hsa-miR-221-5p	886
	hsa-miR-221-3p	887
miR-155	hsa-miR-155-5p	888
	hsa-miR-155-3p	889
miR-630	hsa-miR-630	890
miR-27a	hsa-miR-27a-5p	891
	hsa-miR-27a-3p	892
miR-96	hsa-miR-96-5p	893
	hsa-miR-96-3p	894
miR-182	hsa-miR-182-5p	895
	hsa-miR-182-3p	896
miR-93	hsa-miR-93-5p	897
	hsa-miR-93-3p	898
miR-375	hsa-miR-375-5p	899
	hsa-miR-375-3p	900
miR-25	hsa-miR-25-5p	901
	hsa-miR-25-3p	902
miR-106b	hsa-miR-106b-5p	903
	hsa-miR-106b-3p	904
miR-512-1	hsa-miR-512-5p	905
	hsa-miR-512-5p	906
miR-512-2	hsa-miR-512-5p	905
	hsa-miR-512-5p	906
miR-18a	hsa-miR-18a-5p	907
	hsa-miR-18a-3p	908

10

20

30

【 0 1 3 4 】

他の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に有用な A P I は、抗がん特性を有するタンパク質である。抗がん特性としては、がん細胞の増殖を阻害すること、腫瘍の増殖を阻害すること、がん細胞の死を引き起こすこと、腫瘍のサイズを低下させること、または腫瘍の消失を引き起こすことが挙げられる。表 7 に収載されているタンパク質は、抗がん特性を有する。したがって、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびそのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列を有するタンパク質は、本発明の実施形態による使用に好適な A P I である。他の実施形態では、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列からなるタンパク質は、本発明の実施形態による使用に好適な A P I である。

40

【 0 1 3 5 】

一部の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に好適な A P I は、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする m R N A であり、m R N A は、アミノ酸配列を含むタンパク質を産生するように哺乳動物の

50

標的細胞において翻訳されるように構成されている。他の実施形態では、哺乳動物におけるがんの処置に好適な A P I は、配列番号 9 0 9 ~ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする m R N A であり、m R N A は、アミノ酸配列からなるタンパク質を産生するように哺乳動物の標的細胞において翻訳されるように構成されている。m R N A は、哺乳動物の標的細胞における翻訳のためにコドン最適化され得る。

【 0 1 3 6 】

【表 7】

表 7: 治療用がん(がん細胞)タンパク質 A P I

タンパク質	配列番号
サイクリン依存性キナーゼ 9 (CDK9)	909
ヒスチジンリッチ糖タンパク質 (HRG)	910
インターフェロンアルファ -2 (IFNA2)	911
インターフェロンベータ (IFNB1)	912
インターフェロンガンマ (IFNG)	913
インターフェロンラムダ -2 (IFNL2)	914
インターフェロンラムダ -3 (IFNL3)	915
インターロイキン -27 サブユニットアルファ (IL27)	916
インターロイキン -27 サブユニットベータ (EBI3)	917
グアニル酸キナーゼ (GUK1)	918
LanC 様タンパク質 2 (LANCL2)	919
GATOR 複合体タンパク質 NPRL2 (NPRL2)	920
溶質キャリアファミリー 22 メンバー 2 (SLC22A2)	921
受動拡散型ヌクレオシド輸送体 1 (SLC29A1)	922
ベクリン -1 (BECN1)	923
FK506 結合タンパク質様 (FKBP1)	924
膵臓リボヌクレアーゼ (RNASE1)	925
推定包括的転写活性化因子 SNF2L2 (SMARCA2)	926
マトロプロテインナーゼ阻害剤 3 (TIMP3)	927
腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー 10 (TNFSF10)	928
コラーゲンアルファ -1(XVIII) 鎖 (COL18A1)	929

10

20

30

【実施例】

【 0 1 3 7 】

(実施例 1)

v S I R P α - s i R N A コンジュゲートは赤血球に結合する

【 0 1 3 8 】

F A M タグ付き s i R N A (図 1 A) (配列番号 9 6 5 (センス鎖) および配列番号 9 6 6 (アンチセンス鎖)) を v S I R P α と 1 : 1 のモル比 (5 0 p m o l の v S I R P α と 5 0 p m o l の s i R N A) で混合した。s i R N A をその 3' 末端においてマレイミドによって改変した。v S I R P α をその C 末端の付近にシステインを有するように設計した。システインからのチオールとマレイミドとを中性 p H でクリックケミストリーによって反応させた。反応物を、一晚、4 °C のシェーカーの中で保持し、その結果、図 1 A に示す v S I R P α - s i R N A コンジュゲートを得た。

【 0 1 3 9 】

40

50

製造業者のプロトコールを使用してNAP-5カラムを使用して、vSIRP α -siRNAコンジュゲートを単離した。

【0140】

赤血球（「RBC」）に結合するvSIRP α -siRNAコンジュゲートの能力を評価するために、vSIRP α -siRNAコンジュゲートを、図1Bに描示するようにマウスRBCと混合した。この実験については、2 μ lの体積のリン酸緩衝食塩水（「PBS」）中の 6×10^6 の赤血球を、vSIRP α -siRNAコンジュゲートを含有する2.5 μ lのPBS（合計50pmolのvSIRP α -siRNAコンジュゲート）、および5.5 μ lのPBSと混合した。陰性対照を、2 μ lの体積のPBS中の 6×10^6 の赤血球を8 μ lのPBSと混合することにより作製した。次いで、各混合物を室温（20～25℃）で2時間、インキュベートした（図1B）。 10

【0141】

インキュベーション後、5 μ lの各混合物をPBSで20倍希釈して混合物ごとに100 μ lの総体積にし、各希釈物をガラス底の皿に入れ、顕微鏡（488nmの励起波長）を用いて494～567nmで蛍光イメージングした。

【0142】

図1Cから明らかなように、陰性対照は、蛍光を示さないが、その一方でvSIRP α -siRNAコンジュゲートを含有する混合物は、赤血球に関連する強い蛍光シグナルを示し、これは、vSIRP α -siRNAコンジュゲートがRBCに結合することを示す。 20

【0143】

（実施例2）

vSIRP α -siRNAコンジュゲートはフローサイトメトリーにより実証されるようにRBCからがん細胞へ移行される

【0144】

実施例1からの500pmolのvSIRP α -siRNAコンジュゲートを、ダルベッコリン酸緩衝食塩水（「DPBS」）中の 5×10^3 のマウスRBCとともに、20 μ lの総体積で、30分間、室温（20～25℃）でインキュベートした。

【0145】

30分後、混合物を500 $\times$ gの遠心分離により10分間、DPBSで洗浄し、上清を除去した。次いで、vSIRP α -siRNAコンジュゲートと結合したRBCを20 μ lのPBSに再懸濁させた。 30

【0146】

CT26、CL25（ATCC CRL-2639）およびCaCO2（ATCC HTB-37）という2つの細胞系を使用した。CT26、CL25は、マウス結腸癌細胞系である。CaCO2は、CD47の発現が欠損しているヒト大腸腺癌細胞系であり、したがって、これを陰性対照として使用した（Liu et al. J Biol Chem 276(43): 40156-66（2001）、この参考文献は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる）。 40

