

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年8月10日(10.08.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/135397 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/113 (2010.01) A61P 13/12 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) A61P 27/02 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
A61P 13/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2017/003904
- (22) 国際出願日: 2017年2月3日(03.02.2017)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2016-021128 2016年2月5日(05.02.2016) JP
- (71) 出願人: 協和発酵キリン株式会社 (KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 山田 陽史(YAMADA, Yoji); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和発酵キリン株式会社本社内 Tokyo (JP). 清水 清 (SHIMIZU, Kiyoshi); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和発酵キリン株式会社本社内 Tokyo (JP). 岩井 宏徒(IWAI, Hiroto); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和発酵キリン株式会社本社内 Tokyo (JP). 牧野

麻奈(MAKINO, Asana); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和発酵キリン株式会社本社内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 高島 一(TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDE FOR SUPPRESSING EXPRESSION OF COMPLEMENT B FACTOR

(54) 発明の名称: 補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチド

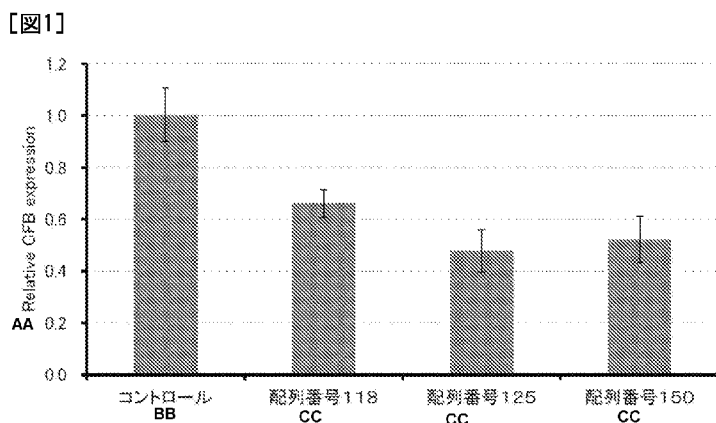


FIG. 1:
AA Relative CFB expression
BB Control
CC SEQ ID NO:

(57) Abstract: The present invention provides: an antisense oligonucleotide having CFB expression-suppressing activity; a pharmaceutical composition including the antisense oligonucleotide; and a drug that suppresses the expression of CFB including the antisense oligonucleotide, the drug preventing or treating disorders mediated by abnormalities of the complement alternative pathway such as atypical hemolytic uremic syndrome, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, age-related macular degeneration, membranous-proliferative glomerulonephritis, C3 nephritis, membranous nephropathy, rapid progressive glomerulonephritis (RPGN), acute kidney injury (AKI), asthma, or autoimmune diseases.

(57) 要約: 本発明は、CFBの発現抑制活性を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド、該アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物ならびに該アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むCFBの発現を抑制し、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)、急性腎障害(AKI)、喘息又は自己免疫疾患などの補体第二経路の異

常により媒介される障害の予防または治療薬を提供する。

WO 2017/135397 A1

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：

補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチド

技術分野

[0001] 本発明は、補体B因子の発現抑制に用いるためのアンチセンスオリゴヌクレオチド又は該アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物に関する。

背景技術

[0002] 補体は免疫反応を媒介する血中タンパク質の一群であり、補体の作用としては、食細胞による病原菌の食作用促進や外膜を持つウイルスに対して傷害を与えて感染力を失わせる等が挙げられる。補体の中でもC3は血清中に最も多量に存在し、補体第二経路では補体B因子 (complement factor B ; CFB) 等によって活性化されることによってその作用が制御されている (非特許文献1)。

[0003] 補体第二経路に関わる制御因子の異常や、C3転換酵素に対する自己抗体での安定化などにより、C3が活性化され続けると、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)、加齢黄斑変性症 (AMD)、膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN)、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎 (RPGN)、急性腎障害 (AKI)、全身性エリテマトーデス (SLE)、喘息、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症、自己免疫疾患などの疾患を発症することが知られている (非特許文献2)。補体B因子の作用を特異的に阻害することにより、上記の疾患を予防あるいは治療できると期待できるが、補体B因子は血中に300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ という比較的高濃度で存在しており (非特許文献3)、これら全ての補体B因子を例えば一般的な抗体医薬によって阻害し続けることは容易ではない。

[0004] 一方、遺伝子の発現自体を抑制する方法として、例えばアンチセンス法が知られている (特許文献1)。具体的には、標的とする遺伝子のmRNAもしくはmRNA前駆体等に対して相補的なオリゴヌクレオチド (アンチセンスオリゴ

ヌクレオチド)は、細胞内に導入すると標的とする遺伝子のmRNAもしくはmRNA前駆体と二本鎖を形成し、該標的遺伝子の発現を特異的に抑制することができる。また、アンチセンス法以外の遺伝子の発現を抑制する方法として、RNA干渉(RNA interference、以下、RNAiと呼ぶ)を利用した方法も知られている。この方法では、標的とする遺伝子と同一の配列を有する二本鎖RNA(siRNA)を導入することにより、該標的遺伝子の発現を特異的に抑制することができる(特許文献2)。

[0005] ヒト補体B因子遺伝子を標的とするsiRNA配列の一部が開示されている(特許文献3)。また、該遺伝子を標的とするアンチセンス配列の一部が開示されているが(特許文献4)、本発明はこれらの配列とは異なる配列である。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：国際公開第98/56905号パンフレット
特許文献2：国際公開第2001/75164号パンフレット
特許文献3：国際公開第2015/089368号パンフレット
特許文献4：国際公開第2015/038939号パンフレット

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：Proc Natl Acad Sci USA, , 94, 8720-8725(1997)
非特許文献2：J Am Soc Nephrol. Jul 16. pii: ASN.2015020184(2015)
非特許文献3：補体への招待、メディカルビュー社、p.18(2011)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、補体B因子の発現を抑制することが可能な新規なアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供することを目的とする。また、本発明は補体B因子の発現に関連する疾患を予防または治療するための医薬組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明は、以下の(1)～(13)に関する。

(1) 補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、配列番号53～103のいずれかで表される標的塩基配列からなる核酸にストリンジентな条件でハイブリダイズ可能な、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(2) 補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、配列番号2～52のいずれかで表されるアンチセンス塩基配列の連続する少なくとも8塩基を含む、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(3) 配列番号53～103のいずれかで表される塩基配列と相補的な塩基配列を含む、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(4) 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列を含む、(3)に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(5) 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列において、1ないし数個の塩基が欠失、置換、挿入もしくは付加された配列を含む、(4)に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(6) 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(7) 5'末端近傍及び／又は3'末端近傍が糖部修飾ヌクレオチドで構成される、(1)～(6)のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(8) 配列番号104～154及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(9) 配列番号118、125、150及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(10) リガンドを含む、(1)～(9)のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

(11) (1)～(10)のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、医薬組成物。

(12) 補体第二経路の異常により媒介される障害を治療する方法であって、治

療上有効量の(1)～(10)のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は(11)に記載の医薬組成物を、そのような治療を必要とするヒトに投与するステップを含む方法。

(13) 前記障害が、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎 (RPGN)、急性腎障害 (AKI)、喘息又は自己免疫疾患である、(12)に記載の方法。

発明の効果

[0010] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は該アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することによって、補体B因子の発現を抑制することが可能となる。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は該アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物は、補体第二経路の異常により媒介される障害の治療・予防に有用である。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、配列番号118、125及び150のいずれかで表されるアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与したマウスにおけるin vivoノックダウンの結果を示す。縦軸は、コントロール群における補体B因子 (CFB) のmRNAの準定量値を1とした場合の各アンチセンスオリゴヌクレオチド投与群のCFB mRNAの相対発現率を示す。

