

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6313419号

(P6313419)

(45) 発行日 平成30年4月18日(2018.4.18)

(24) 登録日 平成30年3月30日(2018.3.30)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 Z N A

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

A 6 1 P 35/04

請求項の数 18 (全 106 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-503160 (P2016-503160)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日(2014.3.14)
 (65) 公表番号 特表2016-519084 (P2016-519084A)
 (43) 公表日 平成28年6月30日(2016.6.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/029606
 (87) 国際公開番号 W02014/153209
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日(2014.9.25)
 審査請求日 平成29年3月10日(2017.3.10)
 (31) 優先権主張番号 61/937,438
 (32) 優先日 平成26年2月7日(2014.2.7)
 (33) 優先権主張国 米国(US)
 (31) 優先権主張番号 61/785,269
 (32) 優先日 平成25年3月14日(2013.3.14)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 518013693
 アンデス バイオテクノロジーズ グローバル、インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94010、バーリンゲーム、ミッテンロード 863、スイート 101
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74) 代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74) 代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌幹細胞の処置のためのアンチセンスオリゴヌクレオチド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

個体における転移がんを処置または抑制するための組成物であって、前記組成物は、

a. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、または

b. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNA

を含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を含み、前記1種または複数のオリゴヌクレオチドは、前記キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、前記個体は、がんに関して治療で予め処置されている、組成物。

【請求項2】

前記1種または複数のオリゴヌクレオチドが、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたアンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA分子に相補的である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記1種または複数のオリゴヌクレオチドが、配列番号7～198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項1または2に記載の組成物。

10

20

【請求項 4】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 種の抗がん剤と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキセタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミットロネート、ビアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される、請求項 4 に記載の組成物。

10

【請求項 6】

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、逐次的に投与されることを特徴とする、請求項 4 に記載の組成物。

20

【請求項 7】

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、同時に投与されることを特徴とする、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記オリゴヌクレオチドが、

(a) 放射線療法

(b) 外科手術；

(c) 同種幹細胞移植療法；および／または

(d) 自己幹細胞移植療法

と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 9】

前記個体が、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記個体における前記転移がんが、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキソルビシン、インターフェロン-α、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-α、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの 1 種または複数での処置後に再発している、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 11】

前記転移がんが、固形がんである、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記固形がんが、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記転移がんが、非固形がんである、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の組成物。

。

50

【請求項 1 4】

前記非固形がんが、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体におけるがん幹細胞数を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる、請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体における腫瘍増殖および／または転移を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する、請求項 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 1 7】

前記 1 種または複数のオリゴヌクレオチドが、1 0 ～ 5 0 個の核酸塩基の長さである、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 8】

前記 1 種または複数のオリゴヌクレオチドが、1 0 ～ 3 0 個の核酸塩基の長さである、請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

20

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 3 年 3 月 1 4 日に提出された米国仮特許出願第 6 1 / 7 8 5 , 2 6 9 号、2 0 1 3 年 3 月 1 5 日に提出された米国仮特許出願第 6 1 / 7 9 0 , 0 7 2 号、および 2 0 1 4 年 2 月 7 日に提出された米国仮特許出願第 6 1 / 9 3 7 , 4 3 8 号の優先権の利益を請求し、それぞれの内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

発明の分野

本発明は、がんに関して予め処置された個体におけるがんの転移または再発を処置および予防する方法における、非コードキメラミトコンドリア RNA に相補的なオリゴヌクレオチドおよびそれらの使用に関する。本発明はまた、非コードキメラミトコンドリア RNA に相補的なオリゴヌクレオチド、および個体における難治性がん（例えば、難治性 HPV 関連がん）の処置におけるそれらの使用にも関する。

30

【背景技術】

【0 0 0 3】

がんは、細胞性の悪性疾患であり、その独特な特色である細胞周期の正常な制御の損失は、無秩序な増殖、分化の欠如、および他の組織に侵入して転移する能力をもたらす。発がん現象は、正常細胞が悪性細胞に転換する多段階プロセスである（McKinnell ら、「The Biology Basis of Cancer」、3 章、1 9 9 8 年）。がんの病因論は複雑であり、細胞周期調節の変更、染色体異常および染色体切断を含む。感染因子（例えば、腫瘍ウイルス）、化学物質、放射線（例えば、紫外線または電離放射線）および免疫疾患が、発がん現象の主な原因であると考えられる（McKinnell ら、「The Biological Basis of Cancer」、3 章、1 9 9 8 年）。

40

【0 0 0 4】

近年の証拠によれば、腫瘍は、異なる生物学的特性を有する不均一な細胞集団が階層化され組織化されているという概説が支持されている。この腫瘍内の不均質性と腫瘍増殖とを説明する 2 つのモデルが提唱されている。このようなモデルの 1 つは、発生、進行、転移、および再出現などのがんの態様に関与すると考えられるがん幹細胞（CSC）に基づく。Chen ら、Acta Pharmacol Sin., 3 4 巻（6 号）：7 3 2 ～ 7 4 0 頁、2 0 1 3 年；Ponti ら、Cancer Res, 6 5 巻（1 3 号）：5 5 0 6 ～ 1 1 頁、2 0 0 5 年；Singh ら、Cancer Res, 6 3 巻：5 8 2 1 ～ 5 8 2 8 頁、2 0 0 3 年；および Feng ら、Oncology

50

Reports、22巻：1129～1134頁、2009年を参照されたい。CSCは、一般的に、腫瘍集団全体のうちの極めて小さい集団を示すが、CSCは、一般的に、腫瘍細胞の自己再生開始の部分集団、または新しい腫瘍を生じさせることができるがん細胞の小集団とみなされる。CSCは、これらに限定されないが、なかでも乳房、脳、血液、肝臓、腎臓、子宮頸部、卵巣、結腸、および肺がんなどの多数のがんで同定されている。Pontiら、Cancer Res、65巻（13号）：5506～11頁、2005年；Fengら、Oncology Reports、22巻：1129～1134頁、2009年；Zhangら、Cancer Res、68巻（11号）：4311：4320頁、2008年；Singhら、Cancer Res、63巻：5821～5828頁、2003年；Clarkeら、Cancer Res、66巻：9339頁、2006年；Senduraiら、Cell、133巻：704頁、2008年；Ohataら、Cancer Res、72巻：5101頁、2012年；およびMukhopadhyayら、Plos One、8巻（11号）：e78725頁、2013年）を参照されたい。

10

【0005】

腫瘍の外科的切除または原発腫瘍から生じる転移、それに続く抗がん治療の全身投与が、数種のがんを処置するための確立された臨床プロトコールである。一部のがんのタイプの処置については成功しているものの、がん処置の周知の合併症は、効果的に除去されない残留した腫瘍細胞またはCSCの生存であり、これは、寛解後に再発を引き起こし、腫瘍形成の原発部位で、または転移により遠位部位でがんが再発する可能性がある。近年、CSCは、化学療法抵抗性による寛解後の再発にも寄与する可能性があることが見出された。Domingo-Domenechら、Cancer Cell、22巻（3号）：373頁、2012年を参照されたい。それゆえに、再発および転移に寄与する細胞（例えば、CSC）を標的とすることができる治療剤の開発が必要である。このような治療剤の発見は、寛解後のがんの再出現（すなわち、再発）の予防または第2の部位への原発腫瘍の拡がり（すなわち、転移）の予防に有用な処置の開発を許容する可能性がある。Clarkeら、Cancer Res、66巻：9339頁、2006年を参照されたい。

20

本明細書で引用された全ての参考文献は、特許出願、特許公報、および科学文献を含め、それぞれ個々の参考文献が参照により組み入れられると具体的かつ個々に提示されたかのように参照により本明細書に組み入れられる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

30

【0006】

【非特許文献1】McKinnellら、「The Biology Basis of Cancer」、3章、1998年

【非特許文献2】Chenら、Acta Pharmacol Sin.、34巻（6号）：732～740頁、2013年

【非特許文献3】Pontiら、Cancer Res、65巻（13号）：5506～11頁、2005年

【非特許文献4】Singhら、Cancer Res、63巻：5821～5828頁、2003年

【非特許文献5】Fengら、Oncology Reports、22巻：1129～1134頁、2009年

40

【非特許文献6】Zhangら、Cancer Res、68巻（11号）：4311：4320頁、2008年

【非特許文献7】Clarkeら、Cancer Res、66巻：9339頁、2006年

【非特許文献8】Senduraiら、Cell、133巻：704頁、2008年

【非特許文献9】Ohataら、Cancer Res、72巻：5101頁、2012年

【非特許文献10】Mukhopadhyayら、Plos One、8巻（11号）：e78725頁、2013年

【非特許文献11】Domingo-Domenechら、Cancer Cell、22巻（3号）：373頁、2012年

【発明の概要】

50

【課題を解決するための手段】

【0007】

本明細書で示された発明は、とりわけ、個体におけるがんの転移を抑制する方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (A S n c m t RNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (S n c m t RNA) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を開示している。一部の実施形態において、逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、または逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAを含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に、オリゴヌクレオチドが十分に相補的である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t RNA分子に相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t RNA分子に少なくとも85%相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7〜198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含んでいてもよい。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1種の抗がん剤と組み合わせて投与されてもよい。さらなる実施形態において、少なくとも1種の抗がん剤は、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン (liposomal daunorubicin)、シタラビン、ドキシセタキソール (doxetaxol)、パシリタキセル (pacilitaxel)、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレリビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート (palmitronate)、ピアキシン (biaxin)、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキシソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム (estrainustine sodium phosphate)、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、逐次的に投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、同時に投与される。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、放射線療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、外科手術と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されていてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体におけるがんは、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロ

10

20

30

40

50

シーアルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロナーアルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数での処置後に再発していてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、固形がんは、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、非固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、非固形がんは、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体におけるがん幹細胞数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させることができる。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害することができる。

【0008】

一態様において、本明細書で示された発明は、個体におけるがんの再発を予防するための方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (ASncmtRNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (SncmtRNA) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を開示している。さらなる実施形態において、逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、または、逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAを含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に、オリゴヌクレオチドが十分に相補的である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたASncmtRNA分子に相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたASncmtRNA分子に少なくとも85%相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7~198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含んでいてもよい。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1種の抗がん剤と組み合わせて投与されてもよい。さらなる実施形態において、少なくとも1種の抗がん剤は、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロナーアルファ、ペグ化インターフェロナーアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキセタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ピノレルビン、ゾレドロン酸、パルミットロネート、ビアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、逐次

10

20

30

40

50

的に投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、同時に投与される。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、放射線療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、外科手術と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されていてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体におけるがんは、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロナーアルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロナーアルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数での処置後に再発していてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、固形がんは、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、非固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、非固形がんは、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体における幹細胞数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させることができる。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害することができる。

【0009】

さらに別の態様において、本明細書で示された発明は、個体における転移がんを処置するための方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を開示している。さらなる実施形態において、逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、または逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAを含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に、オリゴヌクレオチドが十分に相補的である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t R N A分子に相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t R N A分子に少なくとも85%相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7〜198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含んでいてもよい。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1種の抗がん剤と組み合わせて投与されてもよい。さらなる実施形態において、少なくとも1種の抗がん剤は、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾ

10

20

30

40

50

ロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リボソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキセタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ピアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキシソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、逐次的に投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、同時に投与される。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、放射線療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、外科手術と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されていてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、個体における転移がんは、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数での処置後に再発していてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、固形がんは、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、非固形がんであってもよい。さらなる実施形態において、非固形がんは、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体におけるがん幹細胞数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させることができる。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害することができる。

【0010】

さらに別の態様において、本明細書で示された発明は、個体における難治性がん（例えば、難治性HPV関連がん）を処置するための方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができる、方法を開示している。さらなる実施形態において、逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、または逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAを含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に、オリゴヌクレオチドが十分に相補的である。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコー

10

20

30

40

50

ドされた A S n c m t R N A 分子に相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t R N A 分子に少なくとも 85% 相補的であってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、1 種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号 7 ~ 198 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含んでいてもよい。一部の実施形態において、1 種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号 36、197 および 198 からなる群から選択される核酸配列を含む。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 種の抗がん剤と組み合わせて投与されてもよい。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも 1 種の抗がん剤は、逐次的に投与される。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも 1 種の抗がん剤は、同時に投与される。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、放射線療法と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、外科手術と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体におけるがん幹細胞数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させることができる。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドは、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害することができる。

【0011】

別の態様において、本明細書に記載の発明は、アンチセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドと、本明細書で開示されたいずれかの方法を実施するための説明書とを含むキットを提供する。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

個体におけるがんの転移を抑制する方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を前記個体に投与することを含み、前記オリゴヌクレオチドは、前記キメラミトコンドリア RNA 分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、前記個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法。

(項目 2)

前記オリゴヌクレオチドが、

a. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、アンチセンス 16S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、アンチセンス 16S ミトコンドリアリボゾーム RNA、または

b. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、センス 16S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、センス 16S ミトコンドリアリボゾーム RNA

を含むヒト非コードキメラミトコンドリア RNA 分子に十分に相補的である、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t R N A 分子に相補的である、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t R N A 分子に少なくとも 85% 相補的である、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 5)

前記 1 種または複数のオリゴヌクレオチドが、配列番号 7～198 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6)

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 種の抗がん剤と組み合わせて投与される、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7)

前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、グリアダデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキシタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ピアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキシソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される、項目 6 に記載の方法。

(項目 8)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、逐次的に投与される、項目 6 に記載の方法。

(項目 9)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、同時に投与される、項目 6 に記載の方法。

(項目 10)

前記オリゴヌクレオチドが、放射線療法と組み合わせて投与される、項目 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 11)

前記オリゴヌクレオチドが、外科手術と組み合わせて投与される、項目 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 12)

前記オリゴヌクレオチドが、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 13)

前記オリゴヌクレオチドが、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目 1 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 14)

前記個体が、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている、項目 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 15)

前記個体における前記がんが、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの 1 種または複数での処置後に再発している、項目 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 16)

前記がんが、固形がんである、項目 1 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 17)

前記固形がんが、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、

10

20

30

40

50

食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである、項目 16 に記載の方法。

(項目 18)

前記がんが、非固形がんである、項目 1 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 19)

前記非固形がんが、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である、項目 18 に記載の方法。

(項目 20)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体におけるがん幹細胞数を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる、項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 21)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体における腫瘍増殖および／または転移を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する、項目 1 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 22)

個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (A S n c m t RNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (S n c m t RNA) 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を前記個体に投与することを含み、前記オリゴヌクレオチドは、前記キメラミトコンドリア RNA 分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、前記個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法。

(項目 23)

前記オリゴヌクレオチドが、

a. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、アンチセンス 16 S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、アンチセンス 16 S ミトコンドリアリボゾーム RNA、または

b. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、センス 16 S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、センス 16 S ミトコンドリアリボゾーム RNA

を含むヒト非コードキメラミトコンドリア RNA 分子に十分に相補的である、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t RNA 分子に相補的である、項目 22 または 23 に記載の方法。

(項目 25)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t RNA 分子に少なくとも 85% 相補的である、項目 22 または 23 に記載の方法。

(項目 26)

前記 1 種または複数のオリゴヌクレオチドが、配列番号 7 ~ 198 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、項目 22 から 25 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 27)

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 種の抗がん剤と組み合わせて投与される、項目 22 から 26 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 28)

前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、

10

20

30

40

50

エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリ
 アデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、
 タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-1
 1、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シス
 プラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シ
 タラビン、ドキシタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CS
 F、ダカルバジン、ビンORELビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ビアキシン、ブス
 ルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチ
 ン、ドキシソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラム
 スチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される、項
 目27に記載の方法。

10

(項目29)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも1種の抗がん剤が、逐次的に投与される、
 項目27に記載の方法。

(項目30)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも1種の抗がん剤が、同時に投与される、
 項目27に記載の方法。

(項目31)

前記オリゴヌクレオチドが、放射線療法と組み合わせて投与される、項目22から30
 のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目32)

前記オリゴヌクレオチドが、外科手術と組み合わせて投与される、項目22から31の
 いずれか一項に記載の方法。

(項目33)

前記オリゴヌクレオチドが、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目22
 から32のいずれか一項に記載の方法。

(項目34)

前記オリゴヌクレオチドが、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目22
 から32のいずれか一項に記載の方法。

(項目35)

前記個体が、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せ
 を含む治療で予め処置されている、項目22から34のいずれか一項に記載の方法。

30

(項目36)

前記個体における前記がんが、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、
 ドキシソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化
 インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1
 種または複数での処置後に再発している、項目22から35のいずれか一項に記載の方法
 。

(項目37)

前記がんが、固形がんである、項目22から36のいずれか一項に記載の方法。

40

(項目38)

前記固形がんが、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、
 食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓が
 ん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである、項目37に
 記載の方法。

(項目39)

前記がんが、非固形がんである、項目22から36のいずれか一項に記載の方法。

(項目40)

前記非固形がんが、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である、項目39に記載の
 方法。

50

(項目 4 1)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体におけるがん幹細胞数を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる、項目 2 2 から 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 2)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体における腫瘍増殖および／または転移を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する、項目 2 2 から 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 3)

個体における転移がんを処置するための方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリア RNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を前記個体に投与することを含み、前記オリゴヌクレオチドは、前記キメラミトコンドリア RNA 分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、前記個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法。

(項目 4 4)

前記オリゴヌクレオチドが、

a. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、アンチセンス 1 6 S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、アンチセンス 1 6 S ミトコンドリアリボゾーム RNA、または

b. 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの 3' 末端に、センス 1 6 S ミトコンドリアリボゾーム RNA の 5' 末端で共有結合で連結された、センス 1 6 S ミトコンドリアリボゾーム RNA を含むヒト非コードキメラミトコンドリア RNA 分子に十分に相補的である、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t R N A 分子に相補的である、項目 4 3 または 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4、配列番号 5、および配列番号 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされた A S n c m t R N A 分子に少なくとも 8 5 % 相補的である、項目 4 3 または 4 4 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記 1 種または複数のオリゴヌクレオチドが、配列番号 7 ~ 1 9 8 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、項目 4 3 から 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 種の抗がん剤と組み合わせて投与される、項目 4 3 から 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、C P T - 1 1、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキセタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、I L - 2、G M - C S F、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ビアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキソルビシン、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラム

10

20

30

40

50

スチンリン酸ナトリウム、スリンダク、およびエトポシドからなる群から選択される、項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、逐次的に投与される、項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 1)

前記オリゴヌクレオチドおよび前記少なくとも 1 種の抗がん剤が、同時に投与される、項目 4 8 に記載の方法。

(項目 5 2)

前記オリゴヌクレオチドが、放射線療法と組み合わせて投与される、項目 4 3 から 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 3)

前記オリゴヌクレオチドが、外科手術と組み合わせて投与される、項目 4 3 から 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 4)

前記オリゴヌクレオチドが、同種幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目 4 3 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 5)

前記オリゴヌクレオチドが、自己幹細胞移植療法と組み合わせて投与される、項目 4 3 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 6)

前記個体が、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている、項目 4 3 から 5 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 7)

前記個体における前記転移がんが、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキソルビシン、インターフェロン-α、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-α、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの 1 種または複数での処置後に再発している、項目 4 3 から 5 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 8)

前記がんが、固形がんである、項目 4 3 から 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 9)

前記固形がんが、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんである、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

前記がんが、非固形がんである、項目 4 3 から 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 1)

前記非固形がんが、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫である、項目 6 0 に記載の方法。

(項目 6 2)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体におけるがん幹細胞数を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる、項目 4 3 から 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 3)

前記オリゴヌクレオチドが、前記個体における腫瘍増殖および／または転移を、前記オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する、項目 4 3 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 4)

10

20

30

40

50

アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (ASncmtRNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (SncmtRNA) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドと、項目1から63のいずれか一項に記載の方法を実施するための説明書とを含むキット。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、結腸がん細胞中で形成されたスフィア (spheres) の数に対するASncmtRNAに標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドの作用を、これらのスフェロイド体 (spheroid bodies) を形成するがん幹細胞の特異的な能力に基づき測定するための、本明細書で利用された実験手順およびアッセイの一般的なスキームを表す。

10

【0013】

【図2】図2は、処置なし、リポフェクトアミンのみでの処置、対照オリゴヌクレオチド (対照オリゴ154) での処置、またはASncmtRNA (ASO1537S) に標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) での処置後の、初代結腸腫瘍がん細胞中で形成されたスフィアの代表的な例を表す。ASO1537Sでの処置が、スフィアの形成を停止させた。

【0014】

【図3】図3は、初代結腸腫瘍細胞のスフィアを形成する能力の定量化を表す。植え付けられた細胞総数のおよそ0.6%が、スフィアを形成することができた。ASO1537Sでトランスフェクトされた細胞は、スフィアを形成することができなかった。

20

【0015】

【図4】図4は、処置なし、リポフェクトアミンのみでの処置、対照オリゴヌクレオチド (対照オリゴ154) での処置、またはASncmtRNA (ASO1107S) に標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドでの処置後の、HCT-116結腸がん細胞株からの細胞中で形成されたスフィアの代表的な例を表す。ASO1107Sでの処置が、スフィアの形成を停止させた。

【0016】

【図5】図5は、HCT-116結腸がん細胞のスフィアを形成する能力の定量化を表す。植え付けられた細胞総数のおよそ0.3%が、スフィアを形成することができた。ASO1107Sでトランスフェクトされた細胞は、スフィアを形成することができなかった。

30

【0017】

【図6】図6は、子宮頸がんのSiHa細胞株および子宮頸部腫瘍の初代培養細胞によって形成されたスフィアの数に対するASncmtRNAに標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドの作用を測定するための、本明細書で利用された実験手順およびアッセイの一般的なスキームを表す。このアッセイは、がん幹細胞の、本明細書ではスフェロイド体とも称されるスフィアを形成する能力に基づく。

【0018】

【図7】図7は、処置なし (NT)、対照オリゴヌクレオチドでの処置 (対照オリゴ154: ASO-C)、もしくはASncmtRNA (ASO1537S) に標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドでの処置または45 μMシスプラチン (CISP) での処置後の、子宮頸がんのSiHa細胞株および子宮頸部腫瘍の初代培養細胞によって形成されたスフィアの代表的な例を表す。ASO1537Sでの処置が、スフィアの形成を停止させた。初代培養から得られたCerCa3細胞をHPV45で感染させると、HPV16に感染させた初代培養から得られた他の2種の細胞と比較して、シスプラチンでの処置に対して耐性になる。

40

【0019】

【図8】図8は、処置済みまたは未処置のSiHa細胞株および初代子宮頸部腫瘍細胞 (CerCa1、CerCa2およびCerCa3) によるスフィアの形成の定量化を表す。ASO1537Sでトランスフェクトされた細胞は、スフィアを形成することができな

50

かった。HPV45に感染させたCerCa3初代培養は、シスプラチンでの処置に対して耐性になったが、ASO1537Sでの処置に対しては耐性を示さなかった。

【0020】

【図9】図9は、皮内黒色腫瘍の外科的除去後、ASO1560S（四角）で処置されたマウスの肺および肝臓では、腫瘍再発および転移性小結節が存在しなかったが、対照オリゴ154（丸）で処置されたマウスの肺および肝臓ではそうではなかったことを表す。

【0021】

【図10】図10は、対照オリゴ154で処置されたマウスの肺および肝臓では、腫瘍再発である転移性の黒い小結節が存在したが、ASO1560Sで処置されたマウスの肺および肝臓ではそうではなかったことを表す。

10

【0022】

【図11】図11は、皮内腎臓癌腫瘍の外科的除去後、ASO1560Sで処置されたマウス（三角）では腫瘍再発が存在せず全て生存したが、対照ASO154で処置されたマウス（四角）ではそうではなかったことを表す。

【0023】

【図12】図12は、皮内腎臓癌腫瘍の外科的除去後、ASO1560Sで処置されたマウス（四角）では再発が存在せず生存したが、対照ASO154（丸）ではそうではなかったことを表す。

【0024】

【図13】図13は、皮内黒色腫瘍の外科的除去後、ASO1560Sで処置されたマウスでは腫瘍再発が存在せず全て生存したが、対照ASO154ではそうではなかったことを表す。

20

【0025】

【図14】図14は、皮下膀胱癌の腫瘍の外科的除去後、ASO1560Sで処置されたマウスでは腫瘍が存在せず全て生存したが、対照ASO154ではそうではなかったことを表す。ipは、腹膜内投与を示し、ivは、静脈内投与を示す。

【0026】

【図15】図15は、ヒトA375黒色腫瘍の除去後、ASO1537Sで処置されたRag- γ マウスでは腫瘍の低減と生存の増加を示したが、対照ASO154ではそれが示されなかったことを表す。

30

【発明を実施するための形態】

【0027】

本明細書で示された発明は、とりわけ、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA（ASncmtRNA）分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA（SncmtRNA）分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物、および個体におけるがんの転移を抑制するためのそれらの使用を開示している。ある特定の実施形態において、本発明は、ASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物、および個体におけるがんの再発を処置または予防するためのそれらの使用を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、ASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物、および個体における転移がんを処置するためのそれらの使用を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、ASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組成物、および個体における難治性がん（例えば、難治性HPV関連がん）を処置するためのそれらの使用を提供する。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、個体は、がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ）で予め処置されている。

40

【0028】

I. 一般的な技術

本発明の実施は、特に他の指定がない限り、当業者周知の、従来の分子生物学、微生物

50

学、細胞生物学、生化学、核酸化学、および免疫学の技術を採用すると予想される。このような技術は、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版 (Sambrookら、1989年) およびMolecular Cloning: A Laboratory Manual、第3版 (SambrookおよびRussell、2001年)、(本明細書では合わせて、「Sambrook」と称する) ; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubelら編、1987年、2001年までの付録を含む) ; PCR: The Polymerase Chain Reaction、(Mullisら編、1994年) ; HarlowおよびLane (1988年) Antibodies, A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Publications、New York ; HarlowおよびLane (1999年) Using Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY (本明細書では合わせて、「HarlowおよびLane」と称する)、Beaucageら編、Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry、John Wiley & Sons, Inc.、New York、2000年)、Handbook of Experimental Immunology、第4版 (D. M. WeirおよびC. C. Blackwell編、Blackwell Science Inc.、1987年) ; およびGene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. MillerおよびM. P. Calos編、1987年) などの文献で詳細に説明されている。他の有用な参考文献としては、HarrisonのPrinciples of Internal Medicine (McGraw Hill ; J. Isselbacherら編)、DuboisのLupus Erythematosus (第5版 ; D.J. WallaceおよびB.H. Hahn編) が挙げられる。

10

【0029】

II. 定義

20

本発明を詳細に説明する前に、この発明は特定の組成物または生物系に限定されず、それらは当然ながら様々であってもよいことが理解されているものとする。また、本明細書において使用される用語は、単に特定の実施形態を説明する目的のためであり、限定を意図していないことも理解されているものとする。

【0030】

単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、本明細書で使用される場合、特に他の指定がない限り、複数形の対象物を含む。したがって、例えば、「オリゴヌクレオチド(an oligonucleotide)」と述べられる場合、場合により、2種またはそれより多くのこのようなオリゴヌクレオチド、および同種のものの組合せを含み得る。

30

【0031】

本明細書で説明した本発明の態様および実施形態は、態様および実施形態「を含む」、態様および実施形態「からなる」、ならびに態様および実施形態「から本質的になる」ことを含むと理解される。

【0032】

「単離された」核酸分子(例えば、「単離されたオリゴヌクレオチド」)は、核酸の自然源中で通常付随する少なくとも1種の汚染核酸分子から同定され分離された核酸分子である。単離された核酸分子は、天然に見出される形態または状態以外の形態または状態である。それゆえに単離された核酸分子は、天然の細胞中に存在するような核酸分子とは区別される。

40

【0033】

用語「アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なオリゴヌクレオチド」または「センス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なオリゴヌクレオチド」は、本明細書で使用される場合、それぞれ標的アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAまたは標的センス非コードキメラミトコンドリアRNAに対して十分な配列相補性を有する核酸を指す。標的アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAまたは標的センス非コードキメラミトコンドリアRNAに対して「十分に相補的な」オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドが、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして安定な二重鎖を形成するのに十分な配列を有することを意味する。