【0147】

細胞培養皿で独立して成長させた各細胞系を、トリプシン-EDTAによって皿から剥離させた。次いで、各皿からの細胞をDPBSで洗浄し、計数し、 10^5 細胞/100 μ l PBSに希釈した。4 μ lのFAM-vSIRP α -siRNA/RBC再懸濁液（合計 10^3 のRBCおよび100pmolのvSIRP α -siRNA）を、独立して、CT26、CL25細胞およびCaCO2細胞の各々100 μ lの希釈物と混合した。各混合物を30分間、室温（20～25℃）でインキュベートした。

【0148】

30分後、各混合物を遠心分離し、上清を除去した。細胞ペレットを、フローサイトメーター解析用の200 μ lのフローサイトメトリー緩衝液を用いて再懸濁させた。

【0149】

図 2 A および 2 B は、それぞれ、CaCO₂ 細胞および CT26、CL25 細胞についてのフローサイトメトリー結果を示す。フローサイトメトリーは、FAM タグの励起のために 488 nm のレーザーを使用して行い、525 ~ 565 nm の波長で検出した。FAM タグ付き vSIRP α -siRNA と結合した RBC とのインキュベーション後、各がん細胞系は、異なるレベルの蛍光シフトを示した。これらの結果は、CT26、CL25 については RBC とのインキュベーション後に有意な蛍光シフトを示し、CaCO₂ については RBC とのインキュベーション後にほとんどシフトを示さず、したがって、蛍光シフトの程度が、がん細胞上の CD47 のレベルに依存していることを示す。これらの結果は、FAM タグ付き vSIRP α -siRNA が RBC から CT26、CL25 細胞の表面に存在する CD47 へ移行されたことを強く示唆している。

10

【0150】

(実施例 3)

抗 CD47 抗体はフローサイトメトリーにより実証されるように RBC からがん細胞へ移行される

【0151】

先ず、0.1 μ g の Alexa Fluor (登録商標) 647 抗マウス CD47 モノクローナル抗体 (Biolegend、#127510) を 100 μ l の総体積の DPBS 中で 4×10^3 のマウス RBC とともに 30 分間、室温でインキュベートした。インキュベーション後、RBC-抗体混合物を 500 g で 5 分間、遠心分離した。次いで、上清をデカントし、細胞を 20 μ l の DPBS に再懸濁させた。

20

【0152】

次いで、本発明者らは、 2×10^5 の CT26、CL25 細胞 (100 μ l の DPBS 中) を 10 μ l の再懸濁 RBC-抗体混合物と混合して 110 μ l の総体積にした (混合物 #1)。同様に、 2×10^5 の CaCO₂ 細胞 (100 μ l の DPBS 中) を 10 μ l の再懸濁 RBC-抗体混合物と混合して 110 μ l の総体積にした (混合物 #2)。

【0153】

混合物 #1 および混合物 #2 を 30 分間、室温でインキュベートした。インキュベーション後、1 ml の DPBS を各混合物に添加し、続いて、500 g で 5 分間の遠心分離を行った。混合物ごとに、遠心分離後、上清をデカントし、残存細胞を 100 μ l の DPBS に再懸濁させ、フローサイトメトリー (Beckman、レーザー 488 nm、検出 650 ~ 670 nm) に供した。

30

【0154】

図 3 A および 3 B は、それぞれ、CaCO₂ 細胞および CT26、CL25 細胞についてのこれらのフローサイトメトリー結果を示す。実施例 2 で観察された蛍光シフトほどは顕著でなかったが、RBC とのインキュベーション後の CT26、CL25 細胞について、RBC とのインキュベーション後の CaCO₂ 細胞についての蛍光シフトと比較して大きい蛍光シフトが観察された。これは、この場合もやはり、蛍光シフトの程度が、がん細胞上の CD47 のレベルに依存していることを示す。これらの結果は、Alexa Fluor (登録商標) 647 抗マウス CD47 モノクローナル抗体が RBC から CT26、CL25 細胞の表面に存在する CD47 へ移行されたことを示唆している。

40

【0155】

(実施例 4)

vSIRP α -siRNA コンジュゲートはフローサイトメトリーにより実証されるように RBC からがん細胞へ移行される

【0156】

実施例 1 の vSIRP α -siRNA-FAM コンジュゲートを、RBC から CT26、CL25 細胞の表面に存在する CD47 へ移行されるその能力について、さらに試験した。実験は、500 pmo l ではなく 100 pmo l のコンジュゲートを RBC とともにインキュベートしたことを除き、実施例 2 の場合と同様に行った。

【0157】

50

図4のフローサイトメトリー結果で示されるように、CaCO2細胞と比較してCT26・CL25細胞の有意に大きいパーセンテージがFAM蛍光を示しており、これは、この場合もやはり、FAMタグ付きvSIRPα-siRNAが、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されたことを強く示唆している。

【0158】

(実施例5)

Cy5.5標識vSIRPαはフローサイトメトリーにより実証されるようにRBCからがん細胞へ移行される

【0159】

Cy5.5で標識したvSIRPαを、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されるその能力について試験した。実験は、500pmolのコンジュゲートではなく200pmolの標識vSIRPαをRBCとともにインキュベートしたことを除き、実施例2の場合と同様に行った。

【0160】

図5のフローサイトメトリー結果で示されるように、CaCO2細胞と比較してCT26・CL25細胞の有意に大きいパーセンテージがCy5.5蛍光を示しており、これは、Cy5.5で標識したvSIRPαが、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されたことを強く示唆している。

【0161】

(実施例6)

抗CD47抗体はフローサイトメトリーにより実証されるようにRBCからがん細胞へ移行される

【0162】

Alexa Fluor (登録商標) 647で標識した抗マウスCD47モノクローナル抗体(Biolegend、#127510)を、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されるその能力について試験した。実験は、0.1μgではなく1μgの標識抗体をRBCとともにインキュベートしたことを除き、実施例3の場合と同様に行った。

【0163】

図6のフローサイトメトリー結果で示されるように、未染色細胞と比較してCT26・CL25細胞の有意に大きいパーセンテージがAlexa Fluor (登録商標) 647蛍光を示しており、これは、Alexa Fluor (登録商標) 647にコンジュゲートした抗CD47抗体が、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されたことを強く示唆している。この実験は、CD47に対するモノクローナル抗体がRBCからがん細胞の表面に存在するCD47へ移行され得ることも実証する。

【0164】

(実施例7)

抗体-miR21コンジュゲートはフローサイトメトリーにより実証されるようにRBCからがん細胞へ移行される

【0165】

Cy5標識miR21(配列番号878)にコンジュゲートした抗CD47モノクローナル抗体(Bioxcel、#BE0270)を、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されるその能力について試験した。実験は、0.1μgではなく15.8μgの抗体コンジュゲートをRBCとともにインキュベートしたことを除き、実施例3の場合と同様に行った。