[図2]図2は、配列番号155で表されるアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与したマウスにおけるin vivoノックダウンの結果を示す。縦軸は、コントロール群におけるCFBのmRNAの準定量値を1とした場合の前記アンチセンスオリゴヌクレオチド投与群のCFB mRNAの相対発現率を示す。

発明を実施するための形態

[0012] 1. 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド

本発明は、補体B因子 (CFB) の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチド (本明細書中、「本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド」ともいう) を提供する。

- [0013] 本明細書において「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的遺伝子を構成するDNA、このようなDNAから転写されるmRNA前駆体およびmRNAに対して相補的なオリゴヌクレオチドであり、当該アンチセンスオリゴヌクレオチドが標的とするDNA、mRNA前駆体又はmRNAと二本鎖もしくは三本鎖を形成することによりDNA、mRNA前駆体又はmRNAの働き（転写、転写後編集、翻訳など）を抑制する。
- [0014] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドが標的とするCFBをコードする遺伝子(以下、CFB遺伝子ともいう)としては、Genbank Accession No. NM_001710として登録されている、ヒトCFBの完全長mRNAに対応するcDNA塩基配列(配列番号1)を有するものが挙げられるが、天然に存在するそのバリエーション(例えばHum. Mutat. 31:E1445-E1460(2010)、refsnp No. rs12614、rs641153など参照)も、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの標的遺伝子となり得ることはいうまでもない。
- [0015] 本明細書において「相補」とは、例えば、アデニンとチミンまたはウラシルとの関係、並びにグアニンとシトシンとの関係のように、緩やかな水素結合を介して2つの塩基間で塩基対合をし得る関係を意味する。
- また、「相補的である」とは、2つのヌクレオチド配列が二重鎖領域(両配列をアラインメントさせた場合にオーバーラップする領域)において完全に相補する場合だけでなく、該二重鎖領域全体として2重螺旋構造をとり得る限り、即ち、ストリンジентな条件で両配列がハイブリダイズできる限り、1ないし数個のミスマッチが存在する場合も含まれる。
- [0016] 従って、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、CFBをコードするDNA、mRNA前駆体又はmRNA中の標的塩基配列からなる核酸にストリンジентな条件でハイブリダイズ可能な核酸分子である。
- [0017] 本明細書において「ストリンジентな条件」とは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドがCFB遺伝子の標的塩基配列に対してはハイブリダイズするが、その他の配列にはハイブリダイズしないか、するとしても標的塩基配列にハイブリダイズする量よりも大幅に少なく、相対的に無視できる程度

の微量しかハイブリダイズしない条件を意味する。ハイブリダイゼーション反応および洗浄時の温度や、ハイブリダイゼーション反応液および洗浄液の塩濃度等を変化させることによって、このような条件を容易に選択することができる。具体的には6xSSC (0.9M NaCl, 0.09M クエン酸三ナトリウム) 又は6xSSPE (3M NaCl, 0.2M NaH_2PO_4 , 20mM EDTA · 2Na, pH7.4) 中42°Cでハイブリダイズさせ、さらに42°Cで0.5xSSCにより洗浄する条件が、ストリンジェントな条件の一例として挙げられるが、これに限定されるものではない。ハイブリダイゼーションの方法としては、例えばサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることができる。具体的には、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press), Current Protocols in Molecular Biology (1994) (Wiley-Interscience) 等に記載されている方法に準じて行うことができる。

[0018] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、ヌクレオチド又は該ヌクレオチドと同等の機能を有する分子が重合した分子であればいかなる分子であってもよく、例えばデオキシリボヌクレオチドの重合体であるDNA、リボヌクレオチドの重合体であるRNA、DNAとRNAとからなるキメラ核酸及びこれらの核酸の少なくとも一つのヌクレオチドが該ヌクレオチドと同等の機能を有する分子で置換されたヌクレオチド重合体が挙げられる。またRNA中のウラシル (U) は、DNAにおいてはチミン (T) に一義的に読み替えることができる。

[0019] ヌクレオチドと同等の機能を有する分子としては、例えばヌクレオチド誘導体等が挙げられる。ヌクレオチド誘導体としては、ヌクレオチドに修飾を施した分子であればいかなる分子であってもよいが、例えばDNAまたはRNAと比較して、ヌクレアーゼ耐性を向上もしくは分子を安定化させるため、相補鎖核酸とのアフィニティーを上げるため、細胞透過性を上げるため、又は可視化させるために、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドに修飾を施した分子等が好適に用いられる。

[0020] ヌクレオチドに修飾を施した分子としては、例えば糖部修飾ヌクレオチド

、リン酸ジエステル結合修飾ヌクレオチド、塩基修飾ヌクレオチド、ならびに糖部、リン酸ジエステル結合及び塩基の2以上が修飾されたヌクレオチド等が挙げられる。

[0021] 糖部修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドの糖の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾もしくは置換したもの、又は任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよいが、2'-修飾ヌクレオチドが好ましく用いられる。

[0022] 2'-修飾ヌクレオチドとしては、例えばリボースの2'-OH基がOR、R、R' OR、SH、SR、NH₂、NHR、NR₂、N₃、CN、F、Cl、Br及びIからなる群(Rはアルキルまたはアリール、好ましくは炭素数1~6のアルキルであり、R' はアルキレン、好ましくは炭素数1~6のアルキレンである)から選択される置換基で置換された2'-修飾ヌクレオチドが挙げられ、好ましくはF又はメトキシ基で置換された2'-修飾ヌクレオチドが挙げられる。また、2-(methoxy)ethoxy基、3-aminopropoxy基、2-[(N,N-dimethylamino)oxy]ethoxy基、3-(N,N-dimethylamino)propoxy基、2-[2-(N,N-Dimethylamino)ethoxy]ethoxy基、2-(methylamino)-2-oxoethoxy基、2-(N-methylcarbamoyl)ethoxy基及び2-cyanoethoxy基からなる群から選択される置換基で置換された2'-修飾ヌクレオチド等も挙げられる。より好ましくはメトキシ基及び2-(methoxy)ethoxy基からなる群から選択される置換基で置換された2'-修飾ヌクレオチド等が挙げられる。

[0023] また、糖部修飾ヌクレオチドとしては、糖部に架橋構造を導入することにより2つの環状構造を有する架橋構造型人工核酸(Bridged Nucleic Acid)(BNA)も好適に用いられる。具体的には、2'位の酸素原子と4'位の炭素原子がメチレンを介して架橋したロックト人工核酸(Locked Nucleic Acid)(LNA) [Tetrahedron Letters, 38, 8735, (1997)及びTetrahedron, 54, 3607, (1998)]、エチレン架橋構造型人工核酸(Ethylene bridged nucleic acid)(ENA) [Nucleic Acid Research, 32, e175(2004)]、Constrained Ethyl (cEt) [The Journal of Organic Chemistry 75, 1569 (2010)]、Amido-Bridged Nucleic Acid (AmNA) [Chem Bio Chem 13, 2513 (2012)]及び2'-O,4'-C-Spirocyclopropylene

bridged nucleic acid (scpBNA)[Chem. Commun., 51, 9737 (2015)]等が挙げられる。

[0024] さらにペプチド核酸(PNA)[Acc. Chem. Res., 32, 624 (1999)]、オキシペプチド核酸(OPNA)[J. Am. Chem. Soc., 123, 4653 (2001)]、ペプチドリボ核酸(PRNA)[J. Am. Chem. Soc., 122, 6900 (2000)]等も糖部修飾ヌクレオチドとして挙げられる。

[0025] リン酸ジエステル結合修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドのリン酸ジエステル結合の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾もしくは置換したもの、又は任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよく、例えば、リン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がホスホロジチオエート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がアルキルホスホネート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がホスホロアミデート結合に置換されたヌクレオチド等が挙げられ、好ましくはリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に置換されたヌクレオチドが挙げられる。