【0034】

50

用語「オリゴヌクレオチド」は、ヌクレオチドおよび／またはヌクレオチド類似体の短い重合体を指す。本発明の「オリゴヌクレオチド組成物」は、1種または複数のオリゴヌクレオチドを含有するあらゆる物質、化合物または組成物を含み、さらに、例えば、一本鎖および／または二本鎖（ds）オリゴヌクレオチドの両方、例えば、一本鎖RNA、一本鎖DNA、DNA／DNAおよびRNA／DNAハイブリッドオリゴヌクレオチド、加えてそれらの誘導体化／改変されたオリゴヌクレオチドなどを含む組成物を含む。またこのような「オリゴヌクレオチド組成物」は、増幅したオリゴヌクレオチド産物、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）産物を含む場合もある。また本発明の「オリゴヌクレオチド組成物」は、オリゴヌクレオチド活性を模擬するように設計された、当技術分野で認識されている組成物、例えばペプチド核酸（PNA）分子を含む場合もある。

10

【0035】

表現「～に対応する」または「～に対応する配列」は、それが本明細書で説明されるRNA（例えば、ASncmtRNA）に関する場合、RNAが、本明細書で説明されるRNAまたは類似のDNAによってコードされたRNAと同一であるかまたはそれと実質的に同じ配列を有することを示す。例えば、配列番号4に対応するASncmtRNAは、ASncmtRNAが、配列番号203のRNAまたは配列番号4の類似のDNAによってコードされたRNAと同一であるかまたはそれと実質的に同じ配列を有することを示す。

【0036】

参照ヌクレオチド配列（例えば、SncmtRNA配列またはASncmtRNA配列）に対する「パーセント（％）核酸配列同一性」または「パーセント（％）相補性」は、配列を並べ、必要に応じて最大のパーセント配列同一性が達成されるようにギャップを導入して、さらに配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮に入れなかった場合の、参照ヌクレオチド配列中の核酸残基と同一な、候補配列（例えば、オリゴヌクレオチド配列）中の核酸残基のパーセンテージと定義される。パーセント核酸配列同一性を決定する目的のためのアライメントは、当技術分野における能力の範囲内の様々な方法で達成でき、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの公共的に利用可能なコンピューターソフトウェアを使用して達成できる。当業者であれば、比較される配列の全長にわたり最大のアライメントを達成するのに必要なあらゆるアルゴリズムなどの、配列のアライメントに適したパラメーターを決定することができる。例えば、所与の核酸配列Bへの、所与の核酸配列Bとの、または所与の核酸配列Bに対する所与の核酸配列Aの％核酸配列同一性（これは、その代わりに、所与の核酸配列Bへの、所与の核酸配列Bとの、または所与の核酸配列Bに対する所定の％核酸配列同一性を有するかまたは含む所与の核酸配列Aと述べることもできる）は、

20

30

$$100 \times \text{分数 } X / Y$$

のように計算され、式中Xは、そのプログラムのAおよびBのアライメント中の配列に対して完全一致とスコア付けされた核酸残基の数であり、Yは、B中の核酸残基の総数である。核酸配列Aの長さが核酸配列Bの長さに等しくない場合、AのBに対する％核酸配列同一性は、BのAに対する％核酸配列同一性と等しくなくなることが理解されよう。

40

【0037】

「障害」または「疾患」は、本発明の物質／分子または方法での処置によって利益を得ると予想されるあらゆる状態である。これは、哺乳動物を問題の障害に罹りやすくする病態も含めた、慢性および急性の障害または疾患を含む。一実施形態において、障害または疾患は、がんである。別の実施形態において、障害または疾患は、転移がんである。

【0038】

用語「がん」は、典型的には無秩序な細胞増殖／増殖を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか、またはそのような状態を説明している。がんの例としては、これらに限定されないが、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病が挙げられる。

【0039】

50

用語「転移がん」または「がん転移」は、転移可能な原発性がんを指すか、または体の一部由来の原発性がん、原発性がん組織または原発性がん細胞（例えば、がん幹細胞）から1つまたは複数の体の他の部分へ拡がって（すなわち、転移して）、二次がんまたは二次がん（複数）を形成するがんを指す。また転移がんまたはがん転移は、原発性がんから隣接する組織またはリンパ節に拡がった局所進行がんも指す。転移がんは、高グレードおよび／または高ステージであると定義された腫瘍を含み、例えば前立腺がんにおけるグリソンスコアが6かまたはそれより高い腫瘍は、転移する可能性がより高い。また転移がんは、転移と関連する1種または複数の分子マーカーによって定義された腫瘍も指す。

【0040】

用語「再発したがん」、「がんの再発」、「がん再発」、または「腫瘍再発」は、改善期間後にがんが戻ったりまたは再出現したりすることを指す。典型的には、改善期間は、がんの徴候および症状の減少または消失をもたらす治療を施した後である。改善期間は、がんの全ての徴候および症状の減少または消失であってもよい。また改善期間は、がんの全てではないがいくつかの徴候および症状の減少または消失であってもよい。一部の実施形態において、再発したがんは、薬物または治療に応答しなくなった、または部分的に応答しなくなったがんである。例えば、ただし限定されないが、再発したがんとしては、薬物または治療での処置が成功した後にはいかなる処置もなされずに最初の進行が起こる、患者におけるがん；処置時、または処置の60日間以内に進行する、患者におけるがん；および処置を受けている間に進行する、患者におけるがんが挙げられる。

【0041】

用語「がん幹細胞」、「がん幹細胞」または「CSC」は、本明細書で使用される場合、腫瘍細胞またはがん細胞の部分集団を指す。がん幹細胞は、特定のがんまたは腫瘍に見出される異なる細胞型を生じさせる能力などの正常幹細胞に関連する特徴を有する。がん幹細胞は、自己再生および／または分化を介して腫瘍または腫瘍（複数）の産生または形成に至らせる能力を有する。がん幹細胞は、これらに限定されないが、なかでも乳房、脳、血液、肝臓、腎臓、子宮頸部、卵巣、結腸、および肺がんなどの多数のがんで同定されている。

【0042】

「処置」は、本明細書で使用される場合、処置中の個体または細胞の自然の経過を変更する試みにおける臨床的介入を指し、予防的処置のため、または臨床病理学的な経過中のいずれかに行うことができる。処置の所望の作用としては、疾患の出現または再出現の予防、症状の緩和、疾患のあらゆる直接的または間接的な病理学的帰結の軽減、転移の予防または抑制、疾患の進行速度の減少、病状の改善または一時的緩和、および寛解または予後改善が挙げられる。一部の実施形態において、本明細書で説明されるオリゴヌクレオチドは、転移を予防または抑制するのに使用される。例えば、個体が、以下に示すものの1つまたは複数における識別可能および／もしくは測定可能な低減または非存在、すなわち、がん細胞の数の減少またはがん細胞の非存在；腫瘍サイズの低減；軟部組織および骨へのがんの拡がりなどの、末梢器官へのがん細胞浸潤の阻害（すなわち、ある程度遅くする、好ましくは止めること）；腫瘍転移の阻害（すなわち、ある程度遅くする、好ましくは止めること）；腫瘍増殖または腫瘍再発のある程度の阻害；ならびに／または具体的ながんに関連する症状の1種または複数のある程度の軽減；罹患率および死亡率の低減、および生活の質の問題における改善を示す場合、個体は、本発明のオリゴヌクレオチドを使用してうまく「処置」されている。

【0043】

用語「予防」は、本明細書で使用される場合、個体における疾患の出現または再出現に関して予防的処置を提供することを含む。個体は、障害に罹りやすい個体、障害に影響を受けやすい個体、または障害を発症させる危険を有する可能性があるがまだその障害と診断されていない個体であってもよい。一部の実施形態において、本明細書で説明されるオリゴヌクレオチドは、転移を予防または抑制するのに使用される。

【0044】

障害を発症させる「危険を有する」個体は、本明細書で使用される場合、検出可能な疾患または疾患の症状を有していてもよいし、またはそうでなくてもよく、さらに、本明細書で説明される処置方法の前に、検出可能な疾患または疾患の症状が現れていてもよいし、またはそうでなくてもよい。「危険を有する」は、当技術分野で公知のように、個体が、がん（例えば、転移がん）の発症と相関する測定可能なパラメーターである1種または複数の危険因子を有することを示す。これらの危険因子の1つまたは複数を有する個体は、これらの危険因子の1つまたは複数を有さない個体よりも高い、障害を発症させる確率を有する。

【0045】

「個体」または「対象」は、脊椎動物、哺乳動物、またはヒトであってもよい。哺乳動物としては、これらに限定されないが、家畜（例えばウシ）、競技用動物、ペット（例えばウマ）、霊長類、マウスおよびラットが挙げられる。個体としてはまた、これらに限定されないが、イヌおよびネコなどのコンパニオンアニマルも挙げられる。一態様において、個体は、ヒトである。

10

【0046】

「健康管理の専門家」としては、本明細書で使用される場合、これらに限定されないが、医者、看護師、医師のアシスタント、実験技術者、科学研究者、それらに採用された事務員、または診断の決定、診断、診断の補助に関与する、もしくは個体の処置経過に影響を与えるあらゆる人を挙げることができる。

【0047】

20

「有効量」は、所望の治療または予防結果をもたらすのに効果的な、単回用量または一連の用量の一部のいずれかとして個体に投与される、オリゴヌクレオチドまたは他の抗がん治療剤などの治療化合物の量を指す。

【0048】

「治療有効量」は、特定の障害の測定可能な改善を達成するのに必要な少なくとも最小の濃度である。本明細書に記載の治療有効量は、患者の病状、年齢、性別、および体重などの要素、ならびに個体において所望の応答を惹起するオリゴヌクレオチドの能力に従って変更が可能である。また治療有効量は、治療上の有益な作用が、オリゴヌクレオチドのあらゆる毒性または有害作用を上回る量であってもよい。がんのケースにおいて、オリゴヌクレオチドの治療有効量は、がん細胞の数を減少させる；腫瘍サイズを低減する；末梢器官へのがん細胞浸潤を阻害する（すなわち、ある程度遅くする、好ましくは止める）；腫瘍転移を阻害する（すなわち、ある程度遅くする、好ましくは止める）；腫瘍増殖をある程度阻害する；および／またはがんに関連する症状の1つまたは複数をある程度寛解させることができる。オリゴヌクレオチドは、存在するがん細胞の増殖および／または死滅を予防し得る程度に、細胞増殖抑制性および／または細胞毒性であってもよい。

30

【0049】

「予防有効量」は、所望の予防結果を達成するのに必要な、投薬時および期間における有効な量を指す。例えば、本発明のオリゴヌクレオチドの予防有効量は、転移がんの少なくとも1つの症状の発症を予防したりまたは弱めたりする、少なくとも最小の濃度である。

40

【0050】

1種または複数のさらなる治療剤と「組み合わせた」投与は、同時（並行）投与およびあらゆる順番での連続投与を含む。

【0051】

用語「医薬製剤」は、活性成分の生物活性の有効性がもたらされるような形態である調製物、さらに、製剤が投与される予定の対象に対して容認し難い程の毒性を有する追加の構成要素を含有しない調製物を指す。このような製剤は、滅菌されている。

【0052】

「滅菌」製剤は、無菌であるか、またはあらゆる生きた微生物およびそれらの胞子を含まない。

50

【0053】

用語「添付文書」は、通例、治療用製品の商業的なパッケージに含まれており、このような治療用製品の使用に関する指示、使用法、投薬量、投与法、禁忌および／または警告についての情報を含有する説明書を指すのに使用される。

【0054】

用語「約」は、本明細書で使用される場合、本発明の分野における当業者にすでに公知の、それぞれの値についての通常の誤差範囲を指す。

【0055】

本明細書全体で示された最大の数値限定それぞれが、それより小さい各数値限定が本明細書で明記されているかのように、そのようなより小さい数値限定を含むことが意図される。本明細書全体で示された最小の数値限定それぞれが、それより高い各数値限定が本明細書で明記されているかのように、そのようなより高い数値限定を含むと予想される。本明細書全体で示された数値範囲それぞれが、それより狭い各数値範囲が全て本明細書で明記されているかのように、そのようなより広い数値範囲内に当てはまるそのようなより狭い数値範囲を含むと予想される。

【0056】

I I I . オリゴヌクレオチドおよび他の抗がん治療

ヒト細胞は、多数の独特なキメラミトコンドリアRNA分子を発現する。これらの分子は、非コードであり（すなわち、これらは、タンパク質の翻訳のための鋳型として働くことが知られていない）、逆位反復配列に5'末端で共有結合で連結された16SミトコンドリアリボゾームRNAを含む。キメラミトコンドリアRNA分子は、2つの形態、すなわちセンスおよびアンチセンスで見出される。

【0057】

センスキメラ非コードミトコンドリアRNA (SncmtRNA) 分子は、環状のミトコンドリアゲノムの「H鎖」から転写された16SミトコンドリアリボゾームRNAに対応する。ミトコンドリアの16S遺伝子の「L鎖」から転写されたRNAに対応するヌクレオチド配列または逆位反復配列は、このRNA分子の5'末端に共有結合で連結されている。SncmtRNAにおける逆位反復配列のサイズは、約25、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、もしくは800ヌクレオチドまたはそれより多くから、約100~200、150~250、200~300、250~350、400~500、450~550、500~600、550~650、600~700、650~750、または700~800ヌクレオチドまたはそれより多くの範囲まで、これらの値の間の全ての数値を含め様々であってもよい。一実施形態において、SncmtRNAにおける逆位反復配列は、ミトコンドリアゲノムの16S遺伝子のL鎖から転写されたRNAの815ヌクレオチドの断片に対応する。別の実施形態において、SncmtRNAにおける逆位反復配列は、ミトコンドリアゲノムの16S遺伝子のL鎖から転写されたRNAの754ヌクレオチドの断片に対応する。さらなる別の実施形態において、SncmtRNAにおける逆位反復配列は、ミトコンドリアゲノムの16S遺伝子のL鎖から転写されたRNAの694ヌクレオチドの断片に対応する。別の実施形態において、SncmtRNAは、配列番号1、配列番号2、または配列番号3に対応する。別の実施形態において、SncmtRNAは、配列番号200、配列番号201、および配列番号202からなる群から選択される配列を含む。

【0058】

アンチセンスキメラ非コードミトコンドリアRNA (ASncmtRNA) 分子は、環状のミトコンドリアゲノムの「L鎖」から転写された16SミトコンドリアリボゾームRNAに対応する。ミトコンドリアの16S遺伝子の「H鎖」から転写されたRNAに対応するヌクレオチド配列または逆位反復配列は、このRNA分子の5'末端に共有結合で連結されている。ASncmtRNAにおける逆位反復配列のサイズは、約25、50、7

5、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775、800ヌクレオチドまたはそれより多くから、約100～200、150～250、200～300、250～350、400～500、450～550、500～600、550～650、600～700、650～750、または700～800またはそれより多くの範囲まで、これらの値の間の全ての数値を含め様々であってもよい。別の実施形態において、ASncmtRNAは、配列番号4、配列番号5、または配列番号6に対応する。別の実施形態において、ASncmtRNAは、配列番号203、配列番号204、および配列番号205からなる群から選択される配列を含む。

10

【0059】

キメラミトコンドリアRNA分子に関するさらなる情報は、その開示が参照によりその全体として本明細書に組み入れられる米国特許第8, 318, 686号に見出すことができる。

【0060】

一態様において、本発明は、ASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドであって、該オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、本明細書で開示された方法で使用するための安定な二重鎖を形成することができる、オリゴヌクレオチドを提供する。いくつかの態様において、本明細書で説明された1種または複数のオリゴヌクレオチドを使用して、個体におけるがんの転移を抑制する方法が本明細書で示される。いくつかの態様において、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法が本明細書で示される。いくつかの態様において、個体における転移がんを処置するための方法が本明細書で示される。本明細書に記載の一部の実施形態において、個体は、がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ）で予め処置されている。一部の実施形態において、本明細書で説明されるASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドは、本明細書で開示された方法で 사용되는場合、以下の特徴：（1）キメラミトコンドリアRNA分子（すなわち、ASncmtRNA分子またはSncmtRNA分子）とハイブリダイズさせて、安定な二重鎖を形成すること；（2）腫瘍細胞によって発現されたキメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズさせて、腫瘍細胞を阻害する、抑止する、殺す、または破壊すること；（3）がん幹細胞（CSC）によって発現されたキメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズさせて、CSCを阻害する、抑止する、殺す、または破壊すること；（4）個体（例えば、がんに関して治療で予め処置された個体）におけるがんの転移を抑制すること；（5）個体（例えば、がんに関して治療で予め処置された個体）におけるがんの再発を処置または予防すること；（6）個体（例えば、がんに関して治療で予め処置された個体）における転移がんを処置すること；および（7）がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ）で予め処置された個体における全生存を延長させることの1種または複数を含む。

20

30

【0061】

一態様において、本明細書で説明された方法のいずれかで使用するためのオリゴヌクレオチドは、本明細書で開示されたSncmtRNA分子および／またはASncmtRNA分子に相補的であってもよい。理論にとらわれずにいえば、相補的オリゴヌクレオチドは、ncmtRNAに結合して、それらの細胞機能に干渉すると考えられる。本明細書で 사용되는場合、オリゴヌクレオチドが、ncmtRNAとハイブリダイズして安定な二重鎖を形成できる程度に十分な相補性を有する配列を含む場合、そのオリゴヌクレオチド配列は、本明細書で述べられているようにncmtRNAの一部に「相補的」である。ハイブリダイズする能力は、相補性の程度とオリゴヌクレオチドの長さの両方によって決まると予想される。一般的に、ハイブリダイズするオリゴヌクレオチドが長ければ長い程、そのオリゴヌクレオチドは、より多くのncmtRNAとの塩基のミスマッチを含有する

40

50

可能性があるが、それでもなお安定な二重鎖を形成し得る。いくつかの態様において、本明細書で開示された方法に従って使用される１種または複数のオリゴヌクレオチドは、長さが少なくとも８個（例えば少なくとも９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０個またはそれより多く）の塩基対である。当業者であれば、ハイブリダイズした複合体の融点を決定する標準的手順の使用により、許容できる程度のミスマッチを確認することができる。一部の実施形態において、１種または複数のオリゴヌクレオチドは、本明細書で開示された $S_n c m t R N A$ 分子および／または $A S_n c m t R N A$ 分子に、少なくとも８５％（例えば少なくとも８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％）相補的である。一部の実施形態において、相補的オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。一実施形態において、１種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号１～６からなる群から選択される核酸配列によってコードされた $n c m t R N A$ の１種または複数に相補的である。一部の実施形態において、１種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号７～１９８からなる群から選択される核酸配列を含む。一部の実施形態において、１種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号３６、１９７および１９８からなる群から選択される核酸配列を含む。一部の実施形態において、１種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号３６、１９７および１９８からなる群から選択される核酸配列を含む。

10

20

【００６２】

a. オリゴヌクレオチドの改変

$R N A$ および $D N A$ の天然に存在するヌクレオシド間連結は、３' と５' のホスホジエステル連結である。本明細書で開示された方法のいずれかに従ってがんの転移を抑制する、がんの再発を処置または予防する、または転移がんを処置するのに使用されるオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、１種または複数の改変された、すなわち天然に存在しないヌクレオシド間連結を有していてもよい。治療学的観点では、例えば細胞内取込の強化、標的核酸への親和性の強化、および体液中に存在するヌクレアーゼの存在下における安定性の増加などの所望の特性のために、天然に存在するヌクレオシド間連結を有するオリゴヌクレオチドよりも、改変されたヌクレオシド間連結がしばしば選択される。

30

【００６３】

改変されたヌクレオシド間連結を有するオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、リン原子を保持するヌクレオシド間連結、加えてリン原子を有さないヌクレオシド間連結を含む。代表的なリン含有ヌクレオシド間連結としては、これらに限定されないが、リン酸ジエステル、リン酸トリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミデート、およびホスホロチオエートが挙げられる。リン含有およびリン非含有連結の調製方法は当技術分野で周知である。

【００６４】

一実施形態において、本明細書で開示された $S_n c m t R N A$ 分子および／または $A S_n c m t R N A$ 分子に標的化されたオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、１つまたは複数の改変されたヌクレオシド間連結を含む。一部の実施形態において、改変されたヌクレオシド間連結は、ホスホロチオエート連結である。

40

【００６５】

当技術分野で公知のように、ヌクレオシドは、塩基－糖の組合せである。ヌクレオシドの塩基部分は通常、複素環塩基である。このような複素環塩基の２つの最も一般的なクラスは、プリンとピリミジンである。ヌクレオチドは、ヌクレオシドの糖部分に共有結合で連結されたリン酸基をさらに含むヌクレオシドである。ペントフラノシル糖を含むヌクレオシドの場合、リン酸基は、糖の２'、３' または５' ヒドロキシル成分のいずれかに連結することができる。オリゴヌクレオチドを形成する際、リン酸基は、隣接するヌクレオ

50

シドと互いに共有結合で連結して、直鎖状の高分子化合物を形成する。順に、この直鎖状高分子構造のそれぞれの末端がさらに繋がって、環状の構造を形成することができるが、開環した直鎖状の構造が一般的に好ましい。オリゴヌクレオチド構造内において、一般的に、リン酸基がオリゴヌクレオチドのヌクレオシド間骨格を形成するとみなされる。RNAおよびDNAの通常の連結または骨格は、3'と5'のホスホジエステル連結である。

【0066】

本発明の方法において有用なオリゴヌクレオチドの例（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）としては、具体的には、これらに限定されないが、改変された骨格または非天然のヌクレオシド間連結を含有するオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書で定義されるように、改変された骨格を有するオリゴヌクレオチドとしては、骨格中にリン原子を保持するもの、および骨格中にリン原子を有さないものが挙げられる。本明細書の目的に関して、さらに当技術分野においてしばしば言及されるように、それらのヌクレオシド間骨格中にリン原子を有さない改変されたオリゴヌクレオチドはまた、オリゴヌクレオシドとみなすこともできる。

【0067】

一部の実施形態において、改変されたオリゴヌクレオチド骨格としては、例えば、通常の3'-5'連結を有する、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、リン酸トリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチルおよび他のアルキルのホスホン酸エステル、例えば3'-アルキレンホスホン酸エステル、5'-アルキレンホスホン酸エステルおよびキラルホスホン酸エステル、ホスフィン酸エステル、ホスホロアミデート、例えば3'-アミノホスホロアミデートおよびアミノアルキルホスホロアミデート、チオノホスホロアミデート、チオノアルキルホスホン酸エステル、チオノアルキルホスホトリエステル、セレノホスフェートおよびボラノホスフェート、これらの2'-5'連結された類似体、および1つまたは複数のヌクレオチド間連結が3'と3'、5'と5'または2'と2'の連結である逆の極性を有するものが挙げられる。逆転した極性を有するオリゴヌクレオチドは、最も3'側のヌクレオチド間連結において単一の3'と3'の連結を含んでおり、すなわち脱塩基であり得る単一の逆転したヌクレオシド残基（その核酸塩基は、存在しないかまたはその場所にヒドロキシル基を有する）が採用される可能性もある。また様々な塩、混成の塩および遊離酸の形態が含まれていてもよい。リン原子を含まないオリゴヌクレオチド骨格は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルのヌクレオシド間連結、混成のヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルのヌクレオシド間連結、または1種または複数の短鎖ヘテロ原子または複素環式のヌクレオシド間連結によって形成される骨格を有する。これらは、モルホリノ連結（部分的にヌクレオシドの糖部分から形成された）；シロキサン骨格；スルフィド、スルホキシドおよびスルホン骨格；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格；メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格；リボアセチル骨格；アルケンを含有する骨格；スルファメート骨格；メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ骨格；スルホネートおよびスルホンアミド骨格；アミド骨格を有するもの；ならびに混成のN、O、SおよびCH₂要素部分を有する他のものを含む。

【0068】

他の実施形態において、糖およびヌクレオシド間連結の両方、すなわちヌクレオチド単位の骨格は、新規の基で置き換えられている。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。このようなオリゴマー化合物の1つであるオリゴヌクレオチド模倣物は、ペプチド核酸（PNA）と称される。PNA化合物において、オリゴヌクレオチドの糖骨格は、アミドを含有する骨格、具体的にはアミノエチルグリシン骨格で置き換えられている。核酸塩基は保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合する。PNA化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、これらに限定されないが、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,539,082号；5,714,331号；および5,719,262号が挙げられる。PNA化合物のさらなる教示は、Nielsenら、Science、254巻：1497~15

00頁、1991年に見出すことができる。

【0069】

上記のリン含有およびリン非含有連結の作製を教示する代表的な米国特許としては、これらに限定されないが、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5, 541, 306号; 5, 550, 111号; 5, 563, 253号; 5, 571, 799号; 5, 587, 361号; 5, 194, 599号; 5, 565, 555号; 5, 527, 899号; 5, 721, 218号; 5, 672, 697号および5, 625, 050号、5, 596, 086号; 5, 602, 240号; 5, 610, 289号; 5, 602, 240号; 5, 608, 046号; 5, 610, 289号; 5, 618, 704号; 5, 623, 070号; 5, 663, 312号; 5, 633, 360号; 5, 677, 437号; 5, 792, 608号; 5, 646, 269号および5, 677, 439号が挙げられる。

10

【0070】

また、本明細書で開示された方法（例えば、がんの転移を抑制する方法）のいずれかと組み合わせて抗がん療法として使用される、*Sn cm t RNA*および／または*AS n cm t RNA*に相補的な改変されたオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、1つまたは複数の置換された糖成分を含有していてもよい。例えば、フラノシル糖環は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第7, 399, 845号で説明されているように、置換基での置換、二環式核酸（bicyclic nucleic acid）「BNA」を形成するための架橋形成、およびSまたはN（R）などのヘテロ原子での4'-Oの置換などの多数の方法で改変することができる。BNAの他の例は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる公開された国際特許出願WO 2007/146511号で説明されている。

20

【0071】

本明細書で開示された方法（例えば、がんの転移を抑制する方法）で使用するためのオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、場合により、改変された糖成分を有する1つまたは複数のヌクレオチドを含有していてもよい。糖改変は、アンチセンス化合物に、ヌクレアーゼへの安定性、結合親和性または他の有益な生物学的特性のいくつかを付与する可能性がある。ヌクレオチドのフラノシル糖環は、これらに限定されないが、特に2'位における置換基の付加; 二環式核酸（BNA）を形成するための2つの非ジェミナルな環原子の架橋形成; および4'位における環酸素に対する-S-、-N（R）-または-C（R1）（R2）などの原子または基の置換などの多数の方法で改変してもよい。改変された糖としては、これらに限定されないが、置換された糖、特に、2'-F、2'-OCH₂（2'-OMe）または2'-O（CH₂）₂-OCH₃（2'-O-メトキシエチルまたは2'-MOE）置換基を有する2'-置換糖; および4'-（CH₂）_n-O-2'架橋を有する改変された二環式糖（BNA）（式中n=1またはn=2である）が挙げられる。改変された糖の調製方法は当業者に周知である。

30

【0072】

ある特定の実施形態において、2'-改変されたヌクレオチドは、二環式の糖成分を有する。ある特定のこのような実施形態において、二環式の糖成分は、アルファ立体配置のD糖である。ある特定のこのような実施形態において、二環式の糖成分は、ベータ立体配置のD糖である。ある特定のこのような実施形態において、二環式の糖成分は、アルファ立体配置のL糖である。ある特定のこのような実施形態において、二環式の糖成分は、ベータ立体配置のL糖である。

40

【0073】

他の実施形態において、二環式の糖成分は、2'-炭素原子と4'-炭素原子との間に架橋基を含む。ある特定のこのような実施形態において、架橋基は、1つ以上の連結された二端遊離基を含む。ある特定の実施形態において、二環式の糖成分は、1から4つの連結された二端遊離基を含む。ある特定の実施形態において、二環式の糖成分は、2または3つの連結された二端遊離基を含む。ある特定の実施形態において、二環式の糖成分は、