【0166】

図7のフローサイトメトリー結果で示されるように、未染色細胞と比較してCT26・CL25細胞のより大きいパーセンテージがCy5蛍光を示しており、これは、CD47mAb-miR21-Cy5コンジュゲートが、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されたことを強く示唆している。

【0167】

(実施例8)

トロンボスポンジン-1はフローサイトメトリーにより実証されるようにRBCからがん細胞へ移行される

【0168】

トロンボスポンジン-1(TSP-1)は、血管新生および内皮細胞増殖を阻害するマトリックス細胞タンパク質である。TSP-1は、CD47に結合する。TSP-1シグナル伝達経路は、腎疾患、心血管疾患、炎症およびがんなどの様々な状態に関与することが判明している。TSP-1の基礎をなす機構および経路は、まだ十分に解明されていない。しかし、いくつかの肝要な受容体CD36/VEGFおよびCD47に対するTSP-1の機能は、実証されている。特にがんにおいて、活性化されたTSP-1およびCD47経路は、腫瘍成長および転移を低減させることが判明している。Kale et al. Int J Mol Sci, 22(8) (2021)およびKaur et al. J Biol Chem, 285(50), 38923-38932 (2010)を参照されたい。ここで、本発明者らは、標識マウスTSP-1がRBCからCT26・CL25がん細胞へ移行されることを示す。

10

【0169】

Cy5.5で標識したマウスTSP-1(7859-TH、R&D Systems)を、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されるその能力について試験した。実験は、500 pmolのコンジュゲートではなく5 μgのCy5.5標識TSP-1をRBCとともにインキュベートしたことを除き、実施例2の場合と同様に行った。

20

【0170】

図8のフローサイトメトリー結果で示されるように、CaCO2細胞と比較してCT26・CL25細胞の有意に大きいパーセンテージがCy5.5蛍光を示しており、これは、Cy5.5標識TSP-1が、RBCからCT26・CL25細胞の表面に存在するCD47へ移行されたことを強く示唆している。

【0171】

(実施例9)

vSIRPα-siRNAコンジュゲートはin vivoでRBCに結合する

【0172】

実施例1からの5 nmolのvSIRPα-siRNAコンジュゲート、および実施例1からの5 nmolのコンジュゲートしていないsiRNAを、各々、120 μlの総体積のRNaseフリー水中、1:1のモル比でインターカレーティング色素YOYO(商標)-1ヨウ化物によって染色した。30分間、室温でのインキュベーション後、染色されたコンジュゲートおよびsiRNAを、下で詳述するようにマウスに注射した。

30

【0173】

3匹のBalb/cマウスを実験に使用した: 1匹の未処置マウスを陰性対照として使用し; 1匹のマウスには5 nmolのコンジュゲートしていない染色されたsiRNAを尾静脈に静脈内注射し; 1匹のマウスには5 nmolの染色されたvSIRPα-siRNAコンジュゲートを尾静脈に静脈内注射した。

40

【0174】

注射の45分後、血液をマウスから採取した。各試料からの50 μlの全血を500 × gでの遠心分離により10分間、1 mlのDPBSで2回洗浄し、DPBSに再懸濁させた。再懸濁血液を、共焦点皿(SPL 100350)を使用して共焦点顕微鏡法によってイメージングし、RBC会合YOYO(商標)-1ヨウ化物蛍光シグナルを異なる群(対照、siRNA、およびコンジュゲート)間で比較した。488 nmのレーザーを使用した(YOYO(商標)-1ヨウ化物は、491 nmの励起波長を有する)。

【0175】

図9に示すように、vSIRPα-siRNAコンジュゲートを注射したマウスからのRBCは、蛍光輝点を示し(図9の矢印)、これは、vSIRPα-siRNAコンジュ

50

ゲートとRBCとの結合が *in vivo* で起こることを示す。

【0176】

可能性のある特許請求の範囲

【0177】

本発明の様々な実施形態は、この段落の後に続く（および本願の最後に提供する実際の特許請求の範囲の前の）段落に列挙する、可能性のある特許請求の範囲を特徴とする可能性がある。これらの可能性のある特許請求の範囲は、本願の書面による明細の一部をなす。したがって、以下の可能性のある特許請求の範囲の主題は、本願に関わる、または本願に基づいて優先権を主張する任意の出願に関わる、後の手続きにおいて、実際の特許請求の範囲として提示される可能性がある。そのような可能性のある特許請求の範囲を含めることを、実際の特許請求の範囲が可能性のある特許請求の範囲の主題をカバーしないという意味に解釈すべきではない。したがって、後の手続きにおいてこれらの可能性のある特許請求の範囲を提示しないという決定を、主題を公衆に提供することと解釈すべきでない。

10

【0178】

これらに限定されるものではないが、請求する可能性がある、可能性のある主題（下に提示する実際の特許請求の範囲との混同を避けるために文字「P」で始める）は、以下を含む：

（P1）

CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、

20

コンジュゲートを形成するようにAPIにコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み；

前記CD47結合タンパク質が、野生型SIRPα（配列番号1）、vSIRPα（配列番号3）、野生型トロンボスポンジン-1（TSP-1）（配列番号7）、野生型SIRPy（配列番号4）、vSIRPy-1（配列番号5）、vSIRPy-2（配列番号6）、ALX148（配列番号962）、TTI-661（配列番号963）、TTI-662（配列番号964）、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球のCD47に結合させるように構成されており、したがって、（i）前記コンジュゲートを前記赤血球の前記CD47に結合させるように構成されている前記CD47結合タンパク質が、前記標的細胞の前記CD47に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ（ii）前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-CD47複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記APIを前記標的細胞に送達する、治療化合物。

30

（P2）

CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、

40

コンジュゲートを形成するようにAPIにコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み；

前記CD47結合タンパク質が、野生型トロンボスポンジン-1（TSP-1）（配列番号7）、野生型SIRPy（配列番号4）、vSIRPy-1（配列番号5）、vSIRPy-2（配列番号6）、ALX148（配列番号962）、TTI-661（配列番号963）、TTI-662（配列番号964）、前述のもののいずれかのホモログ、およびこれらの組合せからなる群から選択され、前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球の

50

CD47に結合させるように構成されており、したがって、(i)前記コンジュゲートを前記赤血球の前記CD47に結合させるように構成されている前記CD47結合タンパク質が、前記標的細胞の前記CD47に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ(ii)前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-CD47複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記APIを前記標的細胞に送達する、

治療化合物。

10

(P3)

CD47を発現する標的細胞への哺乳動物対象におけるRBC媒介送達のための治療化合物であって、

コンジュゲートを形成するようにAPIにコンジュゲートされているCD47結合タンパク質を含み；

前記CD47結合タンパク質が、抗CD47抗体であり、前記抗CD47抗体が、

(a)配列番号932、配列番号933および配列番号934をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号935、配列番号936および配列番号937をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；

