

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-501437
(P2024-501437A)

(43)公表日 令和6年1月12日(2024.1.12)

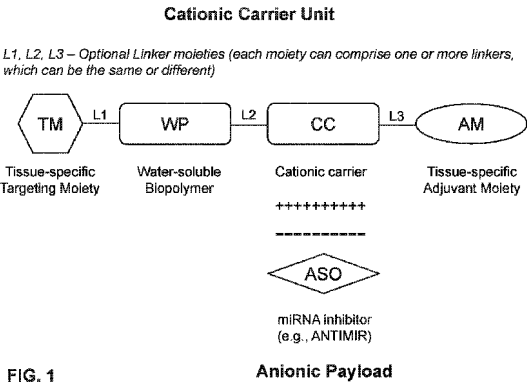
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 C 0 7 6	
A 6 1 P	17/14 (2006.01)	A 6 1 P	17/14	4 C 0 8 3	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 0 5	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	4 C 0 8 7	
		審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	(全92頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-534651(P2023-534651)				
(86)(22)出願日	令和3年12月23日(2021.12.23)				
(85)翻訳文提出日	令和5年6月7日(2023.6.7)				
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/062226				
(87)国際公開番号	WO2022/137188				
(87)国際公開日	令和4年6月30日(2022.6.30)				
(31)優先権主張番号	63/130,121				
(32)優先日	令和2年12月23日(2020.12.23)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く				
(71)出願人	521564467 バイオーケストラ カンパニー, リミテッド 大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソ ング, クァハク-ロ, 1 2 5, ク リップ, ベンチャー-ドン, 2エフ 2 1 6				
(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】 発毛を誘導するためのM I R N A − 4 8 5 阻害剤の使用

(57)【要約】

本開示は、発毛を誘導し、毛髪密度を増加させ、毛包密度を増加させ、毛幹の太さを増加させ、毛髪の長さを増加させ、脱毛を予防し、脱毛を減少させるか、またはそれらを必要とする対象において上記の任意の組み合わせを行うためのm i R N A阻害剤の使用を含む。いくつかの態様では、対象は、全頭脱毛症、男性型脱毛症、円形脱毛症、全身性脱毛症、退行性脱毛症、抜毛癖、休止期脱毛症、成長期脱毛症、瘢痕性脱毛症 (c i c a t r i c i a l a l o p e c i a)、瘢痕脱毛症 (s c a r r i n g a l o p e c i a)、頭皮の薄毛、毛幹異常、感染性毛髪疾患、遺伝子疾患、及び、化学療法、ホルモンバランスの異常、真菌感染、薬剤服用、化学的毛髪処理、または加齢による抜け毛からなる群から選択される1つ以上の疾患を有する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

発毛の誘導を必要とする対象において発毛を誘導する方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

毛髪密度の増加を必要とする対象において毛髪密度を増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 3】

毛包密度の増加を必要とする対象において毛包密度を増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 4】

毛幹の太さの増加を必要とする対象において毛幹の太さを増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 5】

毛髪の長さの増加を必要とする対象において毛髪の長さを増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 6】

抜け毛のリスクがある対象において抜け毛を予防する方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 7】

抜け毛の減少を必要とする対象において抜け毛を減少させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 8】

毛包の真皮毛根鞘のCD36タンパク質の発現の増加を必要とする対象において毛包の真皮毛根鞘のCD36タンパク質の発現を増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 9】

前記対象が、全頭脱毛症、男性型脱毛症、円形脱毛症、全身性脱毛症、退行性脱毛症、抜毛癖、休止期脱毛症、成長期脱毛症、瘢痕性脱毛症（cicatricial alopecia）、瘢痕脱毛症（scarring alopecia）、頭皮の薄毛、毛幹異常、感染性毛髪疾患、遺伝子疾患、及び、化学療法、ホルモンバランスの異常、真菌感染、薬剤服用、化学的毛髪処理、または加齢による抜け毛からなる群から選択される1つ以上の疾患を有する、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 10】

前記対象が、ヒトである、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

前記miRNA阻害剤が、オートファジーを誘導し、及び／または炎症を治療もしくはは予防する、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

前記miRNA阻害剤が食作用を誘導する、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 13】

前記miRNA阻害剤がmiR485-3pを阻害する、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

前記m i R 4 8 5 - 3 p が、5 ' - g u c a u a c a c g g c u c u c c u c u c u - 3 ' (配列番号1)を含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記m i R N A 阻害剤が、5 ' - U G U A U G A - 3 ' (配列番号2)を含むヌクレオチド配列を含み、前記m i R N A 阻害剤が約6～約30ヌクレオチドの長さである、請求項1～14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記m i R N A 阻害剤が、前記ヌクレオチド配列の前記5 ' 末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む、請求項1～15のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項17】

前記m i R N A 阻害剤が、前記ヌクレオチド配列の前記3 ' 末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項18】

前記m i R N A 阻害剤が、5 ' - U G U A U G A - 3 ' (配列番号2)、5 ' - G U G U A U G A - 3 ' (配列番号3)、5 ' - C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号4)、5 ' - C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号5)、5 ' - G C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号6)、5 ' - A G C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号7)、5 ' - G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号8)、5 ' - A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号9)、5 ' - G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号10)、5 ' - G G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号11)、5 ' - A G G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号12)、5 ' - G A G G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号13)、5 ' - A G A G G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号14)、5 ' - G A G A G G A G A G C C C G U G U A U G A - 3 ' (配列番号15)、5 ' - U G U A U G A C - 3 ' (配列番号16)、5 ' - G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号17)、5 ' - C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号18)、5 ' - C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号19)、5 ' - G C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号20)、5 ' - A G C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号21)、5 ' - G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号22)、5 ' - A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号23)、5 ' - G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号24)、5 ' - G G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号25)、5 ' - A G G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号26)、5 ' - G A G G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号27)、5 ' - A G A G G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号28)、または5 ' - G A G A G G A G A G C C C G U G U A U G A C - 3 ' (配列番号29)からなる群から選択される配列を有する、請求項1～13及び請求項16～17のいずれか1項に

50

記載の方法。

【請求項 19】

前記miRNA阻害剤が、5'-TGTAATGA-3'（配列番号30）、5'-GTGTATGA-3'（配列番号51）、5'-CGTGTATGA-3'（配列番号52）、5'-CCGTGTATGA-3'（配列番号53）、5'-GCCGTGTATGA-3'（配列番号54）、5'-AGCCGTGTATGA-3'（配列番号55）、5'-GAGCCGTGTATGA-3'（配列番号35）、5'-AGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号56）、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号57）、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号58）、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号59）、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号60）、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号61）、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号62）；5'-TGTAATGAC-3'（配列番号63）、5'-GTGTATGAC-3'（配列番号64）、5'-CGTGTATGAC-3'（配列番号65）、5'-CCGTGTATGAC-3'（配列番号66）、5'-GCCGTGTATGAC-3'（配列番号67）、5'-AGCCGTGTATGAC-3'（配列番号68）、5'-GAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号69）、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号70）、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号71）、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号72）、5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号73）、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号74）、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号75）、及び5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号76）からなる群から選択される配列を有する、請求項1～13及び請求項16～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 20】

前記miRNA阻害剤の配列が、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号77）と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%の配列同一性を有する、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 21】

前記miRNA阻害剤が、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号77）と少なくとも90%の類似性を有する配列を有する、請求項19に記載の方法。

【請求項 22】

前記miRNA阻害剤が、1個の置換または2個の置換を有するヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号77）を含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 23】

前記miRNA阻害剤が、ヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号77）を含む、請求項1～21のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 24】

前記miRNA阻害剤が、ヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項 25】

前記miRNA阻害剤が、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む、請求項1～22のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 26】

前記少なくとも1つの修飾ヌクレオチドが、ロックされた核酸（LNA）、ロックが外された核酸（UNA）、アラビノ核酸（ABA）、架橋核酸（BNA）、及び／またはペプチド核酸（PNA）である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 miRNA 阻害剤が骨格修飾を含む、請求項 1～26 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 28】

前記骨格修飾が、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー（PMO）及び／またはホスホロチオエート（PS）修飾である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 miRNA 阻害剤が、送達剤中で送達される、請求項 1～28 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 30】

前記送達剤が、ミセル、エクソソーム、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、または合成小胞である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記 miRNA 阻害剤がウイルスベクターによって送達される、請求項 1～30 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 32】

前記ウイルスベクターが、AAV、アデノウイルス、レトロウイルス、またはレンチウイルスである、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

前記ウイルスベクターが、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有する AAV である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記 miRNA 阻害剤が、送達剤によって送達される、請求項 1～33 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 35】

前記送達剤が、ミセル、エクソソーム、リポイドド、リポソーム、リポプレックス、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、合成小胞、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、コンジュゲート、ウイルスベクター、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記送達剤が、

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (式 I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (式 II)

(式中、

WP は、水溶性バイオポリマー部分であり、

CC は、正に帯電したキャリア部分であり、

AM は、アジュバント部分であり、

L1 及び L2 は、独立して、任意選択のリンカーである）を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

前記カチオン性キャリアユニットは、約 1 : 1 のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する、請求項 34 または 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記 miRNA 阻害剤が、イオン結合を介して前記カチオン性キャリアユニットと相互作用する、請求項 36 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 38】

前記水溶性ポリマーが、ポリ（アルキレングリコール）、ポリ（オキシエチル化ポリオール）、ポリ（オレフィンアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、ポリ（ヒドロキシアルキルメタクリルアミド）、ポリ（ヒドロキシアルキルメタクリレート）、ポリ（サッカライド）、ポリ（ α -ヒドロキシ酸）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン（「POZ」）、ポリ（N-アクリロイルモルホリン）、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 36 または 37 に記載の方法。

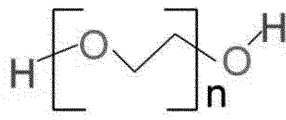
【請求項 39】

前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール（「PEG」）、ポリグリセロール、またはポリ（プロピレングリコール）（「PPG」）を含む、請求項 36～38 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 40】

前記水溶性ポリマーが、下式：

【化 13】



（式 I）

（式中、 n は、1～1000である）を有する、請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 41】

前記 n が、少なくとも約 110、少なくとも約 111、少なくとも約 112、少なくとも約 113、少なくとも約 114、少なくとも約 115、少なくとも約 116、少なくとも約 117、少なくとも約 118、少なくとも約 119、少なくとも約 120、少なくとも約 121、少なくとも約 122、少なくとも約 123、少なくとも約 124、少なくとも約 125、少なくとも約 126、少なくとも約 127、少なくとも約 128、少なくとも約 129、少なくとも約 130、少なくとも約 131、少なくとも約 132、少なくとも約 133、少なくとも約 134、少なくとも約 135、少なくとも約 136、少なくとも約 137、少なくとも約 138、少なくとも約 139、少なくとも約 140、または少なくとも約 141 である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記 n が、約 80～約 90、約 90～約 100、約 100～約 110、約 110～約 120、約 120～約 130、約 140～約 150、または約 150～約 160 である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】

前記水溶性ポリマーが、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である、請求項 36～42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 44】

前記カチオン性キャリア部分が、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む、請求項 36～43 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 45】

前記カチオン性キャリア部分が、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 10 個、少なくとも 11 個、少なくとも 12 個、少なくとも 13 個、少なくとも 14 個、少なくとも 15 個、少なくとも 16 個、少なくとも 17 個、少なくとも 18 個、少なくとも 19 個、少なくとも 20 個、少なくとも 21 個、少なくとも 22 個、少なくとも 23 個、少なくとも 24 個、少なくとも 25 個、少なくとも 26 個、少なくとも 27 個、少なくとも 28 個、少なくとも 29 個、少なくとも 30 個、少なくとも 31 個、少なくとも 32 個、少

なくとも 33 個、少なくとも 34 個、少なくとも 35 個、少なくとも 36 個、少なくとも 37 個、少なくとも 38 個、少なくとも 39 個、少なくとも 40 個、少なくとも 41 個、少なくとも 42 個、少なくとも 43 個、少なくとも 44 個、少なくとも 45 個、少なくとも 46 個、少なくとも 47 個、少なくとも 48 個、少なくとも 49 個、または少なくとも 50 個の塩基性アミノ酸を含む、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記カチオン性キャリア部分が、約 30 個～約 50 個の塩基性アミノ酸を含む、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

前記塩基性アミノ酸が、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 45～46 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 48】

前記カチオン性キャリア部分が、約 40 個のリシンモノマーを含む、請求項 36～47 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

前記アジュバント部分が、免疫反応、炎症反応、及び／または組織微小環境を調節することができる、請求項 36～48 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 50】

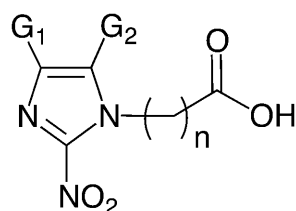
前記アジュバント部分が、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 36～49 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 51】

前記アジュバント部分が、下式：

【化 14】



， (式 I I) ，

30

(式中、G1 及び G2 のそれぞれは、H、芳香環、もしくは 1～10 アルキルであるか、または G1 と G2 はともに芳香環を形成し、n は 1～10 である) を有する、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記アジュバント部分がニトロイミダゾールを含む、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 53】