50

2つの連結された二端遊離基を含む。ある特定の実施形態において、連結された二端遊離基は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R1)-$ 、 $-C(R1)(R2)-$ 、 $-C(R1)=C(R1)-$ 、 $-C(R1)=N-$ 、 $-C(=NR1)-$ 、 $-Si(R1)(R2)-$ 、 $-S(=O)2-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-C(=O)-$ および $-C(=S)-$ から選択され；式中、各R1およびR2は、独立して、H、ヒドロキシル、C1～C12アルキル、置換されたC1～C12アルキル、C2～C12アルケニル、置換されたC2～C12アルケニル、C2～C12アルキニル、置換されたC2～C12アルキニル、C5～C20アリール、置換されたC5～C20アリール、複素環ラジカル、置換されたヘテロ環式ラジカル、ヘテロアリール、置換されたヘテロアリール、C5～C7脂環式ラジカル、置換されたC5～C7脂環式ラジカル、ハロゲン、置換されたオキシ($-O-$)、アミノ、置換されたアミノ、アジド、カルボキシル、置換されたカルボキシル、アシル、置換されたアシル、CN、チオール、置換されたチオール、スルホニル($S(=O)2-H$)、置換されたスルホニル、スルホキシル($S(=O)-H$)または置換されたスルホキシルであり；各置換基は、独立して、ハロゲン、C1～C12アルキル、置換されたC1～C12アルキル、C2～C12アルケニル、置換されたC2～C12アルケニル、C2～C12アルキニル、置換されたC2～C12アルキニル、アミノ、置換されたアミノ、アシル、置換されたアシル、C1～C12アミノアルキル、C1～C12アミノアルコキシ、置換されたC1～C12アミノアルキル、置換されたC1～C12アミノアルコキシまたは保護基である。

10

【0074】

20

また、本明細書で開示された方法（例えば、がんの転移を抑制する方法）のいずれかで使用するためのオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、核酸塩基（当技術分野においては、しばしば単に「塩基」と称される）の改変または置換を含んでもよい。核酸塩基の改変または置換は、天然に存在するかまたは合成の未改変の核酸塩基から構造的に識別可能であるが、なお機能的に置き換え可能である。天然および改変された核酸塩基は両方とも、水素結合に参加することができる。このような核酸塩基の改変は、オリゴヌクレオチド化合物に、ヌクレアーゼへの安定性、結合親和性または他の有益な生物学的特性のいくつかを付与する可能性がある。改変された核酸塩基は、例えば、5-メチルシトシン(5-me-C)などの合成および天然の核酸塩基を含む。5-メチルシトシン置換などのある特定の核酸塩基置換は、標的核酸（例えばncmtRNA）に対するオリゴヌクレオチド化合物（例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド化合物）の結合親和性を増加させるのに特に有用である。

30

【0075】

追加の未改変の核酸塩基としては、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニル($-C\equiv C-CH_3$)ウラシルおよびシトシンおよびピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル(プソイドウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルおよび他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に5-プロモ、5-トリフルオロメチルおよび他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノ-アデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン、ならびに3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニンが挙げられる。

40

【0076】

複素環式の塩基成分としてはまた、プリンまたはピリミジン塩基が、他の複素環、例えば7-デアザアデニン、7-デアザグアニン、2-アミノピリジンおよび2-ピリドンで置き換えられている成分も挙げることができる。アンチセンス化合物の結合親和性を増加させるのに特に有用な核酸塩基としては、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン

50

、ならびにN-2、N-6およびO-6置換プリン、例えば2アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシルおよび5-プロピニルシトシンなどが挙げられる。

【0077】

「未改変」または「天然」の核酸塩基は、本明細書で使用される場合、プリン塩基であるアデニン（A）およびグアニン（G）、およびピリミジン塩基であるチミン（T）、シトシン（C）およびウラシル（U）を含む。

【0078】

改変された核酸塩基としては、他の合成および天然核酸塩基、例えば5-メチルシトシン（5-me-C）、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニル（ $-C \equiv C-CH_3$ ）ウラシルおよびシトシンならびにピリミジン塩基の他のアルキル誘導体、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル（プソイドウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルおよび他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に5-プロモ、5-トリフルオロメチルおよび他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノ-アデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン、ならびに3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニンなどが挙げられる。さらなる改変された核酸塩基としては、三環式ピリミジン、例えばフェノキサジンシチジン（1H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンズオキサジン-2 (3H) -オン）、フェノチアジンシチジン（1H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンズチアジン-2 (3H) -オン）など、O-クランプ、例えば置換されたフェノキサジンシチジン（例えば9-（2-アミノエトキシ）-H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンズオキサジン-2 (3H) -オン）、カルバゾールシチジン（2H-ピリミド [4, 5-b] インドール-2-オン）、ピリドインドールシチジン（H-ピリド [3', 2': 4, 5] ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-2-オン）などが挙げられる。また改変された核酸塩基としては、プリンまたはピリミジン塩基が、他の複素環、例えば7-デアザアデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジンおよび2-ピリドンで置き換えられたものも挙げられる。さらなる核酸塩基としては、米国特許第3, 687, 808号で開示されたもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering、858~859頁、Kroschwitz, J. I.編、John Wiley & Sons、1990年で開示されたもの、Englischら、Angewandte Chemie、国際版、1991年、30巻、613号によって開示されたもの、ならびにSanghvi, Y. S.、15章、Antisense Research and Applications、289~302頁、Crooke, S. T.およびLebleu, B.編、CRC Press、1993年によって開示されたものが挙げられる。

【0079】

ある特定の上述した改変された核酸塩基、加えて他の改変された核酸塩基の調製を教示する代表的な米国特許としては、これらに限定されないが、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5, 459, 255号；5, 484, 908号；5, 502, 177号；5, 525, 711号；5, 552, 540号；5, 587, 469号；5, 594, 121号；5, 596, 091号；5, 614, 617号；5, 645, 985号；5, 830, 653号；5, 763, 588号；6, 005, 096号；および5, 681, 941号が挙げられる。

【0080】

b. リボザイム

本発明の他の実施形態において、リボザイムは、本明細書で説明されるncmtRNA分子に干渉して、転移に関連する増殖性細胞（例えば、CSC）において細胞死を誘導させるのに使用できる。リボザイムの配列は、ASncmtRNAの配列（例えば、配列番

10

20

30

40

50

号4、配列番号5、もしくは配列番号6に対応する配列、または配列番号203、配列番号204、もしくは配列番号205を含む配列)に従って、またはSncmtRNAの配列(例えば、配列番号1、配列番号2、もしくは配列番号3に対応する配列、または配列番号200、配列番号202、もしくは配列番号203を含む配列)に従って、特異的な転写領域が切断されるように設計できる。リボザイムは、特異的なRNA切断を触媒することができる酵素的なRNA分子である(Rossi, Curr. Biology 4巻: 469~471頁、1994年)。リボザイム作用のメカニズムは、相補的な標的RNAへのリボザイム分子の配列特異的なハイブリダイゼーション、それに続くエンドヌクレアーゼによる切断を含む。リボザイム分子の組成は、RNAに相補的な1つまたは複数の配列を含むはずであり、さらに、RNA切断に関与する周知の触媒性の配列を含むはずであり、これは、その開示が参照によりその全体として本明細書に組み入れられる米国特許第5,093,246号で説明されている。そのようなものとして、本発明の範囲内で、ハンマーヘッド型リボザイム分子を、本明細書で開示されたASncmtRNAまたはSncmtRNA分子のエンドヌクレアーゼによる切断を特異的かつ効率的に触媒するように加工することができる。ハンマーヘッド型リボザイムの構築および産生は当技術分野で周知であり、説明されている(Haseloffら、Gene、82巻: 43~52頁、1989年)。また本発明のリボザイムは、RNAエンドリボヌクレアーゼを含む場合もある(Zaugら、Science、224巻: 574~578頁、1984年)。一部の実施形態において、本明細書で説明されるリボザイムは、本明細書で説明されるあらゆる方法で使用できる。一部の実施形態において、個体におけるがんの転移を抑制する方法は、本明細書で説明される1種または複数のリボザイムの有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法は、本明細書で説明される1種または複数のリボザイムの有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体における転移がんを処置するための方法は、本明細書で説明される1種または複数のリボザイムの有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体における難治性がん(例えば、難治性HPV関連がん)を処置するための方法は、本明細書で説明される1種または複数のリボザイムの有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体は、がんに関して治療(例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ)で予め処置されている。

【0081】

c. RNA干渉

別の態様において、本明細書で開示された方法(例えば、がんの転移を抑制する方法)のいずれかで使用するための、本明細書で開示されたASncmtRNAおよび/またはSncmtRNA分子の機能への干渉は、RNA干渉またはRNAサイレンシングによって達成できる。RNA干渉(RNAi)は、哺乳動物細胞における遺伝子サイレンシングのための新規で有望なアプローチとして出現したものである(Elbashirら、Nature 411巻: 494~498頁、2001年; McManusら、Nature Rev. Genet. 3巻: 737~747頁、2002年)。約8から40(例えば約10から36、14から32、18~28、もしくは22~24)の塩基対(bp)の、または少なくとも約8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40bpの長さの合成された二本鎖RNA分子は、それらの相補的標的RNAに特異的にハイブリダイズして、RNAの分解を引き起こす。短鎖干渉RNAまたはsiRNAにより、数種の異なる遺伝子がうまくサイレンシングされてきた(Luら、Curr. Opin. Mol. Ther. 5巻: 225~234頁、2003年; Wacheckら、Oligonucleotides 13巻: 393~400頁、2003年)。それゆえに、本明細書で開示されたASncmtRNAおよび/またはSncmtRNA分子に標的化された合成二本鎖RNAは、これらの転写物を分解して、がん細胞の死(例えば、CSCの死)を誘導するのに使用することができる。当業者は、siRNAの配列は、ASncmtRNAおよび/またはSncmtRNA分子のあらゆる領域に相補的でなければならない(例え

ば、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、配列番号 5、および／または配列番号 6 に対応する配列のいずれか一つに相補的であるか、または配列番号 200、配列番号 201、配列番号 202、配列番号 203、配列番号 204、および／または配列番号 205 を含む配列のいずれか一つに相補的である）ことを理解しているものと予想される。一部の実施形態において、本明細書で説明される RNA は、本明細書で説明されるあらゆる方法で使用できる。一部の実施形態において、個体におけるがんの転移を抑制する方法は、本明細書で説明される 1 種または複数の RNA の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法は、本明細書で説明される 1 種または複数の RNA の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体における転移がんを処置するための方法は、本明細書で説明される 1 種または複数の RNA の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体における難治性がん（例えば、難治性 HPV 関連がん）を処置するための方法は、本明細書で説明される 1 種または複数の RNA の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体は、がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ）で予め処置されている。

【0082】

d. オリゴヌクレオチドの送達

一実施形態において、センスおよび／またはアンチセンスキメラ非コードミトコンドリア RNA 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドのいずれか）を個体に送達するのに、組換えベクターを使用して
20
もよい。これは、全身への送達と体の特定の領域（例えば骨髄）に局限される送達の両方を含み得る。センスもしくはアンチセンスキメラ ncmt RNA 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドの組換え産生を可能にすることができるあらゆるベクター、および／またはセンスもしくはアンチセンスキメラ ncmt RNA 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドを宿主細胞に送達することができるあらゆるベクターが、本明細書で考慮される。ベクターは、RNA または DNA のいずれか、原核性または真核性のいずれかであってもよく、典型的にはウイルスまたはプラスミドである。ベクターは、DNA ワクチンの一部であってもよいし、または当業者公知の宿主細胞中で発現させるために異種遺伝子を送達する他のあらゆる方法の一部として使用されてもよい。組換えベクターは、好適な宿主細胞に形質転換されると複製が可能になる。ウイルスベクターは、
30
多様な非分裂ヒト細胞に感染し、副作用を起こすことなく広くワクチンで使用されてきた。ウイルスベクター（例えば、これらに限定されないが、アデノウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター（例えば AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6 など、またはそれらを含むハイブリッド AAV ベクターなど）は、センスまたはアンチセンスキメラ ncmt RNA 分子に相補的な 1 種または複数のオリゴヌクレオチドを、がん細胞（例えば形質細胞；例えば、その開示が参照により本明細書に組み入れられる米国公開特許公報 2004/0224389 号を参照、または CSC）に送達するための本発明の方法で使用するためのベクターの例である。一部の実施形態において、本明細書で説明される組換えベクター（例えば、ウイルスベクター）は、本明細書で説明されるあらゆる方法で使用できる。一部の実施形態において、個体
40
におけるがんの転移を抑制する方法は、本明細書で説明される 1 種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組換えベクター（例えば、ウイルスベクター）の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法は、本明細書で説明される 1 種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組換えベクター（例えば、ウイルスベクター）の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体における転移がんを処置するための方法は、本明細書で説明される 1 種または複数のオリゴヌクレオチドを含む組換えベクター（例えば、ウイルスベクター）
50

）の有効量を個体に投与することを含む。一部の実施形態において、個体は、がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術またはそれらの組合せ）で予め処置されている。

【0083】

別の態様において、センスおよび／またはアンチセンスキメラ非コードミトコンドリアRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドのいずれか）は、個体に送達するためのマイクロキャリア内に封入されている。ある特定の実施形態において、センスおよび／またはアンチセンスキメラ非コードミトコンドリアRNA分子に相補的な異なるオリゴヌクレオチド（例えば本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドのいずれか）の混合物は、マイクロキャリアに1種より多くのオリゴヌクレオチド種が封入されるようにマイクロキャリアに封入されていてもよい。一部の実施形態において、マイクロキャリア内に封入されたセンスおよび／またはアンチセンスキメラ非コードミトコンドリアRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドのいずれか）は、配列番号7～198からなる群から選択される核酸配列を含む。一部の実施形態において、マイクロキャリア内に封入されたセンスおよび／またはアンチセンスキメラ非コードミトコンドリアRNA分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドのいずれか）は、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。

【0084】

マイクロキャリアにオリゴヌクレオチドを封入する方法は当技術分野で周知であり、例えば、国際出願WO 98/55495で説明されている。コロイド分散系、例えばマイクロスフェア、ビーズ、高分子複合体、ナノカプセルならびに脂質ベースの系、例えば水中油型乳剤、ミセル、混合ミセルおよびリポソームが、マイクロキャリア組成物内へのオリゴヌクレオチド（oligonucleotides）の有効な封入をもたらすことができる。封入組成物は、多種多様の構成要素のいずれかをさらに含んでいてもよい。これらの構成要素としては、これらに限定されないが、アラム、脂質、リン脂質、脂質膜構造（LMS）、ポリエチレングリコール（PEG）および他の重合体、例えばポリペプチド、糖ペプチド、および多糖類が挙げられる。

【0085】

他の抗がん治療

いくつかの態様において、本明細書で説明される処置方法のいずれかは、個体に1種または複数の追加の抗がん治療剤を投与することを含んでいてもよい。一部の実施形態において、1種または複数の抗がん治療は、化学療法、放射線療法、および外科手術からなる群から選択される。化学療法と抗がん剤とは、本明細書では同義的に使用される。様々なクラスの抗がん剤を使用できる。非限定的な例としては、アルキル化剤、代謝拮抗物質、アントラサイクリン、植物性アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤、ポドフィロトキシン、抗体（例えば、モノクローナルまたはポリクローナル）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、メシル酸イマチニブ（Gleevec（登録商標）またはGlivec（登録商標））、ホルモン処置、可溶性受容体および他の抗腫瘍薬が挙げられる。

【0086】

またトポイソメラーゼ阻害剤は、本明細書において使用できる別のクラスの抗がん剤でもある。トポイソメラーゼは、DNAのトポロジーを維持する必須の酵素である。I型またはII型トポイソメラーゼの阻害は、適正なDNAのスーパーコイル形成を乱すことによりDNAの転写と複製の両方に干渉する。いくつかのI型トポイソメラーゼ阻害剤としては、カンプトテシン：イリノテカンおよびトポテカンが挙げられる。II型阻害剤の例としては、アムサクリン、エトポシド、リン酸エトポシド、およびテニポシドが挙げられる。これらは、アメリカミヤオソウ（Podophyllum peltatum）の根に天然に存在するアルカロイドであるエピポドフィロトキシンの半合成誘導体である。

【0087】

抗腫瘍薬としては、免疫抑制剤であるダクチノマイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、ブレオマイシン、メクロレタミン、シクロホスファミド、クロラムブシル、イフォスファミドが挙げられる。抗腫瘍性化合物は、一般的に、細胞のDNAを化学的に改変することにより作用する。

【0088】

アルキル化剤は、細胞中に存在する条件下で多くの求核性官能基をアルキル化することができる。シスプラチンおよびカルボプラチン、ならびにオキサリプラチンが、アルキル化剤である。これらは、生物学的に重要な分子中のアミノ、カルボキシル、スルフヒドリル、およびリン酸基と共有結合を形成することにより細胞の機能を損なわせる。

【0089】

ビンカアルカロイドは、チューブリン上の特異的な部位に結合して、チューブリンの微小管への集合（細胞周期のM期）を阻害する。ビンカアルカロイドとしては、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、およびビンデシンが挙げられる。

【0090】

代謝拮抗物質は、プリン（アザチオプリン、メルカプトプリン）またはピリミジンに類似しており、細胞周期の「S」期中にこれらの物質がDNAに取り入れられないようにし、正常な発生および分裂を止める。また代謝拮抗物質もRNA合成に影響を与える。

【0091】

植物性アルカロイドおよびテルペノイドは、植物から得られ、微小管の機能を妨害することによって細胞分裂をブロックする。微小管は細胞分裂にとって不可欠であることから、微小管がないと細胞分裂を起こすことができない。主な例は、ビンカアルカロイドおよびタキサンである。

【0092】

ポドフィロトキシンは、消化を助けることが報告されている植物由来化合物であり、加えて2種の他の細胞増殖抑制薬、エトポシドおよびテニポシドを産生するのに使用される。これらは、細胞がG1期（DNA複製開始）およびDNAの複製（S期）に入らないようにする。

【0093】

タキサンは、分類群として、パクリタキセルおよびドセタキセルを含む。パクリタキセルは、元はと言えばタキソールとして公知の天然産物であり、タイヘイヨウイチイの木の樹皮から初めて得られた。ドセタキセルは、パクリタキセルの半合成類似体である。タキサンは、微小管の安定性を強化し、細胞分裂後期中の染色体分離を防ぐ。

【0094】

いくつかの態様において、抗がん剤は、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン（Decadron（登録商標））、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ（Iressa（登録商標））、タキソール、タキソテル、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ（例えば、PEGイントロン-A）、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキセタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ビアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ（Velcade（登録商標））、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキソルビシン（Doxil（登録商標））、パクリタキセル、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム（Emcyt（登録商標））、スリンダク、またはエトポシドから選択することができる。

【0095】

他の実施形態において、抗がん剤は、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタ

10

20

30

40

50

ゾン、ドキソルビシン、インターフェロン-α、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-α、プレドニゾン、サリドマイド、またはビンクリスチンから選択することができる。

【0096】

いくつかの態様において、1種または複数の抗がん治療は、放射線療法である。用語「放射線療法」は、本明細書で使用される場合、がん細胞を殺すための放射線の投与を指す。放射線は、DNAなどの細胞中の分子と相互作用して、細胞死を誘導する。また放射線は、細胞膜および核膜ならびに他の細胞器官に傷害を与えることもできる。放射線種に応じて、DNA損傷のメカニズムは異なっている可能性があり、関連する生物学的有効性も同様である。例えば、重粒子（すなわち陽子、中性子）は、DNAに直接傷害を与え、より大きい関連する生物学的有効性を有する。電磁放射は、主として細胞内の水分のイオン化により生産された寿命の短いヒドロキシルフリーラジカルを介して作用する間接的なイオン化を引き起こす。放射線の臨床的な応用は、外部ビーム照射（外部源から）および小線源療法（患者に埋め込まれたかまたは挿入された放射線源を使用）からなる。外部ビーム照射は、X線および／またはガンマ線からなるが、小線源療法は、ガンマ線と共にアルファ粒子またはベータ粒子を崩壊させて放出させる放射性核を採用する。本明細書でさらに考慮される放射線としては、例えば、がん細胞への放射性同位体の指向送達も挙げられる。マイクロ波およびUV放射線照射などのDNA損傷因子の他の形態も本明細書で考慮される。

10

【0097】

放射線は、単回線量で示される場合もあるし、または線量を分割したスケジュールにおける一連の小さい線量で示される場合もある。本明細書で考慮される放射線量は、約1から約100 Gyの範囲であり、例えば、約5から約80、約10から約50 Gy、または約10 Gyを含む。総線量は、分割レジメンで適用されてもよい。例えば、レジメンは、2 Gyの分割された個別の線量を含んでもよい。放射性同位体の投与量範囲は、広範に様々であり、同位体の半減期ならびに放出された放射線の強度およびタイプによって決まる。放射線が、放射性同位体の使用を含む場合、放射性ヌクレオチドを標的組織（例えば、腫瘍組織）に運搬する治療抗体などの標的物質に同位体がコンジュゲートしていてもよい。好適な放射性同位体としては、これらに限定されないが、アスタチン²¹¹、¹⁴炭素、⁵¹クロム、³⁶塩素、⁵⁷鉄、⁵⁸コバルト、銅⁶⁷、¹⁵²Eu、ガリウム⁶⁷、¹H水素、ヨウ素¹²³、ヨウ素¹³¹、インジウム¹¹¹、⁵⁹鉄（ion）、³²リン、レニウム¹⁸⁶、⁷⁵セレン、³⁵硫黄、テクネチウム（technetium）^{99m}、および／またはイットリウム⁹⁰が挙げられる。

20

30

【0098】

本明細書で説明される外科手術は、がん組織の全部または一部を物理的に除去する、切り出す、および／または破壊する切除を含む。腫瘍の切除は、腫瘍の少なくとも一部の物理的な除去を指す。腫瘍の切除に加えて、外科手術による処置は、レーザー手術、凍結外科手術、電気外科手術、および顕微鏡下手術（Mohs手術）を含む。また本明細書では、前がんまたは正常な組織の除去も考慮される。

【0099】

幹細胞移植およびエキスピボでの自己造血幹細胞の処置

他の態様において、本明細書で説明される処置方法のいずれかは、自己または同種幹細胞移植療法のどちらを含んでもよい。近年、自己造血幹細胞移植を用いた高用量化学療法は、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、および白血病などのある特定のがんにとって好ましい処置になりつつある。治癒しないとしても、この手順は実際に全生存を延長させて完全な寛解をもたらす。幹細胞移植の前に、患者は最初のクルールの導入化学療法を受ける。今日使用されている最も一般的な導入レジメンは、サリドマイド-デキサメタゾン、ボルテゾミブベースのレジメン、およびレナリドマイド-デキサメタゾンである（KyleおよびRajkumar、Blood、111巻（6号）：2962～72頁、2008年）。例えば、自己末梢血幹細胞移植は、50%もの多発性骨髄腫患者に有用であ

40

50

る。低い死亡率にもかかわらず、このような移植療法が有する問題としては、腫瘍を根絶できないこと、および移植に使用される幹細胞集団から骨髓腫細胞およびそれらの前駆体を取り出すことが難しいことが挙げられる。

【0100】

多発性骨髓腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、および白血病などのある特定のがんを処置するための別の治療選択肢は、同種の移植（罹患個体への健康なヒトの幹細胞の移植）であるが、治癒をもたらさない可能性があるためそれほど高い頻度で使用されない。例えば、多発性骨髓腫患者におけるその使用を評価したほとんどの研究では、長期にわたる10～20%の無病生存率が実証されているが、かなりの割合の患者が再発を起こしている。

10

【0101】

自己幹細胞移植は、本明細書で開示された方法のいずれかに従って転移を抑制または予防するための処置として含まれる場合、罹患した個体に移植しようとする造血幹細胞および／または骨髓を、罹患した個体に移植する前に本明細書で開示された抗がん剤のいずれかで処置するステップを含んでもよい。一実施形態において、自己幹細胞移植で使用するための造血幹細胞および／または骨髓は、罹患した個体に移植する前に、ASn cm t RNAまたはSn cm t RNA分子（例えば、本明細書で開示されたASn cm t RNAおよび／またはSn cm t RNA分子のいずれか）に十分に相補的であり安定な二重鎖を形成することができる1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）の有効量で処置することもできる。別の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号1～6からなる群から選択される核酸配列によってコードされたn cm t RNAの1種または複数の十分に相補的であり、安定な二重鎖を形成することができる。他の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7～198からなる群から選択される核酸配列を含む。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。

20

【0102】

骨髓または血液学的幹細胞の自家移植は、血液がんの数種の形態（例えば、これらに限定されないが、多発性骨髓腫、白血病およびリンパ腫など）を処置するのに使用できることが示されている。したがって、いくつかの態様において、血液がんのための処置として含まれる場合、罹患した個体に移植しようとする造血幹細胞および／または骨髓を、罹患した個体に移植する前に本明細書で開示された抗がん剤のいずれかで処置するステップを含む、自己幹細胞移植を行う方法がここに提供される。一実施形態において、血液がんを有する個体における自己幹細胞移植で使用するための造血幹細胞および／または骨髓は、罹患した個体に移植する前に、ASn cm t RNA分子またはSn cm t RNA分子（例えば、本明細書で開示されたASn cm t RNAおよび／またはSn cm t RNA分子のいずれか）に十分に相補的であり安定な二重鎖を形成することができる1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）の有効量で処置することもできる。別の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号1～6からなる群から選択される核酸配列によってコードされたn cm t RNAの1種または複数の十分に相補的であり、安定な二重鎖を形成することができる。他の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7～198からなる群から選択される核酸配列を含む。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。

30

40

【0103】

IV. 組成物

本明細書で開示された抗がん剤（例えばオリゴヌクレオチドベースの薬剤）はいずれも、組成物（例えば、医薬組成物）の形態で投与することができる。これらの化合物は、様々な経路を介した全身投与または局所投与によって投与することができる。特定の適用において有用な投与経路は、当業者にとって明らかである。投与経路としては、これらに限

50

定されないが、経口、直腸、脳脊髄、経皮、皮下、局所、経粘膜、鼻咽頭、肺、静脈内、筋肉内、および鼻腔内が挙げられる。一部の実施形態において、投与は、局所投与である。一部の実施形態において、局所投与は、臓器への投与、空洞への投与、組織への投与、および皮下投与からなる群から選択される。一部の実施形態において、投与は、全身投与である。一部の実施形態において、全身投与は、静脈内または腹腔内投与である。これらの化合物は、注射用組成物と経口用組成物の両方として効果的である。このような組成物は、薬学分野で周知の方式で調製され、少なくとも1種の活性化合物を含む。また本明細書に記載の組成物は、処置される特定の適応にとって必要な1種より多くの活性化合物、好ましくは互いに悪影響を与えない相補的活性を有する活性化合物を含有していてもよい。経口用組成物として採用される場合、本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドおよび他の抗がん剤は、薬学的に許容される保護剤によって胃での酸消化から保護される。

10

【0104】

また本発明は、1種または複数の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に、活性成分として1種または複数の本明細書で開示された抗がん剤を含有する医薬組成物も含む。本発明の組成物を作製する際、活性成分は通常、賦形剤または担体と混合されるか、賦形剤または担体で希釈されるか、またはカプセル、小容器、ペーパーもしくは他の容器の形態であり得るこのような賦形剤または担体内に封入される。賦形剤または担体は、希釈剤として機能する場合、固体、半固体、または液体材料であってもよく、これは活性成分のためのビヒクル、担体または媒体として作用する。したがって、本組成物は、錠剤、丸剤、粉末剤、トローチ剤、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁剤、乳剤、液剤、シロップ剤、エアロゾル（固体として、または液状媒体中）、例えば最大10重量%の活性化合物を含有する軟膏、ソフトおよびハードゼラチンカプセル、坐剤、滅菌注射用溶液、ならびに滅菌されパッケージ化された粉末剤の形態であってもよい。