20

(b)配列番号940、配列番号941および配列番号942をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号943、配列番号944および配列番号945をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；

(c)配列番号948、配列番号949および配列番号950をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号951、配列番号952および配列番号953をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含むか；または

(d)配列番号956、配列番号957および配列番号958をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む重鎖可変領域と、配列番号959、配列番号960および配列番号961をそれぞれ含む相補性決定領域CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域とを含む；

30

前記対象の循環系による前記標的細胞への前記コンジュゲートの輸送を可能にするために前記コンジュゲートを前記対象の赤血球のCD47に結合させるように構成されており、したがって、(i)前記コンジュゲートを前記赤血球の前記CD47に結合させるように構成されている前記CD47結合タンパク質が、前記標的細胞の前記CD47に結合し、ひいては、前記コンジュゲートを前記赤血球から前記標的細胞へ移行させて、前記標的細胞上にコンジュゲート-CD47複合体を形成するようにし、それによって、CD47を遮断し、前記標的細胞の免疫逃避機構としてのCD47活性を阻害し、かつ(ii)前記コンジュゲートが、前記コンジュゲート-CD47複合体のエンドサイトーシスによって前記標的細胞に取り込まれ、それによって、前記標的細胞の前記免疫逃避機構をさらに阻害し、前記APIを前記標的細胞に送達する、

40

治療化合物。

(P3.5)

前記抗CD47抗体が、ヒト化抗体である、請求項P3に記載の治療化合物。

(P4)

前記CD47結合タンパク質が、共有結合、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス相互作用、およびこれらの組合せからなる群から選択される結合により、前記APIにコンジュゲートされている、前記請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P5)

50

前記 C D 4 7 結合タンパク質が、リンカーにより前記 A P I にコンジュゲートされている、前記可能性のある請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 6)

前記リンカーが、切断可能である、請求項 P 5 に記載の治療化合物。

(P 7)

前記リンカーが、リソソーム分解酵素により切断されるように構成されている、請求項 P 5 および P 6 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 8)

前記 A P I が、RNA、DNA、RNA 誘導体、DNA 誘導体、タンパク質、および小分子からなる群から選択される、前記可能性のある請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

10

(P 9)

前記 A P I が、siRNA、shRNA、miRNA、antim i R、および mRNA からなる群から選択される、請求項 P 1 から P 7 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 1 0)

前記標的細胞が、がん細胞、ウイルス感染細胞、線維化細胞、およびこれらの組合せからなる群から選択される細胞である、前記可能性のある請求項のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 1 1)

前記標的細胞が、がん細胞である、請求項 P 1 から P 9 のいずれか一項に記載の治療化合物。

20

(P 1 2)

前記標的細胞が、ウイルス感染細胞である、請求項 P 1 から P 9 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 1 3)

前記標的細胞が、線維化細胞である、請求項 P 1 から P 9 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 1 4)

前記がん細胞が、脳腫瘍、脊髄腫瘍、網膜芽細胞腫、口腔がん、鼻腔がん、副鼻腔がん、咽頭がん、喉頭がん、頸部がん、頭頸部がん、黒色腫、皮膚がん、乳がん、甲状腺がん、悪性副腎腫瘍、内分泌がん、肺がん、胸膜腫瘍、気道がん、食道がん、胃がん、小腸がん、結腸がん、肛門がん、肝臓がん、胆道がん、膵臓がん、腎臓がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、陰茎がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、絨毛癌、卵巣がん；急性／慢性白血病、悪性リンパ腫および多発性骨髄腫を含む血液がん；骨腫瘍、軟部組織腫瘍、小児白血病、ならびに小児がんからなる群から選択されるがんに起因する腫瘍におけるものである、請求項 P 1 1 に記載の治療化合物。

30

(P 1 5)

前記がん細胞が、卵巣漿液性嚢胞腺癌、肺腺癌、子宮頸および子宮頸管がん、頭頸部扁平上皮癌、甲状腺癌、子宮体類内膜癌、前立腺癌、中皮腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、急性白血病、肺扁平上皮癌、急性リンパ性白血病、食道癌、粘液線維肉腫、膵臓腺癌、直腸腺癌、結腸腺癌、急性巨核芽球性白血病、浸潤性乳癌、胃腺癌、膀胱尿路上皮癌、胆管癌、白血病、胸腺癌、平滑筋肉腫、胸腺腫、未分化多形性肉腫、子宮癌肉腫、急性骨髄性白血病、多形性神経膠芽腫、肉腫、皮膚黒色腫、腎臓明細胞癌、脱分化型脂肪肉腫、リンパ腫、網膜芽細胞腫、神経芽細胞腫、骨肉腫、若年性骨髄単球性白血病、消化管間質腫瘍、胚芽異形成性神経上皮腫瘍、副腎皮質がん、分化系統不明瞭な急性白血病、褐色細胞腫および傍神経節腫、神経膠腫、精巣胚細胞腫瘍、テント上胎児性腫瘍 NOS、神経芽細胞腫、腎臓乳頭細胞癌、肝細胞癌、嫌色素性腎細胞癌、悪性末梢神経鞘腫瘍、上衣腫、副腎皮質癌、上咽頭癌、紡錘細胞／硬化性横紋筋肉腫、黒色腫、脈絡叢癌、未分化紡錘細胞癌、筋上皮癌、肺泡横紋筋肉腫、横紋筋肉腫、非定型奇形腫／ラブドイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、線維腫症、滑膜肉腫、ウィルムス腫瘍、筋線維腫症、線維層板型

40

50

肝細胞癌、未分化肉腫 N O S、胎児性横紋筋肉腫、ブドウ膜黒色腫、ユーイング肉腫、肝芽腫、乳児型線維肉腫、I N I 依存性軟部組織肉腫 N O A、未分化肝肉腫、ならびに髄芽腫からなる群から選択されるがんに起因する、請求項 P 1 1 に記載の治療化合物。

(P 1 6)

前記ウイルス感染細胞が、S A R S - C o V - 2 ウイルスに感染している、請求項 P 1 2 に記載の治療化合物。

(P 1 7)

前記線維化細胞が、嚢胞性線維症に関連する、請求項 P 1 3 に記載の治療化合物。

(P 1 8)

前記 A P I が、s i R N A であり、前記 s i R N A が、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、

10

(a) 前記アンチセンス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 8 ~ 7 4 7 および 7 7 1 ~ 8 2 4 からなる群から選択され、

(b) 前記センス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、前記アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖 R N A 分子が、長さ 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ~ 5 ヌクレオチドの 3 ' オーバーハング領域とを有する、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

20

(P 1 9)

前記 A P I が、s i R N A であり、前記 s i R N A が、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、

(a) 前記アンチセンス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 2 2 ~ 7 4 7 および 7 7 1 ~ 8 2 4 からなる群から選択され、

(b) 前記センス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、前記アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖 R N A 分子が、長さ 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ~ 5 ヌクレオチドの 3 ' オーバーハング領域とを有する、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

30

(P 2 0)

前記 A P I が、s i R N A であり、前記 s i R N A が、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、