前記アジュバント部分が、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 50 に記載の方法。

40

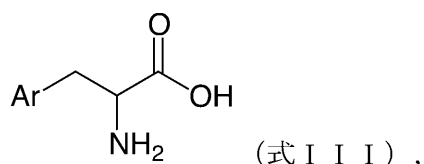
【請求項 54】

前記アジュバント部分が、アミノ酸を含む、請求項 36～50 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 55】

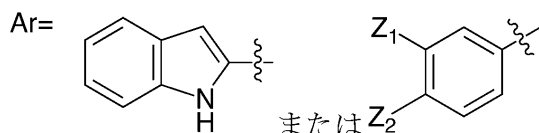
前記アジュバント部分が、下式：

【化 1 5】



(式中、A r は、

【化 1 6】



であり、

Z 1 及び Z 2 のそれぞれは、H または O H である) を有する、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記アジュバント部分が、ビタミンを含む、請求項 3 6 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

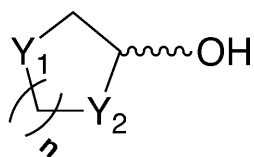
【請求項 5 7】

前記ビタミンが、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む、請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記ビタミンが、下式：

【化 1 7】



(式 I V) ,

(式中、Y 1 及び Y 2 のそれぞれは、C、N、O、または S であり、n は 1 または 2 である) を有する、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記ビタミンが、ビタミン A、ビタミン B 1、ビタミン B 2、ビタミン B 3、ビタミン B 6、ビタミン B 7、ビタミン B 9、ビタミン B 1 2、ビタミン C、ビタミン D 2、ビタミン D 3、ビタミン E、ビタミン M、ビタミン H、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 5 6 ～ 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記ビタミンが、ビタミン B 3 である、請求項 5 6 ～ 5 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記アジュバント部分が、少なくとも約 2 個、少なくとも約 3 個、少なくとも約 4 個、少なくとも約 5 個、少なくとも約 6 個、少なくとも約 7 個、少なくとも約 8 個、少なくとも約 9 個、少なくとも約 1 0 個、少なくとも約 1 1 個、少なくとも約 1 2 個、少なくとも約 1 3 個、少なくとも約 1 4 個、少なくとも約 1 5 個、少なくとも約 1 6 個、少なくとも約 1 7 個、少なくとも約 1 8 個、少なくとも約 1 9 個、または少なくとも約 2 0 個のビタ

10

20

30

40

50

ミン B 3 を含む、請求項 56 ～ 60 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 62】

前記アジュバント部分が、約 10 個のビタミン B 3 を含む、請求項 61 に記載の方法。

【請求項 63】

約 120 個～約 130 個の PEG ユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約 30 個～約 40 個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約 5 個～約 10 個のビタミン B 3 を有するアジュバント部分と、を含む、請求項 56 ～ 62 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 64】

前記送達剤が、前記 m i R N A 阻害剤と結合されることでミセルを形成する、請求項 56 ～ 63 のいずれか 1 項に記載の方法。 10

【請求項 65】

前記結合が、共有結合、非共有結合、またはイオン結合である、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 66】

前記ミセル中の前記カチオン性キャリアユニットと前記 m i R N A 阻害剤とが、前記カチオン性キャリアユニットの正電荷と前記 m i R N A 阻害剤の負電荷とのイオン比が約 1 : 1 となるように溶液中で混合される、請求項 64 または 65 に記載の方法。

【請求項 67】

前記カチオン性キャリアユニットが、酵素分解から前記 m i R N A 阻害剤を保護することができる、請求項 64 ～ 66 のいずれか 1 項に記載の方法。 20

【請求項 68】

前記 m i R N A 阻害剤が、非経口投与、筋肉内投与、皮下投与、点眼、静脈内投与、腹腔内投与、皮内投与、眼窩内投与、脳内投与、頭蓋内投与、脳室内投与、脊髄内投与、心室内投与、髄腔内投与、大槽内投与、嚢内投与、腫瘍内投与、局所投与、またはそれらの任意の組み合わせで投与される、請求項 1 ～ 67 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 69】

前記 m i R N A 阻害剤が、塗布、スプレー、蒸気、または注射による発毛の促進が必要とされる皮膚領域に投与される、請求項 1 ～ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 70】

前記 m i R N A 阻害剤が、発毛の促進が必要とされる皮膚領域に局所的に投与される、請求項 1 ～ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 71】

前記 m i R N A 阻害剤が、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合される、請求項 1 ～ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 72】

前記投与する工程が、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合された前記 m i R N A 阻害剤中に前記対象を浸漬または入浴させることによって行われる、請求項 1 ～ 68 のいずれか 1 項に記載の方法。 40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2020 年 12 月 23 日出願の米国仮出願第 63 / 130, 121 号の出願日の利益を主張するものであり、本明細書に参照によりその全容を援用するものである。

【0002】

E F S - W E B を介して電子的に提出された配列表の参照

本出願とともに A S C I I テキストファイル（ファイル名：S e q u e n c e - L i s 50

t i n g - 4 3 6 6 - 0 3 7 P C 0 2 _ _ S L _ _ S T 2 5、サイズ：76, 935バイト、作成日：2021年12月21日）の形で提出される、電子的に提出される配列表の全体を、参照により本明細書に援用するものである。

【0003】

本開示は、発毛を誘導するためのm i R - 4 8 5阻害剤（例えば、少なくとも1つのm i R - 4 8 5結合部位を含むヌクレオチド分子をコードしたポリヌクレオチド）の使用を提供する。

【背景技術】

【0004】

現代社会では高齢人口が増加し、ストレスが大きいことから抜け毛及び脱毛のおそれがある人の数が増加している。抜け毛及び脱毛は医学的には無害であるが、患者及びその家族にとって多大な感情的及び社会心理的圧力を引き起こしうる。脱毛の原因としては、自然な加齢プロセスの一部、発毛サイクルの低下、遺伝的素因、薬剤及び／または医学的処置による望ましくない副作用、アレルギー、感染症、ストレス、適正な食事及び睡眠の欠如などの環境要因、及び／または他の全身性疾患が挙げられる。

【0005】

米国内の男性の40%が35歳までに何らかの顕著な脱毛を有するものと推定されている。こうした状況は男性が年を取るに従って悪化する。60歳までには、米国内の成人男性の65%が顕著な脱毛を有すると推定されている。女性も脱毛になる。男性と異なり、女性の脱毛は、頭部及び生え際全体にわたって顕著な薄毛を通常伴う。米国皮膚病学会は、女性の40%が40歳までに顕著な脱毛を有すると報告している。例えば、米国特許第9, 173, 921号を参照されたい。

したがって、発毛を誘導する新規でより効果的なアプローチが強く望まれている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許第9, 173, 921号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本明細書では、発毛の誘導を必要とする対象において発毛を誘導する方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（「m i R N A阻害剤」）を対象に投与することを含む方法が提供される。

【0008】

本明細書では、毛髪密度の増加を必要とする対象において毛髪密度を増加させる方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（「m i R N A阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0009】

本明細書では、毛包密度の増加を必要とする対象において毛包密度を増加させる方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（「m i R N A阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0010】

本明細書では、毛幹の太さの増加を必要とする対象において毛幹の太さを増加させる方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（「m i R N A阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0011】

本明細書では、毛髪の長さの増加を必要とする対象において毛髪の長さを増加させる方法であって、m i R - 4 8 5を阻害する化合物（「m i R N A阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0012】

10

20

30

40

50

本明細書では、抜け毛のリスクがある対象において抜け毛を予防する方法であって、*miR-485*を阻害する化合物（「*miRNA*阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0013】

本明細書では、抜け毛の減少を必要とする対象において抜け毛を減少させる方法であって、*miR-485*を阻害する化合物（「*miRNA*阻害剤」）を対象に投与することを含む方法も提供される。

【0014】

いくつかの態様では、対象は、全頭脱毛症、男性型脱毛症、円形脱毛症、全身性脱毛症、退行性脱毛症、抜毛癖、休止期脱毛症、成長期脱毛症、瘢痕性脱毛症（*cicatricial alopecia*）、瘢痕脱毛症（*scarring alopecia*）、頭皮の薄毛、毛幹異常、感染性毛髪疾患、遺伝子疾患、及び、化学療法、ホルモンバランスの異常、真菌感染、薬剤服用、化学的毛髪処理、または加齢による抜け毛からなる群から選択される1つ以上の疾患を有する。いくつかの態様では、対象はヒトである。

【0015】

いくつかの態様では、本明細書に記載の*miRNA*阻害剤は、オートファジーを誘導し、及び／または炎症を治療もしくは予防する。

【0016】

いくつかの態様では、本明細書に記載の*miRNA*阻害剤は、*miR-485-3p*を阻害する。いくつかの態様では、*miR-485-3p*は、5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3'（配列番号1）を含む。いくつかの態様では、*miRNA*阻害剤は、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）を含むヌクレオチド配列を含み、*miRNA*阻害剤は約6～約30ヌクレオチドの長さである。

【0017】

いくつかの態様では、本明細書に記載の*miRNA*阻害剤は、ヌクレオチド配列の5'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、*miRNA*阻害剤は、ヌクレオチド配列の3'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む。

【0018】

いくつかの態様では、本明細書に記載の*miRNA*阻害剤は、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）、5'-GUGUAUGA-3'（配列番号3）、5'-CGUGUAUGA-3'（配列番号4）、5'-CCGUGUAUGA-3'（配列番号5）、5'-GCGUGUAUGA-3'（配列番号6）、5'-AGCCGUGUAUGA-3'（配列番号7）、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号8）、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号9）、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号10）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号11）、5' 50

-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号14)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (配列番号15) ; 5'-UGUAUGAC-3' (配列番号16)、5'-GUGUAUGAC-3' (配列番号17)、5'-CGUGUAUGAC-3' (配列番号18)、5'-CCGUGUAUGAC-3' (配列番号19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3' (配列番号20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号26)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28)、または5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号29) からなる群から選択される配列を有する。

【0019】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-TGTAATGA-3' (配列番号30)、5'-GTGTAATGA-3' (配列番号51)、5'-CGTGTATGA-3' (配列番号52)、5'-CCGTGTATGA-3' (配列番号53)、5'-GCCGTGTATGA-3' (配列番号54)、5'-AGCCGTGTATGA-3' (配列番号55)、5'-GAGCCGTGTATGA-3' (配列番号35)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号56)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号57)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号58)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号59)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号60)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号61)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (配列番号62) ; 5'-TGTAATGAC-3' (配列番号63)、5'-GTGTAATGAC-3' (配列番号64)、5'-CGTGTATGAC-3' (配列番号65)、5'-CCGTGTATGAC-3' (配列番号66)、5'-GCCGTGTATGAC-3' (配列番号67)、5'-AGCCGTGTATGAC-3' (配列番号68)、5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号69)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号70)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号71)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号72)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号73)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号74)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号75)、及び5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号76) からなる群から選択される配列を有する。

【0020】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤の配列は、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%の配列同一性を有する。特定の態様では、miRNA阻害剤は、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) と少なくとも90%の類似性を有する。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、1個の置換または2個の置換を有するヌクレオチド配列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) を含む。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、ヌクレオチド配列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) を含む。

C-3' (配列番号 77) を含む。いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、ヌクレオチド配列 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号 28) を含む。

【0021】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドは、ロック核酸 (LNA)、アンロック核酸 (UNA)、アラビノ核酸 (ABA)、架橋核酸 (BNA)、及び／またはペプチド核酸 (PNA) である。

【0022】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、骨格修飾を含む。特定の態様では、骨格修飾は、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー (PMO) 及び／またはホスホロチオエート (PS) 修飾である。

10

【0023】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、送達剤中で送達される。特定の態様では、送達剤は、ミセル、エクソソーム、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、または合成小胞である。

【0024】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、ウイルスベクターによって送達される。特定の態様では、ウイルスベクターは、AAV、アデノウイルス、レトロウイルス、またはレンチウイルスである。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有する AAV である。

20

【0025】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、送達剤により送達される。特定の態様では、送達剤は、ミセル、エクソソーム、リポドイド、リポソーム、リプレックス、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、合成小胞、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、コンジュゲート、ウイルスベクター、またはそれらの組み合わせを含む。

【0026】

いくつかの態様では、送達剤は、下式：

30

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (式 I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (式 II)

(式中、

WP は、水溶性バイオポリマー部分であり、

CC は、正に帯電したキャリア部分であり、

AM は、アジュバント部分であり、

L1 及び L2 は、独立して、任意選択のリンカーである) を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

カチオン性キャリアユニットは、約 1:1 のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する。

40

【0027】

いくつかの態様では、本明細書に記載の miRNA 阻害剤は、イオン結合を介してカチオン性キャリアユニットと相互作用する。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ(α-ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。他の態様では、水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール(「PE

50

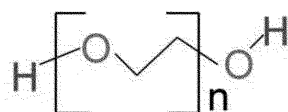
G」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール) (「PPG」)を含む。

【0028】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、下式：

【0029】

【化1】



(式I)

10

を有する。

【0030】

いくつかの態様では、 n は、1～1000である。特定の態様では、 n は、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、または少なくとも約141である。さらなる態様では、 n は、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約140～約150、または約150～約160である。