[0026] 塩基修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドの塩基の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾もしくは置換したもの、又は任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよく、例えば、塩基内の酸素原子が硫黄原子で置換されたもの、水素原子が炭素数1~6のアルキル基、ハロゲン基で置換されたもの、メチル基が水素、ヒドロキシメチル、炭素数2~6のアルキル基で置換されたもの、アミノ基が炭素数1~6のアルキル基、炭素数1~6のアルカノイル基、オキソ基、ヒドロキシ基等に置換されたものが挙げられる。なお、シトシン (C) の代わりに5-メチルシトシン (5-mC) を塩基修飾ヌクレオチドとして用いることも、本発明の好ましい形態の一つである。

[0027] ヌクレオチド誘導体としては、ヌクレオチド又は糖部、リン酸ジエステル結合もしくは塩基の少なくとも一つが修飾されたヌクレオチド誘導体に、リガンド、例えば、コレステロール、脂肪酸、トコフェロール、レチノイドな

どの脂質類、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、ガラクトース(Gal)、マンノース(Man)などの糖類、フル抗体、Fab、scFv、VHHなどのフラグメント抗体、低密度リポタンパク質(LDL)、ヒト血清アルブミンなどのタンパク質、RGD、NGR、R9、CPPなどのペプチド類、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、葉酸などの低分子、合成ポリアミノ酸などの合成ポリマー、核酸アプタマー、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリンなどの色素、Cy3シリーズ、Alexaシリーズ、ブラックホールクエンチャーなどの蛍光団等の別の化学物質を、直接又はリンカーを介して付加したのも挙げられる。具体的にはポリアミン付加ヌクレオチド誘導体、コレステロール付加ヌクレオチド誘導体、ステロイド付加ヌクレオチド誘導体、GalNAc付加ヌクレオチド誘導体、胆汁酸付加ヌクレオチド誘導体、脂肪酸付加ヌクレオチド誘導体、ビタミン付加ヌクレオチド誘導体、Cy5付加ヌクレオチド誘導体、Cy3付加ヌクレオチド誘導体、6-FAM付加ヌクレオチド誘導体及びビオチン付加ヌクレオチド誘導体等が挙げられ、好ましくはGalNAc付加ヌクレオチド誘導体が挙げられる。これらは、固相上での伸長反応時に、固相上で反応可能な修飾剤を反応させることで、5'末端、3'末端及び／又は配列内部に修飾を施すことができる。また、アミノ基、メルカプト基、アジド基または3重結合などの官能基を導入した核酸をあらかじめ合成および精製しておき、それらに修飾剤を作用させることで得ることもできる。

[0028] ヌクレオチド誘導体は、核酸内の他のヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体とアルキレン構造、ペプチド構造、ヌクレオチド構造、エーテル構造、エステル構造及びこれらの少なくとも一つを組み合わせた構造等の架橋構造を形成してもよい。

[0029] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、その分子中の一部あるいは全部の原子が質量数の異なる原子(同位体)で置換されたものも包含する。

[0030] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、CFB遺伝子の標的塩基配列にストリンジントな条件でハイブリダイズする核酸であれば、ヘアピンオリゴマー、環状オリゴマーの形態中に導入されてもよく、内部または末端のバ

ルジまたはループなどの構造要素を含有してもよい。

[0031] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの長さは、8~80塩基であり、8~30塩基が好ましい。例えば、8~20塩基、10~20塩基、13~20塩基、13~16塩基、13塩基、14塩基、15塩基、16塩基、17塩基、18塩基、19塩基、20塩基であり得る。

[0032] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの具体的な標的塩基配列としては、表1に記載された配列番号53~103で表されるCFB mRNA (cDNA) の部分塩基配列が挙げられる。従って、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号53~103のいずれかで表される標的塩基配列にストリンジェントな条件でハイブリダイズ可能なオリゴヌクレオチドである。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、上記いずれかの標的塩基配列にストリンジェントな条件でハイブリダイズし得る限り、該標的塩基配列と完全に相補する配列のみならず、該標的塩基配列に対して1ないし数個、好ましくは1~3個、より好ましくは1又は2個、特に好ましくは1個のミスマッチを有する配列を含むものも含まれる。従って、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、配列番号53~103のいずれかで表される標的塩基配列に対して相補的な塩基配列を含み、かつ該標的塩基配列と完全に相補する配列において、1~3塩基、好ましくは1~2塩基、より好ましくは1塩基が欠失、置換、挿入または付加したものをを用いてもよい。

[0033] 特定の好ましい具体的な塩基配列は本明細書中に記載されるが、表1に記載された配列番号2~52のいずれかで表されるアンチセンス塩基配列の中から選択された少なくとも8個の連続した塩基を含む、長さ8~80塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドもまた、好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドと言える。表1に記載された各アンチセンス塩基配列の中から選択された、より好ましくは9個以上、さらに好ましくは10個以上、より一層好ましくは11個以上、特に好ましくは12個以上、最も好ましくは13個の連続した塩基を含む、長さ8~80塩基、好ましくは8~30塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドもまた、好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドと言える。

[0034] [表1]

配列番号	アンチセンス塩基配列	配列番号	標的塩基配列
2	GCTTTGATCTCTA	53	TAGAGATCAAAGG
3	GCCTTTGATCTCT	54	AGAGATCAAAGGC
4	CCGCTTTGATCT	55	AGATCAAAGGCGG
5	GCCGGCTTTGATC	56	GATCAAAGGCGGC
6	GAGCCGCTTTGA	57	TCAAAGGCGGCTC
7	CTCCAGGAGCCCG	58	CGGGTCTCTGGAG
8	GCTCCAGGAGCCCG	59	GGGGTCTCTGGAGC
9	CTGCACTCTGCT	60	AGGCAGAGTGCAG
10	ACCGTCATAGCAG	61	CTGCTATGACGGT
11	TGGCAGAGCCCGG	62	CGGGCTCTGCCA
12	CTTGGCAGGTGGG	63	CGCAGCTGCCAAG
13	CCACCTTCTTTGT	64	ACAAGGAAGGTGG
14	GGCTGGCCAGCTT	65	AAGGTGGGCAGCC
15	GCCCCAATGCTGT	66	ACAGCATTGGGGC
16	CCTGTGAAGTTGC	67	GCAACTTCACAGG
17	ACCCAGTCTGCAT	68	ATGCAGACTGGGT
18	GACCCAGTCTGCA	69	TGCAGACTGGGTC
19	TGACCCAGTCTGC	70	GCAGACTGGGTOA
20	GTGACCCAGTCTG	71	CAGACTGGGTOAC
21	CGTGACCCAGTCT	72	AGACTGGGTGACG
22	CTTCGTGACCCAG	73	CTGGGTGACGAAAG
23	CCATGTTGTGCAA	74	TTGCACAACATGG
24	CCCATGTTGTGCA	75	TGCACAACATGGG
25	TGGGTCCCCGGCC	76	GGGCGGGGACCCA
26	TCCCGGATCTCAT	77	ATGAGATCCGGGA
27	TGCCACAGAGACT	78	AGTCTCTGTGGCA
28	ATGCCACAGAGAC	79	GTCTCTGTGGCAT
29	ACCATGCCACAGA	80	TCTGTGGCATGGT
30	GTGTTCCCAAACC	81	GGTTTGGGAACAC
31	CCCCATACAGCTC	82	GAGCTGTATGGGG
32	GCCCCATACAGCC	83	GCTGTATGGGGGC
33	ACCAACAGCCCCCA	84	TGGGGGTGTGGT
34	AGACAACCACAGCC	85	GGCTGTGGTGTCT
35	AGTGTTCCTTGTG	86	GACAAGGAACAOT
36	GAGTGTTCCTTGT	87	ACAAGGAACAOTC
37	CAGGGCAACGTCA	88	TGACGTTGCCCTG
38	TCAGGGCAACGTG	89	GACGTTGCCCTGA
39	GATCAGGGCAACG	90	CGTTGCCCTGATC
40	TGATCAGGGCAAC	91	GTTGCCCTGATCA
41	GCTTGATCAGGGC	92	GCCCTGATCAAGC
42	GAGCTTGATCAGG	93	CCTGATCAAGCTC
43	CTGTGCAGGGAGC	94	GCTCCCTGCACAG
44	CCCCATTCTTGAT	95	ATCAAGAATGGGG
45	AAAGGGGCGCCAG	96	CTGGGCGCCCTTT
46	CAAGGGGCGCCCA	97	TGGGCGCCCTTTG
47	CTATCAAGGGGCC	98	GGCCCTTGATAG
48	CTACTCCCCAGCT	99	AGCTGGGAGTAG
49	AAGTCTGGGGCGT	100	ACGCCCGAGACTT
50	GTGAAAGTCTCGG	101	CCGAGACTTTCAC
51	CAGGGCAGCACTT	102	AAGTGTGGCCTG
52	CCTTCAGCCAGGG	103	CCCTGGCTGAAGG