(a) 前記アンチセンス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 2 2 ~ 3 7 からなる群から選択され、

(b) 前記センス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、前記アンチセンス R N A 鎖からの 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドに相補的であり、

40

(c) 前記二本鎖 R N A 分子が、長さ 1 4 ~ 2 9 ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ 0 ~ 5 ヌクレオチドの 3 ' オーバーハング領域とを有する、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 2 1)

前記 A P I が、s i R N A であり、前記 s i R N A が、アンチセンス R N A 鎖とセンス R N A 鎖とを含む二本鎖 R N A 分子であり、

(a) 前記アンチセンス R N A 鎖が、長さ 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドであり、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 3 8 ~ 3 9 からなる群から選択され、

50

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項P1からP7、P10、P11、P14、およびP15のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P22)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号40～43からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項P1からP7、P10、P11、P14、およびP15のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P23)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号44～51からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項P1からP7、P10、P11、P14、およびP15のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P24)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、

請求項P1からP7、P10、P12、およびP16のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P25)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号482～486および748～765からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、
請求項P1からP7、P10、P12、およびP16のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P26)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～21、40～43、および766～770からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、
請求項P1からP7、P10、P13、およびP17のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P27)

前記APIが、siRNAであり、前記siRNAが、アンチセンスRNA鎖とセンスRNA鎖とを含む二本鎖RNA分子であり、

(a) 前記アンチセンスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号40～43および766～770からなる群から選択され、

(b) 前記センスRNA鎖が、長さ19～29ヌクレオチドであり、前記アンチセンスRNA鎖からの14～29ヌクレオチドに相補的であり、

(c) 前記二本鎖RNA分子が、長さ14～29ヌクレオチドの二本鎖領域と長さ0～5ヌクレオチドの3'オーバーハング領域とを有する、
請求項P1からP7、P10、P13、およびP17のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P28)

前記APIが、shRNAであり、前記shRNAが、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：

前記一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；

前記第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；

前記第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および

前記第3の領域に直接隣接する、前記一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域
を有し、

(a) 前記第1の領域が、前記第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第3の配列が、前記第1の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第3の領域が、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～747および771～824からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖RNA分子が、前記第1の領域が前記第3の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第2の領域がループを形成し、前記第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項P1からP7、P10、P11、P14、およびP15のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 2 9)

前記 A P I が、 s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ～ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ～ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 2 2 ～ 7 4 7 および 7 7 1 ～ 8 2 4 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 0)

前記 A P I が、 s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ～ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ～ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 2 2 ～ 3 7 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 1)

前記 A P I が、 s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ～ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ～ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ～ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19 ～ 29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 38 ～ 39 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P1 から P7、P10、P11、P14、および P15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P32)

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44 ～ 71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19 ～ 29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ～ 11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19 ～ 29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 mRNA 配列が、配列番号 40 ～ 43 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 RNA 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P1 から P7、P10、P11、P14、および P15 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P33)

前記 API が、shRNA であり、前記 shRNA が、長さ 44 ～ 71 ヌクレオチドの一本鎖 RNA 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 RNA 分子の 5' 末端における 19 ～ 29 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ～ 11 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 19 ～ 29 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 RNA 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 mRNA 配列における連続するヌクレオチドに

10

20

30

40

50

相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号44～51からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖RNA分子が、前記第1の領域が前記第3の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第2の領域がループを形成し、前記第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、
請求項P1からP7、P10、P11、P14、およびP15のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P34)

前記APIが、shRNAであり、前記shRNAが、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：

前記一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；

前記第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；

前記第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および

前記第3の領域に直接隣接する、前記一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、

(a) 前記第1の領域が、前記第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第3の配列が、前記第1の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第3の領域が、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号8～21、482～486、および748～765からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖RNA分子が、前記第1の領域が前記第3の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第2の領域がループを形成し、前記第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項P1からP7、P10、P12、およびP16のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P35)

前記APIが、shRNAであり、前記shRNAが、長さ44～71ヌクレオチドの一本鎖RNA分子であり、5'から3'方向に：

前記一本鎖RNA分子の5'末端における19～29ヌクレオチドの第1の領域であって、第1の配列を有する第1の領域；

前記第1の領域に直接隣接する4～11ヌクレオチドの第2の領域であって、第2の配列を有する第2の領域；

前記第2の領域に直接隣接する19～29ヌクレオチドの第3の領域であって、第3の配列を有する第3の領域；および

前記第3の領域に直接隣接する、前記一本鎖RNA分子3'末端における2ヌクレオチドの第4の領域であって、第4の配列を有する第4の領域を有し、

(a) 前記第1の領域が、前記第3の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第3の配列が、前記第1の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第3の領域が、標的哺乳動物mRNA配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記mRNA配列が、配列番号482～486および748～765からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖RNA分子が、前記第1の領域が前記第3の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第2の領域がループを形成し、前記第4の領域が3'オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項P1からP7、P10、P12、およびP16のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 6)

前記 A P I が、s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ~ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ~ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 8 ~ 2 1、4 0 ~ 4 3、および 7 6 6 ~ 7 7 0 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 3、および P 1 7 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 7)

前記 A P I が、s h R N A であり、前記 s h R N A が、長さ 4 4 ~ 7 1 ヌクレオチドの一本鎖 R N A 分子であり、5' から 3' 方向に：

前記一本鎖 R N A 分子の 5' 末端における 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 1 の領域であって、第 1 の配列を有する第 1 の領域；

前記第 1 の領域に直接隣接する 4 ~ 1 1 ヌクレオチドの第 2 の領域であって、第 2 の配列を有する第 2 の領域；

前記第 2 の領域に直接隣接する 1 9 ~ 2 9 ヌクレオチドの第 3 の領域であって、第 3 の配列を有する第 3 の領域；および

前記第 3 の領域に直接隣接する、前記一本鎖 R N A 分子 3' 末端における 2 ヌクレオチドの第 4 の領域であって、第 4 の配列を有する第 4 の領域を有し、

(a) 前記第 1 の領域が、前記第 3 の領域と同数のヌクレオチドを有し、

(b) 前記第 3 の配列が、前記第 1 の配列の逆相補配列であり、

(c) 前記第 3 の領域が、標的哺乳動物 m R N A 配列における連続するヌクレオチドに相補的であり、前記 m R N A 配列が、配列番号 4 0 ~ 4 3 および 7 6 6 ~ 7 7 0 からなる群から選択され、

(d) 前記一本鎖 R N A 分子が、前記第 1 の領域が前記第 3 の領域と塩基対合してステムを形成し、前記第 2 の領域がループを形成し、前記第 4 の領域が 3' オーバーハングを形成する、ステムループ構造を形成するように構成されている、

請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 3、および P 1 7 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 8)

前記 A P I が、配列番号 8 2 5 ~ 8 4 4、8 4 9 ~ 8 5 1、8 5 3、8 5 5、8 5 7、8 6 4、8 6 5、および 8 6 7 ~ 8 8 3 からなる群から選択される m i R N A である、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 3 9)