20

【0031】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。

【0032】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む。特定の態様では、カチオン性キャリア部分は、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、少なくとも21個、少なくとも22個、少なくとも23個、少なくとも24個、少なくとも25個、少なくとも26個、少なくとも27個、少なくとも28個、少なくとも29個、少なくとも30個、少なくとも31個、少なくとも32個、少なくとも33個、少なくとも34個、少なくとも35個、少なくとも36個、少なくとも37個、少なくとも38個、少なくとも39個、少なくとも40個、少なくとも41個、少なくとも42個、少なくとも43個、少なくとも44個、少なくとも45個、少なくとも46個、少なくとも47個、少なくとも48個、少なくとも49個、または少なくとも50個の塩基性アミノ酸を含む。特定の態様では、カチオン性キャリア部分は、約30個～約50個の塩基性アミノ酸を含む。

30

40

【0033】

いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約40個のリシンモノマーを含む。

【0034】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応、炎症反応、及び／または組織微小環境を調節することができる。特定の態様では、アジュバント部分は、イミダゾール誘

50

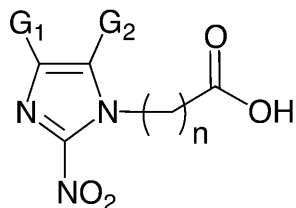
導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【 0 0 3 5 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【 0 0 3 6 】

【 化 2 】



， (式 I I) ，

10

【 0 0 3 7 】

(式中、G 1 及び G 2 のそれぞれは、H、芳香環、もしくは 1 ～ 1 0 アルキルであるか、または G 1 と G 2 はともに芳香環を形成し、n は 1 ～ 1 0 である) を有する。

【 0 0 3 8 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。特定の態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

20

【 0 0 3 9 】

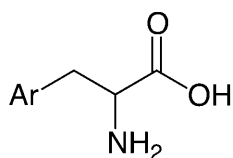
いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。

【 0 0 4 0 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【 0 0 4 1 】

【 化 3 】



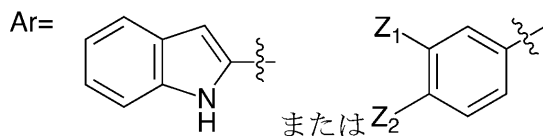
(式 I I I) ，

30

【 0 0 4 2 】

(式中、A r は、

【 化 4 】



または

40

であり、

【 0 0 4 3 】

Z 1 及び Z 2 のそれぞれは、H または O H である) を有する。

【 0 0 4 4 】

50

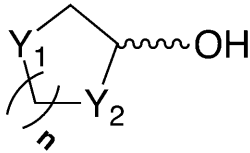
いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンを含む。特定の態様では、ビタミンは、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。

【0045】

いくつかの態様では、ビタミンは、下式：

【0046】

【化5】



(式I V) ,

10

【0047】

(式中、Y1及びY2のそれぞれは、C、N、O、またはSであり、nは1または2である)を有する。

【0048】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンA、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB6、ビタミンB7、ビタミンB9、ビタミンB12、ビタミンC、ビタミンD2、ビタミンD3、ビタミンE、ビタミンM、ビタミンH、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。例えば、ビタミンは、ビタミンB3であってよい。

20

【0049】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約2個、少なくとも約3個、少なくとも約4個、少なくとも約5個、少なくとも約6個、少なくとも約7個、少なくとも約8個、少なくとも約9個、少なくとも約10個、少なくとも約11個、少なくとも約12個、少なくとも約13個、少なくとも約14個、少なくとも約15個、少なくとも約16個、少なくとも約17個、少なくとも約18個、少なくとも約19個、または少なくとも約20個のビタミンB3を含む。特定の態様では、アジュバント部分は、約10個のビタミンB3を含む。

30

【0050】

いくつかの態様では、送達剤は、約120個～約130個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約30個～約40個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約5個～約10個のビタミンB3を有するアジュバント部分と、を含む。

【0051】

いくつかの態様では、送達剤は、miRNA阻害剤と結合されることでミセルを形成する。例えば、結合は、共有結合、非共有結合、またはイオン結合であってよい。

【0052】

いくつかの態様では、ミセル中のカチオン性キャリアユニットとmiRNA阻害剤とは、カチオン性キャリアユニットの正電荷とmiRNA阻害剤の負電荷とのイオン比が約1:1となるように溶液中で混合される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、酵素分解からmiRNA阻害剤を保護することができる。

40

【0053】

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA阻害剤は、非経口投与、筋肉内投与、皮下投与、点眼、静脈内投与、腹腔内投与、皮内投与、眼窩内投与、脳内投与、頭蓋内投与、脳室内投与、脊髄内投与、心室内投与、髄腔内投与、大槽内投与、嚢内投与、腫瘍内投与、またはそれらの任意の組み合わせで投与される。

【0054】

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA阻害剤は、塗布、スプレー、蒸気、

50

または注射による発毛の促進が必要とされる皮膚領域に投与される。

【0055】

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA阻害剤は、発毛の促進が必要とされる皮膚領域に局所的に投与される。

【0056】

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA阻害剤は、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合される。いくつかの態様では、投与する工程は、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合された本明細書に記載のmiRNA阻害剤中に対象を浸漬または入浴させることによって行われる。

10

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図1】本開示のキャリアユニットの例示的な構造を示す。示される例は、miRNA阻害剤 (antimir) と静電的に相互作用することができるカチオン性キャリア部分を含む。特定の態様では、組織特異的アジュバント部分 (AM) を水溶性バイオポリマー (WP) とカチオン性キャリア (CC) との間に配置することができる。CC及びAMコンポーネントは、簡単のために直線的配置で描かれている。しかしながら、CC及びAMは、スキャフォールドの形で配置されてもよい。

20

【0058】

【図2A】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の5日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

【図2B】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の7日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

30

【図2C】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の9日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

【図2D】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の12日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

40

【図2E】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の14日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

【図2F】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk) のmiR-485阻害剤 (485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (ネガティブコントロール) の投与の16日後の脱毛したC57BL/6Jマウスに対するmiR-485阻害剤 (485ASO-001) の発毛効果の評価を示す。

50

【0059】

【図2G】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiR-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の5日、7日、9日、12日、及び14日後の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける再発毛の定量化を示す。y軸は、再発毛定量化スケール(0~6)を示し、グレード0=皮膚がピンク色で、色素沈着なし、グレード1=黒ずみを示す皮膚面積が30%未満であるが視認される体毛なし、グレード2=黒ずみを示す皮膚が30%~70%、視認される体毛なし、グレード3=黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きい、または視認される体毛が30%、グレード4=黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きく、かつ視認される体毛が30~70%、グレード5=黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きく、かつ視認される体毛が70%超、及びグレード6=黒ずみを示す皮膚面積が90%より大きく、かつ視認される体毛が90%超とした。データは、平均値(n=6) ±平均の標準誤差(SEM)として表される。PBSで処置したコントロールと比較したmiR485-3p阻害剤(485ASO-001)処置群の*p<0.05及び**p<0.01。

10

【0060】

【図3A】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiR-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の12日後の脱毛したASO-001/6Jマウスにおける毛幹密度に対するmiR-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

20

【図3B】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiR-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の16日後の脱毛したASO-001/6Jマウスにおける毛幹密度に対するmiR-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【0061】

【図3C】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiR-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の12日後(白抜きの棒)及び16日後(陰付きの棒)の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける体毛密度の定量化を示す。y軸は、画像(倍率200倍、実際の面積=3.6 mm²)の分析による体毛密度の評価を示す。データは、平均値(n=6) ±平均の標準誤差(SEM)として表される。PBSで処置したコントロールと比較した485ASO-001処置群の*p<0.05及び**p<0.01。

30

【0062】

【図4A】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の16日後の脱毛したASO-001/6Jマウスにおける体毛の長さに対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

40

【図4B】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の21日後の脱毛したASO-001/6Jマウスにおける体毛の長さに対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【0063】

【図4C】0.1mg/kg (mpk)、0.3mg/kg (mpk)、または0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(ネガティブコントロール)の投与の16日後(白抜きの棒

50

）及び21日後（陰付きの棒）の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける体毛の長さの定量化を示す。y軸は、体毛の長さをmmで示す。データは、平均値（ $n=6$ ）±平均の標準誤差（SEM）として表される。PBSで処置したコントロールと比較した485ASO-001処置群の* $p<0.05$ 及び** $p<0.01$ 。

【0064】

【図4D】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の5日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

10

【図4E】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の7日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

【図4F】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の10日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

20

【図4G】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の12日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

【図4H】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の14日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

30

【図4I】2回の筋肉内注射による0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の投与の16日後のC57BL/6Jマウスに対するmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）の再発毛効果の評価を示す。

【0065】

【図4J】0.1mg/kg（mpk）、0.3mg/kg（mpk）、または0.6mg/kg（mpk）のmiRNA-485阻害剤（485ASO-001）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）（ネガティブコントロール）の2回の筋肉内注射の7日、10日、12日、14日、及び16日後の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける再発毛の定量化を示す。y軸は、再発毛定量化スケール（0～6）を示し、グレード0＝皮膚がピンク色で、色素沈着なし、グレード1＝黒ずみを示す皮膚面積が30%未満であるが視認される体毛なし、グレード2＝黒ずみを示す皮膚面積が30%～70%、視認される体毛なし、グレード3＝黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きい、または視認される体毛が30%、グレード4＝黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きく、かつ視認される体毛が30%～70%、グレード5＝黒ずみを示す皮膚面積が70%より大きく、かつ視認される体毛が70%超、及びグレード6＝黒ずみを示す皮膚面積が90%より大きく、かつ視認される体毛が90%超とした。データは、各群5匹のマウスに基づき、平均±SEMとして報告されている。

40

【0066】

50

【図5】0.3mg/kg (mpk) (中央の棒)、または0.6mg/kg (mpk) (右の棒)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001または「ASO」、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) (左の棒)の2回筋肉内注射の投与の脱毛後(PD)10日目(A)、及び16日後(B)の485-3p(FW7__模倣体)の発現レベルに対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【0067】

【図6A】脱毛後(pd)10日目の毛包周期におけるマウス背部皮膚のH&E染色の結果を示す。10日間の処置後にリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル)で処置したマウス背部皮膚の縦断面及び横断面を示す。

10

【図6B】脱毛後(pd)10日目の毛包周期におけるマウス背部皮膚のH&E染色の結果を示す。10日間の処置後に0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の2回筋肉内注射により処置したマウス背部皮膚の縦断面及び横断面を示す。

【0068】

【図6C】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける真皮の厚さ(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【図6D】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける皮下組織の厚さ(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

20

【図6E】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける毛包の長さ(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【図6F】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける毛球直径(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【図6G】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける真皮内の毛包密度に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。

【図6H】pd10日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける皮下組織内の毛包密度に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。異なる処置群は、図6A及び6Bに述べたものと同じである。

【0069】

30

【図7A】pd16日目のマウス背部皮膚のH&E染色の結果を示す。16日間の処置後にリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル)で処置したマウス背部皮膚の縦断面及び横断面を示す。

【図7B】脱毛後(pd)16日目の毛包周期におけるマウス背部皮膚のH&E染色の結果を示す。16日間の処置後に0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の2回筋肉内注射により処置したマウス背部皮膚の縦断面及び横断面を示す。

【0070】

【図7C】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル)の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける皮下組織の厚さ(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

40

【図7D】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk)のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル)の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける真皮の厚さ(μm)に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

50

【図7E】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル) の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける毛包の長さ(μm) に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

【図7F】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル) の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける毛球直径(μm) に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

【図7G】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル) の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける真皮内の毛包密度に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

【図7H】pd16日目の0.3mg/kg (mpk) 及び0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001)、またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) 及びポジティブコントロール(ミノキシジル) の2回筋肉内注射後、pd16日目の脱毛したC57BL/6Jマウスにおける皮下組織内の毛包密度に対するmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) の効果を示す。各時点でn=3~10匹のマウス。

【0071】

【図8A】CD36及び血管内皮増殖因子(VEGF-A) の発現のウエスタンブロッティング分析を示す。

【0072】

【図8B】0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) による処置後、pd10日目のCD36タンパク質の発現の定量化を示す。各タンパク質の相対発現量は、βアクチンを用いて正規化した。値は、平均±平均の標準誤差。* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001。

【図8C】0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) による処置後、pd10日目のVEGF-Aタンパク質の発現の定量化を示す。各タンパク質の相対発現量は、βアクチンを用いて正規化した。値は、平均±平均の標準誤差。* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001。

【0073】

【図9A】Wnt3a及びβ-カテニンの発現のウエスタンブロッティング分析を示す。

【0074】

【図9B】0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) による処置後、pd10日目のWnt3aタンパク質の発現の定量化を示す。各タンパク質の相対発現量は、βアクチンを用いて正規化した。値は、平均±平均の標準誤差。* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001。

【図9C】0.6mg/kg (mpk) のmiRNA-485阻害剤(485ASO-001) またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS) (ネガティブコントロール) による処置後、pd10日目のβ-カテニンタンパク質の発現の定量化を示す。各タンパク質の相対発現量は、βアクチンを用いて正規化した。値は、平均±平均の標準誤差。* p<0.05