20

【0105】

一部の実施形態では、製剤の調製において、活性な凍結乾燥した化合物を粉砕して、他の成分と組み合わせる前に適切な粒度をもたらすことが必要な場合がある。活性化合物が実質的に不溶性である場合、活性化合物は一般に、200メッシュ未満の粒度に粉砕される。活性化合物が実質的に水溶性である場合、その粒度は通常、製剤中で実質的に一様の分布、例えば約40メッシュがもたらされるように粉砕することによって調整される。

【0106】

好適な賦形剤または担体のいくつかの例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アラビアゴム、リン酸カルシウム、アルギネート、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、滅菌水、シロップ剤、およびメチルセルロースが挙げられる。製剤は、加えて、潤滑剤、例えばタルク、ステアリン酸マグネシウム、および鉱油；湿潤剤；乳化剤および懸濁化剤；保存剤、例えばヒドロキシ安息香酸メチルおよびプロピル；甘味剤；ならびに矯味矯臭剤を含んでもよい。当技術分野で公知の手順を採用して患者に投与した後に活性成分の急速放出、持続放出または遅延放出がもたらされるように、本発明の組成物を製剤化してもよい。

30

【0107】

本組成物は、単位剤形で製剤化されてもよく、各投薬量は、約5mgから約100mgまたはそれより多く、例えば約1mgから約5mg、1mgから約10mg、約1mgから約20mg、約1mgから約30mg、約1mgから約40mg、約1mgから約50mg、約1mgから約60mg、約1mgから約70mg、約1mgから約80mg、または約1mgから約90mgのいずれか一つの範囲、加えてこれらの値の間のあらゆる範囲の活性成分を含有する。用語「単位剤形」は、個体当たり一単位の投薬として好適な物理的に別々の単位を指し、各単位は、好適な医薬賦形剤または担体と共に所望の治療作用が生じるように計算された予め決められた量の活性材料を含有する。

40

【0108】

本明細書で開示された抗がん剤（例えばオリゴヌクレオチドベースの薬剤）は、広範な

50

投薬量範囲にわたり効果的であり、一般的に治療有効量で投与される。しかしながら、実際に投与される抗がん剤の量は、処置しようとする状態、選択された投与経路、投与される実際の化合物、個々の患者の年齢、体重、および応答、患者の症状の重症度、ならびに同種のものなどの関連する状況を考慮して、医師によって決定されることが理解されると予想される。

【0109】

錠剤などの固体組成物を調製するためには、主要な活性成分である抗がん治療を医薬賦形剤または担体と混合して、本発明の化合物の均一な混合物を含有する固体予備配合組成物を形成する。これらの予備配合組成物が均一であると述べられる場合、それは、錠剤、丸剤およびカプセルなどの等しく有効な単位剤形に組成物を容易にさらに分割できるように、活性成分が組成物全体に均一に分散されていることを意味する。

10

【0110】

作用の持続という利点をもたらし、抗がん療法（例えばオリゴヌクレオチド）を胃での酸加水分解から保護する剤形が提供されるように、本発明の錠剤または丸剤はコーティングされてもよいし、またはそれ以外の方法で作製されてもよい。例えば、錠剤または丸剤は、内部の投薬成分と外部の投薬成分とを含んでいてもよく、後者は、前者を覆うエンベロープの形態である。これら2つの要素は、胃での崩壊に耐えて、内部の要素を無傷のまま十二指腸に通過させたり、または放出を遅延させたりする働きをする腸溶性層で隔てられていてもよい。このような腸溶性層またはコーティングには様々な材料を使用することができ、このような材料としては、多数の高分子酸 (polymeric acids)、ならびにセラック、セチルアルコール、および酢酸セルロースのような材料との高分子酸混合物が挙げられる。

20

【0111】

経口または注射での投与のために本発明の組成物を取り入れることができる液体の形態としては、水溶液、好適にはフレーバーを付けたシロップ剤、水性または油性懸濁液、およびトウモロコシ油、綿実油、ゴマ油、ヤシ油、または落花生油などの食用油を用いたフレーバーを付けた乳剤、加えてエリキシル剤および類似の医薬用ビヒクルが挙げられる。

【0112】

非経口投与経路としては、これらに限定されないが、中心静脈ラインへの直接注射、静脈内、筋肉内、腹膜内、皮内、または皮下注射が挙げられる。非経口投与に好適なオリゴヌクレオチド製剤（例えば、オリゴヌクレオチド (oliconucleotide) およびマイクロキャリア製剤）は、一般的に、USP規格の水または注射用水中で製剤化され、pH緩衝液、塩、充填剤、保存料、および他の薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでいてもよい。非経口の注射剤用のオリゴヌクレオチドは、例えばオリゴヌクレオチドマイクロキャリア複合体または封入体として、注射用の塩類溶液およびリン酸緩衝生理食塩水などの薬学的に許容される滅菌等張溶液中で製剤化されてもよい。

30

【0113】

吸入法または通気法用の組成物は、薬学的に許容される水性もしくは有機溶媒、またはそれらの混合物中の溶液および懸濁液、ならびに粉末を含む。液体または固体組成物は、本明細書で説明されているような好適な薬学的に許容される賦形剤を含有していてもよい。本組成物は、局所または全身性作用のための経口または経鼻の呼吸経路によって投与できる。薬学的に許容される溶媒中の組成物は、不活性ガスの使用により霧状にすることができる。霧状になった溶液を噴霧デバイスから直接吸入させてもよいし、または噴霧デバイスを、フェイスマスクのテント、または間欠的陽圧呼吸器に取り付けてもよい。溶液、懸濁液、または粉末組成物はまた、適切な方式で製剤を送達するデバイスから経口または経鼻的に投与されてもよい。

40

【0114】

V. 処置方法

A. がんの転移を抑制または予防するための方法

一態様において、個体におけるがんの転移の抑制または予防で使用するための、1種ま

50

たは複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。別の態様において、個体におけるがんの転移を抑制または予防するための少なくとも1つの治療と組み合わせて使用するための、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。ここで上記態様のいずれかにおいて、個体は、がんに関して治療で予め処置されている。10

【0115】

いくつかの態様において、本発明は、個体におけるがんの転移を抑制するための方法であって、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、ここでオリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を提供する。さらなる実施形態において、個体におけるがんの転移を抑制するための方法は、1種または複数のオリゴヌクレオチドを、本明細書で開示された少なくとも1つの治療と組み合わせて投与することを含む。一部の実施形態において、少なくとも1つの治療は、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、および自己幹細胞移植療法からなる群から選択される。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている。一部の実施形態において、個体は、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数で予め処置されている。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除される前または後に、個体に投与してもよい。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除されている間に、個体に投与してもよい。20

【0116】

いくつかの態様において、本発明は、個体におけるがんの転移を予防するための方法であって、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、ここでオリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を提供する。さらなる実施形態において、個体におけるがんの転移を抑制または予防するための方法は、1種または複数のオリゴヌクレオチドを、本明細書で開示された少なくとも1つの治療と組み合わせて投与することを含む。一部の実施形態において、少なくとも1つの治療は、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、および自己幹細胞移植療法からなる群から選択される。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている。一部の実施形態において、個体は、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数で予め処置されている。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除される前または後に、個体に投与してもよい。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除されている間に、個体に投与してもよい。30

【0117】

非限定的な例として、本発明に係るがんの転移を抑制または予防するための方法は、1日投薬量として、約0.1から約100mg/kg、例えば約0.5、約0.9、約1. 40 50

0、約1、1、約1.5、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、約25、約26、約27、約28、約29、約30、約40、約45、約50、約60、約70、約80、約90もしくは約100mg/kg/日の量で、処置の開始後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日目のうち少なくとも1日に、またはその代わりに、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20週目のうち少なくとも1週に、またはそれらのあらゆる組合せで、単回用量または数回に分けた用量を使用して、24、12、8、6、4、もしくは2時間毎に、またはそれらのあらゆる組合せで提供される本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）の投与によってなされてもよい。

10

【0118】

一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）は、少なくとも1つの治療（例えば、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、または自己幹細胞移植療法）と組み合わせて投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20週間離して投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、もしくは59分間、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、もしくは24時間離して投与されてもよい。

20

30

【0119】

B. がんの再発を処置または予防するための方法

他の態様において、個体におけるがんの再発を処置または予防することにおいて使用するための1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。一部の実施形態において、個体は、最初の処置に応答しており、寛解状態にある。

【0120】

いくつかの態様において、本発明は、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法であって、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を提供する。さらなる実施形態において、個体におけるがんの再発を処置または予防するための方法は、1種または複数のオリゴヌクレオチドを、本明細書で開示された少なくとも1つの治療と組み合わせて投与することを含む。一部の実施形態において、少なくとも1つの治療は、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、および自己幹細胞移植療法からなる群から選択される。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手

40

50

術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている。一部の実施形態において、個体は、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロナーアルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロナーアルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数で予め処置されている。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除される前または後に、個体に投与してもよい。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除されている間に、個体に投与してもよい。

10

【0121】

非限定的な例として、本発明に係るがんの再発を処置または予防するための方法は、1日投薬量として、約0.1から約100mg/kg、例えば約0.5、約0.9、約1.0、約1.1、約1.5、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、約25、約26、約27、約28、約29、約30、約40、約45、約50、約60、約70、約80、約90もしくは約100mg/kg/日の量で、処置の開始後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日目のうち少なくとも1日に、またはその代わりに、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20週目のうち少なくとも1週に、またはそれらのあらゆる組合せで、単回用量または数回に分けた用量を使用して、24、12、8、6、4、もしくは2時間毎に、またはそれらのあらゆる組合せで提供される本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）の投与によってなされてもよい。

20

【0122】

一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）は、少なくとも1つの治療（例えば、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、または自己幹細胞移植療法）と組み合わせて投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20週間離して投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、もしくは59分間、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、もしくは24時間離して投与されてもよい。

30

40

【0123】

他の実施形態において、「維持スケジュール」を使用することがあり、その場合、1種または複数の維持的なオリゴヌクレオチドベースの（例えばアンチセンスベースの）治療が、寛解の前に投与される元の処置における頻度より少ない頻度で投与され、例えば週1

50

回または2週毎に1回で投与される。維持スケジュールは、決まった期間、一般的に約1または約2年間継続してもよいし、または患者が進行性の疾患の徴候を継続的に示さず、顕著な毒性を伴わずに処置に耐える限りは無期限に継続してもよい。

【0124】

C. 転移がんを処置するための方法

さらに他の態様において、個体における転移がん（例えば再発した転移がん）の処置で使用するための1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。

【0125】

いくつかの態様において、本発明は、個体における転移がん（例えば再発した転移がん）を処置するための方法であって、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、ここでオリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができ、個体は、がんに関して治療で予め処置されている、方法を提供する。さらなる実施形態において、個体における転移がん（例えば再発した転移がん）を処置するための方法は、1種または複数のオリゴヌクレオチドを、本明細書で開示された少なくとも1つの治療と組み合わせて投与することを含む。一部の実施形態において、少なくとも1つの治療は、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、および自己幹細胞移植療法からなる群から選択される。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除される前または後に、個体に投与してもよい。一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1つの治療は、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、個体から腫瘍が外科的に切除されている間に、個体に投与してもよい。

【0126】

非限定的な例として、本発明に係る転移がん（例えば再発した転移がん）を処置するための方法は、1日投薬量として、約0.1から約100mg/kg、例えば約0.5、約0.9、約1.0、約1.1、約1.5、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、約25、約26、約27、約28、約29、約30、約40、約45、約50、約60、約70、約80、約90もしくは約100mg/kg/日の量で、処置の開始後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日目のうち少なくとも1日に、またはその代わりに、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20週目のうち少なくとも1週に、またはそれらのあらゆる組合せで、単回用量または数回に分けた用量を使用して、24、12、8、6、4、もしくは2時間毎に、またはそれらのあらゆる組合せで提供される本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）の投与によってなされてもよい。

【0127】

一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）は、少なくとも1つの治療（例えば、抗がん剤、放射線療法、外科手術、同種幹細胞移植療法、または自己幹細胞移植療法）と組み合わせて投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、逐次的に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、

31、32、33、34、35、36、37、38、39、もしくは40日、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20週間離して投与されてもよい。一部の実施形態において、組合せは、同時に投与される。例えば、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドは、併用処置中に、少なくとも1つの治療を施してから、約0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、もしくは59分間、またはその代わりに、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、もしくは24時間離して投与されてもよい。

10

【0128】

別の実施形態において、前記1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）の治療有効量は、がんが他のがん処置に対して難治性になった個体の処置におけるサルベージ療法の一環として投与される。一部の実施形態において、個体は、ボルテゾミブ、シクロホスファミド、デキサメタゾン、ドキシソルビシン、インターフェロン-アルファ、レナリドマイド、メルファラン、ペグ化インターフェロン-アルファ、プレドニゾン、サリドマイド、およびビンクリスチンの1種または複数での処置後に再発を起こした。

【0129】

20

理論にとらわれずにいえば、CSCは、原発腫瘍の処置後にがんの再発および／または転移を引き起こすと考えられる。いくつかの態様において、本明細書で説明されているような処置方法（例えば、がんの転移を抑制または予防するための方法など）は、がん幹細胞を除去または抑制する。一部の実施形態において、本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドは、がん幹細胞（CSC）を殺すかまたは阻害して、転移を抑制する、転移を予防する、または個体におけるがんの再発を予防することができる。一部の実施形態において、個体は、がんに関して治療で予め処置されている。一実施形態において、本明細書で開示されたオリゴヌクレオチドは、処置（例えば、化学療法）に耐性を有するがん幹細胞（CSC）を殺したりまたは阻害したりすることができる。一実施形態において、本明細書で開示されたいずれか1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば、ASncmtRNA分子に相補的なオリゴヌクレオチド）での個体の処置は、非選択的に、個体におけるCSCを阻害する、抑止する、殺す、または破壊する。一実施形態において、本明細書で開示されたいずれか1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば、ASncmtRNA分子に相補的なオリゴヌクレオチド）は、個体におけるCSCの数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる。さらなる実施形態において、個体は、がんに関して治療で予め処置されている。

30

【0130】

本明細書に記載の方法のいずれかの実施形態において、本明細書で開示されたいずれか1種または複数のオリゴヌクレオチド（例えば、ASncmtRNA分子に相補的なオリゴヌクレオチド）は、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する。

40

【0131】

本明細書に記載の方法（例えば、がんの転移を抑制または予防するための方法、がんの再発を処置または予防するための方法、転移がんを処置するための方法など）の実施形態のいずれかにおいて、がんは、固形がんまたは非固形がんであってもよい。本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、固形がんである。本明細書で考慮される固形がんの例としては、これらに限定されないが、扁平上皮がん、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜がん、肝細胞がん、消化器がん、膵臓がん、膠芽腫、脳がん、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、肉腫、膀胱がん、肝がん、乳がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜または子宮癌、口腔咽頭がん（oralpharyngeal cancer）、唾

50

液腺癌、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、外陰がん、甲状腺がん、肝臓癌、胃がん、黒色腫、および様々な種類の頭頸部がんが挙げられる。

【0132】

一部の実施形態において、がんは、例えば子宮頸がん、口腔咽頭がん、および頭頸部がんなどにおいて、本明細書では「HPV関連がん」とも称されるヒトパピローマウイルス（HPV）感染と関連がある。例えば、子宮頸がんを発症させる最も重要な危険因子の1つが、HPV感染である。100種を超えるHPV株が同定されているが、そのうちごく一部が、がん発症に関して高い危険を有するタイプ（16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73、および82）、または高い危険を有する可能性があるタイプ（26、53、および66）と分類されているに過ぎない（Munozら、NEJM、348巻：518～527頁、2003年）。これらのHPVタイプのなかでも、HPV16およびHPV18が全ての子宮頸がん症例のほぼ70%の原因となっており、一方でHPV31および35が子宮頸がん症例の残りの10%の原因となることが報告されている。Walboomersら、J Pathol.、189巻（1号）：12～9頁、1999年を参照されたい。HPV関連がんは、以下のステップ：（1）最初のHPV感染、（2）持続的なHPV感染、（3）宿主細胞ゲノムへのHPVのDNA統合の存在または非存在下でのHPV感染の形質転換、（4）前がん性病変の発生、（5）少なくとも1種の原因腫瘍の発生、および（6）浸潤性がん（例えば、転移がん）の発生の1つまたは複数を含む可能性がある。

【0133】

いくつかの場合において、HPV関連がんは、がんの処置に定期的に使用される化学療法剤に耐性である。例えば、HPV16不死化子宮頸部細胞は、シスプラチン、パクリタキセル、アクチノマイシンD、ドキソルビシン（doxorubicin）、エトポシド、および5-フルオロウラシルに対する耐性を発生させる可能性があり、これががん処置における主要な障害になる。Dingら、Int J Cancer、15：87巻（6号）818～23頁、2000年を参照されたい。本明細書に記載の一部の実施形態において、個体におけるがんの転移を抑制するために使用するための1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）であって、がんは、化学療法剤に耐性であり、がんは、HPV関連がんである、オリゴヌクレオチドが本明細書で示される。本明細書に記載の一部の実施形態において、個体におけるがんの再発を処置または予防することにおいて使用するための1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）であって、がんは、化学療法剤に耐性であり、がんは、HPV関連がんである、オリゴヌクレオチドが本明細書で示される。本明細書に記載の一部の実施形態において、個体における転移がん（例えば再発した転移がん）の処置で使用するための1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）であって、転移がんは、化学療法剤に耐性であり、転移がんは、HPV関連がんである、オリゴヌクレオチドが本明細書で示される。本明細書に記載の一部の実施形態において、個体における難治性がんを処置するために使用するための、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。一部の実施形態において、難治性がんは、難治性HPV関連がんである。一部の実施形態において、難治性HPV関連がんは、化学療法剤に耐性である。本明細書で使用される場合、用語「難治性がん」は、処置に応答しないがん（例えば、HPV関連がん）を指し、例えば、処置（例えば、化学療法剤での処置）の開始時に耐性であるがん、または処置中に耐性になる可能性があるがんである。一部の実施形態において、化学療法剤は、シスプラチン、パクリタキセル、アクチノマイシンD、ドキソルビシン、エトポシド、および5-フルオロウラシルからなる群から選択される。一部の実施形態において、化学療法剤は、シスプラチンである。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、HPV関連がん（例えば、難治性HPV関連がん）は、HPV16、HPV18、HPV31およびHPV45からなる群から選択される1種または複数のHPV株での感染によるものである。本明細書に記載の実施形態のうちいくつかにおいて、HPV関連がん（例えば、難治性HPV関連がん）は、HPV株のHPV45での感染によるものである。一部の実施形態において、1種また

は複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号1、配列番号2、および配列番号3からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたS n c m t R N A分子に相補的である。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t R N A分子に相補的である。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7～198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。

【0134】

一部の実施形態において、個体における難治性がんを処置することに使用するための、1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）が本明細書で示される。一部の実施形態において、難治性がんは、化学療法剤に耐性である。一部の実施形態において、化学療法剤は、シスプラチンである。一部の実施形態において、難治性がんは、本明細書で開示された固形がんである。例えば、難治性固形がんは、膀胱がん、脳がん、乳がん、子宮頸がん（例えば、難治性H P V関連子宮頸がん）、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胃がん、肝臓および胆管がん、肺がん、黒色腫、口腔がん、卵巣がん、膵臓がん、咽頭がん、前立腺がん、腎臓がん、睾丸がん、または甲状腺がんの1種または複数であり得る。一部の実施形態において、難治性がんは、本明細書で開示された非固形がんである。例えば、難治性がんは、多発性骨髄腫、白血病、またはリンパ腫の1種または複数であり得る。

【0135】

本明細書に記載の実施形態のいずれかにおいて、がんは、非固形がんである。「非固形がん」は、血液細胞の異常な増殖および／または転移を伴う悪性血液疾患を指す。本明細書で考慮される非固形がんの例としては、これらに限定されないが、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性非リンパ球性白血病、急性顆粒球性白血病、慢性顆粒球性白血病、急性前骨髄球性白血病、成人T細胞性白血病、非白血性白血病、白血球血症性白血病（leukocythemic leukemia）、好塩基球性白血病（basophylic leukemia）、芽球性白血病、ウシ白血病、慢性骨髄性白血病、皮膚白血病、胚白血病、好酸球性白血病、グロス白血病、ヘアリーセル白血病、血芽球性白血病（hemoblastic leukemia）、血球芽細胞性白血病（hemocytoblastic leukemia）、組織球白血病、幹細胞性白血病、急性単球性白血病、白血球減少性白血病、リンパ性白血病（lymphatic leukemia）、リンパ芽球性白血病、リンパ球性白血病、リンパ行性白血病（lymphogenous leukemia）、リンパ性白血病（lymphoid leukemia）、リンパ肉腫細胞性白血病、肥満細胞性白血病、巨核芽球性白血病、小骨髄芽球性白血病、単球性白血病、骨髄芽球性白血病、骨髄性白血病、骨髄性顆粒球性白血病、骨髄性単球性白血病、ネーグリー型白血病、プラズマ細胞性白血病、形質細胞性白血病、前骨髄球性白血病、リーダー細胞性白血病、シリング白血病、幹細胞性白血病、亜白血性白血病、未分化細胞白血病、特発性骨髄線維症、リンパ腫（例えば非ホジキンリンパ腫、およびホジキンリンパ腫）、および骨髄異形成症候群が挙げられる。

【0136】

本明細書で開示された方法は、補助的条件（adjuvant setting）で実施することができる。「補助的条件」は、個体のがんの病歴をすでに有しており、一般的に（必ずではないが）、これらに限定されないが、外科手術（例えば外科的切除）、放射線治療、および化学療法などの治療に応答する臨床状況を指す場合がある。しかしながら、がん（例えば黒色腫または結腸がん）の病歴のために、これらの個体は、がん発症の危険を有するとみなされる。「補助的条件」における処置または投与は、後続の処置様式を指す。危険の程度（すなわち、補助的条件における個体が「高い危険」または「低い危険」とみなされる場合）は、数種の要因によって決まり、最も一般的には最初に処置されたときの疾患（がん）の程度によって決まる。

【0137】

したがって本発明は、以下で詳細に説明されるように、がん（例えば、転移がんまたは再発したがん）に関連する症状または状態（障害、欠陥）を抑える方法を対象とする。そのようなものとして、上記状態の全ての作用を完全に予防したりまたは元に戻したりする必要はないが、ここで開示された方法の作用は、個体にとって有意な治療的有用性にまで拡がっていればよい。そのようなものとして、治療的有用性は、必ずしも上記状態の完全な予防または治癒ではなく、どちらかといえば、がん（例えば、転移がんまたは再発したがん）に起因する症状を低減もしくは予防すること、このような症状の出現を（定量的または定性的のいずれかで）低減もしくは予防すること、このような症状もしくはそれらの生理学的作用の重症度を低減させること、および／またはがん（例えば、転移がんまたは再発したがん）の症状を経た後の個体の回復を強化することを含む結果を包含するものでもよい。

10

【0138】

具体的には、本発明の治療（例えば、1種または複数のオリゴヌクレオチド）は、個体に投与される場合、がん（例えば、転移がんまたは再発したがん）に関連する症状もしくは状態の1種または複数を処置もしくは予防することができ、および／またはこの障害の症状もしくはこの障害に関連する状態を低減もしくは緩和することができる。そのようなものとして、がん（例えば、転移がんまたは再発したがん）が原因で起こる作用または症状から個体を保護することは、障害の作用の出現および／または重症度を予防または低減することと、障害の作用がすでに起こっているかまたは起こり始めている患者を処置することの両方を含む。有益な作用は、当業者および／または患者を処置している熟練の臨床医によって容易に評価することができる。本発明の方法で処置された個体を本発明の方法で処置されていない個体と比較して評価するのに使用される少なくとも1つの臨床的または生物学的スコア、値、もしくは尺度の重症度または出現において、陽性または有益な差が生じることが好ましい。例えば、このような個体を評価するのに使用される少なくとも1つの臨床的または生物学的スコア、値、もしくは尺度は、スフィア形成アッセイにおいて、個体の原発腫瘍、続発性腫瘍、生検、または腹水から採取した細胞（例えば、がん幹細胞）がスフィアを形成する能力である。腫瘍または他の生体試料からがん幹細胞などの細胞を精製する方法は、例えば、その開示が参照によりその全体として本明細書に組み入れられる米国特許第8,614,095号において当技術分野において周知である。典型的なスフィア形成アッセイにおいて、対象から腫瘍を外科的に取り出し、メスで細かく刻んでおよそ2から3mm³の断片にする。断片を緩衝液（例えば、PBS）で洗浄し、次いで次亜塩素酸ナトリウムを含有する緩衝液と共にインキュベートする。腫瘍組織片を緩衝液で洗浄し、PBSで消化し、1種または複数のコラゲナーゼI、コラゲナーゼIV、ディスパーゼ、ヒアルロニダーゼおよびDNAアーゼを含有する培地で消化する。細胞懸濁液を遠心分離し、ペレットをβFGFおよびEGFを含有する緩衝液中に懸濁する。細胞を洗浄して血清を除去し、ヒトEGF、ヒトβFGF、ビタミンA非含有B27サプリメント、ヒドロコルチゾン、インスリン、およびN2サプリメントが補充された培地に懸濁する。その後細胞を非接着性プレート中で培養する。10日間培養した後、直径100から200μmのスフィアを得て、それを計数する。腫瘍形成能力を観察するために、スフィアをさらにクローン的に拡張したり、または対象に注射したりすることができる。一部の実施形態において、本明細書で開示された1種または複数のオリゴヌクレオチド（またはそれらの組成物）の有効量を、単独で、または本明細書で開示された少なくとも1つの治療と組み合わせて取り入れた個体では、本発明のオリゴヌクレオチドで処置されていない個体と比較してスフィアの形成が低減した。

20

30

40

【0139】

VI. 製造品またはキット

別の態様において、本明細書で説明される1種または複数のオリゴヌクレオチドを含む製造品またはキットが提供される。本製造品またはキットは、本発明の方法における1種または複数のオリゴヌクレオチドの使用説明書をさらに含んでもよい。したがって、ある特定の実施形態において、本製造品またはキットは、アンチセンス非コードキメラミ

50

トコンドリアRNA (ASncmtRNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (SncmtRNA) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含む、がんの転移を抑制する、がんの再発を予防もしくは処置する、および／または個体における転移がんを処置するための方法における、1種または複数のオリゴヌクレオチドの使用説明書を含む。ある特定の実施形態において、個体は、がんに関して治療（例えば、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せ）で予め処置されている。一部の実施形態において、本製造品またはキットは、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (ASncmtRNA) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (SncmtRNA) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含む、個体における難治性がん（例えば、難治性HPV関連がん）を処置するための方法における、1種または複数のオリゴヌクレオチドの使用説明書を含む。

10

【0140】

本製造品またはキットは、容器をさらに含んでもよい。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル（例えば、二室式バイアル）、シリンジ（例えば、一室または二室式シリンジ）、IVバッグ、および試験管が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成されていてもよい。容器は、本組成物（例えば、医薬製剤）を保持する。

【0141】

本製造品またはキットは、容器上または容器に付随するラベルまたは添付文書をさらに含んでもよく、本組成物（例えば、医薬製剤）の復元および／または使用に関する指示を表示していてもよい。ラベルはさらに、がんの転移を抑制する、がんの再発を予防もしくは処置する、および／または個体における転移がんを処置するために、本製剤が静脈内投与、皮下投与、もしくは他の投与様式に有用であるかまたはそれらを意図していることを表示する場合もある。他の実施形態において、ラベルはさらに、個体における難治性がん（例えば、難治性HPV関連がん）を処置するために、本製剤が静脈内投与、皮下投与、もしくは他の投与様式に有用であるかまたはそれらを意図していることを表示する場合もある。本製剤を保持する容器は、使い捨てのバイアルであってもよいし、または復元した組成物（例えば、医薬製剤）の繰り返しの投与（例えば、2～6回の投与）を可能にする複数回使用されるバイアルであってもよい。本製造品またはキットは、好適な希釈剤を含む第2の容器をさらに含んでもよい。本製造品またはキットは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、ニードル、シリンジ、および使用説明書を含む添付文書などの商業的観点、治療的観点、および使用者の観点から所望の他の材料をさらに含んでもよい。