[0035] 典型的な好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドには、表1に記載された各アンチセンス塩基配列の5'末端から少なくとも8個、より好ましくは9個以上、さらに好ましくは10個以上、より一層好ましくは11個以上、特に好ましくは12個以上の連続した核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドが含まれる。同様に好ましいアンチセンスオリゴヌクレオチドには、表1に記載された各

アンチセンス塩基配列の3'末端から少なくとも8個以上、より好ましくは9個以上、さらに好ましくは10個以上、より一層好ましくは11個以上、特に好ましくは12個以上の連続した核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドが含まれる。最も好ましくは、表1に記載された各アンチセンス塩基配列を含むオリゴヌクレオチドである。

[0036] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、表1に記載された各アンチセンス塩基配列を含み、かつ該アンチセンス塩基配列において1~3塩基、好ましくは1~2塩基、より好ましくは1塩基が欠失、置換、挿入または付加したものをを用いてもよい。

[0037] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、表2に記載の配列番号104~154及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることが好ましい。なかでも、配列番号118、125、150及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることが好ましい。

[0038] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、表2および表3に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、該表に記載のCFB相対発現量が0.5以下であるアンチセンスオリゴヌクレオチド配列を含むアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることがより好ましく、さらに好ましくはCFB相対発現量が0.3以下であるアンチセンスオリゴヌクレオチド、特に好ましくはCFB相対発現量が0.1以下であるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることができる。

[0039] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞内に導入されると、相補的なmRNA及びmRNA前駆体と結合し、mRNA及びmRNA前駆体が蛋白質に翻訳されるのを立体的に阻害してCFB遺伝子の発現を抑制することができる。

[0040] また、細胞内に導入された本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞内において、相補的なmRNA及びmRNA前駆体と結合し、mRNA及びmRNA前駆体を切断することもある。このような例として、RNAとDNAの二重鎖のRNA鎖を切断するエンドヌクレアーゼであるRNaseHを介した作用が知られている。本

発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドが細胞内でmRNA及びmRNA前駆体と二重鎖を形成すると、内在性のRNaseHに認識され、相補的なmRNA鎖を酵素的に分解することができる。

[0041] RNaseHによるmRNA及びmRNA前駆体の切断を誘導するには、4~80個の連続したDNA領域を持つアンチセンスオリゴヌクレオチドが好ましい。この場合、アンチセンスオリゴヌクレオチドは0~80%の糖部修飾ヌクレオチドを持つことが好ましく、10~60%がより好ましく、20~50%がさらに好ましい。また、糖部修飾ヌクレオチドを持つ場合の連続したDNA領域は、4~20個がより好ましく、4~15個がさらに好ましく、5~10個が最も好ましい。更に、アンチセンスオリゴヌクレオチドにおける糖部修飾ヌクレオチドの位置は、5'末端近傍及び／又は3'末端近傍に配置することが好ましく、5'末端から全長の長さの30%以内の位置及び／又は3'末端から全長の長さの30%以内の位置に配置することがより好ましく、糖部修飾ヌクレオチドが、アンチセンスオリゴヌクレオチドの5'末端から全長の長さの25%以内の位置及び／又は3'末端から全長の長さの25%以内の位置に配置することがさらに好ましい。

[0042] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドはまた、細胞内に導入されると、相補的なCFBをコードするゲノムDNAと結合し、該DNAからのmRNA前駆体への転写を阻害してCFB遺伝子の発現を抑制することができる。

[0043] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、5'末端近傍及び／又は3'末端近傍が糖部修飾ヌクレオチドであることが特に好ましい。本明細書中、5'末端近傍が糖部修飾ヌクレオチドであるとは、5'末端から1~4個、好ましくは2~4個の連続するヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであることを意味し、3'末端近傍が糖部修飾ヌクレオチドであるとは、3'末端から1~4個、好ましくは2~4個の連続するヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであることを意味する。すなわち、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、その5'末端から1~4個のヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることが好ましく、より好ましくは5'末端から2~4個のヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであるものを用いること

ができる。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、その3' 末端から1～4個のヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであるアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いることが好ましく、より好ましくは3' 末端から2～4個のヌクレオチドが糖部修飾ヌクレオチドであるものを用いることができる。

[0044] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを製造する方法としては、特に限定されず、公知の化学合成を用いる方法、あるいは、酵素的転写法等が挙げられる。公知の化学合成を用いる方法として、ホスホロアミダイト法、ホスホロチオエート法、ホスホトリエステル法、CEM法[Nucleic Acid Research, 35, 3287 (2007)]等を挙げることができ、例えば、ABI3900ハイスループット核酸合成機(アプライドバイオシステムズ社製)により合成することができる。合成が終了した後は、固相からの脱離、保護基の脱保護および目的物の精製等を行う。精製により、純度90%以上、好ましくは95%以上のアンチセンスオリゴヌクレオチドを得るのが望ましい。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを製造する酵素的転写法としては、目的の塩基配列を有したプラスミド又はDNAを鋳型としてファージRNAポリメラーゼ、例えば、T7、T3、またはSP6RNAポリメラーゼを用いた転写による方法が挙げられる。

[0045] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、トランスフェクション用の担体、好ましくはカチオン性リポソーム等のカチオン性担体を用いて細胞内に導入することができる。また、リン酸カルシウム法、エレクトロポレーション法又はマイクロインジェクション法などにより、直接細胞内に導入することもできる。

[0046] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、相補的なオリゴ核酸と二重鎖を形成させ、二重鎖核酸として細胞内に導入することで標的遺伝子の発現抑制を誘導することもできる(国際公開第2005/113571号)。この場合の二重鎖核酸をリガンドで修飾する位置は、相補的なオリゴ核酸の5' 末端又は3' 末端が好ましい。

[0047] 2. 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドによるCFBの発現抑制

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ヒトCFBの完全長mRNAに対応

するcDNA塩基配列(配列番号1)あるいはmRNA前駆体に対応するゲノム配列に基づいて設計することができる。ヒトCFBの完全長mRNAのcDNAは例えば、Genbank Accession No. NM_001710として登録されており、またヒトCFBのmRNA前駆体を含むゲノム配列は、例えばGenbank Accession No. NC_000006.12(31945944..31952084)として登録されている。

[0048] CFB遺伝子の一部の標的塩基配列に対して相補的な塩基配列からなる核酸のうち、CFBの発現抑制活性を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、例えば表1または表2に記載された群から選択されるアンチセンス塩基配列で構成されるアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられる。アンチセンスオリゴヌクレオチドの長さは、8~80塩基であり、8~30塩基が好ましい。例えば、8~20塩基、10~20塩基、13~20塩基、13~16塩基、13塩基、14塩基、15塩基、16塩基、17塩基、18塩基、19塩基、20塩基であり得る。