；** $p < 0.01$ ；*** $p < 0.001$ 。

【0075】

【図10】CD36の免疫蛍光染色を示す。PBS処置コントロール（A）及びCD36濃縮真皮毛根鞘（DS）発現がmiR-485阻害剤（485ASO-001）処理した毛包の毛包の血管周囲領域に観察される（B）。スケールバー＝50 μm 。

【発明を実施するための形態】

【0076】

本開示は、発毛を誘導し、毛髪密度を増加させ、毛包密度を増加させ、毛幹の厚さを増加させ、毛髪の長さを増加させ、抜け毛を予防し、抜け毛を低減するか、またはこれらを必要とする対象でこれらの任意の組み合わせを行うためのmiRNA-485阻害剤の10
使用であって、少なくとも1つのmiRNA-485結合部位を含むヌクレオチド分子をコードするヌクレオチド配列を含み、ヌクレオチド分子がタンパク質をコードしていない、miRNA-485阻害剤の使用に関する。

【0077】

記載される特定の組成物またはプロセスステップは無論のこと異なりうることから、本開示をより詳細に記載するのに先立って、本開示は特定の組成物またはプロセスステップに限定されない点を理解されたい。本開示を読むことで当業者にとって明らかとなるように、本明細書に記載及び例示される個々の態様の各々は、本開示の範囲または趣旨から逸脱することなく、他のいくつかの態様のいずれかの特徴から容易に分離するかまたはそれらの特徴と組み合わせることができる個別の構成要素及び特徴を有する。記載されるい20
ずれの方法も、記載される事象の順序で、または論理的に可能な他の任意の順序で実施することが可能である。

【0078】

本明細書に示される見出しは本開示の様々な態様を限定するものではなく、本開示の態様は、本明細書の全体を参照することによって定義され得るものである。本開示の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるものであるので、本明細書で使用される用語は、あくまで特定の態様を説明することを目的としたものであって、限定することを目的としたものではない点も理解されるべきである。

【0079】

I. 用語

本開示をより容易に理解できるように、特定の用語を最初に定義する。本出願で使用する場合、本明細書に別段明記されない限り、以下の用語のそれぞれは、下記に記載する意味を有するものとする。追加の定義は、本出願の全体を通じて記載される。

【0080】

「a」または「an」なる用語で示される実体は、その実体の1つ以上を指し、例えば、「a nucleotide sequence（ヌクレオチド配列）」は、1つ以上のヌクレオチド配列を表すものとして理解される点に留意されたい。したがって、「a」（または「an」）、ならびに「one or more（1つ以上の）」、及び「at least one（少なくとも1つの）」は、本明細書では互換的に用いられる場合がある。各請求項は、あらゆる任意選択的な要素を除外するように起草される場合もある点40
にも留意されたい。したがって、この記載は、請求項の要素の記載との関連において「～だけの」、「～のみ」などといった除外的な語の使用に対する、または否定による限定の使用に対する先行詞としての役割を有するものとする。

【0081】

さらに、「及び／または」は、本明細書において使用される場合、2つの指定された特徴または構成要素の各々の、他方を伴うか、または伴わない具体的な開示とみなされるものである。したがって、本明細書で「A及び／またはB」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、「A及びB」、「AまたはB」、「A」（単独）、及び「B」（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／またはC」といった語句で使用される「及び／または」なる用語は、以下の態様、すなわち、A、B、及びC、A、50

B、またはC、AまたはC、AまたはB、BまたはC、A及びC、A及びB、B及びC、A（のみ）、B（のみ）、ならびにC（のみ）のそれぞれを包含するものとする。

【0082】

本明細書において「comprising（含む）」なる文言で態様が説明されている場合は常に、「consisting of（からなる）」及び／または「consisting essentially of（から本質的になる）」なる用語で記載される他の類似の態様も提供される点を理解されたい。

【0083】

別段の定義がなされないかぎり、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示が関連する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有するものとする。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press、The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press、及びthe Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、本開示で使用される用語の多くについての一般的な辞書を当業者に与えるものである。

【0084】

単位、接頭辞、及び記号は、それらの国際単位系（SI）で承認された形式で示される。数値範囲は、その範囲を規定する数値を含むものとする。数値の範囲が記載されている場合、その範囲の記載された上限と下限との間にあるそれぞれの介在する整数値、及びそのそれぞれの分数もまた、そのような値の間のそれぞれの部分範囲とともに具体的に開示される点は理解されるべきである。任意の範囲の上限値及び下限値は独立してその範囲に含まれる場合も、その範囲から除外される場合もあるが、どちらかの限界値が含まれるか、どちらの限界値も含まれないか、または両方の限界値が含まれるそれぞれの範囲もまた、本開示に包含される。したがって、本明細書に記載される範囲は、記載される端点を含む、その範囲内のすべての値の簡略的な表記であるものとして理解される。例えば、1～10の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むものとして理解される。

【0085】

値が明示的に記載されている場合、記載されている値とほぼ同じ数または量である値もまた、本開示の範囲内に含まれる点を理解されたい。ある組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の部分的な組み合わせのそれぞれも具体的に開示され、本開示の範囲内に含まれる。逆に、異なる要素または要素群が個別に開示される場合、それらの組み合わせも開示される。ある開示の任意の要素が複数の選択肢を有するものとして開示される場合、各選択肢が単独で、または他の選択肢との任意の組み合わせとして除外されるその開示の例もまた、本明細書に開示される。つまり、ある開示の複数の要素がそのような除外を有することができ、そのような除外を有する要素のすべての組み合わせが本明細書に開示される。

【0086】

本明細書では、「毛髪」なる用語は、頭髮、まつげ、眉毛、口ひげ、あごひげ、耳毛、鼻毛、胸毛、恥毛、腋毛を含むがこれらに限定されない、頭皮、頭部、顔面及び／または身体の毛を意味して用いられる。

【0087】

本明細書では、「発毛」なる用語は、新しい毛周期の早期の成長の誘導、毛周期の活発な成長期（成長期）の延長、毛髪の成長速度の増加、及び／または毛幹の幅の増加を意味して用いられ、これらに限定されるものではないが、毛髪の成長の誘導、及び毛髪をより目に見えやすくすることを含む。

【0088】

10

20

30

40

50

本明細書では、「脱毛」及び「薄毛」なる用語は、加齢、遺伝的素因、及び／またはその他の原因により引き起こされ、男性または女性、若年者または高齢者が有し得る、正常な毛髪密度の減少及び／または毛周期の正常な成長期（成長期）の短縮、及び／または毛幹の幅の減少、ならびに毛髪の数減少を意味して用いられる。「脱毛」、「脱毛症」、「禿げ」、及び「パターン脱毛」なる用語は、本明細書では互換的に用いられる。

【0089】

本明細書では、「発毛の誘導」、「発毛の促進」、「発毛の刺激」、「発毛の促進」、または「発毛の増加」なる用語は、患部皮膚（または頭皮）表面の少なくとも一部の毛髪の数及び／または長さ及び／または太さの増加の結果のうちの少なくとも1つを意味して用いられる。

【0090】

ヌクレオチドは、一般的に認められたヌクレオチドの1文字記号により表記される。特に断らない限り、ヌクレオチド配列は5'から3'の方向に左から右に記載する。本明細書においてヌクレオチドは、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される一般的に公知のヌクレオチドの1文字記号により表記される。したがって、「a」はアデニンを表し、「c」はシトシンを表し、「g」はグアニンを表し、「t」はチミンを表し、「u」はウラシルを表す。

【0091】

アミノ酸配列はアミノ末端からカルボキシ末端の方向に左から右に記載する。本明細書においてアミノ酸は、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される、一般的に公知のアミノ酸の3文字記号または1文字記号により表記される。

【0092】

「約」という用語は、本明細書では、およそ、大体、おおよそ、またはその範囲内の意味で使用される。「約」という用語が数値範囲とともに使用される場合、記載される数値よりも上及び下の境界値を広げることによって、その範囲を修飾する。一般に、「約」という用語は、例えば、上または下に10パーセント（より高いまたはより低い）の変動で、明示される値の上及び下に数値を修正することができる。

【0093】

本明細書で使用する場合、「アデノ随伴ウイルス」（AAV）なる用語には、これらに限定されるものではないが、AAVタイプ1、AAVタイプ2、AAVタイプ3（タイプ3A及び3Bを含む）、AAVタイプ4、AAVタイプ5、AAVタイプ6、AAVタイプ7、AAVタイプ8、AAVタイプ9、AAVタイプ10、AAVタイプ11、AAVタイプ12、AAVタイプ13、AAVrh. 74、ヘビAAV、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヒツジAAV、ヤギAAV、エビAAV、Gao et al. (J. Virol. 78:6381 (2004)) 及びMoris et al. (Virol. 33:375 (2004)) に開示されるAAV血清型及び系統群、ならびに現在知られているかもしくは今後発見される他の任意のAAVが含まれる（例えば、FIELDS et al. VIROLOGY, volume 2, chapter 69 (4th ed., Lippincott-Raven Publishers) を参照）。いくつかの態様では、「AAV」には、既知のAAVの誘導体が含まれる。いくつかの態様では、「AAV」には、改変された、または人工AAVが含まれる。

【0094】

「投与」、「投与すること」なる用語、及びその文法的変化形は、本開示のmiRNA阻害剤などの組成物を、薬学的に許容される経路により対象に導入することを指す。本開示のmiRNA阻害剤を含むミセルなどの組成物の対象への導入は、腫瘍内、経口、肺、鼻腔内、非経口（静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、もしくは皮下）、直腸、リンパ内、髄腔内、眼周または局所を含む任意の好適な経路によるものである。投与は、自己投与及び他者による投与を含む。適当な投与経路によって、組成物または薬剤はその目的とする機能を実行することができる。例えば、適当な経路が静脈内である場合、組成物は、組成

10

20

30

40

50

物または薬剤を対象の静脈内に導入することによって投与される。

【0095】

本明細書で使用する場合、関心対象の1つ以上の値に適用される「ほぼ」という用語は、明示される参照値と同程度である値を指す。ある特定の態様では、「ほぼ」という用語は、特に明記しない限り、または他のことが文脈から明らかでない限り、明示される参照値の両方向に（数を超えるか、またはそれ未満の）10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下の範囲内の値の範囲を指す（かかる数がとり得る値の100%を超える場合を除く）。

【0096】

本明細書で使用する場合、「保存された」という用語は、比較されている2つ以上の配列の同じ位置において不変に見出されるものである、それぞれポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列のヌクレオチドまたはアミノ酸残基を指す。相対的に保存されているヌクレオチドまたはアミノ酸は、配列の他の部分で出現するヌクレオチドまたはアミノ酸と比べてより関連する配列の間で保存されているものである。

【0097】

いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに100%同一である場合、「完全に保存されている」または「同一である」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「高度に保存されている」と言われる。いくつかの態様において、2つ以上の配列は、互いに約70%同一である、約80%同一である、約90%同一である、約95%、約98%、または約99%同一である場合、「高度に保存された」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも30%同一であるか、少なくとも40%同一であるか、少なくとも50%同一であるか、少なくとも60%同一であるか、少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「保存されている」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに約30%同一であるか、約40%同一であるか、約50%同一であるか、約60%同一であるか、約70%同一であるか、約80%同一であるか、約90%同一であるか、約95%同一であるか、約98%同一であるか、または約99%同一である場合、「保存されている」と言われる。配列の保存は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの全長に適用することができ、または部分、領域、もしくはそれらの特徴に適用することができる。

【0098】

本明細書で使用する場合、「由来する」という用語は、特定の分子もしくは生物または情報（例えば、アミノ酸または核酸の配列）を使用して、特定の分子もしくは生物から単離されるか、製造される構成要素を指す。例えば、第2の核酸配列に由来する核酸配列は、第2の核酸配列のヌクレオチド配列と同一であるか、または実質的に類似するヌクレオチド配列を含み得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドの場合、派生した種は、例えば、自然に生じる変異誘発、人為的定方向突然変異誘発、または人為的ランダム変異誘発により得られ得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドを派生させるために使用される変異誘発は、意図的に定方向、もしくは意図的にランダムであるか、または各々の組み合わせである。最初のものに由来する異なるヌクレオチドまたはポリペプチドを作製するためのヌクレオチドまたはポリペプチドの変異誘発は、ランダム事象（例えば、ポリメラーゼの不忠実さにより引き起こされる）であり得、派生したヌクレオチドまたはポリペプチドの同定は、例えば、本明細書において述べられる適切なスクリーニング法によりなされ得る。一部の態様では、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に由来するヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、それぞれ第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に対する少なくとも約50%、少なくとも約51%、少なくとも約52%、少なくとも約53%、少なくとも約54%、少なくとも約55%、少なくとも約56%、少なくとも約57%、少なくとも約58%、少なくとも約59%、少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約6

2 %、少なくとも約 63 %、少なくとも約 64 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 66 %、少なくとも約 67 %、少なくとも約 68 %、少なくとも約 69 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 71 %、少なくとも約 72 %、少なくとも約 73 %、少なくとも約 74 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 76 %、少なくとも約 77 %、少なくとも約 78 %、少なくとも約 79 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なくとも約 84 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 86 %、少なくとも約 87 %、少なくとも約 88 %、少なくとも約 89 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有し、ここで、第1のヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列の生物活性を保持する。