20

30

【0142】

本明細書で説明される製造品またはキットは、場合により、第2の治療用組成物（例えば、抗がん剤）を含む容器をさらに含んでもよい。例えば、本製造品またはキットは、第1の組成物（例えば、第1の医薬組成物）として1種または複数のオリゴヌクレオチドと、第2の組成物（例えば、第2の医薬組成物）として抗がん剤とを含んでもよい。一部の実施形態において、本キットは、本発明の方法における抗がん剤と組み合わせた1種または複数のオリゴヌクレオチドの使用説明書をさらに含む。典型的な抗がん剤は、レミケード、ドセタキセル、セレコキシブ、メルファラン、デキサメタゾン、ステロイド、ゲムシタビン、シスプラチナム、テモゾロミド、エトポシド、シクロホスファミド、テモダール、カルボプラチン、プロカルバジン、ギリアデル、タモキシフェン、トポテカン、メトトレキセート、ゲフィチニブ、タキソール、タキソテール、フルオロウラシル、ロイコボリン、イリノテカン、ゼローダ、CPT-11、インターフェロンアルファ、ペグ化インターフェロンアルファ、カペシタビン、シスプラチン、チオテパ、フルダラビン、カルボプラチン、リポソーマルダウノルビシン、シタラビン、ドキシタキソール、パシリタキセル、ビンブラスチン、IL-2、GM-CSF、ダカルバジン、ビノレルビン、ゾレドロン酸、パルミトロネート、ピアキシン、ブスルファン、プレドニゾン、ボルテゾミブ、ビスホスホネート、三酸化ヒ素、ビンクリスチン、ドキシソルビシン、パクリタキセル

40

50

、ガンシクロビル、アドリアマイシン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、スリンダク、および／またはエトポシドであり得る。

【0143】

VII. 追加の典型的な実施形態

本出願は、一部の実施形態において、個体における難治性がんを処置する方法であって、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (A S n c m t R N A) 分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (S n c m t R N A) 分子に相補的な1種または複数のオリゴヌクレオチドの有効量を個体に投与することを含み、オリゴヌクレオチドは、キメラミトコンドリアRNA分子とハイブリダイズして、安定な二重鎖を形成することができる、方法を提供する。

10

【0144】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において：a) 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、アンチセンス16SミトコンドリアリボゾームRNA、またはb) 逆位反復配列を有するポリヌクレオチドの3'末端に、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAの5'末端で共有結合で連結された、センス16SミトコンドリアリボゾームRNAを含むヒト非コードキメラミトコンドリアRNA分子に、オリゴヌクレオチドが十分に相補的である。

【0145】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t R N A分子に相補的である。

20

【0146】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、配列番号4、配列番号5、および配列番号6からなる群から選択されるヌクレオチド配列によってコードされたA S n c m t R N A分子に少なくとも85%相補的である。

【0147】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号7～198からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

30

【0148】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、1種または複数のオリゴヌクレオチドは、配列番号36、197および198からなる群から選択される核酸配列を含む。

【0149】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1種の抗がん剤と組み合わせて投与される。

【0150】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、逐次的に投与される。

40

【0151】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドおよび少なくとも1種の抗がん剤は、同時に投与される。

【0152】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、放射線療法と組み合わせて投与される。

【0153】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において

50

、オリゴヌクレオチドは、外科手術と組み合わせて投与される。

【0154】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、個体は、がんに関して、化学療法、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む治療で予め処置されている。

【0155】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、難治性がんは、難治性HPV関連がんである。

【0156】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、難治性HPV関連がんは、子宮頸がん、口腔咽頭がん、および頭頸部がんからなる群から選択される1種または複数である。

10

【0157】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、難治性HPV関連がんは、化学療法剤に耐性である。

【0158】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、化学療法剤は、シスプラチン、パクリタキセル、アクチノマイシンD、ドキソルビシン、エトポシド、および5-フルオロウラシルからなる群から選択される1種または複数である。

20

【0159】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、難治性HPV関連がんは、HPV16、HPV18、HPV31およびHPV45からなる群から選択される1種または複数のHPV株での感染によるものである。

【0160】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、個体におけるがん幹細胞数を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して減少させる。

【0161】

上記実施形態のいずれかに係る（またはそれらに適合させた）一部の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、個体における腫瘍増殖および／または転移を、オリゴヌクレオチドが投与されていない個体と比較して阻害する。

30

【0162】

以下の実施例を参照することにより、本発明はよりよく理解されるものと予想される。実施例は、単に本発明を例示することを意図したものであって、本発明の範囲を限定すると決して解釈されないものとする。本明細書に記載された実施例および実施形態は、単に例示的な目的のためのものであり、当業者であればそれらの観点における様々な改変または変更は想到すると予想され、本出願の本質および範囲ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれることとなると理解される。

【実施例】

40

【0163】

（実施例1）

アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのHCT-116結腸がん細胞およびヒト結腸がん細胞の初代培養の処置がスフィアの形成を停止させた

この研究では、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA（ASncmtRNA）に向けられたアンチセンスオリゴヌクレオチドでの処置後に、HCT-116結腸がん細胞株および患者から得られたヒト結腸がん細胞の初代培養の両方からの細胞のスフェロイド体を形成する能力を決定した。利用されたアッセイにより、本明細書ではスフィアとも称されるスフェロイド体の数を、これらのスフェロイド体を形成するがん幹細胞の特

50

異的な能力に基づき測定した。

【0164】

材料および方法

実験スキーム：

図1は、結腸がん細胞中で形成されたスフィアの数に対するASncmtRNAに標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドの作用を、これらのスフェロイド体を形成するがん幹細胞の特異的な能力に基づき測定するための、本明細書で利用された実験手順およびアッセイの一般的なスキームを示す。HCT-116結腸がん細胞および患者から得られたヒト結腸がん細胞の初代培養において、スフィアの形成を測定した。

【0165】

ヒトがん細胞の初代培養：

外科手術後、各患者の対応するインフォームドコンセントと共に結腸がんの生検を行った。約500mm³の腫瘍の断片を、DMEM培地、高グルコースのGlatamax（商標）（GIBCO）、10%FCS（Biological Industries）、Fungizone（登録商標）1×、2×抗生-抗真菌剤混合物およびゲンタマイシン25μg/ml（Invitrogen）を含有する50ml滅菌チューブに移した。外科手術から2から3時間以内に生検を処理した。

【0166】

腫瘍をばらばらにするために、結腸腫瘍の断片をメスで細かく刻んでおよそ2から3mm³の断片にした。断片をPBSで2回洗浄し、次いで0.5%次亜塩素酸ナトリウムを含有するPBSで20分間インキュベートした。断片をPBSで3回洗浄し、1mg/mlコラゲナーゼI、2mg/mlコラゲナーゼIV、1mg/mlディスパーゼ、20μg/mlヒアルロニダーゼおよび2000U/mlのDNAアーゼを含有するRPMI培地（Invitrogen）で消化した。この混合物を、一定して攪拌しながら37℃で60分間インキュベートした。次に、細胞懸濁液を200×gで5分間遠心分離し、ペレットをPBSに懸濁し、再度200×gで5分間遠心分離した。ペレットを、スフィアの形成のために、1×N2サプリメント、10ng/mlのβFGFおよび20ng/mlのEGFを含有するDMEM/F12中に再懸濁した。

【0167】

HCT-116細胞の培養：

標準的なプロトコールに従ってHCT-116細胞を培養した。ATCCから入手したHCT-116細胞を、10%FCSと共にペニシリン、ゲンタマイシンおよびファンギゾン（fungizone）を含有するDMEM培地で、37℃および5%CO₂で増殖させた。

【0168】

スフィアの形成による腫瘍細胞の選択およびコーティングされたプレートへの接着：

結腸がんの腫瘍から得られた細胞またはHCT-116培養物を収集し、洗浄して血清を除去し、100IU/mlペニシリン、100μg/mlストレプトマイシン、20ng/mlヒトEGF、20ng/mlヒトβFGF、2%のビタミンA非含有B27サプリメント、ヒドロコルチゾン、インスリン（Lonza）およびN2サプリメントを補充した無血清DMEM/F12（Invitrogen、Carlsbad、CA、USA）に懸濁した。その後細胞を、非接着性プレート（Corning Inc.、Corning、NY、USA）中、細胞約5,000個/ウェルの密度で、またはT25フラスコ（Corning Inc. T25 3815）中、細胞1×10⁵個で培養した。10日間培養した後、直径100から200μmのスフィアを得た。スフィアを含有する培地を70μmナイロンフィルターを使用してろ過し、単一の細胞を除去した。スフィアを収集し、トリプシン-EDTAで解離させ、ピペットにより機械的に破壊した。次いで細胞を遠心分離して酵素を除去し、105CFSを含有するDMEM培地で1回洗浄し、コラーゲンI（Gibco）でコーティングされた接着性プレートで平板培養し、前述したようにして37℃および5%CO₂で培養した。

10

20

30

40

50

【0169】

細胞のトランスフェクションおよびアンチセンスオリゴヌクレオチド：

この研究で使用されたアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) は、IDT (Integrated DNA Technologies, USA)、Invitrogen または Biosearch Inc. により、100% ホスホロチオエート (PS) のヌクレオシド間連結を用いて合成された。トランスフェクションのために、12-ウェルプレート (Nunc) に細胞 50,000 個/ウェルで細胞を植え付けた。次の日、結腸がんの腫瘍または HCT-116 培養物から選択された細胞 (スフィアの形成による腫瘍細胞の選択およびコーティングされたプレートへの接着を参照) に、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO1107S: 5'-GTCCTAAACTACCAAAACC-3' (配列番号 197) もしくは ASO1537S: 5'-CACCCACCCCAAGAACAGG-3' (配列番号 36)、細胞型に応じて) または対照オリゴヌクレオチド (対照オリゴ154: 5'-AGGTGGAGTGGATTGGGG-3' (配列番号 199)) を、100 から 200 nM (細胞型に応じて) の最終濃度で、リポフェクトアミン 2000 (Invitrogen) を製造元の指示に従って使用してトランスフェクトした。加えて、細胞の部分集合を未処置のまま、またはリポフェクトアミン 2000 のみの存在下で残した。通常の培養条件下で 48 時間トランスフェクションを行った。

10

【0170】

スフィア形成アッセイ：

トランスフェクション後 48 時間で、細胞を回収し、計数して、5,000 から 6,000 個の細胞を、前述したようにして (上記参照) 非接着性 6-ウェルプレート (Corning Inc., Corning, NY, USA) で培養した。10 日間培養した後、直径 100 から 200 μm のスフィアを得て、これを計数した。

20

【0171】

結果

処置なし、リポフェクトアミンのみでの処置、または対照オリゴ154での処置の後の結腸腫瘍細胞の初代培養物において、スフィアの形成は変化しなかった。しかしながら、ASO1537Sでの処置後のこれらの初代細胞ではスフィアの形成が停止された (図2)。

【0172】

結腸腫瘍の初代培養 (患者の TPT; 50,000 個の細胞) を使用して、スフィアの形成を定量化し、これらの細胞のスフィアを形成する能力に対する ASO1537S でのトランスフェクションの作用を評価した。対照細胞の 3 つの群 (未処置、リポフェクトアミンのみでの処置、または対照オリゴ154での処置) は、スフィアを形成したが (30 から 37 個のスフィア)、これは植え付けられた細胞総数のおよそ 0.6% に等しい。ASO1537S でトランスフェクトされた細胞は、スフィアを形成することができなかった (図3)。

30

【0173】

処置なし、リポフェクトアミンのみでの処置、または対照オリゴ154での処置の後の HCT-116 結腸腫瘍細胞株からの細胞において、スフィアの形成は変化しなかった。しかしながら、ASO1107Sでの処置後のこれらの細胞ではスフィアの形成が停止された (図4)。

40

【0174】

結腸腫瘍細胞株 HCT-116 を使用して、スフィアの形成を定量化し、スフィアの形成に対する ASO1107S でのトランスフェクションの作用を評価した。対照細胞の 3 つの群 (未処置、リポフェクトアミンのみでの処置、または対照オリゴ154での処置) は、スフィアを形成したが (100 から 160 個のスフィア)、これは植え付けられた細胞総量の 0.3% に等しい (この代表的な実施例において、T25 フラスコ中、50,000 個の細胞)。しかしながら、ASO1107S でトランスフェクトされた細胞は、スフィアを形成することができなかった (図5)。

50

【0175】

総合すると、これらの結果から、未処置のままの群、リポフェクトアミンのみで処置した群、または対照オリゴヌクレオチドでトランスフェクトされた群は、スフィアを形成する能力を保持したことが示される。対照的に、アンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトされた初代結腸腫瘍細胞またはHCT-116結腸がん細胞は、それらのスフィアを形成する能力を失った。これらの結果から、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、処置の際にスフィア形成が失われたことによって示されたように、がん幹細胞を殺すことができたことが示される。さらにこれらの結果から、スフィアを形成できたのは植え付けられた全ての細胞のうちの一部に過ぎないことも示される。

【0176】

10

(実施例2)

アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでの子宮頸がん細胞株およびヒト子宮頸がん細胞の初代培養の処置はスフィアの形成を停止させた

アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA (ASncmtRNA) に向けられたアンチセンスオリゴヌクレオチドでの処置後に、SiHa子宮頸がん細胞株(ヒトパピローマウイルス16またはHPV16で形質転換された)からの、および患者から得られたヒト子宮頸がん細胞の初代培養物からの子宮頸部細胞のスフェロイド体を形成する能力を決定した。利用されたアッセイにより、がん幹細胞によって形成された、本明細書ではスフィアとも称されるスフェロイド体の数を測定した。

20

【0177】

材料および方法

実験スキーム:

本明細書で利用された実験手順およびアッセイにより、子宮頸がん細胞によって形成されたスフィアの数に対するASncmtRNAに標的化したアンチセンスオリゴヌクレオチドの作用を測定した(図6)。SiHa子宮頸がん細胞株および患者から得られたヒト子宮頸がん細胞の初代培養物(CerCa)におけるスフィアの形成を測定した。CerCa1、CerCa2およびCerCa3(ヒトパピローマウイルス45で形質転換した)を患者生検から得た。

【0178】

30

SiHa細胞の培養:

SiHa細胞を、10%FCSと共にペニシリン、ゲンタマイシンおよびfungizoneを含有するDMEM、「高グルコース」のGlutaMAX(商標)中で、37℃および5%CO₂で増殖させた。

【0179】

ヒトがん細胞の初代培養:

外科手術後、患者毎に対応するインフォームドコンセントを行って子宮頸がんの生検を行った。約500mm³の腫瘍の断片を、DMEM培地、高グルコースのGlatamax(商標)(GIBCO)、10%FCS(Biological Industries)、Fungizone(登録商標)1×、2×抗生-抗真菌剤混合物およびゲンタマイシン25μg/ml(Invitrogen)を含有する50mL滅菌チューブに移した。外科手術後2から3時間以内に生検を処理した。

40

【0180】

腫瘍をばらばらにするために、組織試料を10mlの滅菌PBS(Gibco)を含む10cmのペトリ皿上に置き、メスで小さい断片(1~3mm³)にスライスした。断片を、0.5%コラゲナーゼ(Colagenase)I、0.5%コラゲナーゼII、0.5%コラゲナーゼIV(GIBCO)、0.5%ヒアルロニダーゼ(hyaluronidase)(Appl Chem)、0.1%ディスパーゼ(GIBCO)、0.05%DNアーゼ(Appl Chem)、0.1%BSA(Rockland)、抗生-抗真菌剤2×混合物(GIBCO)およびFungizone(登録商標)2×(GIBCO)を含有する培地2m

50

1を含む6cmの培養皿に移した。断片を37℃で30分間インキュベートし、細胞懸濁液を300×gで5分間遠心分離した。ペレットを、20ng/mlのhEGF20、ヒドロコルチゾン、インスリン、GA-1000 (Lonza)、0.5×ビタミンA非含有B-27 (Invitrogen)、20ng/mlのFGFb (Invitrogen) および5%CFBを含有するMEGM (商標) 培地5mlに懸濁した。細胞を、コーゲン (BD Bioscience) でコーティングされたT25フラスコ中、37℃および5%CO₂で培養した。48時間毎に培地を交換した。

【0181】

スフィアの形成による腫瘍細胞の選択およびコーティングされたプレートへの接着：

20ng/mlのhEGF、ヒドロコルチゾン、インスリン、GA-1000 (Lonza)、0.5×ビタミンA非含有B-27 (Invitrogen)、20ng/mlのCFS非含有FGFb (Invitrogen) が補充されたMEGM (商標) 培地に再懸濁した約 1×10^5 個の細胞を、超低接着性プレート (Corning) 上に植え付けた。10日後、位相差顕微鏡下でスフィアを計数し、収集し、70μmのナイロンメッシュを使用してろ過し、単一の細胞を捨てた。フィルターからスフィアを回収し、I型コーゲン (Gibco) で予めコーティングされた6ウェルプレート (Corning) 上に植え付け、上述したようにして培養した。子宮頸部腫瘍であるCerCa1、CerCa2およびCerCa3の3種のヒト初代培養物を単離した。

【0182】

ヒトパピローマウイルス (HPV) の遺伝子型解析：

PGMY09/11リニアアレイ (Roche) を用いて様々な初代培養を分析した。CerCa1およびCerCa2の初代細胞培養物中ではHPV16の存在が検出されたが、CerCa3初代細胞培養物中ではHPV45が検出された。

【0183】

細胞のトランスフェクションおよびアンチセンスオリゴヌクレオチド：

この研究で使用されるアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) は、IDT (Integrated DNA Technologies, USA)、InvitrogenまたはBiosearch Inc. により、100%ホスホロチオエート (PS) スクレオシド間連結を用いて合成された。トランスフェクションのために、12ウェルプレート (Nunc) に細胞5000個/ウェルで細胞を植え付けた。次の日、子宮頸がんの腫瘍またはSiHa細胞から選択された細胞 (スフィアの形成による腫瘍細胞の選択およびコーティングされたプレートへの接着を参照) に、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO1537S：5'-CACCCACCCACAAGAACAGG-3' (配列番号36)、細胞型に応じて) または対照オリゴヌクレオチド154 (ASO-C：5'-AGGTGGAGTGGATTGGGG-3' (配列番号199)) を、100nM (SiHa細胞) または200nM (CerCa細胞) の最終濃度で、リポフェクトアミン2000 (Invitrogen) を製造元の指示に従って使用してトランスフェクトした。加えて、細胞の部分集合を、未処置のまま残すか (NT)、リポフェクトアミン2000 (LIPO) のみの存在下でトランスフェクトするか、または45μMシスプラチン (CIS P) と共にインキュベートした。通常の培養条件下で72時間トランスフェクションを行った。

【0184】

スフィア形成アッセイ：

トランスフェクション後72時間で、細胞を回収し、計数して、5,000から6,000個の細胞を、上述したようにして非接着性6ウェルプレート (Corning Inc., Corning, NY, USA) で培養した。10日間培養した後、直径100から200μmのスフィアを得て、これを計数した。

【0185】

結果

処置なし (NT)、リポフェクトアミンのみでの処置 (LIPO)、または対照オリゴ

10

20

30

40

50

ヌクレオチド154 (ASO-C)での処置の後の子宮頸部腫瘍細胞の初代培養物において、スフィアの形成は変化しなかった。対照的に、ASO1537Sでの処置後のSiHa、CerCa1、CerCa2およびCerCa3初代培養ではスフィアの形成が停止された(図7および図8)。細胞を薬物シスプラチン(CISP)(45 μM)で処置したところ、SiHa、CerCa1およびCerCa2細胞(全てHPV16に感染)のスフィアの形成も停止されたが(図7および図8)、シスプラチンで処置されたCerCa3細胞(HPV45に感染)では作用は観察されなかった。

総合すると、これらの結果から、未処置のまま、リポフェクトアミンのみで処置した、または対照オリゴヌクレオチドでトランスフェクトされた、子宮頸がんの初代培養(CerCa1、CerCa2およびCerCa3細胞)および細胞株SiHaは、スフィアを形成する能力を保持したことが示される。対照的に、アンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNA(ASncmtRNA)分子またはセンス非コードキメラミトコンドリアRNA(SncmtRNA)分子に標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドでトランスフェクトされた初代子宮頸部腫瘍細胞またはSiHa細胞は、HPV16またはHPV45陽性かどうかに関わらずそれらのスフィアを形成する能力を失った。これらの結果から、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、処置の際にスフィア形成が失われたことによって示されたように子宮頸がん幹細胞を殺すことができたことが示される。さらに、抗がん薬であるシスプラチンで処置したところ、SiHa、CerCa1およびCerCa2細胞(全てHPV16陽性)のスフィアの形成が停止されたが、HPV45に感染したCerCa3では停止されなかった(図7および図8)。それゆえに、これらの結果から、アンチセンスオリゴヌクレオチド(oligonucleotides)は、シスプラチン処置に耐性の子宮頸がん幹細胞(CerCa3細胞)を殺すことができることが示される。Tjalmeら、Am. J. Clin. Pathol.、137巻:161頁、2012年;de Sanjoseら、Eur J Cancer.、49巻(16号):3450頁、2013年;Tjalmaら、Int J Cancer.、132巻(4号):854頁、2013年を参照されたい。

【0186】

(実施例3)

皮内黒色腫瘍を除去するための外科手術後におけるアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのマウスの処置は、腫瘍増殖の再発ならびに肺および肝臓での転移を予防した

黒色腫に関する共通の臨床プロトコルの1つは、外科的切除とそれに続く薬物の全身投与を含む。他の腫瘍での実施においては類似のプロトコルが使用される。この代表的な実施例で示される黒色腫モデルでは、C57BL/6マウスの背中にB16F10黒色腫細胞(塩類溶液200 μl中に細胞100,000個)を皮下注射した。細胞注射から約11から12日後、700から1,000 mm³の間の腫瘍が発生した(マウスにおける1,000 mm³の腫瘍は、ヒトにおける腫瘍3,000 cc³と同等とみなされる)。この時点で、マウスを、類似の腫瘍体積を有する2つの群(対照オリゴASO154およびASO1560S(配列番号198))にランダムに分けた。腫瘍を麻酔下で外科的に切除し、100 μgのASO1560SまたはASO154を含有する250 μlで創傷を1回洗浄した。外科的に縫合した後、腫瘍によって残された空洞に、100 μgのASO154またはASO1560Sを含有する塩類溶液200 μlのボーラス投与を適用した。外科手術から3日後、1日毎で交互に、100 μgのASO1560SまたはASO154のいずれかを含有する塩類溶液250 μlを、3回の静脈内注射(図9;タイムライン上の第1、第3、第5の矢印)または3回の腹膜内注射(図9;タイムライン上の第2、第4、第6の矢印)でマウスに与えた。腫瘍増殖をノギスで週2回測定した。

【0187】

ASO154で処置されたマウスにおいて、外科手術から約3日後に腫瘍増殖の再発が観察され、細胞注射後約25日目に腫瘍体積は約1,500 mm³に達した(図9)。これらのマウスを麻酔下で安楽死させ、腫瘍および他の臓器を固定し、さらなる研究のために保存した。マウスASncmtRNAに標的化されたASO1560Sで処置されたマ

ウスでは、再発は観察されなかった。細胞注射後130日目に、マウスは、検出可能な腫瘍は存在せずに健康なようであり、安楽死させて、臓器を収集した。転移性小結節の存在に関して肝臓および肺を分析した。

【0188】

対照マウス（対照オリゴASO154で処置）は、肺および肝臓においてがん再発および転移性の黒い小結節の存在を示した。対照的に、ASO1560Sで処置されたマウスの肺および肝臓では転移性小結節の存在はなかったことから、ASO1560Sはがん再発を予防または抑制することが実証された（図10）。

【0189】

（実施例4）

皮内腎臓腫瘍を除去するための外科手術後のアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのマウスの静脈内処置は、腫瘍再発の非存在と完全な生存をもたらした

0日目に、100,000個のRENCA細胞（ATCC（登録商標）CRL-2947（商標）mus musculusの腎臓腺癌（adenocarcina））を皮下注射した。12日目に、800mm³の平均サイズを有する腫瘍を除去し、腫瘍の部位を、両方ともリポソーム中に製剤化した100μgの対照オリゴASO154（4匹の動物）またはASO1560S（5匹の動物）200μlで洗浄した。動物を縫合し、両方ともリポソーム中に製剤化した100μgのASO154（図11、四角）またはASO1560S（図11、三角）250μlを除去した腫瘍の部位に静脈内注射した。さらなる処置は施さなかった。40日目（外科手術の30日後）に、全ての対照動物は死亡し、腫瘍の平均サイズは1,200mm³であり、大規模な転移を起こしていたが、ASO1560Sで処置された全ての動物は腫瘍を有さず、61日目でもまだ生きていた（図11）。

【0190】

（実施例5）

皮内腎臓腫瘍を除去するための外科手術後のアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのマウスの腹膜内処置は、腫瘍再発の非存在と完全な生存をもたらした

0日目に、8匹のマウスに100,000個のRENCA細胞（ATCC（登録商標）CRL-2947（商標）mus musculusの腎臓腺癌）を皮下注射した。11日目に、腫瘍は、800mm³の平均サイズを有していた。全ての動物の腫瘍を外科手術で除去し、2つの群に分けた。対照群の創傷を縫合前に対照オリゴASO154で1回洗浄し、処置群の創傷を縫合前にASO1560Sで洗浄した。縫合後、腫瘍が増殖していた場所に250μlのボーラスを腹腔内注射し、ここで対照群にはASO154を注射し、処置群にはASO1560Sを注射した。13、15、17および19日目に、リポソーム中に製剤化した25μgのASO154（図12、丸）または25μgのASO1560S（図12、四角）の腹膜内注射を体積250μlで行った。14、16および18日目に、同じプロトコルでマウスに静脈内注射した。22日目に、全ての対照動物は、1,200mm³より大きい腫瘍を有しており、死亡した。60日目に、ASO1560Sで処置された全ての動物は腫瘍を有さず、まだ生きていた（図12）。

【0191】

（実施例6）

皮内黒色腫瘍を除去するための外科手術後のアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのマウスの処置は、腫瘍再発の非存在と完全な生存をもたらした

0日目に、マウスにB16F10黒色腫細胞（200μlのRPMI培地中に細胞100,000個）を皮下注射した。11日目に、外科手術を実行して腫瘍を除去した。腫瘍体積はおよそ800から1200mm³まで様々であった。創傷を1回洗浄した。縫合後、腫瘍部位に、リポソーム中のオリゴ250μlを1回ボーラス注射した。13、15、17、19および21日目に、それぞれ体積250μlの、用量25μgの裸の対照AS

10

20

30

40

50

0154 (図13、四角)、25 μ gのリポソーム中の対照ASO154 (図13、丸)、または50 μ gのリポソーム中のASO154 (図13、三角)をマウスの腹腔内に注射した。他のマウスの群 (1群当たり6匹のマウス) に、上述した方式と類似の方式で、50 μ gの裸のASO1560、25 μ gのリポソーム中のASO1560Sまたは50 μ gのリポソーム中のASO1560S (図13、ひし形)を注射した。

【0192】

25および50 μ gのASO1560Sの腹膜内注射を用いた外科手術後の処置は、対照オリゴヌクレオチドで処置されたマウスと比較して、皮内黒色腫瘍再発の非存在と完全な生存をもたらした (図13)。

【0193】

(実施例7)

皮下膀胱癌の腫瘍を除去するための外科手術後のアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのマウスの腹膜内または静脈内処置は、腫瘍の非存在と完全な生存をもたらした