[0049] これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞に導入することにより、CFBの発現を抑制することができる。例えば本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、数nM~数 μ Mの濃度で、細胞に導入した後、24時間以上、例えば48時間培養した段階でCFBのmRNAの発現を抑制することができる。

[0050] また、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドのCFBのmRNAの発現抑制活性の評価は、該アンチセンスオリゴヌクレオチドをカチオン性リポソームなどを用いて、もしくは該アンチセンスオリゴヌクレオチドをそのまま、あるいは該アンチセンスオリゴヌクレオチドを何らかのリガンドと結合させて、ヒト細胞株などへ導入し、一定時間培養した後、当該ヒト細胞株におけるCFBのmRNAの発現量を定量することにより行うことができる。

[0051] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、リガンドを含んでもよい。該リガンドは、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの5'末端、3'末端および/または配列内部を、直接修飾するものであってもよい。

[0052] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドに含まれるリガンドとしては、生体分子と親和性のある分子であれば良いが、例えば、コレステロール、脂肪酸、トコフェロール、レチノイドなどの脂質類、N-アセチルガラクトサミ

ン(GalNAc)、ガラクトース(Gal)、マンノース(Man)などの糖類、フル抗体、Fab、scFV、VHHなどのフラグメント抗体、低密度リポタンパク質(LDL)、ヒト血清アルブミンなどのタンパク質、RGD、NGR、R9、CPPなどのペプチド類、葉酸などの低分子、合成ポリアミノ酸などの合成ポリマー、あるいは核酸アプタマーなどがあげられるがこれらに限定されず、これらを適宜組み合わせることもできる。

[0053] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドにリガンドを付加する方法としては、例えば、固相上での伸張反応時に、固相上で反応可能な修飾剤を反応させることで、5'末端、3'末端および／または配列内部に修飾を施すことができるが、これに限定されない。また、アミノ基、メルカプト基、アジド基または3重結合などの官能基を導入した核酸をあらかじめ合成および精製しておき、それらに修飾剤を作用させることでコンジュゲート核酸を得ることもできる。

[0054] 3. 本発明の医薬組成物

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する医薬組成物（本明細書中、本発明の医薬組成物ともいう）に関する。

[0055] 当該医薬組成物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞内に移行させるのに有効な担体をさらに含むことができる。本発明の医薬組成物は、非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)、加齢黄斑変性症(AMD)、膜性増殖性糸球体腎炎(MPGN)、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)、急性腎障害(AKI)、喘息、自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等）などの治療剤又は予防剤として用いることができる。

[0056] アンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞内に移行させるのに有効な担体としては、例えばカチオン性担体が挙げられる。カチオン性担体としては、カチオン性リポソームおよびカチオン性ポリマーなどが挙げられる。また、アンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞内に移行させるのに有効な担体として、ウイルスエンベロープを利用した担体を用いてもよい。カチオン性リポソ

ームとしては、2-0-(2-ジエチルアミノエチル)カルバモイル-1,3-0-ジオレオイルグリセロールを含有するリポソーム(以下リポソームAともいう)、オリゴフェクトアミン(Invitrogen社)、リポフェクチン(Invitrogen社)、リポフェクトアミン(Invitrogen社)、リポフェクトアミン2000(Invitrogen社)、DMRIE-C(Invitrogen社)、GeneSilencer(Gene Therapy Systems社)、TransMessenger(QIAGEN社)、TransIT TK0(Mirus社)などが好ましく用いられる。カチオン性ポリマーとしては、JetSI(Qbiogene社)、Jet-PEI(ポリエチレンイミン;Qbiogene社)などが好ましく用いられる。ウイルスエンベロープを利用した担体としては、GenomeOne(HVJ-Eリポソーム;石原産業社)などが好ましく用いられる。

[0057] 本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドに上記担体を含む本発明の医薬組成物は、当業者に既知の方法により調製することができる。例えば、適当な濃度の担体分散液とアンチセンスオリゴヌクレオチド溶液とを混合して調製することができる。カチオン性担体を用いる場合、アンチセンスオリゴヌクレオチドは水溶液中で負電荷を帯びているため、常法により水溶液中で混合することによって容易に調製することができる。該組成物を調製するために用いる水性溶媒としては、注射用水、注射用蒸留水、生理食塩水などの電解質液、ブドウ糖液、マルトース液などの糖液などが挙げられる。また、該組成物を調製する際のpHおよび温度などの条件は当業者が適宜選択できる。例えば、リポソームAの場合、10%マルトース水溶液中の16mg/mlのリポソーム分散液に、10%マルトース水溶液中のアンチセンスオリゴヌクレオチドを、pH7.4、25°Cで攪拌しながら徐々に添加して調製することができる。

[0058] 該組成物は、必要ならば超音波分散装置や高圧乳化装置などを用いて分散処理を行うことにより、均一な組成物とすることもできる。担体とアンチセンスオリゴヌクレオチドとを含む組成物の調製に最適な方法及び条件は、用いる担体に依存するので、当業者であれば、上記の方法にとらわれることなく、用いる担体に最適な方法を選択できる。

[0059] 本発明の医薬組成物としては、アンチセンスオリゴヌクレオチドとリード

粒子とを構成成分とする複合粒子および該複合粒子を被覆する脂質膜から構成され、該脂質膜の構成成分が可溶性極性有機溶媒を含む液の中に、該脂質膜の構成成分が分散可能で、該複合粒子も分散可能な濃度で該極性有機溶媒を含む液が存在するリポソームも好適に用いられるが、これに限定されない。リード粒子としては、例えば、脂質集合体、リポソーム、エマルジョン粒子、高分子、金属コロイド、微粒子製剤等が挙げられ、好ましくはリポソームが用いられる。本発明におけるリード粒子は、脂質集合体、リポソーム、エマルジョン粒子、高分子、金属コロイド、微粒子製剤等を2つ以上組み合わせた複合体を構成成分としていてもよく、脂質集合体、リポソーム、エマルジョン粒子、高分子、金属コロイド、微粒子製剤等と他の化合物(例えば糖、脂質、無機化合物等)とを組み合わせた複合体を構成成分としていてもよい。

[0060] 該複合粒子を被覆する脂質膜としては、例えば中性脂質およびポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン等を構成成分とするものが挙げられる。

[0061] 該リポソームは、例えばW02006/080118等に記載の方法に従って調製することができる。

[0062] 本発明の医薬組成物に含まれるアンチセンスオリゴヌクレオチドと担体との配合比は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの1重量部に対して担体1~200重量部が適当である。好ましくは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの1重量部に対して担体2.5~100重量部、さらに好ましくは担体10~20重量部である。

[0063] 本発明の医薬組成物には、上記担体の他に、医薬的に許容できるキャリアー又は希釈剤などを含んでもよい。医薬的に許容できるキャリアー又は希釈剤などは、本質的に化学的に不活性及び無害な組成物であり、本発明の医薬組成物の生物学的活性に全く影響を与えないものである。そのようなキャリアー又は希釈剤の例は、塩溶液、糖溶液、グリセロール溶液、エタノールなどがあるが、これらに限定されない。

[0064] 本発明の医薬組成物は、補体第二経路の異常により媒介される障害の治療

又は予防用に好適に用いることができる。本明細書中、補体第二経路の異常により媒介される障害とは、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)、加齢黄斑変性症 (AMD)、膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN)、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎 (RPGN)、急性腎障害 (AKI)、喘息、自己免疫疾患 (例えば、全身性エリテマトーデス (SLE)、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等)などを指す。従って、本発明の医薬組成物は、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)、加齢黄斑変性症 (AMD)、膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN)、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎 (RPGN)、急性腎障害 (AKI)、喘息、自己免疫疾患 (例えば、全身性エリテマトーデス (SLE)、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等)などの治療剤又は予防剤として用いることができる。

[0065] 本発明の医薬組成物は、疾患の治療又は予防に有効な量の該複合体を含み、かつ、患者に適切に投与できるような形態で提供され得る。本発明の医薬組成物の製剤形態は、例えば注射剤、点眼剤、吸入用などの液剤、例えば軟膏、ローション剤などの外用剤等であってもよい。