10

【0099】

本明細書で使用する場合、「コーディング領域」または「コーディング配列」とは、アミノ酸に翻訳可能なコドンからなるポリヌクレオチドの部分である。「終止コドン」(TAG、TGA、またはTAA)は通常はアミノ酸に翻訳されないがコーディング領域の一部とみなすことができる。ただし、すべてのフランキング配列、例えば、プロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロンなどはコーディング領域の一部ではない。コーディング領域の境界は、得られるポリペプチドのアミノ末端をコードする5'末端の開始コドンと、得られるポリペプチドのカルボキシ末端をコードする3'末端の翻訳終止コドンとによって一般的に決定される。

20

【0100】

「相補的」及び「相補性」という用語は、ワトソン・クリック型塩基対形成則により互いに関連する2つ以上のオリゴマー(すなわち、それぞれが核酸塩基配列を含む)、またはオリゴマーと標的遺伝子との間を指す。例えば、核酸塩基配列「T-G-A(5'→3')」は、核酸塩基配列「A-C-T(3'→5')」に相補的である。相補性は「部分的」であってよく、その場合、所与の核酸塩基配列の核酸塩基のすべてより少ないものが塩基対形成則に従って他の核酸塩基配列と一致している。例えば、いくつかの態様では、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間の相補性は、約70 %、約75 %、約80 %、約85 %、約90 %、または約95 %であり得る。したがって、特定の態様では、「相補性」という用語は、標的核酸配列(例えば、miR-485の核酸配列)との少なくとも約80 %、少なくとも約85 %、少なくとも約90 %、少なくとも約91 %、少なくとも約92 %、少なくとも約93 %、少なくとも約94 %、少なくとも約95 %、少なくとも約96 %、少なくとも約97 %、少なくとも約98 %、または少なくとも約99 %の一致または相補性を指す。または例のような、「完璧な」または「完全な」(100 %)相補性が、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間に存在し得る。いくつかの態様では、核酸塩基配列間の相補性の程度は、配列間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に顕著な影響を与える。

30

【0101】

「下流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の3'側に存在するヌクレオチド配列を指す。ある特定の態様では、下流ヌクレオチド配列は、転写開始点に続く配列に関する。例えば、遺伝子の翻訳開始コドンは、転写開始部位の下流に存在する。

40

【0102】

「賦形剤」及び「キャリア」という用語は、互換的に使用され、化合物、例えば本開示のmiRNA阻害剤の投与をさらに容易にするために医薬組成物に添加される不活性物質を指す。

【0103】

本明細書で使用する場合、「発現」という用語は、ポリヌクレオチドが遺伝子産物、例えばRNAまたはポリペプチドを生成するプロセスを指す。発現には、マイクロRNA結合部位、小分子ヘアピンRNA(shRNA)、小分子干渉RNA(siRNA)、また

50

は他の任意のRNA産物へのポリヌクレオチドの転写が限定されることなく含まれる。発現には、メッセンジャーRNA (mRNA) へのポリヌクレオチドの転写、及びmRNAのポリペプチドへの翻訳が限定されることなく含まれる。発現によって、「遺伝子産物」が生成される。本明細書で使用する場合、遺伝子産物は、例えば遺伝子の転写によって生成されるRNAなどの核酸であってよい。本明細書で使用する場合、遺伝子産物は、核酸、遺伝子の転写によって生成されるRNAもしくはmiRNA、または転写産物から翻訳されたポリペプチドであってよい。本明細書に記載される遺伝子産物には、例えばポリアデニル化またはスプライシングなどの転写後修飾を有する核酸、または、例えばリン酸化、メチル化、グリコシル化、脂質の付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、またはタンパク質分解開裂などの翻訳後修飾を有するポリペプチドがさらに含まれる。

10

【0104】

本明細書で使用する場合、「相同性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば核酸分子間の全体的関連性を指す。一般に、「相同性」という用語は、2つの分子の進化的関係を意味する。したがって、相同な2つの分子は、共通の進化的祖先を有する。本開示との関連で、相同性という用語は、同一性及び類似性の両方を包含する。

【0105】

いくつかの態様では、ポリマー分子は、分子における少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%のモノマーが同一（厳密に同じモノマー）であるか、または類似する（保存的置換）場合、互いに「相同である」とみなされる。「相同である」という用語は、必然的に少なくとも2つの配列（ポリヌクレオチド配列）間の比較を指す。

20

【0106】

本開示との関連で、置換（それらがアミノ酸置換と称される場合でも）は、核酸レベルで行われ、すなわち、アミノ酸残基を代替アミノ酸残基で置換することは、第1のアミノ酸をコードするコドンで第2のアミノ酸をコードするコドンで置換することによって行われる。

【0107】

本明細書で使用する場合、「同一性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリヌクレオチド分子間の全体的なモノマー保存性を指す。いかなる追加の修飾語もない「同一である」という用語、例えば、「ポリヌクレオチドAはポリヌクレオチドBと同一である」は、ポリヌクレオチド配列同士が100%同一（100%の配列同一性）であることを意味する。例えば、「70%同一である」と2つの配列を表現することは、例えば、「70%配列同一性」を有するとそれらを表現することに等しい。

30

【0108】

2つのポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の同一率(%)の計算は、例えば、最適な比較のために2つの配列をアラインメントすることにより実行され得る（例えば、最適なアラインメントのために第1及び第2のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の一方または両方にギャップが導入され得、同一でない配列が比較のために無視され得る）。ある特定の態様において、比較目的のためにアラインメントされた配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。次いで、対応するアミノ酸位のアミノ酸、またはポリヌクレオチドの場合は塩基が比較される。

40

【0109】

第1の配列におけるある位置が第2の配列における対応する位置と同じアミノ酸またはヌクレオチドにより占められる場合、分子はその位置で同一である。2つの配列間の同一率(%)は、2つの配列の最適なアラインメントのために導入される必要があるギャップ

50

の数及び各ギャップの長さを考慮した、配列により共有される同一の位置の数の関数である。配列の比較及び2つの配列間の同一率(%)の決定は、数学アルゴリズムを使用して達成され得る。

【0110】

異なる配列同士(例えば、ポリヌクレオチド配列)をアラインするために使用することができる適当なソフトウェアプログラムは様々なソースから入手可能である。配列同一率(%)を決定するための適当なプログラムの1つに、米国政府のNational Center for Biotechnology Information BLAST ウェブサイト(blast.ncbi.nlm.nih.gov)から入手可能なBLASTパッケージプログラムの一部であるbl2seqがある。Bl2seqは、BLASTNまたはBLASTPアルゴリズムのいずれかを使用して、2つの配列間の比較を行う。BLASTNが核酸配列を比較するために使用されるのに対して、BLASTPはアミノ酸配列を比較するために使用される。他の好適なプログラムは、例えば、EMBOSS バイオインフォマティクスプログラム集の一部であり、またwww.ebi.ac.uk/Tools/psaのEuropean Bioinformatics Institute (EBI)から利用可能である、Needle、Stretcher、Water、またはMatcherである。

10

【0111】

配列アライメントは、当該技術分野において公知の方法、例えば、MAFFT、Clustal (ClustalW、Clustal X、またはClustal Omega)、MUSCLEなどを使用して実施され得る。

20

【0112】

ポリヌクレオチドまたはポリペプチド参照配列と整列する単一のポリヌクレオチドまたはポリペプチド標的配列内の異なる領域は、それぞれ、それら自体の配列同一率(%)を有することができる。配列同一率(%)は、10分の1の位に四捨五入される点に留意されたい。たとえば、80.11、80.12、80.13、及び80.14は、80.1に切り捨てられ、80.15、80.16、80.17、80.18、及び80.19は80.2に切り上げられる。また、長さの値は常に整数である点に留意されたい。

【0113】

ある特定の態様では、同一性パーセンテージ(%ID)または第1のアミノ酸配列(または核酸配列)の第2のアミノ酸配列(または核酸配列)に対する同一性パーセンテージ(%ID)は、 $\%ID = 100 \times (Y/Z)$ として計算され、式中、Yは、第1及び第2の配列のアライメント(目視検査または特定の配列アライメントプログラムによりアライメントされる)において完全な一致と評価されたアミノ酸残基(または核酸塩基)の数であり、Zは、第2の配列における残基の総数である。第1の配列の長さが第2の配列を超える場合、第1の配列の第2の配列に対する同一率(%)は、第2の配列の第1の配列に対する同一率(%)より高くなるであろう。

30

【0114】

当業者であれば、配列同一率(%)を計算するための配列アライメントの生成が、一次配列データによってのみ行われるバイナリー配列間比較に限定されない点は理解されよう。配列アライメントは、配列データを異種の供給源由来のデータ、例えば、構造データ(例えば、タンパク質結晶構造)、機能データ(例えば、変異の位置)、または系統学的データと統合することにより生成され得ることも理解されよう。異種のデータを統合して多重配列アライメントを生成する好適なプログラムは、www.tcoffee.orgで利用可能であり、代替的に例えば、EBIから利用可能なT-Coffeeである。配列同一率(%)を計算するために使用される最終的なアライメントは、自動または手動のいずれかで管理され得ることも理解されよう。

40

【0115】

本明細書で使用する場合、「単離された」、「精製された」、「抽出された」という用語、及びそれらの文法的変化形は、互換的に使用され、1つ以上の精製プロセスを受けた

50

本開示の所望の組成物、例えば、本開示のmiRNA阻害剤の調製状態を指す。いくつかの態様では、本明細書で使用する場合、単離または精製は、夾雑物を含有する試料から本開示の組成物、例えば本開示のmiRNA阻害剤を取り出す、（例えば、画分を）部分的に取り出すプロセスである。

【0116】

いくつかの態様では、単離された組成物は、検出可能な望ましくない活性を有さないか、または代替的に、望ましくない活性のレベルもしくは量が許容可能なレベルまたは量以下である。他の態様では、単離された組成物は、許容可能な量及び／または濃度及び／または活性以上の量及び／または濃度の本開示の所望の組成物を有する。他の態様では、単離された組成物は、組成物が取得される出発物質と比較して濃縮される。この濃縮は、出発物質と比較して少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.9%、少なくとも約99.99%、少なくとも約99.999%、少なくとも約99.9999%、または99.9999%超であり得る。

【0117】

いくつかの態様では、単離された調製物は、残留する生物学的産物を実質的に含まない。いくつかの態様では、単離された調製物は、任意の混入している生物学的物質を100%、少なくとも約99%、少なくとも約98%、少なくとも約97%、少なくとも約96%、少なくとも約95%、少なくとも約94%、少なくとも約93%、少なくとも約92%、少なくとも約91%、または少なくとも約90%含まない。残留する生物学的産物は、非生物物質（化学物質を含む）または不要な核酸、タンパク質、脂質、もしくは代謝産物を含み得る。

【0118】

本明細書で使用する場合、「連結された」という用語は、共有結合または非共有結合によりそれぞれ第2のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列に結合された、第1のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列を指す。第1のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列は、第2のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列に直接的に結合もしくは並列され得るか、または代替的に介在配列が第1の配列から第2の配列までに共有結合により加わり得る。「連結された」という用語は、第1のポリヌクレオチド配列の第2のポリヌクレオチド配列への5'末端または3'末端での融合を意味するだけでなく、第2のポリヌクレオチド配列（または第1のポリヌクレオチド配列）における任意の2つのヌクレオチドへの第1のポリヌクレオチド配列（またはそれぞれ第2のポリヌクレオチド配列）全体の挿入も含む。第1のポリヌクレオチド配列は、ホスホジエステル結合またはリンカーにより第2のポリヌクレオチド配列に連結され得る。リンカーは、例えば、ポリヌクレオチドであり得る。

【0119】

本明細書で使用する場合、「miRNA阻害剤」とは、miRNAの発現、機能、及び／または活性を減少させるか、変化させるか、及び／または調節することができる化合物を指す。miRNA阻害剤は、標的miRNA核酸配列と少なくとも部分的に相補的であるポリヌクレオチド配列であってよく、それにより、miRNA阻害剤は標的miRNA配列とハイブリダイズする。例えば、本開示のmiR-485阻害剤は、標的miR-485（例えば、miRNA-485-3p）核酸配列と少なくとも部分的に相補的であるヌクレオチド分子をコードしたヌクレオチド配列を含み、それにより、miR-485阻害剤はmiR-485配列とハイブリダイズする。さらなる態様では、miR-485阻害剤配列に対するmiR-485のハイブリダイゼーションは、miR-485の発現、機能、及び／または活性を減少させるか、変化させるか、かつ／または調節する（例えば、ハイブリダイゼーションによって、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現の増大がもたらされる）。

【0120】

「miRNA」、「miR」、及び「マイクロRNA」という用語は、互換的に使用され、RNAによる遺伝子調節に関与する真核生物において見出されるマイクロRNA分子を指す。この用語は、前駆体からプロセシングされた一本鎖RNA分子を指すために使用される。いくつかの態様では、「アンチセンスオリゴマー」という用語は、本開示のマイクロRNA分子を記述するために使用することもできる。本開示に関連するmiRNAの名称及びそれらの配列は、本明細書において提供される。マイクロRNAは、不完全な塩基対形成により標的mRNAを認識及びそれに結合し、標的mRNAの不安定化または翻訳阻害をもたらす、これにより、標的遺伝子発現を下方調節する。逆に、miRNA結合部位を含む分子（一般にmiRNAのシード領域に相補的な配列を含む分子）によるmiRNAの標的化は、miRNAにより誘発される翻訳阻害を低減または阻害し得、標的遺伝子の上方調節をもたらす。