12匹のマウスに、100,000個のMB49細胞 (マウス膀胱がん細胞)を皮下注射した。15日後、マウスは、800mm³の平均直径を有する腫瘍を有していた。腫瘍を外科的に除去し (0日目)、外科手術の部位に、100 μ gのASO154 (対照) またはASO1560S (活性薬物)を含有する200 μ lのボーラスを注射した。外科手術から3日後、マウスを2つの群に分け、図14に示すように、ASO154 (対照群) またはASO1560S (処置群)を含有する100 μ lの注射により腹腔内または静脈内処置した。ASO1560Sで腹腔内処置した1匹のマウスだけが、腫瘍を発生させた。ASO1560Sで静脈内処置した全てのマウスは腫瘍がない状態を保ち、完全な生存を達成した。対照オリゴASO154で処置された対照動物は41日目に死亡した (図14)。

【0194】

(実施例8)

ヒト黒色腫の腫瘍除去後におけるアンチセンス非コードキメラミトコンドリアRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドでのRag-/-マウスの処置は、腫瘍再発の有意な除去と大幅な生存の延長をもたらした

Rag-/-マウスに、500万個のヒトA375黒色腫細胞を注射した。細胞注射後およそ34日目に、全てのマウスが約700mm³の腫瘍を発生させた。マウスを腫瘍除去手術で処理して、ランダムに2つの群に分けた。

【0195】

群1 (対照) : 創傷を、体積200 μ lの50 μ gの対照オリゴ154で洗浄した (群中、マウス6匹)。群2 (治療) : 創傷を、200 μ lの50 μ gのASO1537S (群中、マウス8匹) (実施例1で示したオリゴヌクレオチドの配列)で洗浄した。縫合後、50 μ gの対照オリゴ154を含有する250 μ lのボーラス (6匹の対照マウス) または50 μ gのASOオリゴ1537Sを含有する250 μ lのボーラス (8匹の治療マウス)を適用した。2日後、マウスに、対照オリゴ154またはASOオリゴ1537Sを一日おきに6回注射した。1回目の注射を腹膜内に行い、2回目の注射を尾静脈に行った。

【0196】

外科手術から30日目、6匹の対照オリゴ154で処置されたマウスは、2000mm³の規模の腫瘍を有しており、死亡した (図15、丸)。外科手術から57日目、ASOオリゴ1537Sを受けたマウス8匹のうち4匹は腫瘍を有していなかった (図15、三角)。外科手術から17日目、ASOオリゴ1537Sを受けたマウス8匹のうち4匹が小さい腫瘍を示し始め、腫瘍はゆっくり増殖し、36日目に約500mm³のサイズに達した (図15、四角)。これらのマウスを再度外科手術で処理して腫瘍を除去し、その後2匹のマウスが死亡した。残りの2匹のマウスを、50 μ gのASOオリゴ1537Sを250 μ lで用いた同じ治療プロトコル (3回の腹膜内注射と3回の静脈内注射とを交

10

20

30

40

50

互に)で処理した(図15)。

【表1】

SEQUENCES

```

<210> SEQ ID NO 1
<211> LENGTH: 2374
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Homo sapiens
<400> SEQUENCE: 1
  tctaatactg gtgatgctag aggtgatgtt tttggtaaac aggcggggta agatttgccg
60
  agttccctttt acttttttta acctttccctt atgagcatgc ctgtgttggg ttgacagtga
120
  gggtaataat gacttggttg ttgattgtag atattgggct gttaattgtc agttcagtgt
180
  tttaatctga cgcaggctta tgcggaggag aatgttttca tgttacttat actaacatta
240
  gttcttctat agggtgatag attgggtccaa ttgggtgtga ggagttcagt tatatgtttg
300
  ggatttttta ggtagtgggt gttgagcttg aacgctttct taattgggtg ctgcttttag
360
  gcctactatg ggtgttaaata tttttactct ctctacaagg ttttttcccta gtgtccaaag
420
  agctgttccct ctttggaacta acagttaaata ttacaagggg atttagaggg ttctgtgggc
480
  aaatttaaag ttgaactaag attctatctt ggacaaccag ctatcaccag gctcggtagg
540
  tttgtgcct ctacctataa atcttccac tattttgcta catagacggg tgtgctcttt
600
  tagctgttct taggtagctc gtctggtttc ggggggtctta gctttggctc tccctgcaaa
660
  gttatttcta gttaattcat tatgcagaag gtataggggt tagtccttgc tatattatgc
720
  ttggttataa tttttcatct ttcccttgcg gtactatac tattgcgcca ggtttcaatt
780
  tctatcgctt atactttatt tgggtaaatg gtttggttaa acctagcccc aaaccactc
840
  caccttacta ccagacaacc ttagccaaac catttaccac aataaagtat aggcgataga
900
  aattgaaacc tggcgcaata gatatagtac cgcaagggaa agatgaaaaa ttataaccaa
960
  gcataatata gcaaggacta acccctatac cttctgcata atgaattaac tagaaataac
1020
  tttgcaagga gagccaaagc taagaccccc gaaaccagac gagctaccta agaacagcta
1080
  aaagagcaca cccgtctatg tagcaaaata gtgggaagat ttataggtag aggcgacaaa
1140
  cctaccgagc ctggtgatag ctggttgtcc aagatagaat cttagttcaa ctttaaattt
1200
  gccacagaa cctctaaat ccccttgtaa atttaactgt tagtccaaag aggaacagct
1260
  ctttggaacac taggaaaaaa ccttgtagag agagtaaaaa atttaacacc catagtaggc
1320
  ctaaaagcag ccaccaatta agaaagcggt caagctcaac acccactacc taaaaaatcc
1380
  caaacatata actgaactcc tcacacccaa ttggaccaat ctatcaccct atagaagaac
1440
  taatgttagt ataagtaaca tgaaaacatt ctctccgca taagcctgcg tcagattaaa
1500
  aactgaact gacaattaac agccaatat ctacaatcaa ccaacaagtc attattaccc
1560
  tcactgtcaa cccaacacag gcatgctcat aaggaaaggt taaaaaagt aaaaggaact
1620

```

【表 2】

1680	cggc aaatct tacc cgcct gttt accaaa aacatcacct ctagcatcac cagtattaga	
1740	ggcaccgcct gccagtgac acatgtttaa cggccgcggt accctaaccg tgcaaaggta	
1800	gcataatcac ttgttcctta aatagggacc tgtatgaatg gctccacgag ggttcagctg	
1860	tctcttactt ttaaccagtg aaattgacct gcccggaag aggcgggcat aacacagcaa	
1920	gacgagaaga ccctatggag ctttaattta ttaatgcaa cagtacctaa caaaccaca	
1980	ggtcctaaac taccaaacct gcattaaaaa tttcggttg ggcgacctcg gagcagaacc	10
2040	caacctccga gcagtacatg ctaagacttc accagtcaaa gcgaactact atactcaatt	
2100	gatccaataa cttgaccaac ggaacaagtt accctaggga taacagcgca atcctattct	
2160	agagtccata tcaacaatag ggtttacgac ctcgatgttg gatcaggaca tcccgatgg	
2220	gcagccgcta ttaaagggtc gtttggtcaa cgattaaagt cctacgtgat ctgagttcag	
2280	accggagtaa tccaggtcgg tttctatcta ctttcaaatt cctccctgta cgaaaggaca	
2340	agagaaataa ggctacttc acaaagcgcc tcccccgta aatgatata caatcaactta	
2374	gtattatacc cacaccacc caagaacagg gttt	20
<210> SEQ ID NO 2		
<211> LENGTH: 1679		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 2		
60	ggggctcttag ctttggtctt ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg	
120	tatagggggtt agtccttgct atattatgct tgggtataat ttttcatctt tcccttgcg	
180	tgctaaacct agccccaac ccaactccacc ttactaccag acaaccttag ccaaaccatt	30
240	tacccaaata aagtataggc gatagaaatt gaaacctggc gcaatagata tagtaccgca	
300	agggaaagat gaaaaattat aaccaagcat aatatagcaa ggactaacc cttataccttc	
360	tgcataatga attaaactaga aataactttg caaggagagc caaagctaag acccccgaaa	
420	ccagacgagc tacctaagaa cagctaaaag agcacaccg tctatgtagc aaaatagtgg	
480	gaagatttat aggtagaggc gacaaacct cggagcctgg tgatagctgg ttgtccaaga	
540	tagaatctta gttcaacttt aaatttgccc acagaaccct ctaaatcccc ttgtaaattt	
600	aactgttagt ccaaagagga acagctcttt ggacactagg aaaaaacctt gtagagagag	40
660	taaaaaattt aacaccata gtaggcctaa aagcagccac caattaagaa agcgttcaag	
720	ctcaacacc actacctaaa aaatcccaaa catataactg aactcctcac acccaattgg	
780	accaatctat caccctatag aagaactaat gttagtataa gtaacatgaa aacattctcc	
840	tccgcataag cctgcgtcag attaaaacac tgaactgaca attaacagcc caatatctac	

【表 3】

900	aatcaaccaa caagtcatta ttaccctcac tgtcaaccca acacaggcat gtcataagg	
960	aaagggttaaa aaaagtaaaa ggaactcggc aaatcttacc ccgcctgttt accaaaaaca	
1020	tcacctctag catcaccagt attagaggca ccgcctgccc agtgacacat gtttaacggc	
1080	cgcggtaccc taaccgtgca aaggtagcat aatcacttgt tccttaataa gggacctgta	
1140	tgaatggctc cacgaggggt cagctgtctc ttacttttaa ccagtgaat tgacctgccc	
1200	gtgaagaggc gggcataaca cagcaagacg agaagaccct atggagcttt aatttattaa	10
1260	tgcaaacagt acctaacaaa cccacaggtc ctaaactacc aaacctgcat taaaaatttc	
1320	ggttggggcg acctcggagc agaaccaaac ctccgagcag tacatgctaa gacttcacca	
1380	gtcaaagcga actactatac tcaattgac ccaataacttg accaacggaa caagttaccc	
1440	tagggataac agcgcaatcc tattctagag tccatatcaa caataggggt tacgacctcg	
1500	atgttggatc aggacatccc aatgggtgcg ccgctattaa aggttcgttt gttcaacgat	
1560	taaagtccta cgtgatctga gttcagaccg gagtaatcca ggtcggtttc tatctacttc	
1620	aaattcctcc ctgtacgaaa ggacaagaga aataaggcct acttcacaaa gcgccttccc	20
1679	ccgtaaatga tatcatctca acttagtatt ataccacac ccaccaaga acagggttt	
<210> SEQ ID NO 3		
<211> LENGTH: 1635		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 3		
60	ggggtcttag ctttggctct ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg	
120	tataggggtt agtccttgct aaacctagcc ccaaaccac tccacctac taccagacaa	30
180	ccttagccaa accatttacc caaataaagt ataggcgata gaaattgaaa cctggcgcaa	
240	tagatatagt accgcaaggg aaagatgaaa aattataacc aagcataata tagcaaggac	
300	taacccttat accttctgca taatgaatta actagaaata actttgcaag gagagccaaa	
360	gctaagaccc ccgaaaccag acgagctacc taagaacagc taaaagagca caccgtcta	
420	tgtagcaaaa tagtggaag atttataggt agaggcgaca aacctaccga gcctggtgat	
480	agctggttgt ccaagataga atcttagttc aactttaaat ttgccacag aacctctaa	
540	atccccttgt aaatttaact gttagtccaa agaggaacag ctctttggac actaggaaaa	40
600	aaccttgtag agagagtaaa aaatttaaca cccatagtag gcctaaaagc agccaccaat	
660	taagaaagcg ttcaagctca acaccacta cctaaaaaat cccaacata taactgaact	
720	cctcacaccc aattggacca atctatcacc ctatagaaga actaatgtta gtataagtaa	
780	catgaaaaca ttctctccg cataagcctg cgtcagatta aaacactgaa ctgacaatta	

【表 4】

840 acagcccaat atctacaatc aaccaacaag tcattattac cctcactgtc aaccaaacac
 900 aggcattgtc ataaggaaag gttaaaaaaa gtaaaaggaa ctgggcaaatt cttaccccg
 960 ctgtttacca aaaacatcac ctctagcacc accagtatta gaggcaccgc ctgcccagtg
 1020 acacatgttt aacggccgcg gtaccctaac cgtgcaaagg tagcataatc acttggttct
 1080 taaataggga cctgtatgaa tggctccacg aggggttcagc tgtctcttac ttttaaccag
 1140 tgaaattgac ctgcccgtga agaggcgggc ataacacagc aagacgagaa gaccctatgg
 1200 agctttaatt tattaatgca aacagtacct aacaaacca caggctcctaa actaccaaac
 1260 ctgcattaaa aatttcggtt ggggcgacct cggagcagaa cccaacctcc gagcagtaca
 1320 tgctaagact tcaccagtca aagcgaacta ctatactcaa ttgatccaat aacttgacca
 1380 acggaacaag ttaccctagg gataacagcg caatcctatt ctagagtcca tatcaacaat
 1440 aggggtttacg acctcgatgt tggatcagga catcccaatg gtgcagccgc tattaagggt
 1500 tcgtttgttc aacgattaaa gtccctacgtg atctgagttc agaccggagt aatccaggtc
 1560 gggtttctatc tacttcaaat tcctccctgt acgaaaggac aagagaaata aggcctactt
 1620 cacaagcgc cttccccgt aaatgatatc atctcaactt agtattatac ccacaccac
 1635 ccaagaacag gggtt

10

20

<210> SEQ ID NO 4
 <211> LENGTH: 1921
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 4

30

60 aacctccgag cagtacatgc taagacttca ccagtcaaag cgaactacta tactcaattg
 120 atccaataac ttgaccaacg gaacaagtta ccctagggat aacagcgcaa tcctattcta
 180 gagtccatat caacaatagg gtttacgacc tcgatgttgg atcaggacat cccaatgggtg
 240 cagccgctat taaagggtcg tttgttcaac gattaaagtc ctacgtgacg tgagttcaga
 300 ccggagtaat ccaggtcggt ttctatctac ttcaaattcc tccctgtacg aaaggacaag
 360 agaaataagg cctacttcac aaagcgctt cccccgtaa tgatatcacc tcaacttagt
 420 attataccct gttcttgggt ggggtgtgggt ataatactaa gttgagatga tatcatttac
 480 gggggaaggc gctttgtgaa gtaggcctta tttctcttgt cctttcgtag agggaggaat
 540 ttgaagtaga tagaaaccga cctggattac tccggtctga actcagatca cgtaggactt
 600 taatcggtga acaaacgaac ctttaatagc ggctgcacca tcgggatgtc ctgatccaac
 660 atcgaggtcg taaaccctat tgttgatatg gactctagaa taggattgag ctgttatccc
 720 tagggtaact tgttccgttg gtcaagttat tggatcaatt gagtatagta gttcgctttg

40

【表 5】

780	actggtgaag tcttagcatg tactgctcgg aggttggggtt ctgctccgag gtcgccccaa	
840	ccgaaatttt taatgcaggt ttggtagttt aggacctgtg ggtttgtag gtactgtttg	
900	cattaataaa ttaaagctcc atagggctct ctcgtcttgc tgtgttatgc ccgcctcttc	
960	acgggcaggt caatttcact ggtaaaaagt aagagacagc tgaaccctcg tggagccatt	
1020	catacaggtc cctattttaag gaacaagtga ttatgctacc tttgcacggg tagggtagccg	
1080	cggccgttaa acatgtgtca ctgggcaggc ggtgcctcta atactgggtga tgctagaggt	10
1140	gatgtttttg gtaaacaggc ggggtaagat ttgccagatt ccttttactt tttttaacct	
1200	ttccttatga gcatgcctgt gttgggttga cagttagggg aataatgact tgttggttga	
1260	ttgtagatat tgggctgtta attgtcagtt cagtgtttta atctgacgca ggcttatgcg	
1320	gaggagaatg ttttcatggt acttatacta acattagttc ttctataggg tgatagattg	
1380	gtccaattgg gtgtgaggag ttcagttata tgtttgggat tttttaggta gtgggtgttg	
1440	agcttgaacg ctttcttaat tgggtggctgc ttttaggcct actatgggtg ttaaattttt	20
1500	tactctctct acaagggttt ttcttagtgt ccaaagagct gttcctcttt ggactaacag	
1560	ttaaattttac aaggggattt agagggttct gtgggcaaat ttaaagttga actaagattc	
1620	tatcttggac aaccagctat caccaggctc ggtaggtttg tcgcctctac ctataaatct	
1680	tcccactatt ttgctacata gacgggtgtg ctcttttagc tgttcttagg tagctcgtct	
1740	ggtttcgggg gtcttagctt tggctctcct tgcaaagtta tttctagtta attcattatg	
1800	cagaaggtat aggggttagt ctttgcata ttatgcttgg ttataatttt tcatctttcc	
1860	cttgccgtac tatatctatt gcgccaggtt tcaatttcta tcgcctatac tttatttggg	30
1920	taaatggttt ggctaagggt gtctggtagt aagggtggagt gggtttgggg ctaggtttag	
1921	c	
 <210> SEQ ID NO 5		
<211> LENGTH: 1744		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 5		
60	tagggataac agcgcaatcc tattctagag tccatatcaa caataggggt tacgacctcg	40
120	atgttggatc aggacatccc gatggtgcag ccgctattaa aggttcgttt gttcaacgat	
180	taaagtcccta cgtgatctga gttcagaccg gagtaatcca ggtcgggttc tatctacctt	
240	caaattccctc cctgttcttg ggtgggtgtg ggtataatac taagttgaga tgatatcatt	
300	tacgggggaa ggcgctttgt gaagtaggcc ttatttctct tgtcctttcg tacagggagg	
360	aatttgaagt agatagaaac cgacctggat tactccggtc tgaactcaga tcacgtagga	

【表 6】

420	ctttaatcgt tgaacaaacg aacctttaat agcggctgca ccatcgggat gtcctgatcc	
480	aacatcgagg tcgtaaaccc tattgttgat atggactcta gaataggatt gcgctgttat	
540	ccctagggta acttggtccg ttgggtcaagt tattggatca attgagtata gtagttcgct	
600	ttgactgggtg aagtcttagc atgtactgct cggagggttg gttctgctcc gaggtcgccc	
660	caaccgaaat ttttaattgca gggttggttag tttaggacct gtgggtttgt taggtactgt	
720	ttgcattaat aaattaaagc tccatagggt cttctcgtct tgctgtgtta tgcccgcctc	10
780	ttcacgggca ggtcaatttc actgggttaaa agtaagagac agctgaaccc tcgtggagcc	
840	attcatacag gtccctatct aaggaacaag tgattatgct acctttgcac ggtagggta	
900	ccgcgccgt taaacatgtg tcaactgggca ggcgggtcct ctaatactgg tgatgctaga	
960	ggtgatgttt ttggtaaaca ggcggggtaa gatttgccga gttcctttta ctttttttaa	
1020	cctttcctta tgagcatgcc tgtgttgggt tgacagtgag ggtaataatg acttgttggt	
1080	tgattgtaga tattgggctg ttaattgtca gttcagtgtt ttaatctgac gcaggcttat	
1140	gcggaggaga atgttttcat gttacttata ctaacattag ttcttctata gggtagata	20
1200	ttgggtccaat tgggtgtgag gagttcagtt atatgtttgg gatttttttag gtagtgggtg	
1260	ttgagcttga acgctttctt aattgggtggc tgcttttagg cctactatgg gtgttaaatt	
1320	ttttactctc tctacaaggc tttttcctag tgtccaaaga gctgttctc tttggactaa	
1380	cagttaaatt tacaagggga tttagagggt tctgtgggca aatttaaagt tgaactaaga	
1440	ttctatcttg gacaaccagc tatcaccagg ctcggtaggt ttgtcgctc tacctataaa	
1500	tcttccact attttgctac atagacgggt gtgctctttt agctgttctt aggtagctcg	30
1560	tctggtttcg ggggtcttag ctttggctct ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt	
1620	atgcagaagg tataggggtt agtccttgct atattatgct tggttataat tttcatctt	
1680	tcccttgcgg tactatatct attgcgccag gtttcaattt ctatcgcta tactttattt	
1740	gggtaaatgg tttggctaag gttgtctggt agtaagtggt agtgggtttg gggctagggt	
1744	tagc	
<210>	SEQ ID NO 6	
<211>	LENGTH: 1854	40
<212>	TYPE: DNA	
<213>	ORGANISM: Homo sapiens	
<400>	SEQUENCE: 6	
60	gaactcggca aatcttacct cgctgttta ccaaaaacat cacctctage atcaccagta	
120	ttagaggcac cgctgccc gtgacacatg ttaacggcc gcggtaccct aaccgtgcaa	
180	aggtagcata atcacttggt ccttaaatag ggacctgtat gaatggctcc acgaggggtc	

【表 7】

240	agctgtctct tacttttaac cagtgaatt gacctgcccg tgaagaggcg ggcatgacac	
300	agcaagacga gaagacccta tggagcttta atttattaat gcaaacagta cctaacaaac	
360	cctgttcttg ggtgggtgtg ggtataatac taagttgaga tgatatcatt tacgggggaa	
420	ggcgctttgt gaagtaggcc ttatttctct tgtcctttcg tacaggagg aatttgaagt	
480	agatagaaac cgacctggat tactccggtc tgaactcaga tcacgtagga ctttaaatcgt	
540	tgaacaaacg aacctttaat agcggctgca ccatcgggat gtcctgatcc aacatcgagg	10
600	tcgtaaacc tttgttgat atggactcta gaataggatt gcgctgttat cctagggtta	
660	acttgttccg ttggtcaagt tattggatca attgagtata gtagttcgt ttgactggtg	
720	aagtcttagc atgtactgct cggagggttg gttctgctcc gaggtcgccc caaccgaaat	
780	ttttaatgca ggtttggtag tttaggacct gtgggtttgt taggtactgt ttgcattaat	
840	aaattaaagc tccatagggt cttctcgtct tgcgtgtgta tgcccgccctc ttcacgggca	
900	ggtcaatttc actggttaaa agtaagagac agctgaaccc tcgtggagcc attcatacag	
960	gtccctatth aaggaacaag tgattatgct acctttgcac ggtagggta ccgcgccgt	20
1020	taaacatgtg tcaactgggca ggcggtgcct ctaatactgg tgatgctaga ggtgatgttt	
1080	ttggtaaaca ggcggggtaa gatttgccga gttcctttta ctttttttaa ctttcccta	
1140	tgagcatgcc tgtgttgggt tgacagttag ggtaataatg acttgttgggt tgattgtaga	
1200	tattgggctg ttaattgtca gttcagtgtt ttaatctgac gcaggcttat gcggaggaga	
1260	atgttttcat gttacttata ctaacattag ttcttctata gggtagataga ttggccaat	
1320	tgggtgtgag gagttcagtt atatgtttgg gatttttttag gtagtgggtg ttgagcttga	30
1380	acgctttctt aattgggtggc tgcttttagg cctactatgg gtgttaaatt ttttactctc	
1440	tctacaaggt tttttcctag tgtccaaaga gctgttcctc tttggactaa cagttaaatt	
1500	tacaagggga ttttagagggt tctgtgggca aatttaaagt tgaactaaga ttctatcttg	
1560	gacaaccagc tatcaccagg ctcggtagggt ttgtgcctc tacctataaa tcttccact	
1620	attttgctac atagacgggt gtgctctttt agctgttctt aggtagctcg tctggtttcg	
1680	ggggtcttag ctttggctct ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg	
1740	tataggggtt agtccttgct atattatgct tggttataat ttttcatctt tcccttgccg	40
1800	tactatatct attgcgccag gtttcaattt ctatgccta tactttatth gggtaaagg	
1854	tttggctaag gttgtctggt agtaagggtg agtgggtttg gggctagggt tagc	

<210> SEQ ID NO 7

<211> LENGTH: 20

<212> TYPE: DNA

【表 8】

<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 7	
taggtttagc accgcaaggg	20
<210> SEQ ID NO 8	
<211> LENGTH: 20	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	10
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 8	
taggtttagc aaggactaac	20
<210> SEQ ID NO 9	
<211> LENGTH: 18	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 9	20
ggggtaagat ttgccgag	18
<210> SEQ ID NO 10	
<211> LENGTH: 22	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 10	
atgctagagg tgatgttttt gg	22
	30
<210> SEQ ID NO 11	
<211> LENGTH: 18	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 11	
cggtcctct aatactgg	18
<210> SEQ ID NO 12	
<211> LENGTH: 20	
<212> TYPE: DNA	40
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 12	
gttaaacaatg tgtcactggg	20
<210> SEQ ID NO 13	

【表 9】

<211> LENGTH: 18	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 13	
ttgcacgggtt aggttacc	18
<210> SEQ ID NO 14	
<211> LENGTH: 21	10
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 14	
ggaacaagtg attatgctac c	21
<210> SEQ ID NO 15	
<211> LENGTH: 21	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	20
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 15	
ggagccattc atacaggtcc c	21
<210> SEQ ID NO 16	
<211> LENGTH: 20	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 16	
agtaagagac agctgaaccc	20
<210> SEQ ID NO 17	
<211> LENGTH: 19	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 17	
ggcaggtcaa ttctactgg	19
<210> SEQ ID NO 18	
<211> LENGTH: 19	40
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 18	
gctgtgttat gcccgctc	19

【表 10】

<210> SEQ ID NO 19
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 19
 agtccatag ggtcttctc 19

<210> SEQ ID NO 20
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 20
 gtttaggtact gtttgcatta 20

<210> SEQ ID NO 21
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 21
 aagtcttagc atgtactg 18

<210> SEQ ID NO 22
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 22
 tagtagttcg ctttgactg 19

<210> SEQ ID NO 23
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: OAntisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 23
 caagttattg gatcaattg 19

<210> SEQ ID NO 24
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 24
 gggttaacttg ttccggtg 18

10

20

30

40

【表 1 1】

<210> SEQ ID NO 25
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 25
 aataggattg cgctgtta 18

<210> SEQ ID NO 26
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 26
 cctattgttg atatggac 18

<210> SEQ ID NO 27
 <211> LENGTH: 17
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 27
 ctgatccaac atcgagg 17

<210> SEQ ID NO 28
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 28
 tagcggctgc accattgg 18

<210> SEQ ID NO 29
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 29
 gttgaacaaa cgaaccttt 19

<210> SEQ ID NO 30
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide

10

20

30

40

【表 1 2】

<400> SEQUENCE: 30 aactcagatc acgtaggac	19	
<210> SEQ ID NO 31 <211> LENGTH: 18 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 31 cgacctggat tactccgg	18	10
<210> SEQ ID NO 32 <211> LENGTH: 18 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 32 ggaatttgaa gtagatag	18	20
<210> SEQ ID NO 33 <211> LENGTH: 19 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 33 ctcttgctct ttogtacag	19	
<210> SEQ ID NO 34 <211> LENGTH: 18 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 34 ggcgctttgt gaagtagg	18	30
<210> SEQ ID NO 35 <211> LENGTH: 22 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 35 gttgagatga taccatttac gg	22	40
<210> SEQ ID NO 36 <211> LENGTH: 18 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence		

【表 1 3】

<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 36		
cacccaccca agaacagg	18	
<210> SEQ ID NO 37		
<211> LENGTH: 25		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		10
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 37		
caacttagta ttatacccac accca	25	
<210> SEQ ID NO 38		
<211> LENGTH: 22		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 38		
tcccccgtaa atgattacat ct	22	20
<210> SEQ ID NO 39		
<211> LENGTH: 25		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 39		
gagaaataag gcctacttca caaag	25	
<210> SEQ ID NO 40		30
<211> LENGTH: 22		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 40		
caaattcctc cctgtacgaa ag	22	
<210> SEQ ID NO 41		
<211> LENGTH: 24		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		40
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 41		
agtaatccag gtcggtttct atct	24	
<210> SEQ ID NO 42		
<211> LENGTH: 24		

【表 1 4】

<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 42		
aagtcctagc tgatctgagt tcag	24	
<210> SEQ ID NO 43		
<211> LENGTH: 25		10
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 43		
gctattaaag gtctgtttgt tcaac	25	
<210> SEQ ID NO 44		
<211> LENGTH: 16		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		20
<400> SEQUENCE: 44		
tccccgatggt gcagcc	16	
<210> SEQ ID NO 45		
<211> LENGTH: 22		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 45		
ttacgacctc gatgttgat ca	22	30
<210> SEQ ID NO 46		
<211> LENGTH: 25		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 46		
atcctattct agagtccata tcaac	25	
<210> SEQ ID NO 47		
<211> LENGTH: 24		40
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 47		
aataggattg cgctgttata ccta	24	