前記 A P I が、a n t i m i R であり、前記 a n t i m i R が、長さ 1 2 ～ 2 5 ヌクレオチドの一本鎖核酸分子であり、前記 a n t i m i R が、標的成熟 m i R N A 産物配列における連続するヌクレオチドに相補的である連続する 1 2 ～ 2 5 ヌクレオチドの配列を有し、前記成熟 m i R N A 産物配列が、配列番号 8 8 4 ～ 9 0 8 からなる群から選択され、前記成熟 m i R N A 産物配列における前記連続するヌクレオチドが、5' から 3' 方向に、前記成熟 m i R N A 産物配列のヌクレオチド 2 ～ 8 を含む、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 0)

前記 A P I が、メトトレキサート；ドキソルビシン；ビンカアルカロイド；カンプトテシン類似体；微小管破壊剤、例えば、アウリスタチン（例えば、M M A E および M M A F ）およびメイタンシノイド（例えば、D M 1 および D M 4 ）；ならびに D N A 損傷剤、例えば、D N A トポイソメラーゼ I 阻害剤（例えば、S N - 3 8 およびエキサテカン）、二本鎖切断剤（例えば、カリケアマイシン）、架橋剤（例えば、ピロロベンゾジアゼピン二量体 - P B D ）、およびアルキル化剤（例えば、デュオカルマイシンおよびインドリノベンゾジアゼピン二量体 - I G N ）からなる群から選択される、小分子である、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 1)

前記 A P I が、タンパク質であり、前記タンパク質が、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 2)

前記 A P I が、タンパク質であり、前記タンパク質が、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 3)

前記 A P I が、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする m R N A であり、前記 m R N A が、前記アミノ酸配列を含むタンパク質を産生するように前記標的細胞において翻訳されるように構成されている、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 4)

前記 A P I が、配列番号 9 0 9 ～ 9 2 9 およびこれらのホモログからなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする m R N A であり、前記 m R N A が、前記アミノ酸配列からなるタンパク質を産生するように前記標的細胞において翻訳されるように構成されている、請求項 P 1 から P 7、P 1 0、P 1 1、P 1 4、および P 1 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 5)

前記 m R N A が、コドン最適化されている、請求項 P 4 3 および P 4 4 のいずれか一項に記載の治療化合物。

(P 4 6)

それを必要とする哺乳動物対象におけるがんを処置する方法であって、請求項 P 1 から P 1 1、P 1 4、P 1 5、P 1 8 から P 2 3、P 2 8 から P 3 3、および P 3 8 から P 4 5 のいずれか一項に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。

(P 4 7)

それを必要とする哺乳動物対象におけるウイルス感染症を処置する方法であって、請求項 P 1 から P 1 0、P 1 2、P 1 6、P 2 4、P 2 5、P 3 4、および P 3 5 のいずれか一項に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。

(P 4 8)

それを必要とする哺乳動物対象における線維性疾患を処置する方法であって、請求項 P 1 から P 1 0、P 1 3、P 1 7、P 2 6、P 2 7、P 3 6、および P 3 7 のいずれか一項

10

20

30

40

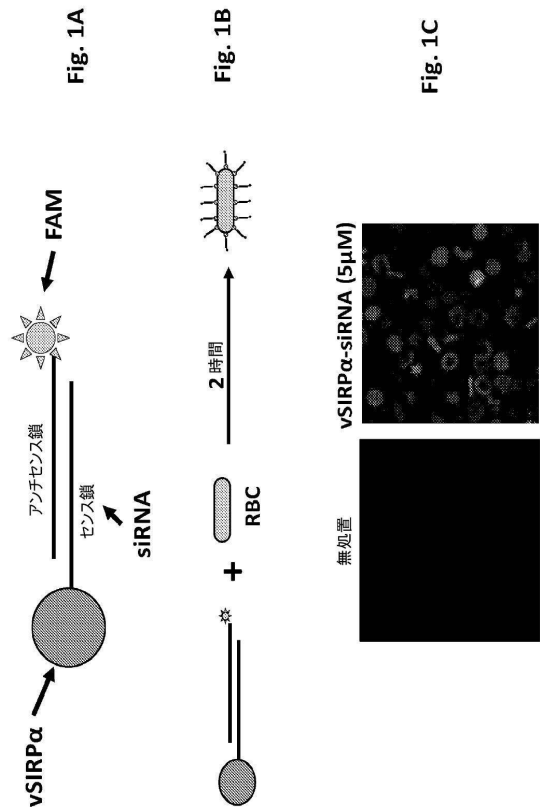
50

に記載の治療化合物の治療有効量を投与するステップを含む、方法。
(P 4 9)
前記哺乳動物対象が、ヒトである、請求項 P 1 から P 4 5 のいずれか一項に記載の治療化合物。
(P 5 0)

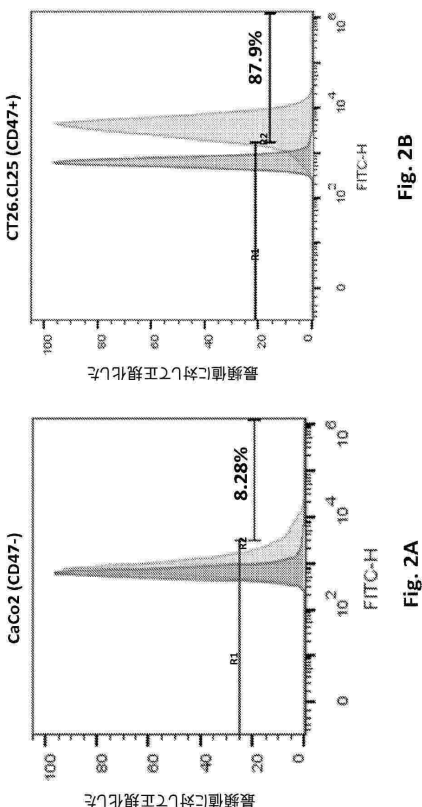
前記哺乳動物対象が、ヒトである、請求項 P 4 6 から P 4 8 のいずれか一項に記載の方法。
(P 5 1)
請求項 P 1 から P 4 5 および P 4 9 のいずれか一項に記載の治療化合物と薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【 0 1 7 9 】
上で説明した本発明の実施形態は単に例となることを意図したものであり、非常に多くの変形形態および改変形態が当業者には明らかであろう。全てのそのような変形形態および改変形態を、いずれかの添付の請求項において定義される本発明の範囲内であると考えている。