10

【0121】

「ミスマッチ」または「複数のミスマッチ」という用語は、オリゴマー核酸塩基配列（例えば、miR-485阻害剤）における塩基対形成則に従って標的核酸配列（例えば、miR-485阻害剤）と一致しない1つ以上の核酸塩基（連続しているまたは離れているにかかわらず）を指す。多くの場合、完全な相補性が所望されるが、いくつかの態様では、標的核酸配列に対する1つ以上（好ましくは6つ、5つ、4つ、3つ、2つ、または1つ）のミスマッチが生じ得る。オリゴマー内の任意の位置でのバリエーションが含まれる。ある特定の態様では、本開示のアンチセンスオリゴマー（例えば、miR-485阻害剤）は、末端近くでの核酸塩基配列のバリエーション、内部でのバリエーションを含み、存在する場合、通常、5'及び／または3'末端の約6、5、4、3、2、または1サブユニット以内に存在する。いくつかの態様では、1つ、2つ、または3つの核酸塩基が除去されてもよく、依然としてオンターゲットの結合を与えることができる。

20

【0122】

本明細書で使用する場合、「調節する」、「修飾する」という用語、及びそれらの文法的变化形は、一般に、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動に適用される場合、例えば、アンタゴニストまたはアゴニストとして作用するために、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動を増加または減少させること、例えば、直接または間接的に、促進すること／刺激すること／上方調節することまたはそれらに干渉すること／それらを阻害すること／それらを下方調節することにより変化させる能力を指す。場合によっては、修飾因子は、ある特定の濃度、レベル、活性、または機能を、コントロールと比較して、または一般に予想される活性の平均レベルと比較して、もしくは活性のコントロールレベルと比較して増加及び／または減少させ得る。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiRNA阻害剤、例えばmiR-485阻害剤は、miR-485の発現、機能及び／または活性を調節する（例えば減少させる、変化させる、または失わせる）ことができ、それにより、SIRT1タンパク質もしくは遺伝子の発現及び／または活性を調節することができる。

30

【0123】

「核酸」、「核酸分子」、「ヌクレオチド配列」、「ポリヌクレオチド」、及びそれらの文法的变化形は、互換的に使用され、一本鎖形態または二重螺旋のいずれかでのリン酸エステルポリマー形態のリボヌクレオシド（アデノシン、グアノシン、ウリジン、またはシチジン；「RNA分子」）もしくはデオキシリボヌクレオシド（デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシチミジン、またはデオキシシチジン；「DNA分子」）、またはそれらの任意のホスホエステルアナログ、例えば、ホスホロチオネート及びチオエステルを指す。一本鎖核酸配列は、一本鎖DNA（ssDNA）または一本鎖RNA（ssRNA）を指す。二本鎖DNA-DNA、DNA-RNA、及びRNA-RNA螺旋が可能である。核酸分子及び特にDNAまたはRNA分子という用語は、分子の一次及び二次構造のみを指し、任意の特定の三次形態に限定されない。したがって、この用語は、とりわけ線形または環状DNA分子（例えば、制限フラグメント）、プラスミド、スーパー

40

50

コイルDNA、及び染色体に見出される二本鎖DNAを含む。特定の二本鎖DNA分子の構造について述べる際、配列は、DNAの非転写鎖（すなわち、mRNAに相同な配列を有する鎖）に沿った5'～3'方向での配列のみを提供する通常の慣例に従って本明細書に記載され得る。「組換えDNA分子」は、分子生物学的操作を受けたDNA分子である。DNAとしては、限定されるものではないが、cDNA、ゲノムDNA、プラスミドDNA、合成DNA、及び半合成DNAが挙げられる。本開示の「核酸組成物」は、本明細書に記載されるような1つ以上の核酸を含む。

【0124】

「薬学的に許容されるキャリア」、「薬学的に許容される賦形剤」という用語、及びそれらの文法的変化形は、ヒトを含む動物に使用するための米国連邦政府の規制機関により承認されたか、または米国薬局方に列挙される薬剤のいずれか、ならびに対象への組成物の投与を禁止する程度まで望ましくない生理作用の発生を引き起こさず、投与される化合物の生物活性及び特性を抑制しない任意のキャリアまたは希釈剤を包含する。医薬組成物を調製するのに有用であり、一般に安全で、非毒性であり、望ましい賦形剤及び担体が含まれる。

10

【0125】

本明細書で使用する場合、「医薬組成物」という用語は、1種以上の他の化学成分、例えば、薬学的に許容されるキャリア及び賦形剤と混合もしくは混ぜ合わされたか、またはそれらの中に懸濁された、例えば、本開示のmiRNA阻害剤などの本明細書に記載される化合物のうちの1種以上を指す。医薬組成物の1つの目的は、本開示のmiRNA阻害剤を含む製剤の対象への投与を促進することである。

20

【0126】

本明細書で使用する場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、それらのアナログ、またはそれらの混合物が挙げられるヌクレオチドの任意の長さのポリマーを指す。

【0127】

いくつかの態様では、この用語は分子の一次構造を指す。したがって、この用語は、三本鎖、二本鎖、及び一本鎖デオキシリボ核酸（「DNA」）、ならびに三本鎖、二本鎖、及び一本鎖リボ核酸（「RNA」）を含む。この用語は、例えば、アルキル化及び／またはキャッピングにより修飾されたポリヌクレオチド及び未修飾形態のポリヌクレオチドも含む。

30

【0128】

いくつかの態様では、「ポリヌクレオチド」という用語は、ポリデオキシリボヌクレオチド（2-デオキシ-D-リボースを含有する）、スプライシングされたまたはスプライシングされていないにかかわらず、tRNA、rRNA、shRNA、siRNA、miRNA及びmRNAを含む、ポリリボヌクレオチド（D-リボースを含有する）、プリンまたはピリミジン塩基のN-またはC-配糖体である任意の他の種類のポリヌクレオチド、ならびに非ヌクレオチド骨格を含有する他のポリマー、例えば、ポリアミド（例えば、ペプチド核酸「PNA」）及びポリモルホリノポリマー、ならびにDNA及びRNAにおいて見出されるような塩基対形成及び塩基スタッキングを可能にする配置で核酸塩基を含有することを条件とする他の配列特異的合成核酸ポリマーを含む。

40

【0129】

本開示のいくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのオリゴヌクレオチドであってよい。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、RNAである。いくつかの態様では、RNAは、合成RNAである。いくつかの態様では、合成RNAは、少なくとも1つの非天然核酸塩基を含む。いくつかの態様では、ある特定の種類のすべての核酸塩基が、非天然核酸塩基と置き換えられている（例えば、本明細書において開示されるポリヌクレオチドにおけるすべてのウリジンが、非天然核酸塩基、例えば、5-メトキシウリジンと置き換えられ得る）。

【0130】

50

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、例えば S I R T 1 遺伝子によりコードされた、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指して本明細書において互換的に使用される。ポリマーは、修飾アミノ酸を含み得る。これらの用語は、自然に修飾された、または、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分との結合など、他の任意の操作もしくは改変などの介入により修飾されたアミノ酸ポリマーも包含される。例えば、1つ以上のアミノ酸アナログ（例えば、ホモシステイン、オルニチン、p-アセチルフェニルアラニン、D-アミノ酸、及びクレアチンなどの非天然アミノ酸が挙げられる）、及び当該技術分野において公知の他の修飾を含有するポリペプチドも定義の範囲内に含まれる。本明細書で使用する場合、「ポリペプチド」という用語は、任意のサイズ、構造、または機能のタンパク質、ポリペプチド、及びペプチドを指す。

10

【0131】

ポリペプチドとしては、遺伝子産物、天然に存在するポリペプチド、合成ポリペプチド、上述のもののホモログ、オーソログ、パラログ、フラグメント及び他の等価物、バリエーション、ならびにアナログが挙げられる。

【0132】

ポリペプチドは、単一のポリペプチドであり得るか、またはダイマー、トリマー、もしくはテトラマーなどの多分子複合体であり得る。それらは、一本鎖または多連鎖ポリペプチドも含み得る。最も一般的に、ジスルフィド結合は、多鎖ポリペプチドに見られる。ポリペプチドという用語は、1つ以上のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学的アナログであるようなアミノ酸ポリマーにも適用され得る。いくつかの態様では、「ペプチド」は、アミノ酸約50個以下の長さ、例えば、アミノ酸約5個、約10個、約15個、約20個、約25個、約30個、約35個、約40個、約45個、または約50個の長さであり得る。

20

【0133】

本明細書で使用する場合、「予防する」、「予防すること」という用語、及びそれらの変化形は、疾患、障害、及び／または状態の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状、特徴、または臨床徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の1つ以上の症状、特徴、または徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び／または状態の進行を部分的または完全に遅延させること；及び／または疾患、障害、及び／または状態に関連する病理を生じるリスクを減少させることを指す。いくつかの態様では、転帰の予防は、予防的治療によって実現される。

30

【0134】

本明細書で使用する場合、「脱毛を予防する」、「脱毛の予防」、「薄毛を予防する」、及び「薄毛の予防」なる用語は、事前の本明細書に記載されるようなあらゆる脱毛または薄毛の減少に対する効果を意味する。

【0135】

本明細書で使用する場合、「脱毛を減少させる」、「脱毛の減少」、「薄毛を減少させる」、及び「薄毛の減少」なる用語は、脱毛または薄毛の減少を必要とする対象における本明細書に記載されるようなあらゆる脱毛または薄毛の減少に対する効果を意味する。

40

【0136】

本明細書で使用する場合、「プロモーター」及び「プロモーター配列」という用語は互換可能であり、コーディング配列または機能性RNAの発現を制御することができるDNA配列を指す。一般的に、コーディング配列は、プロモーター配列の3'側に位置する。プロモーターは、天然遺伝子にその全体が由来してもよく、または自然界にみられる異なるプロモーターに由来する異なるエレメントで構成されてもよく、またはさらには、合成DNAセグメントを含んでもよい。異なるプロモーターは、異なる組織または細胞タイプにおいて、または発生の異なる段階において、または異なる環境的もしくは生理学的条件に応じて、遺伝子の発現を誘導することができる点は、当業者には理解されよう。ほとん

50

どの細胞タイプでほとんどの時間に遺伝子を発現させるプロモーターは一般的に「構成的プロモーター」と呼ばれる。特定の細胞タイプにおいて遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「細胞特異的プロモーター」または「組織特異的プロモーター」と呼ばれる。発生または細胞分化の特定の段階で遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「発生特異的プロモーター」または「細胞分化特異的プロモーター」と呼ばれる。プロモーターを誘導する薬剤、生物学的分子、化学物質、リガンド、光などによる細胞の曝露または処理後に誘導されて遺伝子を発現させるプロモーターは、一般的に「誘導性プロモーター」または「調節可能なプロモーター」と呼ばれる。多くの場合で調節配列の正確な境界は完全には定義されていないことから、異なる長さのDNAフラグメントが同じプロモーター活性を有し得る点もさらに認識されよう。

10

【0137】

プロモーター配列の境界はその3'末端では転写開始部位であり、バックグラウンドよりも高い検出可能なレベルで転写を開始するのに必要な最小の数の塩基またはエレメントを含むように上流(5'方向)に延びている。プロモーター配列内には、転写開始部位(例えばヌクレアーゼS1によるマッピングによって簡便に定義される)ばかりでなく、RNAポリメラーゼの結合に関与するタンパク質結合ドメイン(コンセンサス配列)も見出される。いくつかの態様では、本開示とともに使用することができるプロモーターには、組織特異的プロモーターが含まれる。

【0138】

本明細書で使用する場合、「予防」とは、疾患もしくは状態の発症を予防するために、または疾患もしくは状態に関連する症状を予防または遅延させるために使用される治療的行動または行動方針を指す。

20

【0139】

本明細書で使用する場合、「予防法」は、健康を維持し、疾患または状態の発症を予防もしくは遅延させるために、または疾患もしくは状態に関連する症状を予防もしくは遅延させるために取られる手段を指す。

【0140】

本明細書で使用する場合、「遺伝子調節領域」または「調節領域」という用語は、コーディング領域の上流(5'側のノンコーディング配列)、その内部、またはその下流(3'側のノンコーディング配列)に位置して、転写、RNAプロセッシング、または関連するコーディング領域の翻訳に影響を及ぼすヌクレオチド配列を指す。調節領域には、プロモーター、翻訳リーダー配列、イントロン、ポリアデニル化認識配列、RNAプロセッシング部位、エフェクター結合部位、またはステムループ構造が含まれ得る。コーディング領域が真核細胞内での発現のためのものである場合、ポリアデニル化シグナル及び／または転写終結配列がコーディング配列の3'側に通常は配置される。