[0066] 液剤の場合、本発明の医薬組成物の濃度範囲は通常、0.001~25%(w/v)であり、好ましくは0.01~5%(w/v)であり、より好ましくは0.1~2%(w/v)である。本発明の医薬組成物は医薬的に許容される任意の添加剤、例えば、乳化補助剤、安定化剤、等張化剤、pH調整剤等を適当量含有していてもよい。医薬的に許容される任意の添加剤は、該複合体の分散前でも分散後でも適当な工程で添加することができる。

[0067] 本発明の医薬組成物は、凍結乾燥製剤として提供することもできる。凍結乾燥製剤は、アンチセンスオリゴヌクレオチドと担体とを分散処理した後、凍結乾燥処理することにより調製することができる。凍結乾燥処理は、常法により行うことができる。例えば、上記の分散処理後の複合体溶液を無菌状態にて所定量をバイアル瓶に分注し、約-40~-20℃の条件で予備乾燥を約2時間程度行い、約0~10℃で減圧下に一次乾燥を行い、次いで、約15~25℃で減圧下に二次乾燥して凍結乾燥することができる。そして、例えばバイアル内

部を窒素ガスで置換し、打栓することにより、本発明の医薬組成物の凍結乾燥製剤を得ることができる。

[0068] 本発明の医薬組成物を凍結乾燥製剤として提供する場合、本発明の医薬組成物を任意の適当な溶液の添加によって再溶解し、使用することができる。このような溶液としては、注射用水、生理食塩水などの電解質液、ブドウ糖液、その他一般輸液などを挙げることができる。この溶液の液量は、用途などによって異なり、特に制限されないが、凍結乾燥前の液量の0.5~2倍量、または500ml以下が好ましい。

[0069] 本発明の医薬組成物は、ヒトを含む動物に対し、例えば静脈内投与、動脈内投与、経口投与、組織内投与、経皮投与、経粘膜投与又は経直腸投与することができるが、患者の症状に合わせた適切な方法により投与することが好ましい。特に静脈投与、経皮投与、経粘膜投与が好ましく用いられる。また、癌内局所投与など、局所投与をすることもできる。これらの投与方法に適した剤型としては、例えば各種の注射剤、経口剤、点滴剤、吸収剤、点眼剤、軟膏剤、ローション剤、坐剤等が挙げられる。

[0070] 本発明の医薬組成物の用量は、薬物、剤型、年齢や体重などの患者の状態、投与経路、疾患の性質と程度などを考慮した上で決定することが望ましいが、通常はアンチセンスオリゴヌクレオチドの質量として、成人に対して1日当たり、0.1mg~10g/日、好ましくは1mg~500mg/日である。場合によっては、これ以下でも十分であるし、また逆にこれ以上の用量を必要とすることもある。また1日1回~数回投与することもでき、1日~数日の間隔をおいて投与することもできる。

[0071] 4. 治療方法

本発明はさらに、補体第二経路の異常により媒介される障害を治療する方法であって、治療上有効量の、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は本発明の医薬組成物を、そのような治療を必要とするヒトに投与するステップを含む方法（本発明の治療方法）を提供する。

[0072] 本発明の治療方法は、好ましくは、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜

間へモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、喘息、自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等）などの疾患を治療する方法であって、治療上有効量の本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは本発明の医薬組成物を、該治療を必要とするヒトに投与することが特徴である。その他の工程および条件は、何ら制限されない。

[0073] 本発明の治療方法は、例えば、前記本発明の医薬組成物の投与方法、用量、調製方法等を援用できる。

[0074] 以下に、本発明を実施例により説明する。ただし、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例 1

[0075] ヒト細胞におけるCFB mRNAのノックダウン活性の測定

96ウェルの培養プレートにヒト肝臓癌由来の細胞株であるHuh7細胞（国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB細胞バンクより入手）を、20,000細胞/80 μ L/ウェルとなるよう播種した。培地は、10%ウシ胎仔血清（FBS）を含むDMEM培地（ライフテクノロジー社製、カタログ番号11095-098）を用いた。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、表2に記載のものをジーンデザインにて合成して利用した。表2のアンチセンスオリゴヌクレオチドにおいて、小文字はDNAを、大文字はLNAを示し、C(M)は5-メチルシトシンLNAを示す。なお、いずれのアンチセンスオリゴヌクレオチドも各ヌクレオチドはリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合で置換されている。このアンチセンスオリゴヌクレオチドとLipofectamine LTX & Plus試薬（ライフテクノロジー社製、カタログ番号15338）とをOpti-MEM 培地（ライフテクノロジー社製、カタログ番号11058-021）で希釈して、アンチセンスオリゴヌクレオチドの終濃度が30nMとなるように20 μ Lのアンチセンスオリゴヌクレオチド/Lipofectamine LTX混合液を各々96ウェルの培養プレートに添加し、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下で24時間培養した。その後、細胞をPBS（Phosphate buffered saline）で

洗浄し、各々のプレートからCells-to-Ctキット（アプライドバイオシステムズ社製、カタログ番号:AM1728）を用いて製品に添付された説明書に記載された方法に従いcDNAを合成した。このcDNA 5 μ LをMicroAmpOptical 96ウェルプレート（アプライドバイオシステムズ社製、カタログ番号4326659）に加え、更に10 μ LのTaqMan Gene Expression Master Mix（アプライドバイオシステムズ社製、カタログ番号4369016）、3 μ LのUltraPure Distilled Water（ライフテクノロジーズ社製、カタログ番号:10977-015）、1 μ Lのhuman CFBプローブ、1 μ Lのヒト β -actinプローブを添加した。ABI7900 HTリアルタイムPCRシステムを用いて、ヒトCFB遺伝子およびヒト β -actinのリアルタイムPCRを行った。 β -actinは構成的発現遺伝子であり内部対照として測定し、CFB発現量を補正した。アンチセンスオリゴヌクレオチドを添加せずにトランスフェクション試薬だけでHuh7細胞を処理した時のCFB mRNA量を1.0として、各アンチセンスオリゴヌクレオチドを導入した時のCFB mRNA相対発現量を算出した。本実験を複数回行い、CFB mRNA相対発現量の平均値を表2に示した。

[0076]

[表2]