【 図 面 】
【 図 1 】



【 図 2 】



10

20

30

40

50

【 図 3 】

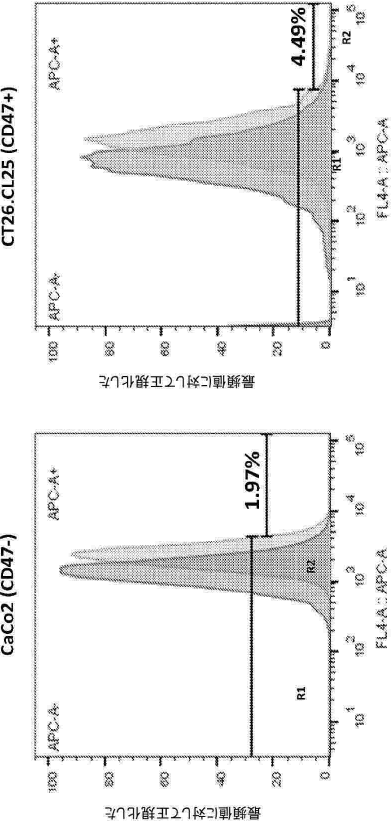


Fig. 3B

Fig. 3A

【 図 4 】

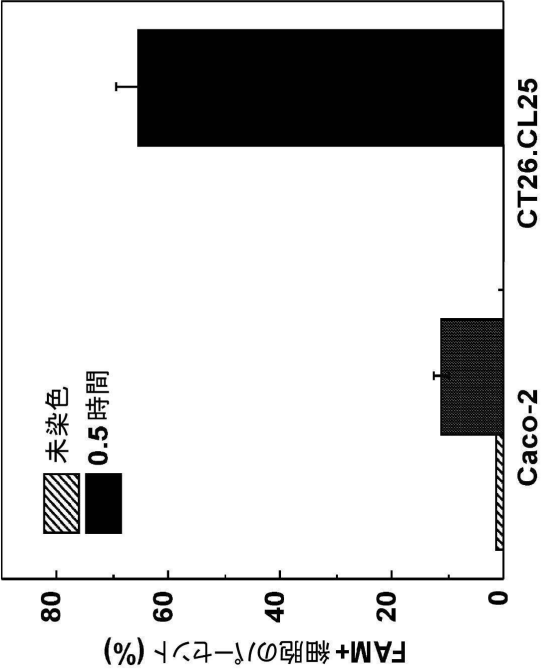


Fig. 4

【 図 5 】

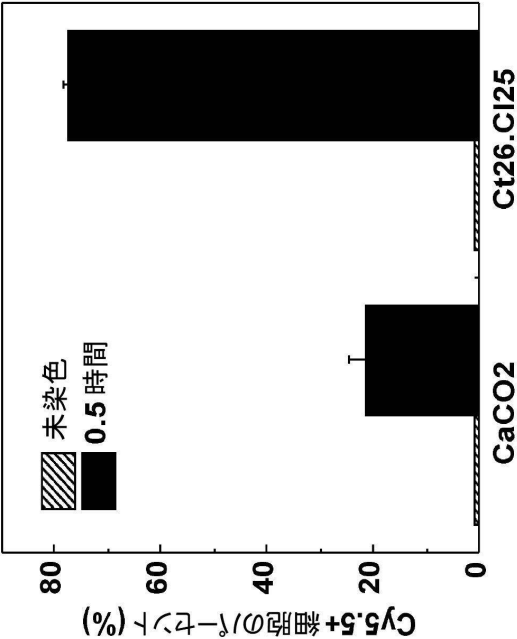


Fig. 5

【 図 6 】

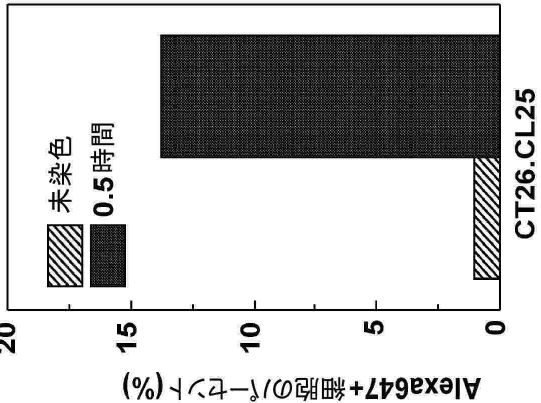


Fig. 6

10

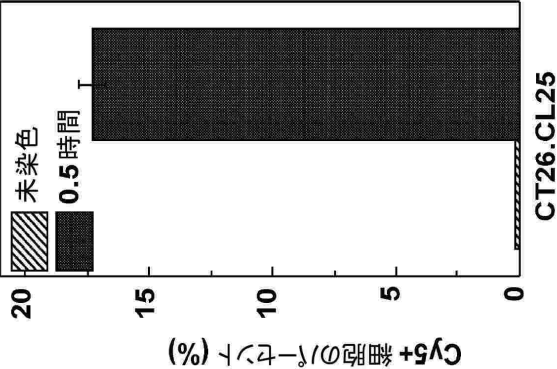
20

30

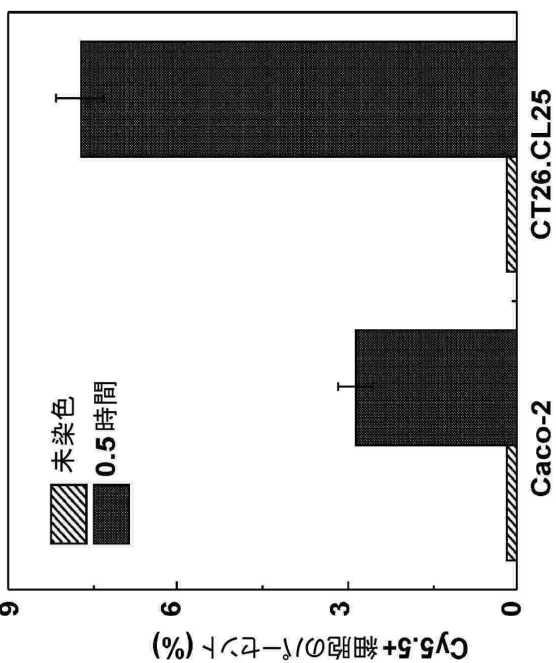
40

50

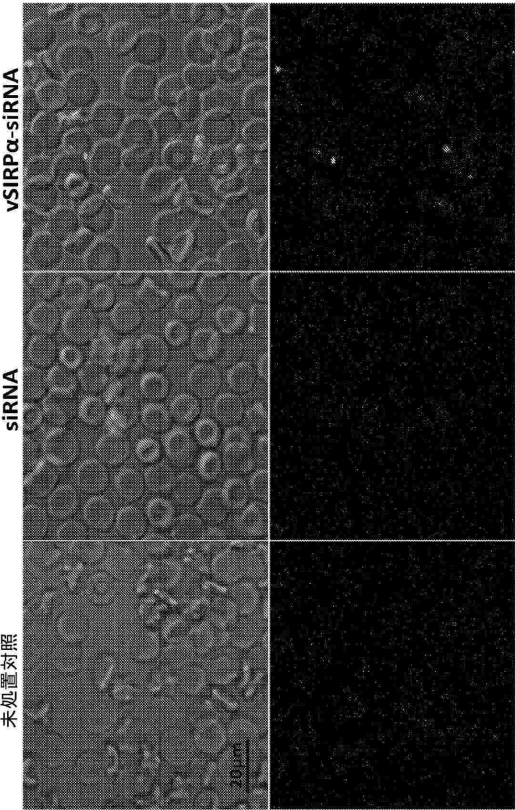
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