【表 1 5】

<210> SEQ ID NO 48
 <211> LENGTH: 24
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 48
 tagggataac agcgcatacc tatt 24

<210> SEQ ID NO 49
 <211> LENGTH: 23
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 49
 ggaacaagtt accctaggga taa 23

<210> SEQ ID NO 50
 <211> LENGTH: 23
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 50
 ttgatccaat aacttgacca acg 23

<210> SEQ ID NO 51
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 51
 acttcaccag tcaaagcgaa c 21

<210> SEQ ID NO 52
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 52
 aaccaacct ccgagcag 18

<210> SEQ ID NO 53
 <211> LENGTH: 16
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 53
 gttggggcga cctcgg 16

10

20

30

40

【表 1 6】

<210> SEQ ID NO 54
 <211> LENGTH: 22
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 54
 aaactaccaa acctgcttaa aa 22

<210> SEQ ID NO 55
 <211> LENGTH: 24
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 55
 aaacagtacc taacaaaccc acag 24

<210> SEQ ID NO 56
 <211> LENGTH: 25
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 56
 gaccctatgg agctttaatt tatta 25

<210> SEQ ID NO 57
 <211> LENGTH: 23
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 57
 cataacacag caagacgaga aga 23

<210> SEQ ID NO 58
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 58
 tgacctgccc gtgaagag 18

<210> SEQ ID NO 59
 <211> LENGTH: 26
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 59
 cagctgtctc ttacttttaa ccagtg 26

10

20

30

40

【表 17】

<210> SEQ ID NO 60
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 60
 ctgtatgaat ggctccacga 20

<210> SEQ ID NO 61
 <211> LENGTH: 26
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 61
 agcataatca cttgttcctt aaatag 26

10

<210> SEQ ID NO 62
 <211> LENGTH: 23
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 62
 accgtgcaaa ggtagcataa tca 23

20

<210> SEQ ID NO 63
 <211> LENGTH: 23
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 63
 tgattatgct acctttgcac ggt 23

30

<210> SEQ ID NO 64
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 64
 gtaccctaac cgtgcaaag 19

40

<210> SEQ ID NO 65
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide

【表 18】

<400> SEQUENCE: 65 cctgcccagtgcacacatgtt t	21	
<210> SEQ ID NO 66 <211> LENGTH: 25 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 66 cacctctagc atcaccagta ttaga	25	10
<210> SEQ ID NO 67 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 67 cttaccgccgc ctgtttacca	20	20
<210> SEQ ID NO 68 <211> LENGTH: 26 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 68 aggttaaaaa aagtaaaagg aactcg	26	
<210> SEQ ID NO 69 <211> LENGTH: 19 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 69 cccaacacag gcatgctca	19	30
<210> SEQ ID NO 70 <211> LENGTH: 24 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 70 accaacaagt cattattacc ctca	24	40
<210> SEQ ID NO 71 <211> LENGTH: 24 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence		

【表 19】

<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 71		
tgacaattaa cagcccaata tcta	24	
<210> SEQ ID NO 72		
<211> LENGTH: 21		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		10
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 72		
gcctgcgtca gattaaaaca c	21	
<210> SEQ ID NO 73		
<211> LENGTH: 24		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 73		20
gtaacatgaa aacattctcc tccg	24	
<210> SEQ ID NO 74		
<211> LENGTH: 28		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 74		
tatcaccccta tagaagaact aatgttag	28	
<210> SEQ ID NO 75		30
<211> LENGTH: 21		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 75		
ctgaactcct cacacccaat t	21	
<210> SEQ ID NO 76		
<211> LENGTH: 23		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		40
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 76		
cactacctaa aaaatcccaa aca	23	
<210> SEQ ID NO 77		
<211> LENGTH: 21		

【表 2 0】

<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 77		
ttaagaaagc gttcaagctc a	21	
<210> SEQ ID NO 78		
<211> LENGTH: 21		10
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 78		
catagtaggc ctaaaagcag c	21	
<210> SEQ ID NO 79		
<211> LENGTH: 26		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		20
<400> SEQUENCE: 79		
aaaccttgta gagagagtaa aaaatt	26	
<210> SEQ ID NO 80		
<211> LENGTH: 24		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 80		
aaagaggaac agctcttttg acac	24	30
<210> SEQ ID NO 81		
<211> LENGTH: 24		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 81		
aatccccttg taaatttaac tggt	24	
<210> SEQ ID NO 82		
<211> LENGTH: 21		40
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 82		
ctttaaattt gcccacagaa c	21	

【表 2 1】

<210> SEQ ID NO 83
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 83
 gggtgtccaa gatagaatct 20

<210> SEQ ID NO 84
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 84
 acaaacctac cgagcctgg 19

10

<210> SEQ ID NO 85
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 85
 aagatttata ggtagaggcg 20

20

<210> SEQ ID NO 86
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 86
 cccgtctatg tagcaaaata 20

30

<210> SEQ ID NO 87
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 87
 acctaagaac agctaaaaga 20

40

<210> SEQ ID NO 88
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 88
 taagaccccc gaaaccagac 20

【表 2 2】

<210> SEQ ID NO 89
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 89
 ataactttgc aaggagagcc 20

<210> SEQ ID NO 90
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 90
 cttctgcata atgaattaac 20

<210> SEQ ID NO 91
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 91
 atatagcaag gactaaccac 20

<210> SEQ ID NO 92
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 92
 agatgaaaaa ttataaccaa 20

<210> SEQ ID NO 93
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 93
 caatagatat agtaccgcaa 20

<210> SEQ ID NO 94
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 94
 aggcgataga aattgaaacc 20

10

20

30

40

【表 2 3】

<210> SEQ ID NO 95
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 95
 tagccaaacc atttacccaa 20

<210> SEQ ID NO 96
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 96
 caccttacta ccagacaacc 20

<210> SEQ ID NO 97
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 97
 ctaaacctag ccccaaacc 19

<210> SEQ ID NO 98
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 98
 ctagcatcac cagtattaga 20

<210> SEQ ID NO 99
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 99
 ttaccaaaaa catcacctct 20

<210> SEQ ID NO 100
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide

10

20

30

40

【表 2 4】

<400> SEQUENCE: 100 gaactcggca aatcttacct	20	
<210> SEQ ID NO 101 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Sense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 101 gggtaagatt tgccgagttc	20	10
<210> SEQ ID NO 102 <211> LENGTH: 21 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 102 gctcataagg aaaggttaaa a	21	20
<210> SEQ ID NO 103 <211> LENGTH: 17 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 103 gtcaacccaa cacaggc	17	
<210> SEQ ID NO 104 <211> LENGTH: 21 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 104 accaacaagt cattattacc c	21	30
<210> SEQ ID NO 105 <211> LENGTH: 22 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Sense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 105 gggtgattgt agatattggg ct	22	40
<210> SEQ ID NO 106 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence		

【表 2 5】

<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 106		
attaacagcc caatatctac	20	
<210> SEQ ID NO 107		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		10
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 107		
tgcgtcagat taaaacactg	20	
<210> SEQ ID NO 108		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 108		20
aaaacattct cctccgcata	20	
<210> SEQ ID NO 109		
<211> LENGTH: 18		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 109		
gttagtataa gtaacatg	18	
<210> SEQ ID NO 110		30
<211> LENGTH: 19		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 110		
tggaaccaatc tatcaccct	19	
<210> SEQ ID NO 111		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		40
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 111		
acataataact gaactcctca	20	
<210> SEQ ID NO 112		
<211> LENGTH: 20		

【表 2 6】

<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 112	
caccactac ctaaaaaatc	20
<210> SEQ ID NO 113	
<211> LENGTH: 20	
<212> TYPE: DNA	10
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 113	
caccaattaa gaaagcgttg	20
<210> SEQ ID NO 114	
<211> LENGTH: 22	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	20
<400> SEQUENCE: 114	
taggcctaaa agcagccacc aa	22
<210> SEQ ID NO 115	
<211> LENGTH: 22	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Sense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 115	
ttggtggctg cttttaggcc ta	22
	30
<210> SEQ ID NO 116	
<211> LENGTH: 19	
<212> TYPE: DNA	
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 116	
taacacccat agtaggcct	19
<210> SEQ ID NO 117	
<211> LENGTH: 20	
<212> TYPE: DNA	40
<213> ORGANISM: Artificial Sequence	
<220> FEATURE:	
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide	
<400> SEQUENCE: 117	
aaccttgtag agagagtaaa	20

【表 27】

<210> SEQ ID NO 118
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 118
 aacagctctt tggacactag 20

<210> SEQ ID NO 119
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 119
 aactgttagt ccaaagag 18

<210> SEQ ID NO 120
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 120
 ctctaaatcc ccttgtaaa 19

<210> SEQ ID NO 121
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 121
 actttaaatt tgcccacag 19

<210> SEQ ID NO 122
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 122
 ggttgccaa gatagaatc 19

<210> SEQ ID NO 123
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 123
 acaaacctac cgagcctcc 19

10

20

30

40

【表 28】

<210> SEQ ID NO 124
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 124
 atttataggt tagaggcg 18

<210> SEQ ID NO 125
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 125
 atgtagcaaa atagtgggaa 20

<210> SEQ ID NO 126
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 126
 taagaacagc taaaagagca c 21

<210> SEQ ID NO 127
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 127
 cgaaaccaga cgagctac 18

<210> SEQ ID NO 128
 <211> LENGTH: 22
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Sense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 128
 ggggtcttag ctttggctct cc 22

<210> SEQ ID NO 129
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 129
 taactttgca aggagagcca 20

10

20

30

40

【表 2 9】

<210> SEQ ID NO 130
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 130
 accttctgca taatgaat 18

<210> SEQ ID NO 131
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 131
 atatagcaag gactaacc 19

<210> SEQ ID NO 132
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 132
 gatgaaaaat tataaccaag 20

<210> SEQ ID NO 133
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 133
 aatagatata gtaccgcaag 20

<210> SEQ ID NO 134
 <211> LENGTH: 17
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 134
 cgatagaaat tgaaacc 17

<210> SEQ ID NO 135
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Sense Oligonucleotide

10

20

30

40

【表 3 0】

<400> SEQUENCE: 135 tactttattt gggtaaattg	20	
<210> SEQ ID NO 136 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 136 ccatttacc c aaataaagta	20	10
<210> SEQ ID NO 137 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 137 ttagccaaac catttacc c a	20	20
210> SEQ ID NO 138 <211> LENGTH: 21 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 138 aagggtggagt gggtttggg c	21	
<210> SEQ ID NO 139 <211> LENGTH: 17 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 139 gctaagggtt g tctggta	17	30
<210> SEQ ID NO 140 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 140 atgcctata ctttatttgg	20	40
<210> SEQ ID NO 141 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence		

【表 3 1】

<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 141		
atctattgcg ccaggtttca	20	
<210> SEQ ID NO 142		
<211> LENGTH: 19		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		10
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 142		
ttttcatctt tcccttgcg	19	
<210> SEQ ID NO 143		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 143		20
tccttgctat attatgcttg	20	
<210> SEQ ID NO 144		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 144		
cattatgcag aaggtatagg	20	
<210> SEQ ID NO 145		30
<211> LENGTH: 18		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 145		
tctccttgca aagttatt	18	
<210> SEQ ID NO 146		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		40
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 146		
tttcgggggt cttagctttg	20	
<210> SEQ ID NO 147		
<211> LENGTH: 18		

【表 3 2】

<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 147		
ctgttcttag gtagctcg	18	
<210> SEQ ID NO 148		
<211> LENGTH: 19		10
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 148		
tgctacatag acgggtgtg	19	
<210> SEQ ID NO 149		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		20
<400> SEQUENCE: 149		
cctctaccta taaatcttcc	20	
<210> SEQ ID NO 150		
<211> LENGTH: 17		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 150		
gctatcacca ggctcgg	17	30
<210> SEQ ID NO 151		
<211> LENGTH: 17		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 151		
aagttgaact aagattc	17	
<210> SEQ ID NO 152		
<211> LENGTH: 20		40
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 152		
gagggttctg tgggcaaatt	20	

【表 3 3】

<210> SEQ ID NO 153
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 153
 acagttaaatt ttacaaggg 19

<210> SEQ ID NO 154
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 154
 gtgtccaaag agctgttcc 19

10

<210> SEQ ID NO 155
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 155
 tactctctct acaagggtttt 20

20

<210> SEQ ID NO 156
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 156
 taggcctact atgggtgtta 20

30

<210> SEQ ID NO 157
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 157
 aacgccttct taattggtgg c 21

40

<210> SEQ ID NO 158
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 158
 ttttaggttag tgggtgttga 20

【表 3 4】

<210> SEQ ID NO 159
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 159
 ggagttcagt tatatgtttg 20

<210> SEQ ID NO 160
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 160
 tgatagattg gtccaattgg 20

<210> SEQ ID NO 161
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 161
 ctaacattag ttcttctata g 21

<210> SEQ ID NO 162
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 162
 atgcggagga gaatgttt 18

<210> SEQ ID NO 163
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 163
 tcagtgtttt aatctgacg 19

<210> SEQ ID NO 164
 <211> LENGTH: 21
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Antisense Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 164
 gtagatattg ggctgttaatt 21

10

20

30

40

【表 3 5】

<210> SEQ ID NO 165
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 165
 gtgagggtaa taatgacttg 20

<210> SEQ ID NO 166
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 166
 atgagcatgc ctgtgttggt 20

<210> SEQ ID NO 167
 <211> LENGTH: 19
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 167
 ggtaagattt gccgagttc 19

<210> SEQ ID NO 168
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 168
 tggatgatgct agaggtgatg 20

<210> SEQ ID NO 169
 <211> LENGTH: 15
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 169
 gcggtgcctc taata 15

<210> SEQ ID NO 170
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide

10

20

30

40

【表 3 6】

<400> SEQUENCE: 170 ggccgttaaa catgtgtcac	20	
<210> SEQ ID NO 171 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 171 tgattatgct acctttgcac	20	10
<210> SEQ ID NO 172 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 172 ttaaggaaca agtgattatg	20	20
<210> SEQ ID NO 173 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 173 tggagccatt catacaggtc	20	
<210> SEQ ID NO 174 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 174 aaaagtaaga gacagctgaa	20	30
<210> SEQ ID NO 175 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence <220> FEATURE: <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide <400> SEQUENCE: 175 cacgggcagg tcaatttcac	20	40
<210> SEQ ID NO 176 <211> LENGTH: 20 <212> TYPE: DNA <213> ORGANISM: Artificial Sequence		

【表 3 7】

<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 176		
gtcttgctgt gttatgcccg	20	
<210> SEQ ID NO 177		
<211> LENGTH: 19		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		10
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 177		
aattaaagct ccatagggt	19	
<210> SEQ ID NO 178		
<211> LENGTH: 21		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 178		20
gtttgttagg tactgtttgc a	21	
<210> SEQ ID NO 179		
<211> LENGTH: 19		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 179		
aggtttggtg gtttaggac	19	
<210> SEQ ID NO 180		30
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 180		
gcccccaaccg aaatttttaa	20	
<210> SEQ ID NO 181		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		40
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 181		
ctcggagggtt gggttctgct	20	
<210> SEQ ID NO 182		
<211> LENGTH: 20		

【表 3 8】

<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 182		
ctggtgaagt cttagcatgt	20	
<210> SEQ ID NO 183		
<211> LENGTH: 20		10
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 183		
caattgagta tagtagttcg	20	
<210> SEQ ID NO 184		
<211> LENGTH: 19		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		20
<400> SEQUENCE: 184		
tggtccggtg gtcaagtta	19	
<210> SEQ ID NO 185		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 185		
aataggattg cgctgttata	20	30
<210> SEQ ID NO 186		
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 186		
attgttgata tggactctag	20	
<210> SEQ ID NO 187		40
<211> LENGTH: 20		
<212> TYPE: DNA		
<213> ORGANISM: Artificial Sequence		
<220> FEATURE:		
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide		
<400> SEQUENCE: 187		
atccaacatc gaggtcgtaa	20	

【表 3 9】

```

<210> SEQ ID NO 188
<211> LENGTH: 19
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 188
      gcggctgcac catcgggat          19

<210> SEQ ID NO 189
<211> LENGTH: 19
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 189
      ttgaacaaac gaaccttta          19

<210> SEQ ID NO 190
<211> LENGTH: 20
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 190
      aactcagatc acgtaggact          20

<210> SEQ ID NO 191
<211> LENGTH: 19
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 191
      aaaccgacct ggattactc          19

<210> SEQ ID NO 192
<211> LENGTH: 20
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 192
      agggaggaat ttgaaggtag          20

<210> SEQ ID NO 193
<211> LENGTH: 20
<212> TYPE: DNA
<213> ORGANISM: Artificial Sequence
<220> FEATURE:
<223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
<400> SEQUENCE: 193
      ggccttattt ctcttgcct          20

```

10

20

30

40

【表 4 0】

<210> SEQ ID NO 194
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 194
 ggaaggcgct ttgtgaagta 20

<210> SEQ ID NO 195
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 195
 aagttgagat gatatacattt 20

<210> SEQ ID NO 196
 <211> LENGTH: 17
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 196
 cctgttcttg ggtgggt 17

<210> SEQ ID NO 197
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 197
 gtccctaaact accaaacc 18

<210> SEQ ID NO 198
 <211> LENGTH: 20
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 198
 caccctctaa cctagagaag 20

<210> SEQ ID NO 199
 <211> LENGTH: 18
 <212> TYPE: DNA
 <213> ORGANISM: Artificial Sequence
 <220> FEATURE:
 <223> OTHER INFORMATION: Oligonucleotide
 <400> SEQUENCE: 199
 aggtggagtg gattgggg 18

10

20

30

40

【表 4 1】

<210> SEQ ID NO 200
 <211> LENGTH: 2374
 <212> TYPE: RNA
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 200
 ucuaauacug gugaugcuag aggugauguu uuugguaaac aggcggggua agauuugccg
 60
 aguuccuuuu acuuuuuuua accuuuccuu augagcaugc cuguguuggg uugacaguga
 120
 ggguaauaau gacuuguugg uugauuguag auauugggcu guuaauuguc aguucagugu
 180
 uuuaaucuga cgcaggcuua ugcggaggag aauguuuuca uguuacuuau acuaacauua
 240
 guucuuuau agggugauag auugguccaa uuggguguga ggaguucagu uauauguuug
 300
 ggauuuuuua gguagugggu guugagcuug aacgcuuucu uauuuggugg cugcuuuuag
 360
 gccuacuauug gguguuaauu uuuuuacucu cucuacaagg uuuuuuccua guguccaaag
 420
 agcuguuccu cuuuggacua acaguuaauu uuacaagggg auuuagaggg uucugugggc
 480
 aaauuuuaag ugaacuaag auucuaucuu ggacaaccag cuaucaccag gcucgguagg
 540
 uuugucgccu cuaccuauaa aucuucccac uauuuugcua cauagacggg ugugcucuuu
 600
 uagcuguucu uagguagcuc gucugguuuc gggggucua gcuuuggcuc uccuugcaaa
 660
 guauuuucua guuaauucau uaugcagaag guauaggggu uaguuccuugc uauauuauugc
 720
 uugguuauaa uuuuucaucu uucccuugcg guacuauauc uauugcgcca gguuucaauu
 780
 ucuaucgccu auacuuaauu uggguaaaug guuuggcuua accuagcccc aaaccacuc
 840
 caccuuacua ccagacaacc uuagccaaac cauuuaccca aaauaaguau aggcggauga
 900
 aaugaaacc uggcgcaua gauauaguac cgcaaggga agaugaaaa uuauaacaa
 960
 gcauauaua gcaaggacua acccuauac cuucugcua augaauaac uagaaauaac
 1020
 uuugcaagga gagccaaagc uaagaccccc gaaaccagac gagcuaccua agaacagcua
 1080
 aaagagcaca ccgucuaug uagcaaaaua gugggaagau uuauagguag aggcgacaaa
 1140
 ccuaccgagc cuggugauag cugguugucc aagauagaau cuuaguucua cuuuuuuuu
 1200
 gccacagaa ccucuaauu ccccuugua auuuacugu uaguccaaag aggaacagcu
 1260
 cuuuggacac uaggaaaaa ccuuguagag agaguaaaa auuuacacc cauaguaggc
 1320
 cuaaaagcag ccaccaaua agaaagcguu caagcucaac acccacuacc uaaaaaucc
 1380
 caaacauua acugaacucc ucacacccaa uggaccaau cuaucacccu auagaagaac
 1440
 uauuguuagu auaguaaca ugaaaacau cuccuccgca uaagccugcg ucagauuaaa
 1500
 acacugaacu gacaauaac agcccauuu cuacaauca ccaacaaguc auuuuaccc
 1560
 ucacugucua cccaacacag gcaugcucua aaggaaaggu uaaaaaagu aaaaggaacu
 1620

10

20

30

40

【表 4 2】

1680	cggcacaauc uaccccgccu guuuaccaa aacaucaccu cuagcaucac caguauuaga	
1740	ggcaccgccu gcccagugac acauguuuua cggccgcggg acccuaaccg ugcaaaggua	
1800	gcuaaaucac uuguuccuua aaauagggacc uguaugaaug gcuccacgag gguucagcug	
1860	ucucuuaucu uuaaccagug aaauugaccu gcccgugaag aggcgggcau aacacagcaa	
1920	gacgagaaga ccuauaggag cuuuauuuua uuaugcaaa caguaccuaa caaaccaca	
1980	gguccuaaac uaccaaaccu gcauuuuuuu uuucggguug ggcgaccucg gagcagaacc	10
2040	caaccuccga gcaguacaug cuaagacuuc accagucaaa gcgaacuacu auacucaaau	
2100	gauccaauaa cuugaccaac ggaacaaguu acccuaggga uaacagcgca auccuauucu	
2160	agaguccaua ucaacaauag gguuuacgac cucgauguug gaucaggaca ucccgauggu	
2220	gcagccgcua uuaaagguuc guuuguucaa cgauuuuagu ccuacgugau cugaguucag	
2280	accggaguaa uccaggucgg uuucuaucua ccuucuuuuu ccucccugua cgaaaggaca	
2340	agagaaauaa ggccuacuuc acaaagcgcc ucccccgua aaugauauca ucucaacuua	20
2374	guauuauacc cacaccacc caagaacagg guuu	
<210> SEQ ID NO 201		
<211> LENGTH: 1679		
<212> TYPE: RNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 201		
60	ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuucua uuaauucauu augcagaagg	
120	uauagggguu aguccuugcu auauuauugc ugguuauauu uuucacucu ucccuugcgg	
180	ugcuuaaccu agccccaac ccacuccacc uuacuaccag acaaccuag ccaaaccuuu	30
240	uacccaaaua aaguauaggc gauagaaauu gaaaccuggc gcauagaua uaguaccgca	
300	agggaaagau gaaaaauuu aaccaagcau aaauuagcaa ggacuaaccc cuauaccuuc	
360	ugcauaauga auuaacuaga aaauacuug caaggagagc caaagcuag acccccgaaa	
420	ccagacgagc uaccuaaga cagcuaaaag agcacaccg ucuauugagc aaaaugugg	
480	gaagauuuu agguagaggc gacaaaccua ccgagccugg ugauagcugg uuguccaaga	
540	uagaaucuua guucaacuua aaauuugccc acagaaccu cuaaaucucc uuguuuuuu	
600	aacuguuagu ccaaagagga acagcucuuu ggacacuagg aaaaaaccu guagagagag	40
660	uaaaaaauu aacaccuua guaggccuaa aagcagccac caauuaagaa agcguucaag	
720	cucaacaccc acuaaccua aaaucccaa cauauaacug aacuccucac acccaauugg	
780	accauucuau caccuauag aagaacuauu guuaguauaa guaacaugaa acauucucc	
840	uccgcuaaag ccugcgucag auuuuacac ugaacugaca auuaacagcc caauaucuac	

【表 4 3】

900	aaucacccaa caagucuuu uuacccucac ugucaaccca acacaggcau gcucuuuagg	
960	aaagguuuuu aaaaguuuuu ggaacucggc aaauuuuacc ccgccuguuu accaaaaaca	
1020	ucaccucuag caucaccagu auuagaggca ccgccugccc agugacacau guuuuacggc	
1080	cgccguaccc uaaccgugca aagguagcau aaucacuugu uccuuuuuuu gggaccugua	
1140	ugaauaggcuc cagcaggggu cagcugucuc uuacuuuuuu ccagugaaau ugaccugccc	
1200	gugaagaggc gggcauuaca cagcaagacg agaagaccu auggagcuuu aaauuuuuu	10
1260	ugcaaacagu accuaacaaa cccacagguc cuaaacuacc aaaccugcau uaaaauuu	
1320	gguuuuuuuu accucggagc agaaccacac cuccgagcag uacaugcuua gacuucacca	
1380	gucaaaagcga acuaucuuu ucauuuagc caauaacuug accaacggaa caaguuaccc	
1440	uagggauaac agcgcauucc uauuuuagag uccauuuuua caauaggguu uacgaccucg	
1500	auguuggauc aggacauccc aauggugcag ccgcuuuuuu agguucguuu guucaacgau	
1560	uaaaguccua cgugaucuga guucagaccg gaguaaucca ggucgguuuu uauuacuuu	
1620	aaauuccucc cuguacgaaa ggacaagaga aaauaggccu acuuacacaa gcgccuuccc	20
1679	ccguuuuuga uauaucuca acuuuaguuu auaccacac ccaccaaga acaggguuu	
<210> SEQ ID NO 202		
<211> LENGTH: 1635		
<212> TYPE: RNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 202		
60	ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaaag uuauuuuag uuaauuauu augcagaagg	
120	uauagggguu aguccuugcu aaaccuagcc ccaaacccac uccaccuuac uaccagacaa	30
180	ccuugaccaa accauuuuacc caaaauaagu auaggcgaua gaaauugaaa ccuggcgcaa	
240	uagauauagu accgcaaggg aaagaugaaa aaauuuuacc aagcauuuuu uagcaaggac	
300	uaaccccuau accuucugca uaaugaaauu acuaagaaau acuuugcaag gagagccaaa	
360	gcuaagaccc ccgaaaccag acgagcuacc uaagaacagc uaaaagagca caccgcucua	
420	uguagcaaaa uagugggaag auuuuauaggu agaggcgaca aaccuaccga gccuggugau	
480	agcugguugu ccaagauaga aucuuaguuc aacuuuuuuu uugcccacag aaccucuaa	
540	aucccuuugu aaauuuuacu guuaguccaa agaggaacag cucuuuggac acuaggaaaa	40
600	aaccuuguag agagaguaaa aaauuuuaca ccuauaguag gccuuuuuag agccaccaau	
660	uaagaaagcg uucaagcuca acaccacuaa ccuuuuuuuu cccaaacaua uaacugaacu	
720	ccucacaccc aauggacca aucuaucacc cuauagaaga acuaauguuu guauaaguua	
780	caugaaaaca uucuccuccg cauaagccug cgucagauua aaacacugaa cugacaauua	