配列番号	アンチセンス塩基配列	配列番号	アンチセンスオリゴヌクレオチド(5'→3')	CFB相対発現量
2	CCTTTGATCTGTA	104	C(M)C(M)ttgatctC(M)TA	0.071
3	GCCTTTGATCTCT	105	GC(M)ctttgatctC(M)T	0.156
4	CGGCCTTTGATCT	106	C(M)C(M)gcctttgaTC(M)T	0.072
5	GGCGCCTTTGATC	107	GC(M)cgctttgATC(M)	0.184
6	GAGCGGCCTTTGA	108	GAgcgccttTGA	0.122
7	CTCCAGGACCCCG	109	C(M)TccaggaccC(M)C(M)G	0.168
8	GCTCCAGGACCCG	110	GC(M)tcaggaccC(M)C(M)C(M)	0.100
9	CTGCAGTCTGCCT	111	C(M)TgcactctgC(M)C(M)T	0.116
10	ACCGTCATAGCAG	112	AC(M)cgtcatagC(M)AG	0.106
11	TGGCAGAGCCCGG	113	TGgcagagcccC(M)C(M)G	0.079
12	CTTGGCAGGTGGG	114	C(M)TggcaggtGC(M)G	0.145
13	CCACCTTCCTTGT	115	C(M)C(M)acctctctTGT	0.294
14	GGCTGCCACCTT	116	GGctgccaccC(M)TT	0.089
15	GCCCCAATGCTGT	117	GC(M)cccaatgcTGT	0.103
16	CCTGTGAAGTTGC	118	C(M)C(M)gtgaagtTGC(M)	0.031
17	ACCCAGTCTGCAT	119	AC(M)cccagctgcC(M)AT	0.135
18	GACCCAGTCTGCA	120	GAcccagctcGC(M)A	0.026
19	TGACCCAGTCTGC	121	TGaccaggtcTGC(M)	0.156
20	GTGACCCAGTCTG	122	GTgaccaggcC(M)TG	0.074
21	CGTGACCCAGTCT	123	C(M)GtgaccagTC(M)T	0.196
22	CTTGGTGACCCAG	124	C(M)TtcgtgaccC(M)AG	0.054
23	CCATGTTGTGCAA	125	C(M)C(M)atgttgC(M)AA	0.056
24	CCCATGTTGTGCA	126	C(M)C(M)catgttgC(M)A	0.073
25	TGGGTCCCCGCCC	127	TGggtccccC(M)C(M)C(M)	0.126
28	TCCCGGATCTCAT	128	TC(M)ccggatctC(M)AT	0.170
27	TGCCACAGAGACT	129	TGccacaggAC(M)T	0.166
28	ATGCCACAGAGAC	130	ATgccacagaGAC(M)	0.114
29	ACCATGCCACAGA	131	AC(M)catgccaccAGA	0.093
30	GTGTCCCAAACC	132	GTgttcccaaAC(M)C(M)	0.109
31	CCCCATACAGCTC	133	C(M)C(M)ccatacagC(M)TC(M)	0.043
32	GCCCCATACAGC	134	GC(M)ccccatacAGC(M)	0.065
33	AGCACAGCCCCCA	135	AC(M)cacagcccC(M)C(M)A	0.145
34	AGACACCACAGCC	136	AGacaccacaGC(M)C(M)	0.110
35	AGTGTTCCTTGT	137	AGtctctctTGT(M)	0.135
36	GAGTGTTCCTTGT	138	GAgctctctTGT	0.104
37	CAGGGCAACGTCA	139	C(M)AgggcaacTC(M)A	0.109
38	TCAGGGCAACGT	140	TC(M)agggcaacTC(M)	0.045
39	GATCAGGGCAACG	141	GATcagggcaAC(M)G	0.078
40	TGATCAGGGCAAC	142	TGatcagggcAAC(M)	0.023
41	GCTTGATCAGGGC	143	GC(M)ttgatcagGGC(M)	0.055
42	GAGCTTGATCAGG	144	GAgcttgatcAGG	0.047
43	CTGTGCAGGGAGC	145	C(M)TgtgcaggAGC(M)	0.022
44	CCCCATTCTTGAT	146	C(M)C(M)ccattctTAT	0.224
45	AAGGGGCCGCCAG	147	AAggggccgcC(M)AG	0.084
46	CAAGGGGCCGCCA	148	C(M)AagggccgcC(M)C(M)A	0.071
47	CTATCAAGGGGCC	149	C(M)TatcaaggGC(M)C(M)	0.071
48	CTACTCCCAGCT	150	C(M)TactccccGC(M)T	0.097
49	AAGTCTCGGGCGT	151	AAgtctcggcC(M)GT	0.075
50	GTGAAAGTCTCGG	152	GTgaaagtctC(M)GG	0.039
51	CAGGGCAGCACTT	153	C(M)AgggcagcaC(M)TT	0.189
52	CCTTCAGCCAGGG	154	C(M)C(M)tcagccaGGG	0.255
		155	C(M)C(M)AtgttgcC(M)AA	

実施例 2

[0077] アンチセンスオリゴヌクレオチドのマウスにおけるin vivoノックダウン活性

実施例 1 で得られた各アンチセンスオリゴヌクレオチドのうち、配列番号 118、125、150 について、それぞれ以下の方法によりin vivoノックダウン活性を測定した。なお、各アンチセンスオリゴヌクレオチドは、リン

酸緩衝化生理食塩水(DPBS)(ナカライテスク社製)で希釈して用いた。

マウス(BALB/cA、日本クレアより入手)を馴化飼育後、各アンチセンスオリゴヌクレオチドを3 mg/kgずつマウスに皮下注投与した。また、コントロール群としてはDPBSのみをマウスに皮下注投与した。各アンチセンスオリゴヌクレオチドあるいはコントロール群は、それぞれ3匹のマウスに投与した。

投与から3日後に動物を安楽死させ、肝臓を採取し液体窒素で凍結保存した。肝臓凍結サンプルをトリゾール(登録商標)アールエヌエーアイソレーションリージェンツ(ライフテクノロジーズ社製、カタログ番号15596026)およびマグナピュア96セルラーアールエヌエーラージボリュームキット(ロシュ社製、カタログ番号05467535001)を用い、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収を行った。さらにトランスクリプターファーストストランドシーディーエヌエーシンセシスキット(ロシュ社製、カタログ番号04897030001)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン(登録商標)ジーンエクスペッションアッセイズプローブ(アプライドバイオシステムズ社製)をプローブとして、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム(ABI社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子および構成的発現遺伝子であるグリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素(D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase、以下Gapdhと表す)遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、GapdhのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定したコントロール群におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの準定量値から、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの相対発現率を図1に示す。

実施例 3

[0078] 修飾核酸の異なるアンチセンスオリゴヌクレオチド(配列番号155)のin vitroおよびin vivoノックダウン活性

実施例1で得られたアンチセンス塩基配列（配列番号23）を修飾したC(M)C(M)AtgttgC(M)AA（配列番号155）をジーンデザインにて新たに合成し、*in vitro*および*in vivo*ノックダウン活性を測定した。ここで、小文字はDNAを、大文字はLNAを示し、C(M)は5-メチルシトシンLNAを示す。なお、いずれのアンチセンスオリゴヌクレオチドも各ヌクレオチドはリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合で置換されている。

*in vitro*ノックダウン活性は、アンチセンスオリゴヌクレオチド（配列番号155）の終濃度がそれぞれ30nM、10nM、3nM、1nM、0.3nMとなるように調整し、実施例1と同様な方法で3回測定した結果の平均値を表3に示した。*in vivo*ノックダウン活性は、アンチセンスオリゴヌクレオチド（配列番号155）を10 mg/kgずつマウスに皮下注投与し、実施例2と同様な方法で測定した結果を図2に示す。

[0079] [表3]

アンチセンス オリゴヌクレオチド濃度 (nM)	CFB相対発現量
30.0	0.016
10.0	0.051
3.0	0.148
1.0	0.374
0.3	0.552

[0080] 本出願は、日本国で出願された特願2016-21128（出願日：2016年2月5日）を基礎としており、ここで言及することにより、その内容は本明細書に全て包含される。

産業上の利用可能性

[0081] 本発明によりCFBの発現抑制活性を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド、該アンチセンスオリゴヌクレオチドを有効成分とする医薬組成物などが提供される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび医薬組成物は、CFBの発現を抑制し、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿

症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、G3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、喘息、自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等）などの補体第二経路の異常により媒介される障害の治療・予防に有用である。