【 配列表 】

202454044800001.xml

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/68 A61P35/00 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		
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, 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 2020/163721 A1 (INTEGRITY BIOVENTURES INC [US]) 13 August 2020 (2020-08-13)	1-15,
A	claims 1-83	46-51
	-----	16-45
X	WO 2021/174127 A1 (APEXIGEN INC [US]) 2 September 2021 (2021-09-02)	1-15,
A	claims 1-32	46-51
	-----	16-45
X	WO 2014/149477 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 25 September 2014 (2014-09-25)	1-15,
A	claims 1-24	46-51
	-----	16-45
X	EP 3 575 326 A1 (TRILLIUM THERAPEUTICS INC [CA]) 4 December 2019 (2019-12-04)	1-15,
A	claims 1-20	46-51
	-----	16-45
	-/-	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 April 2023		Date of mailing of the international search report 08/05/2023
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 Jetter, Sonya

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/080167

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RATNIKOVA N M ET AL: "CD47 receptor as a primary target for cancer therapy", MOLECULAR BIOLOGY : COVER-TO-COVER TRANSLATION = MOLEKULYARNAYA BIOLOGIYA, ACADEMY OF SCIENCES OF THE USSR, RU, vol. 51, no. 2, 9 May 2017 (2017-05-09), pages 216-225, XP036230611, ISSN: 0026-8933, DOI: 10.1134/S0026893317010150 [retrieved on 2017-05-09]	1-15, 46-51
A	page 220 - page 221 -----	16-45

1

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2022/080167
Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)		
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/080167

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020163721 A1	13-08-2020	US 2022144943 A1 WO 2020163721 A1	12-05-2022 13-08-2020
WO 2021174127 A1	02-09-2021	EP 4110819 A1 TW 202146453 A WO 2021174127 A1	04-01-2023 16-12-2021 02-09-2021
WO 2014149477 A1	25-09-2014	AU 2014238105 A1 AU 2019200294 A1 AU 2020270485 A1 CA 2903773 A1 CN 105189556 A CN 112245586 A CN 114917336 A DK 2970493 T3 EP 2970493 A1 EP 3536709 A1 EP 3792285 A1 ES 2728066 T3 HK 1219956 A1 JP 6426693 B2 JP 6704974 B2 JP 7007422 B2 JP 7246528 B2 JP 2016513640 A JP 2019031545 A JP 2020128414 A JP 2022050544 A PT 2970493 T US 2016008429 A1 US 2017145096 A1 US 2019218289 A1 US 2021079093 A1 US 2021380689 A1 US 2022251199 A1 US 2022289845 A1 WO 2014149477 A1	27-08-2015 07-02-2019 17-12-2020 25-09-2014 23-12-2015 22-01-2021 19-08-2022 13-05-2019 20-01-2016 11-09-2019 17-03-2021 22-10-2019 21-04-2017 21-11-2018 03-06-2020 24-01-2022 27-03-2023 16-05-2016 28-02-2019 27-08-2020 30-03-2022 27-06-2019 14-01-2016 25-05-2017 18-07-2019 18-03-2021 09-12-2021 11-08-2022 15-09-2022 25-09-2014
EP 3575326 A1	04-12-2019	AU 2013362789 A1 AU 2018201039 A1 AU 2020202119 A1 AU 2022275518 A1 CA 2894245 A1 CA 3145468 A1 CN 105073780 A CN 110066341 A CY 1122463 T1 DK 2931752 T3 DK 3575326 T3 EP 2931752 A1 EP 3575326 A1 EP 4116331 A1 ES 2755156 T3 ES 2914814 T3 HK 1217716 A1 HR P20192013 T1 HU E047221 T2 HU E058790 T2	02-07-2015 01-03-2018 16-04-2020 05-01-2023 26-06-2014 26-06-2014 18-11-2015 30-07-2019 27-01-2021 18-11-2019 30-05-2022 21-10-2015 04-12-2019 11-01-2023 21-04-2020 16-06-2022 20-01-2017 07-02-2020 28-04-2020 28-09-2022

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT			International application No
Information on patent family members			PCT/US2022/080167
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP 6335189 B2	30-05-2018
		JP 6664430 B2	13-03-2020
		JP 7149450 B2	07-10-2022
		JP 2016501896 A	21-01-2016
		JP 2018148897 A	27-09-2018
		JP 2020089387 A	11-06-2020
		LT 2931752 T	10-12-2019
		ME 03550 B	20-07-2020
		PL 2931752 T3	28-02-2020
		PL 3575326 T3	11-07-2022
		PT 2931752 T	20-11-2019
		PT 3575326 T	30-05-2022
		SI 2931752 T1	31-12-2019
		SI 3575326 T1	31-08-2022
		US 2015329616 A1	19-11-2015
		US 2018312563 A1	01-11-2018
		US 2021206829 A1	08-07-2021
		WO 2014094122 A1	26-06-2014

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 C 1 2 N 15/12 (2006.01)
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 1 2 N 15/113 (2010.01)

A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 N
 C 1 2 N 15/12 Z N A
 C 0 7 K 14/47
 C 0 7 K 16/28
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/113 Z

,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,D
 K,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),O
 A(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,B
 B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI
 ,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,
 LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,
 PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,V
 N,WS,ZA,ZM,ZW

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

(72)発明者 キム, ホウォン ジェイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 0, レキシントン, マグノリア レーン 3

(72)発明者 キム, インーサン

大韓民国 0 4 5 8 7 ソウル, ジュング, チョングロ 6 4, 1 0 8-4 0 3

(72)発明者 キム, ジェイ エス.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 3 0, ベドフォード, ページ ロード 1 0 0

(72)発明者 キム, スン ファ

大韓民国 0 6 2 7 6 ソウル, カンナムグ, ソルン-ロ 2 2 1, ドゴク 2-ドン, 4 0
 4-1 2 0 3

(72)発明者 クウォン, イク チャン

大韓民国 0 2 8 3 1 ソウル, ソンブクグ, ソンブク-ロ 4-ギル 5 2, アpartment
 1 1 2-1 7 0 8

(72)発明者 リ, ジョン ウォン

大韓民国 0 4 5 1 8 ソウル, 1ジュング, ジョンドン-ギル 2 1-3 1 アpartment
 ビー-4 0

(72)発明者 ヤン, ユ ス

大韓民国 0 4 7 3 1 ソウル, ソンドング, メボン-ギル, 5 0, アpartment 1 2 0
 -4 0 4

(72)発明者 ユン, ホン ヨル

大韓民国 1 4 2 1 7 キョンギード, クァンミョン-シ, クァンオー-ロ 9ボン-ギル, 2,
 パーク ビレッジ, 3 0 2

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC26 CC27 CC35 CC41 EE59

4C084 AA13 NA13 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZB331 ZB332

4C085 AA13 AA14 AA25 BB11 DD59 EE01

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA54 CA40 DA76 EA20 FA74