30

【0141】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤(例えば、1つ以上のmiR-485結合部位を含むRNAを含むポリヌクレオチド)は、1つ以上のコーディング領域と機能的に関連付けられたプロモーター及び／または他の発現(例えば、転写)制御エレメントを含むことができる。機能的関連付けにおいて、遺伝子産物のコーディング領域は、1つ以上の調節領域と、その遺伝子産物の発現が調節領域の影響または制御下に置かれるようにして関連付けられる。例えば、コーディング領域とプロモーターとは、プロモーター機能の誘導が、そのコーディング領域によってコードされたmRNAの転写をもたらし、かつプロモーターとコーディング領域との連結の性質が、プロモーターが遺伝子産物の発現を誘導する能力を妨げず、またはDNA鋳型が転写される能力も妨げない場合に、「機能的に関連付けられている」。プロモーター以外の他の発現制御エレメント、例えば、エンハンサー、オペレーター、リプレッサー、及び転写終結シグナルを、遺伝子産物の発現を誘導するようにコーディング領域と機能的に関連付けることもできる。

40

【0142】

本明細書で使用する場合、「類似性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリ

50

ヌクレオチド分子（例えばm i R N A分子）間の全体的関連性を指す。ポリマー分子同士の互いに対する類似率（％）の計算は、類似率（％）の計算が当該技術分野で理解されるところの保存的置換を考慮している点を除いて、同一率（％）の計算と同様にして行うことができる。類似率（％）は、用いられる比較尺度、すなわち、核酸同士が、例えばそれらの進化的な近さ、電荷、体積、柔軟性、極性、疎水性、芳香族性、等電点、抗原性、またはそれらの組み合わせのどれにしたがって比較されるかによって左右されることが理解される。

【0143】

「対象」、「患者」、「個体」、及び「宿主」なる用語、及びそれらの変化形は、本明細書において互換的に使用され、限定されるものではないが、ヒト、家庭用動物（例えば、イヌ、ネコなど）、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマなど）、及び実験動物（例えば、サル、ラット、マウス、ウサギ、モルモットなど）が挙げられる、診断、処置、または治療が所望される任意の哺乳動物対象、特にヒトを指す。本明細書に記載される方法は、ヒトの治療及び獣医学的用途の両方に適用可能である。

10

【0144】

本明細書で使用する場合、「その必要がある対象」及び「脱毛のリスクのある対象」という表現は、例えば、発毛を誘導するためなど、本開示のm i R N A阻害剤（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤）の投与から恩恵を受ける哺乳動物対象などの対象を含む。いくつかの態様では、対象は、全頭脱毛症、男性型脱毛症、円形脱毛症、全身性脱毛症、退行性脱毛症、抜毛癖、休止期脱毛症、成長期脱毛症、瘢痕性脱毛症（c i c a t r i c i a l a l o p e c i a）、瘢痕脱毛症（s c a r r i n g a l o p e c i a）、頭皮の薄毛、毛幹異常、感染性毛髪疾患、遺伝子疾患、及び、化学療法、ホルモンバランスの異常、真菌感染、薬剤服用、化学的毛髪処理、または加齢による抜け毛からなる群から選択される1つ以上の疾患を有する。いくつかの態様では、対象はヒトである。

20

【0145】

本明細書で使用する場合、「治療有効量」という用語は、所望の治療効果、薬理学的、及び／または生理学的効果をもたらす必要がある対象において所望の治療効果、薬理学的、及び／または生理学的効果をもたらすのに十分な、本開示のm i R N A阻害剤を含む試薬または医薬化合物の量である。治療上有効量は、予防が治療とみなされ得る場合、「予防上有効量」であり得る。

30

【0146】

本明細書で使用する場合、「処置する」、「処置」、または「処置すること」という用語は、例えば、疾患または状態の重症度の低減、疾患経過の期間の低減、疾患または状態（例えば、糖尿病）に関連する1つ以上の症状の改善または除去、疾患または状態を必ずしも治療しない、疾患または状態を有する対象に対する有益な効果の提供を指す。この用語には、疾患もしくは状態またはその症状の予防または防止も含まれる。

【0147】

「上流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の5'側に位置するヌクレオチド配列を指す。

【0148】

「ベクター」とは、宿主細胞内に核酸をクローニング及び／または導入するための任意の担体を指す。ベクターは、結合されたセグメントの複製をもたらすように別の核酸セグメントを結合させることができるレプリコンとすることができる。「レプリコン」とは、インビボで自律的な複製ユニットとして機能する（すなわち、それ自身の制御下で複製することができる）任意の遺伝子エレメント（例えば、プラスミド、ファージ、コスミド、染色体、ウイルス）のことを指す。「ベクター」という用語には、細胞に核酸をインビトロ、エクスピボ、またはインビボで導入するためのウイルス性及び非ウイルス性の担体が含まれる。例えば、プラスミド、改変真核生物ウイルス、または改変細菌ウイルスを含む数多くのベクターが当該技術分野で知られており、使用されている。適当なベクターへのポリヌクレオチドの挿入は、適当なポリヌクレオチドフラグメントを、相補的な粘着末端

40

50

を有する選択されたベクターにライゲートすることによって行うことができる。

【0149】

ベクターは、ベクターを取り込んだ細胞の選択または特定を可能とする選択マーカーまたはレポーターをコードするように操作することができる。選択マーカーまたはレポーターの発現によって、ベクターに含まれる他のコーディング領域を取り込んで発現する宿主細胞を特定し、及び／または選択することが可能となる。当該技術分野において知られ、使用されている選択マーカーの例としては、アンピシリン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ヒグロマイシン、ピアラホス除草剤、スルホンアミドなどに対する耐性を与える遺伝子、ならびに表現型マーカーとして用いられる遺伝子、すなわち、アントシアン調節遺伝子、イソペンテニル基転移酵素遺伝子などが挙げられる。当該技術分野において知られ、使用されているレポーターの例としては、ルシフェラーゼ（Luc）、緑色蛍光タンパク質（GFP）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（CAT）、 β -ガラクトシダーゼ（LacZ）、 β -グルクロニダーゼ（Gus）などが挙げられる。選択マーカーはレポーターとみなすこともできる。

10

【0150】

II. 使用方法

本明細書では、発毛の誘導を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において発毛を誘導する方法であって、miR-485を阻害する化合物（「miRNA阻害剤」）を対象に投与することを含む方法が提供される。本明細書では、抜け毛の減少を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において抜け毛を減少させる方法であって、miR-485を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法も提供される。本明細書では、毛髪密度の増加を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において毛髪密度を増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法も提供される。本明細書では、毛髪の長さの増加を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において毛髪の長さを増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法も提供される。本明細書では、毛包密度の増加を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において毛包密度を増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法も提供される。本明細書では、毛幹の太さの増加を必要とする対象（例えば、抜け毛のリスクのある対象）において毛幹の太さを増加させる方法であって、miR-485を阻害する化合物を対象に投与することを含む方法も提供される。本明細書では、抜け毛のリスクがある対象において抜け毛を予防する方法であって、miR-485を阻害する化合物（miRNA阻害剤）を対象に投与することを含む方法も提供される。

20

30

【0151】

抜け毛の根本となる原因は個人間で常に同じというわけではない。また、発毛のプロセスはいくつかの段階を含み、正常な勢いのある発毛を変化させうる多くの要因がある。発毛周期は、非常に高いレベルの細胞増殖が毛包で起きる、毛髪が活発に成長する成長期、毛包の増殖活性が一時的に遅くなり、毛髪が形成される退行期、及び、毛髪が抜け落ち、新たな成長期が開始するまで、毛包の成長が単純に止まり、逆行する休止期の3つの段階に分けられる。もちろん、平均的な人で日々多くの毛髪が抜けることはまったく普通のことであり、したがって、この周期は普通は生涯を通じて継続的に繰り返され、抜け落ちた毛髪が補われる。しかしながら、この周期は、すべての人で年齢とともに遅くなり、正常な毛髪は徐々により薄い毛髪（産毛）に置き換わり、周期は短くなる。早期～中期の抜け毛は、ほとんどすべての場合で毛包の大きな割合の毛幹が細くなること、及び毛幹の成長の遅れとして現れ、毛包密度及び毛包当たりの毛幹は基本的に変わらない一方で、残った毛髪は細く、軽く、頭皮に近くなる。異常な抜け毛に悩む人では、正常な周期的プロセスが、プロセスの異常な加速によるものであれ、他の変化であれ、何らかの形で乱れている。これにより、最終的に休止期への移行がより急速となり、徐々により多くの産毛が生え、最終的には禿げに到る。毛包が不可逆的に不活性となるのは最終段階の禿げにおいての

40

50

みである（例えば、国際公開WO2004/078117A2を参照）。

【0152】

毛髪の濃さまたは密度Dは、（1）1平方センチ当たりの毛包数で測定される毛包密度F、（2）毛包1個当たりの平均の毛幹数N、及び（3）毛幹の平均太さTの3つの因子の積として定量化することができる。毛髪密度Dを示すこれら3つの量の積は下記で表される。

$$D = F * N * T$$

【0153】

薄毛の別の可能な客観的尺度として、頭部からの毛髪の選択されたサブセットの2つの標準偏差の外側の毛髪の幅の割合とすることができる。

【0154】

毛髪密度の別の代替的な尺度では、毛髪の太さ（直径）を、毛髪の断面積 $A = \pi T^2 / 4$ で置き換えることができる。1人分の毛髪の「多さ」の全体的な感じまたは指標は、毛髪の長さLを含んでもよく、これにより、毛髪ボリュームパラメータ $V = F * N * A * L$ を与える。残っている毛髪を成長させることによって毛髪のボリューム感を高めることができるため、Vは外観の測定基準としては機能するが毛髪が細くなることは表されない。したがって、 $D = FNA$ が、使用される客観的基準となる。

【0155】

一般的な毛包単位密度は $60 \sim 120 \text{ cm}^{-2}$ の範囲であり、各毛包は一般に1本または2本の毛幹を含むが、稀に年齢の異なる2本よりも多い毛幹を含むこともある。毛幹の太さは、太い、中間、細いに分類することができ、毛幹の太さの平均値は、細毛では幅が約40ミクロンから異なり、太毛では平均は約90ミクロンの幅でありうる。Nは、一般に1～2の間の数であり、より一般的には1～1.25である。Nは、密度の決定から省くことができるが、特定のレアケースでは考慮する必要がある場合もある。

【0156】

各個人について正規化された毛髪密度の測定値は、頭頂部及び／または前髪の密度と左及び／または右の側頭部の毛髪密度との比である。したがって、個人の薄毛比は、 $R = 100 \times (D_{\text{頭頂部}}) / D_{\text{側頭部}}$ 、ただし、それぞれの対応する領域について $D_{\text{頭頂部}}$ 及び $D_{\text{側頭部}} = F * N * T$ である。例えば、本明細書に参照によりその全容を援用する、米国特許出願公開第2009/0036800号を参照されたい。

【0157】

いくつかの態様では、対象は、全頭脱毛症、男性型脱毛症、円形脱毛症、全身性脱毛症、退行性脱毛症、抜毛癖、休止期脱毛症、成長期脱毛症、瘢痕性脱毛症（*cicatricial alopecia*）、瘢痕脱毛症（*scarring alopecia*）、頭皮の薄毛、毛幹異常、感染性毛髪疾患、遺伝子疾患、及び、化学療法、ホルモンバランスの異常、真菌感染、薬剤服用、化学的毛髪処理、または加齢による抜け毛からなる群から選択される1つ以上の疾患を有する。いくつかの態様では、対象はヒトである。

【0158】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、当該技術分野では周知の任意の適当な経路で投与することができる。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、補足的投与、筋肉内投与、皮下投与、点眼、静脈内投与、腹腔内投与、皮内投与、眼窩内投与、脳内投与、頭蓋内投与、脳室内投与、脊髄内投与、心室内投与、髄腔内投与、大槽内投与、嚢内投与、腫瘍内投与、局所、またはそれらの任意の組み合わせで投与される。特定の態様では、miR-485阻害剤は、筋肉内投与される。

【0159】

いくつかの態様では、miRNA-485阻害剤は、塗布、スプレー、蒸気、または注射による発毛の促進が必要とされる皮膚領域に投与される。

【0160】

いくつかの態様では、miRNA-485阻害剤は、発毛の促進が必要とされる皮膚領域に局所的に投与される。

10

20

30

40

50

【0161】

いくつかの態様では、miRNA-485阻害剤は、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合される。いくつかの態様では、投与する工程は、軟膏、シャンプー、コンディショナー、ローション、トニック、ジェル、及びムースからなる群から選択される形態に配合されたmiRNA阻害剤中に対象を浸漬または入浴させることによって行われる。

【0162】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、1つ以上のさらなる治療薬と併用することができる。いくつかの態様では、さらなる治療薬とmiR-485阻害剤とは同時に投与される。特定の態様において、さらなる治療薬とmiR-485阻害剤とは順次投与される。

【0163】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は副作用を生じない。特定の態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、対象に投与される際に体重に悪影響を及ぼさない。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、対象に投与される際に死亡率の増加をもたらさず、病理学的異常も引き起こさない。

【0164】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、1つ以上の遺伝子の発現及び／または活性を調節することにより、治療効果（例えば、発毛を誘導する、または脱毛を予防する）を発揮することができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiRNA-485阻害剤は、CTBP1、TRIP6、SIRT1、CD36、PGC1-a、またはこれらの組み合わせから選択される遺伝子の発現及び／または活性を調節することができる。

【0165】

CTBP1の調節

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA-485阻害剤を細胞と接触させることで、細胞内のCTBP1タンパク質及び／またはCTBP1遺伝子の発現を増加させることができる。