請求の範囲

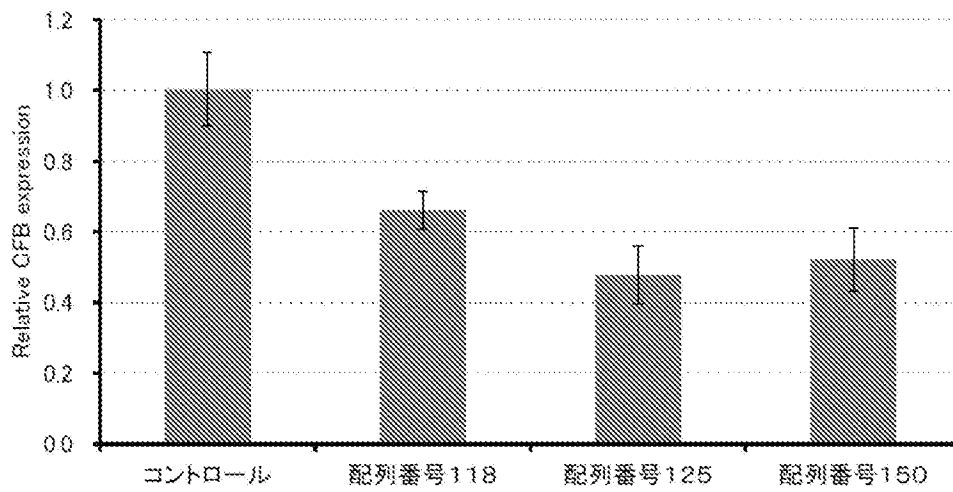
- [請求項1] 補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、配列番号53～103のいずれかで表される標的塩基配列からなる核酸にストリンジントな条件でハイブリダイズ可能な、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項2] 補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、配列番号2～52のいずれかで表されるアンチセンス塩基配列の連続する少なくとも8塩基を含む、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項3] 配列番号53～103のいずれかで表される塩基配列と相補的な塩基配列を含む、8～80塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項4] 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列を含む、請求項3に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項5] 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列において、1ないし数個の塩基が欠失、置換、挿入もしくは付加された配列を含む、請求項4に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項6] 配列番号2～52のいずれかで表される塩基配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項7] 5'末端近傍及び／又は3'末端近傍が糖部修飾ヌクレオチドで構成される、請求項1～6のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項8] 配列番号104～154及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項9] 配列番号118、125、150及び155のいずれかで表されるヌクレオチド配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項10] リガンドを含む、請求項1～9のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。
- [請求項11] 請求項1～10のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレ

オチドを含む、医薬組成物。

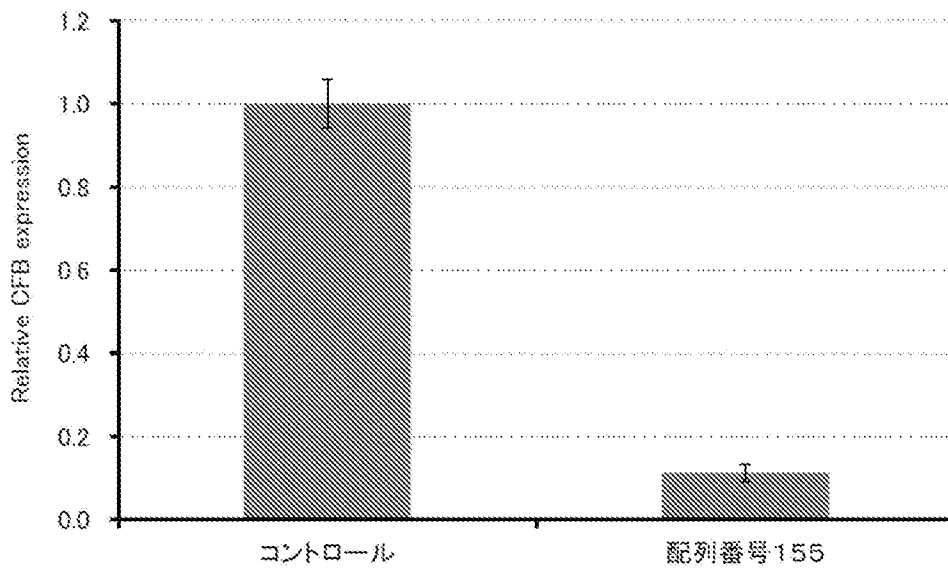
[請求項12] 補体第二経路の異常により媒介される障害を治療する方法であって、治療上有効量の、請求項1～10のいずれか一項に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド又は請求項11に記載の医薬組成物を、そのような治療を必要とするヒトに投与するステップを含む方法。

[請求項13] 前記障害が、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、喘息、又は自己免疫疾患である、請求項12に記載の方法。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/003904

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12N15/113(2010.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P11/06(2006.01)i, A61P13/00(2006.01)i, A61P13/12(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)n
 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)
C12N15/113, A61K31/7088, A61K48/00, A61P11/06, A61P13/00, A61P13/12, A61P27/02, A61P37/02, C12N5/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),
 CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.), 19 March 2015 (19.03.2015), claims 30, 39 to 53; tables 1 to 24 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A	1-13
A	WO 2015/188194 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.), 10 December 2015 (10.12.2015), (Family: none)	1-13
A	WO 2015/089368 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.), 18 June 2015 (18.06.2015), & JP 2017-500031 A & US 2016/0298124 A1 & EP 3080270 A2 & CN 105814205 A & KR 10-2016-0097307 A	1-13

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

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 18 April 2017 (18.04.17)	Date of mailing of the international search report 25 April 2017 (25.04.17)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/003904

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Document 1: WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.), 19 March 2015 (19.03.2015)

The inventions in claims 1-13 describe a matter to define the invention in an alternative form and have a common technical feature of "an antisense oligonucleotide suppressing the expression of complement factor B".

However, the above-said technical feature cannot be considered to be a special technical feature, since the technical feature does not make a contribution over the prior art in the light of the contents disclosed in the document 1. (Continued to extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/003904

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

Further, there is no other same or corresponding special technical feature between these inventions.

Thus, claims 1-13 involve 3,723 inventions [i.e., 51 (SEQ ID NOS: 2-52) × 73 (base length of 8-80)=3,723].

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/113(2010.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P11/06(2006.01)i, A61P13/00(2006.01)i, A61P13/12(2006.01)i, A61P27/02(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)n</p>												
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. C12N15/113, A61K31/7088, A61K48/00, A61P11/06, A61P13/00, A61P13/12, A61P27/02, A61P37/02, C12N5/10</p>												
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2017年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2017年	日本国実用新案登録公報	1996-2017年	日本国登録実用新案公報	1994-2017年	
日本国実用新案公報	1922-1996年											
日本国公開実用新案公報	1971-2017年											
日本国実用新案登録公報	1996-2017年											
日本国登録実用新案公報	1994-2017年											
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), REGISTRY (STN)</p>												
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">引用文献の カテゴリー*</th> <th style="width:70%;">引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th style="width:20%;">関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align:center;">X</td> <td>WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.03.19, Claim 30,39-53, Table 1-24 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A</td> <td style="text-align:center;">1-13</td> </tr> </tbody> </table>				引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.03.19, Claim 30,39-53, Table 1-24 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A	1-13			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号										
X	WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.03.19, Claim 30,39-53, Table 1-24 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A	1-13										
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。</p>		<p><input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>										
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>		<p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」同一パテントファミリー文献</p>										
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align:center;">18.04.2017</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align:center;">25.04.2017</p>										
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p style="text-align:center;">日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:60%;">特許庁審査官 (権限のある職員)</td> <td style="width:10%; text-align:center;">4B</td> <td style="width:30%; text-align:center;">3644</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">伊藤 良子</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>電話番号 03-3581-1101 内線</td> <td></td> <td style="text-align:center;">3448</td> </tr> </table>		特許庁審査官 (権限のある職員)	4B	3644	伊藤 良子			電話番号 03-3581-1101 内線		3448
特許庁審査官 (権限のある職員)	4B	3644										
伊藤 良子												
電話番号 03-3581-1101 内線		3448										

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2015/188194 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.12.10, (ファミリーなし)	1-13
A	WO 2015/089368 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.06.18, & JP 2017-500031 A & US 2016/0298124 A1 & EP 3080270 A2 & CN 105814205 A & KR 10-2016-0097307 A	1-13

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

文献1：WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.03.19

請求項1-13に係る発明は、発明を特定するための事項が選択肢で記載されており、「補体B因子の発現を抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチド」という共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献1の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、ほかに同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

したがって、請求の範囲1-13には、51（配列番号2～52）×73（8～80塩基長）=3,723の発明が含まれる。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。