【表 4 4】

840	acagcccaau aucuacaau aaccaacaag ucauuuuuac ccucacuguc aacccaacac	
900	aggcaugcuc auaaggaaag guuaaaaaaa guaaaaggaa cucggcaaa cuuacccccgc	
960	cuguuuacca aaaacaucac cucuagcauc accaguauua gaggcaccgc cugcccagug	
1020	acacauguuu aacggccgcg guaccuaac cgugcaaagg uagcauaau acuuuguuccu	
1080	uaaaauaggga ccuguaugaa uggcuccacg agggguucagc ugucucuua uuuuaaccag	
1140	ugaaaauugac cugcccguga agaggcgggc auaacacagc aagacgagaa gaccuauagg	10
1200	agcuuuauuu uauuaaugca aacaguaccu aacaaaccca cagguccuaa acuaccaaac	
1260	cugcauuuuu aauuucgggu ggggcgaccu cggagcagaa cccaaccucc gagcaguaca	
1320	ugcuaagacu ucaccaguca aagcgaacua cuauacuaa uugauccaau aacuugacca	
1380	acggaacaag uuaccuagg gauaacagcg caauccuauu cuagagucca uauaacaau	
1440	aggguuuacg accucgaugu uggauagga caucccaug gugcagccgc uuuuaaggu	
1500	ucguuuguuc aacgauuuu guccuacgug aucugaguuc agaccggagu aaucagguc	
1560	gguuucuauc uacuucuuu uccucccugu acgaaaggac aagagaaaua aggccuacuu	20
1620	cacaaagcgc cucccccg aaugauauc aucucaacu aguauuuuac ccacaccac	
1635	ccaagaacag gguuu	
<210> SEQ ID NO 203		
<211> LENGTH: 1921		
<212> TYPE: RNA		
<213> ORGANISM: Homo sapiens		
<400> SEQUENCE: 203		
60	aaccuccgag caguacaugc uaagacuua ccagucuaag cgaacuua uacucaaung	30
120	auccaauaac uugaccaacg gaacaaguua ccuagggau aacagcgaa uccuauucua	
180	gaguccauau caacaauagg guuuacgacc ucgauguugg aucaggacau cccauggug	
240	cagccgcua uaaagguucg uuuguuac gaauaaaguc cuacgugauc ugaguucaga	
300	ccggaguaau ccaggucggu uucuaucua uucuuuuucc uccuguaac aaaggacaag	
360	agaaauaagg ccuacuucac aaagcgccu ccccguaaa ugauauauc uacuauagu	
420	auuuuacccu guucuuuggu gggugugggu auuuuacua guugagauga uauuuuuac	
480	gggggaaggc gcuuugugaa guaggccua uuucucuugu ccuucguac agggaggau	40
540	uugaaguaga uagaaaccga ccuggauuac uccggucuga acucagauc cguaggacu	
600	uaauucguuga acaaacgaac cuuuauuagc ggcugacca ucgggauguc cugaaccaac	
660	aucgaggucg uaaaccuau uguugauaug gacucuagaa uaggauugcg cuguuauccc	
720	uaggguaacu uguuccguug gucaaguau uggaucauu gagauagua guucgcuug	

【表 4 5】

780	acugggugaag ucuuagcaug uacugcucgg agguuggguu cugcuccgag gucgccccaa	
840	ccgaaauuuu uaaugcaggu uugguaguuu aggaccugug gguuuguuag guacuguuug	
900	cauuauaaa uuaaagcucc auaggguuuu cucgucuugc uguguuaugc ccgccucuuc	
960	acgggcaggu caauuucacu gguuaaaagu aagagacagc ugaaccucg uggagccauu	
1020	cauacagguc ccuauuuuag gaacaaguga uuaugcuacc uuugcacggu uaggguaccg	
1080	cggccguuaa acauguguca cugggcaggc ggugccucua auacugguga ugcuaagaggu	10
1140	gauguuuuug guaaacaggc gggguagau uugccgaguu ccuuuuacuu uuuuuuaccu	
1200	uuccuuuuga gcaugccugu guuggguuga cagugagggu aauaagacu uguugguuga	
1260	uuguagauau ugggcugua auugucaguu caguguuua aucugacgca ggcuuauugc	
1320	gaggagaauu uuuucauguu acuuauacua acauuaguuc uucuauggg ugauagauug	
1380	guccaauugg gugugaggag uucaguuaa uguuugggau uuuuuaggua guggguugug	
1440	agcuugaacg cuuucuuau ugguggcugc uuuuaggccu acuauaggug uaaaauuuuu	20
1500	uacucucucu acaaggguuu uuccuagugu ccaaagagcu guuccucuuu ggacuaacag	
1560	uuuuuuuac aaggggauuu agaggguucu gugggcaau uuaaaguuga acuaagauuc	
1620	uauuuggac aaccagcuau caccaggcuc gguagguuug ucgccucuac cuauaaucu	
1680	ucccacuauu uugcuacaua gacgggugug cucuuuuagc uguucuuagg uagcucgucu	
1740	gguuucgggg gucuuagcuu uggcucuccu ugcaaaguua uuucuauguu auucauuuug	
1800	cagaaggauu agggguuagu ccuugcuaua uuauugcuug uuauuuuuu ucaucuuucc	
1860	cuugcgguac uauaucuauu gcgccagggu ucauuuucua ucgccuauac uuuuuuuggg	30
1920	uaaaugguuu ggcuaagggu gucugguagu aagguggagu ggguuugggg cuagguuuag	
1921	c	
	<210> SEQ ID NO 204	
	<211> LENGTH: 1744	
	<212> TYPE: RNA	
	<213> ORGANISM: Homo sapiens	
	<400> SEQUENCE: 204	
60	uagggauaac agcgcaaucc uauucuaagag uccauaucaa caauaggggu uacgaccucg	40
120	auguuggauc aggacaucc gauggugcag ccgcuauuaa agguucguuu guucaacgau	
180	uaaaguccua cgugaucuga guucagaccg gaguaaucca ggucgguuuc uaucuaccuu	
240	cauuuuccuc ccuguucuuu ggugggugug gguauauuac uaaguugaga ugauaucauu	
300	uacgggggaa ggcgcuuugu gaaguaggcc uuauuucucu uguccuuucg uacagggagg	
360	auuuugaagu agauagaaac cgaccuggau uacuccgguc ugaacucaga ucacguagga	

【表 4 6】

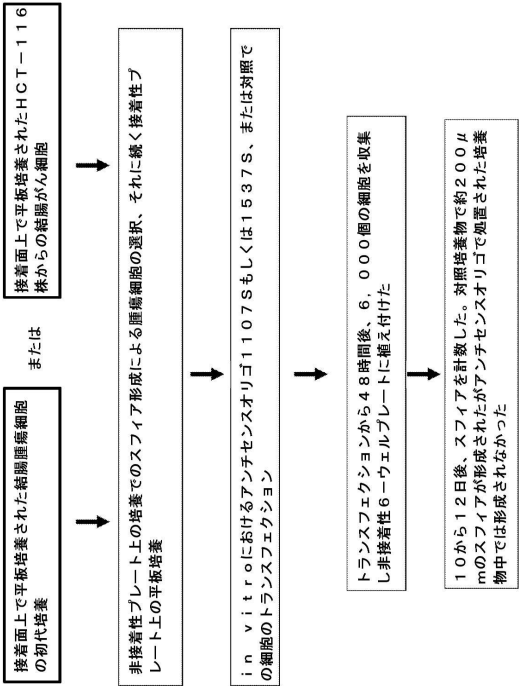
420	cuuuauucgu ugaacaaacg aaccuuuaau agcggcugca ccaucgggau guccugaucc	
480	aacaucgagg ucguaaaccc uauuguugau auggacucua gaauaggauu ggcuguuau	
540	cccuagggua acuuguuccg uuggucaagu uauuggauca auugaguaua guaguucgu	
600	uugacuggug aagucuuagc auguacugcu cggagguugg guucugcucc gagguccccc	
660	caaccgaaau uuuuaaugca gguuugguag uuaggaccu guggguuugu uagguacugu	
720	uugcauuauu aaauuaaagc uccauagggu cuucucgucu ugcuguguaa ugcccggcuc	10
780	uucacgggca ggucuuuuc acugguuaaa aguaagagac agcugaaccc ucguggagcc	
840	auucauacag gucccuauuu aaggaacaag ugauuauucu accuuugcac gguuagggua	
900	ccgcgcccg uaaacaugug ucacugggca ggcggugccu cuaauacugg ugaugcuaga	
960	ggugauguuu uugguaaaca ggcgggguaa gauuugccga guuccuuua cuuuuuuaa	
1020	ccuuuccua ugagcaugcc uguguugggu ugacagugag gguaauaau acuuuguugu	
1080	ugauuguaga uauugggcug uuaauugua guucaguguu uuaaucugac gcaggcuau	
1140	gcggaggaga auguuuuc uuuacuuua cuaacauuag uucuuuaa gggugauaga	20
1200	uugguccaau ugguugugag gaguucagu auauguuugg gauuuuuuag guagugggug	
1260	uugagcuuga acgcuuucu aaugggugc ugcuuuagg ccuacuauug guguaaaau	
1320	uuuacucuc ucuacaaggu uuuuuccuag uguccaaaga gcuguuccuc uuuggacuaa	
1380	caguuaaaau uacaagggga uuagaggggu ucugugggca aauuuuagu ugaacuaaga	
1440	uucuaucuu gacaaccagc uaucaccagg cucgguaggu uugucgccuc uaccuauaaa	
1500	ucuucccacu auuuugcuac auagacgggu ggcucuuuu agcuguucuu agguagcucg	30
1560	ucugguuucg ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuucua uuaauucau	
1620	augcagaagg uauagggguu aguccuugcu auauuauucu ugguuauau uuuucaucu	
1680	ucccuugcgg uacuauaucu auugcgccag guucaaauu cuaucgccua uacuuuuuu	
1740	ggguaaaugg uuuggcuaag guugucuggu aguaaggugg aguggguuug gggcuagguu	
1744	uagc	
<210>	SEQ ID NO 205	40
<211>	LENGTH: 1854	
<212>	TYPE: RNA	
<213>	ORGANISM: Homo sapiens	
<400>	SEQUENCE: 205	
60	gaacucggca aaucuuaccc cgcuguuua ccaaaaacau caccucuagc aucaccagua	
120	uuagaggcac cgcugccca gugacacaug uuuaacggcc gggguacccu aaccgugcaa	
180	agguagcaua aucacuuguu ccuuaauuag ggaccuguau gaauggcucc acgagggguu	

【表 4 7】

240	agcugucucu uacuuuaac cagugaaau gaccugcccg ugaagaggcg ggcaugacac	
300	agcaagacga gaagaccua uggagcuua auuaauaa gcaaacagua ccuaacaaac	
360	ccuguucug gguggugug gguauauac uaaguugaga ugauaucuu uacgggggaa	
420	ggcgcuuugu gaaguaggcc uuauuucucu uguccuuucg uacagggagg aauugaagu	
480	agauagaaac cgaccuggau uacuccgguc ugaacucaga ucacguagga cuuaaauucg	
540	ugaacaaacg aaccuuuaau agcggcugca ccaucgggau guccugaucc aacaucgagg	10
600	ucguaaacc uauuguugau auggacucua gaauaggauu gcgcuguuau ccuagggua	
660	acuuguuccg uuggucaagu uauuggauca auugaguaua guaguucgu uugacuggug	
720	aagucuuagc auguacugcu cggaggguug guucugucc gagguccccc caaccgaaau	
780	uuuaaagca gguuugguag uuuaaggaccu guggguuugu uagguacugu uugcauuau	
840	aaauaaaagc uccauagggu cuucucgucu ugcugugua ugcggccuc uucacgggca	
900	ggucaauuuc acugguuaaa aguaagagac agcugaacc ucguggagcc auucauacag	
960	gucccuauuu aaggaacaag ugauuauacu accuuugcac gguuagggua ccgcccgcg	20
1020	uaaacaugug ucacugggca ggcggugccu cuaauacug ugaugcuaga ggugauguuu	
1080	uugguaaaca ggcgggguaa gauuugccga guuccuuua cuuuuuuaa ccuuuccua	
1140	ugagcaugcc uguguugggu ugacagugag gguaauaau acuuuguugu ugauuguaga	
1200	uauugggcug uuaauugca guucaguguu uaaucugac gcaggcuau gcggaggaga	
1260	auguuuucu guuacuuaa cuaacauuag uucuuuaa gggugauaga uugguccaau	
1320	ugggugugag gaguucagu auauuuuug gauuuuuuag guaguggug uugagcuuga	
1380	acgcuuucuu aaugggugc ugcuuuuagg ccuacuauug guguaaaau uuuuacucuc	30
1440	ucuacaaggu uuuuuccuag uguccaaaga gcuguuccuc uuuggacuaa caguuaauu	
1500	uacaagggga uuagagggu ucugugggca aaauuaaagu ugaacuaaga uucuaucug	
1560	gacaaccagc uaucaccagg cucgguaggu uugucgccuc uaccuaauaa ucuuccacu	
1620	auuuugcuac auagacgggu gugcucuuu agcuguucuu agguagcucg ucugguuucg	
1680	ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuucua uaaauucau augcagaagg	
1740	uauagggguu aguccuugcu auauuauacu ugguaauau uuuucaucu ucccuugcgg	40
1800	uacuauaucu auugcgccag guucaaauu cuaucgccua uacuuuauu ggguaaagg	
1854	uuuggcuaag guugucuggu aguaaggugg aguggguuug gggcuaggu uagc	

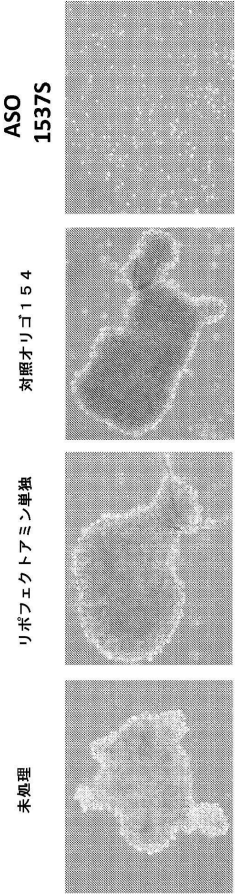
【図 1】

Figure 1



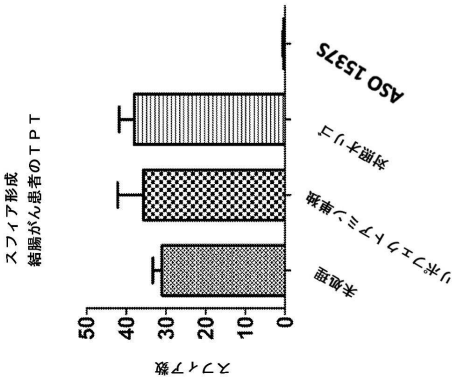
【図 2】

Figure 2



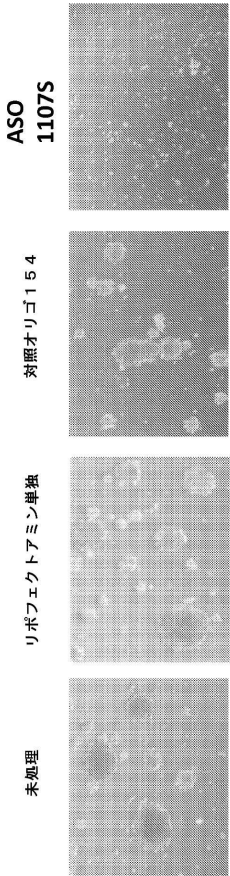
【図 3】

Figure 3



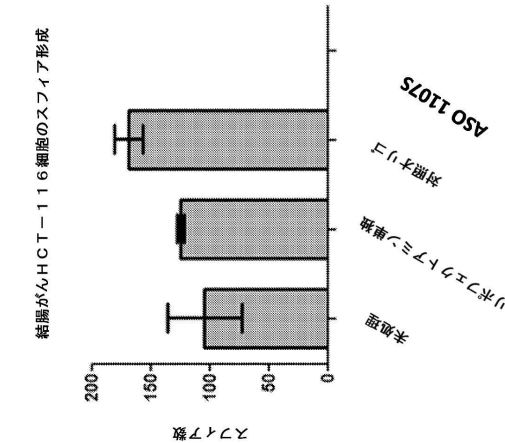
【図 4】

Figure 4



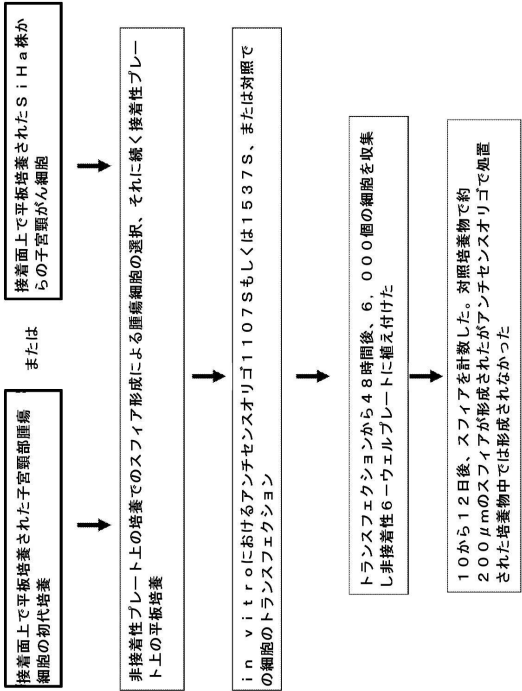
【図 5】

Figure 5



【図 6】

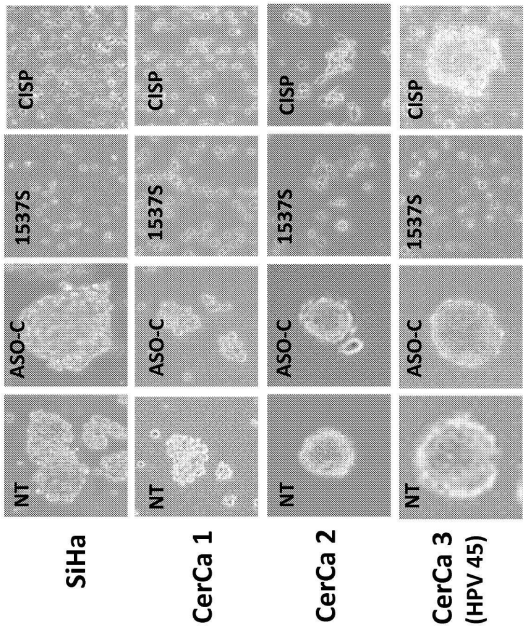
Figure 6



【図 7】

Figure 7

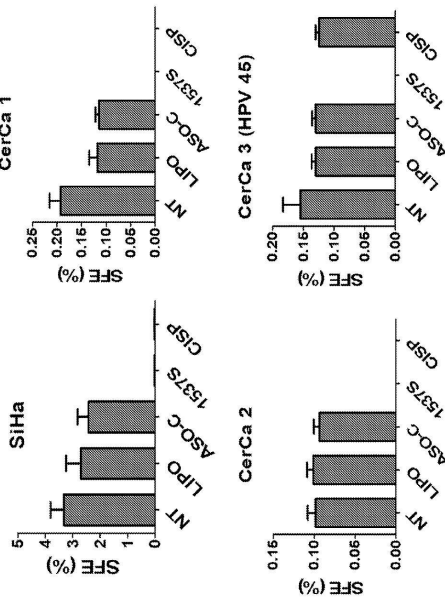
様々な処置下でのスフィア形成



【図 8】

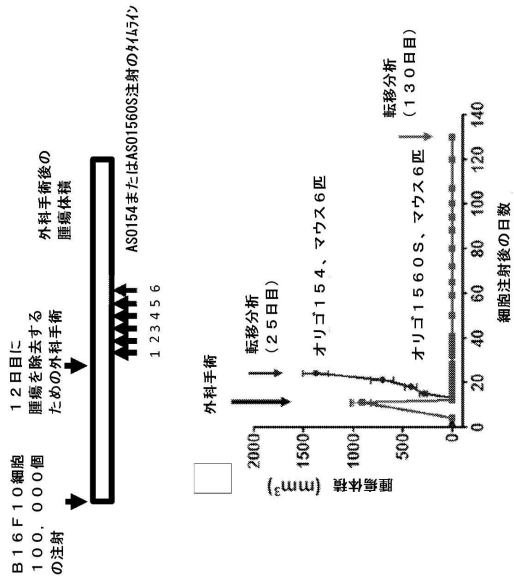
Figure 8

子宮頸がん細胞のスフィア形成効率 (SFE %)



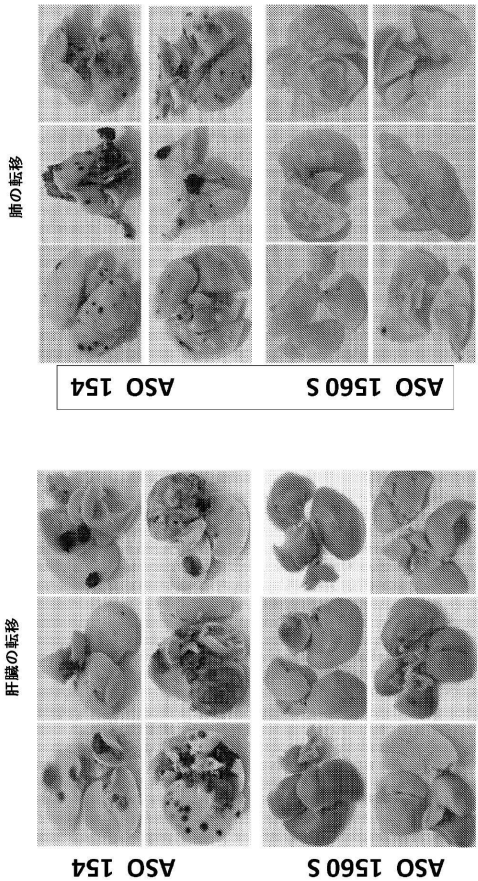
【図 9】

Figure 9



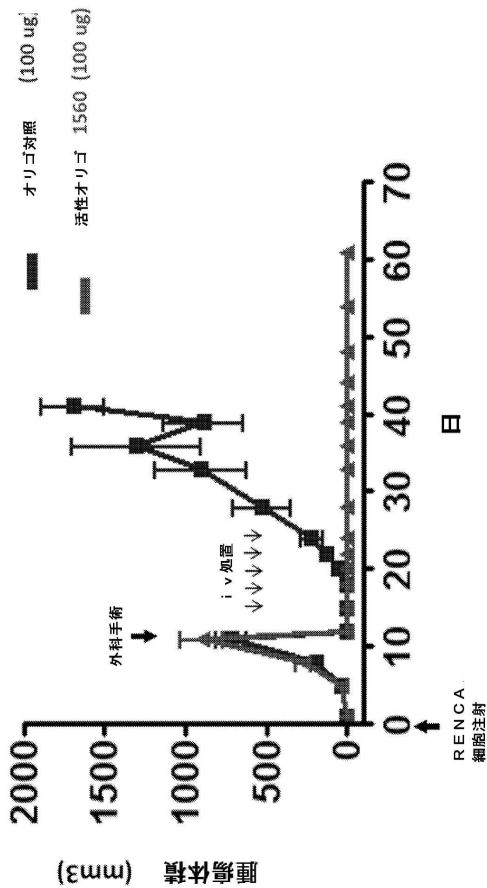
【図 10】

Figure 10



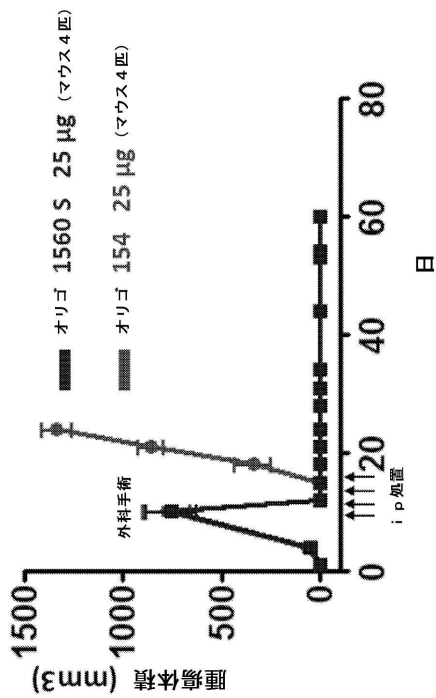
【図 11】

Figure 11



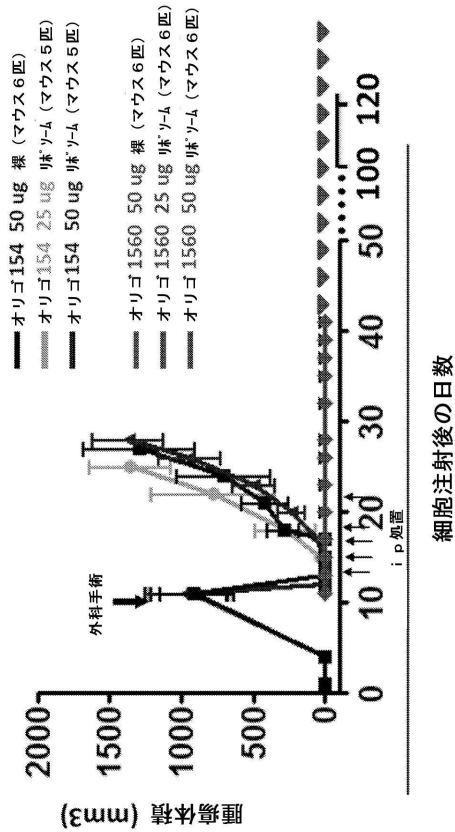
【図 12】

Figure 12



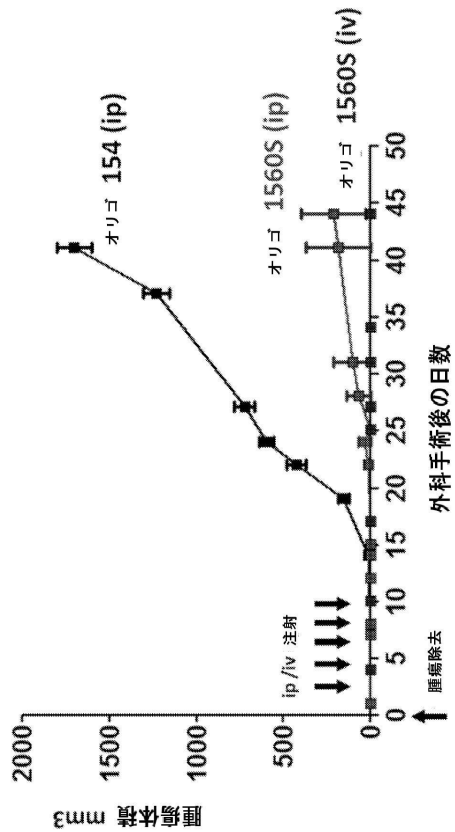
【図 1 3】

Figure 13



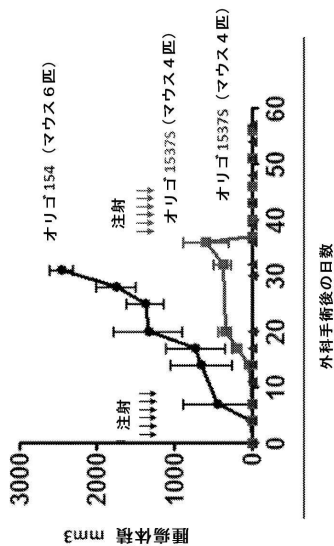
【図 1 4】

Figure 14



【図 1 5】

Figure 15



【配列表】

0006313419000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1

(31)優先権主張番号 61/790,072
 (32)優先日 平成25年3月15日(2013.3.15)
 (33)優先権主張国 米国(US)

早期審査対象出願

(74)代理人 230113332
 弁護士 山本 健策
 (72)発明者 ブルツィオ エリス, ルイス オー.
 チリ国, サンチアゴ, ビタクラ, マンケウェ ノルテ 2 1 1 6
 (72)発明者 ブルツィオ, メネンデス ヴェロニカ エー.
 チリ国, サンチアゴ, コリナ, サンタ エリーナ エコウルベ, ラス ピルカス 2 5 3
 (72)発明者 ヴィレガス オラバリイア, ジェイム イー.
 チリ国, サンチアゴ, プエンテ アルト, アシエンダ エル ペノン, コンドミニオ ロ
 ス ティロス, カサ 3 0, アヴェニダ ロス キジャジェス 7 6 4 4

審査官 横山 敏志

(56)参考文献 特表2007-519395 (JP, A)
 特表2013-507905 (JP, A)
 J. Nippon Med. Sch., 2011年, Vol.78, No.1, pp.13-21
 Molecular Cancer Therapeutics, 2011年11月, Vol.10, No.11 Supplement, Abstract B1
 81

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4
 A 6 1 K 4 5 / 0 0
 A 6 1 K 4 8 / 0 0
 A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0
 C 1 2 N 1 5 / 0 9
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)