【0166】

C末端結合タンパク質1（CTBP1）は、ヒトではCTBP1遺伝子によってコードされるタンパク質である。CTBP1は、配列特異的DNA結合タンパク質に結合して、例えば、抑制的ヒストンマークを付加して活性化マークを除去するヒストン修飾酵素を動員することによって、遺伝子をオフすることを助ける調節タンパク質である。CTBP1タンパク質はまた自己集合することもでき、遺伝子調節複合体を集合させる。

【0167】

ヒトではCTBP1遺伝子は第4番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000004.12のヌクレオチド1,211,444～1,250,355（-鎖の方向））。CTBP1遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「ブレフェルジンAリボシル化基質」、「BARS」、「HADDTS」、「CtBP1」、または「CTBP」が挙げられる。

【0168】

ヒトCTBP1タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも2種類の既知のアイソフォームがある。CTBP1アイソフォーム1（UniProt識別番号：Q13363-1、配列番号31）は440個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている。CTBP1アイソフォーム2（UniProt識別番号：Q13363-2、配列番号32）は、429個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1～13：MGSSHL LNKG LPL→MS。下記表1に、2つのCTBP1アイソフォームの配列を示す。

10

20

30

40

50

【表 1】

表1. CTBP1タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム1 (UniProt: Q13363-1) (配列番号31)	MGSSHLNKGKPLGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDQSTQ EIHEKVLNEAVGALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNV PAASVEETADSTLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGI IGLGRVGQAVALKAFKAFGNVLFYDPYLSGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLN EHNHHLINDFTVKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQALKEGRIRGAALDVHESEPFSS QGPKLDAPNLICTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNCVNDHLTAAT HWASMDPAVVHPELNGAAYRYPGTVGVVAPTGI PAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHA PSPGQTVKPEADRDHASDQL
アイソフォーム2 (UniProt: Q13363-2) (配列番号32)	MSGVRPPIMNGPLHPRPLVALLDGRDCTVEMPILKDVATVAFCDQSTQEIHEKVLNEAV GALMYHTITLTREDLEKFKALRIIVRIGSGFDNIDIKSAGDLGIAVCNVPAAASVEETADS TLCHILNLYRRATWLHQALREGTRVQSVEQIREVASGAARIRGETLGIIGLGRVGQAV ALRAKAFGNVLFYDPYLSGVERALGLQRVSTLQDLLFHSDCVTLHCGLNEHNHHLINDFT VKQMRQGAFLVNTARGGLVDEKALAQALKEGRIRGAALDVHESEPFSSQGPKLDAPNL ICTPHAAWYSEQASIEMREEAAREIRRAITGRIPDSLKNCVNDHLTAATHWASMDPAVVH PELNGAAYRYPGTVGVVAPTGI PAAVEGIVPSAMSLSHGLPPVAHPPHAPSPGQTVKPEA DRDHASDQL

【0169】

本明細書で使用する場合、「CTBP1」なる用語は、細胞によって天然に発現されるCTBP1のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCTBP1アイソフォーム1の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCTBP1アイソフォーム2の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCTBP1アイソフォーム1及びアイソフォーム2の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム1及びアイソフォーム2の両方を併せて「CTBP1」と呼ぶ。

【0170】

いくつかの態様では、細胞をmiRNA-485阻害剤と接触させることは、細胞内のCTBP1タンパク質及び／またはCTBP1遺伝子の発現及び／または活性を、参照細胞（例えば、miRNA-485阻害剤と接触させられていない対応する細胞）における発現及び／または活性と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約60倍、少なくとも約70倍、少なくとも約80倍、少なくとも約90倍、または少なくとも約100倍増加させる。

【0171】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485、例えばmiR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、CTBP1タンパク質及び／またはCTBP1遺伝子の発現を増加させる。

【0172】

TRIP6の調節

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA-485阻害剤を細胞と接触させることで、細胞内のTRIP6タンパク質及び／またはTRIP6遺伝子の発現を増加させることができる。

【0173】

甲状腺受容体相互作用タンパク質6（TRIP6）は、ヒトではTRIP6遺伝子によってコードされるタンパク質である。TRIP6タンパク質は、サイキシン（zyxin

）ファミリーのメンバーであり、3つのLIM亜鉛結合ドメインを含む。TRIP6タンパク質は、接着斑部位に、また、アクチンストレスファイバーに沿って局在することが示されている。

【0174】

ヒトではTRIP6遺伝子は第7番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000007.14のヌクレオチド100,867,387～100,873,454（+鎖の方向））。TRIP6遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「甲状腺ホルモン受容体相互作用因子6」、「ZRP-1」、「OIP1」、「甲状腺ホルモン受容体相互作用タンパク質6」、「OPA相互作用タンパク質1」、及び「サイキシン関連タンパク質1」が挙げられる。

10

【0175】

ヒトTRIP6タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも3種類の既知のアイソフォームがある。TRIP6アイソフォーム1（UniProt識別番号：Q15654-1、配列番号78）は4766個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている。TRIP6アイソフォーム2（UniProt識別番号：Q15654-2、配列番号79）は、106個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：（i）37～106：ALQPHPRVNF...IDLSSSTLAE→VLPGRPRTGG...CVTATRPTGI、（ii）107～476：欠失。TRIP6アイソフォーム3（UniProt識別番号：Q15654-2、配列番号80）は、80個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：（i）37～80：ALQPHPRVNF...SHGVLQHTQG→GAPCRQGGPS...CVTATRPTGI；（ii）81～476：欠失。

20

下記表2に、異なるTRIP6タンパク質アイソフォームの配列を示す。

【表2】

表2. TRIP6タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム1 (UniProt: Q15654-1) (配列番号78)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAALQPHPRVNFCLPSEQCQYQAPGG PEDRGPAWVGSHGVLQHTQGLPADRGGLRPGSLDAEIDLLSSTLAEINNGRGHASRRPDR QAYEPPPPPAYRTGSLKPNPASPLPASPYGGPTPASYYTASTPAGPAFPVQVKVAPVVRG CGPPRRGASQASGPLPGPHFPLPGRGEVWGPYRSQREPGGAKEEAAAGVSGPAGRGRGG EHGPQVPLSQPPEDELDRLTKKLVHDMNHPPSGEYFGQCGGCGEDVVDGAGVVALDRVF HVGCFVCSTCRAQLRGQHFYAVERRAYCEGCYVATLEKCATCSQPILDRILRAMGKAYHP GCFTCVVCHRGDLGIPFTVDATSIHCIEDFHRKFAPRCVCGGAIMPEPGQEETVRIVA LDRSFHIGCYKCEECGLLLSSEGECCQGCYPLDGHILCKACSAWRIQELSATVTDC
アイソフォーム2 (UniProt: Q15654-2) (配列番号79)	SGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAVALPGPRGTGGSGAGVGGVPWSTPA HAGAPCRQGGPSPWKPGRRDRLAEQHAGRAEWGSGSCVTATRPTGI
アイソフォーム3 (UniProt: Q15654-2) (配列番号80)	MSGPTWLPPKQPEPARAPQGRAIPRGTPGPPPAHGAVALPGPRGTGGSGAGVGGVPWSTPA AGRAEWGSGSCVTATRPTGI

30

40

【0176】

本明細書で使用する場合、「TRIP6」なる用語は、細胞によって天然に発現されるTRIP6のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、TRIP6アイソフォーム1

50

の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、TRIP6アイソフォーム2の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、TRIP6アイソフォーム3の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、TRIP6アイソフォーム1、アイソフォーム2、及びアイソフォーム3の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム1、アイソフォーム2、及びアイソフォーム3をまとめて「TRIP6」と呼ぶ。

【0177】

いくつかの態様では、細胞をmiRNA-485阻害剤と接触させることは、細胞内のTRIP6タンパク質及び／またはTRIP6遺伝子の発現及び／または活性を、参照細胞（例えば、miRNA-485阻害剤と接触させられていない対応する細胞）における発現及び／または活性と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約60倍、少なくとも約70倍、少なくとも約80倍、少なくとも約90倍、または少なくとも約100倍増加させる。

【0178】

いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、他のLIMドメイン含有タンパク質の発現及び／または活性を増加させることもできる。

【0179】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485、例えばmiR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、TRIP6タンパク質及び／またはTRIP6遺伝子の発現を増加させる。

【0180】

SIRT1の調節

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA-485阻害剤を細胞（例えば、神経幹細胞）と接触させることで、細胞内のSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させることができる。

【0181】

サーチュイン1（SIRT1）は、NAD依存性脱アセチル化酵素サーチュイン1としても知られ、ヒトではSIRT1遺伝子によってコードされているタンパク質である。SIRT1遺伝子はヒトの第10番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000010.11のヌクレオチド67,884,656～67,918,390（+鎖の方向））。SIRT1遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「調節タンパク質SIR2ホモログ1」、「サイレント接合型情報調節因子2ホモログ1（silent mating-type information regulation 2 homolog 1）」、「SIR2」、「SIR2様タンパク質1」、「SIR2L1」、「SIR2α」、「1型サーチュイン」、「hSIRT1」、または「hSIR2」が挙げられる。

【0182】

ヒトSIRT1タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも2種類の既知のアイソフォームがある。SIRT1アイソフォーム1（UniProt識別番号：Q96EB6-1）は747個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている（配列番号31）。SIRT1アイソフォーム2（「Δエクソン8」としても知られる（UniProt識別番号：Q96EB6-2））は、561個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：454～639：欠失（配列番号32）。下記表3に、2つのSIRT1アイソフォームの配列を示す。

10

20

30

40

50

【表 3】

表3. SIRT1タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム1 (UniProt: Q96EB6-1) (配列番号31)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGSPREPPLADNL YDEDDDDDEGESEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESEDEEDRASHASSDWT PRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRRKRD NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIE YFRKDRPFPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQRI QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSSIPHEVPQILINREPLPHLHFDVELLG DCDVIINELCHRLGGEYAKLCCNPVKLSEITEKPPRTQKELAYLSELPTPLHVSSEDSS PERTSPDSSVIVITLLDQAAKSNDDLDVSESKGCMEKPKQEVQTSRNVESIAEQMENPDL KNVGSSTGEKNERTSVAGTVRKWCWPNRVAKEQISRRLDGNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSD SEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTD GDDQEAINEAISVKQEVTDNMNPSNKS
アイソフォーム2 (UniProt: Q96EB6-2) (配列番号32)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDGPGLERSPGEPGGAAPEREV PAAARGCPGAAAAALWREAEEAAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGSPREPPLADNL YDEDDDDDEGESEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESEDEEDRASHASSDWT PRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPETIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRRKRD NTIEDAVKLLQECKKIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPQAMFDIE YFRKDRPFPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGKLLRNYTQNIDTLEQVAGIQRI QCHGSFATASCLICKYKVDCEAVRGDIFNQVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPE QFHRAMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSDSEDDVL SSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDDQEA INEAISVKQEVTDNMNPSNKS

10

20

【0183】

本明細書で使用する場合、「SIRT1」なる用語は、細胞によって天然に発現されるSIRT1のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はSIRT1アイソフォーム1の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はSIRT1アイソフォーム2の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はSIRT1アイソフォーム1及びアイソフォーム2の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム1及びアイソフォーム2の両方を併せて「SIRT1」と呼ぶ。

30

【0184】

いくつかの態様では、細胞をmiRNA-485阻害剤と接触させることは、細胞内のSIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現及び／または活性を、参照細胞（例えば、miRNA-485阻害剤と接触させられていない対応する細胞）における発現及び／または活性と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約60倍、少なく

40

【0185】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、miR-485、例えばmiR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、SIRT1タンパク質及び／またはSIRT1遺伝子の発現を増加させる。

【0186】

CD36の調節

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA-485阻害剤を細胞と接触させる

50

ことで、細胞内のCD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増加させることができる。

【0187】

クラスター決定因子36 (CD36) は、血小板糖タンパク質4としても知られ、ヒトではCD36遺伝子によってコードされているタンパク質である。CD36遺伝子は第7番染色体上に位置している (GenBankアクセッション番号NC_000007.14のヌクレオチド80,602,656~80,679,277 (+鎖の方向))。CD36遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「血小板糖タンパク質IV」、「脂肪酸転移酵素」、「スカベンジャー受容体クラスBメンバー3」、「糖タンパク質88」、「糖タンパク質IIIB」、「糖タンパク質IV」、「トロンボスポンジン受容体」、「GPIIIB」、「PAS IV」、「GP3B」、「GPIV」、「FAT」、「GP4」、「BDPLT10」、「SCARB3」、「CHDS7」、「PASIV」、または「PAS-4」が挙げられる。

【0188】

ヒトCD36タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも4種類の既知のアイソフォームがある。CD36アイソフォーム1 (UniProt識別番号: P16671-1) は472個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている (配列番号36)。CD36アイソフォーム2 («ex8-del»としても知られる (UniProt識別番号: P16671-2) (配列番号37) は、288個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 274~288: SIYAVFESDVNLKGI→ETCVHFTSSF SVCKS、及び289~472: 欠失。CD36アイソフォーム3 («ex6-7-del»としても知られる (UniProt識別番号: P16671-3) (配列番号38) は、433個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 234~272: 欠失。CD36アイソフォーム4 («ex4-del»としても知られる (UniProt識別番号: P16671-4) (配列番号39) は、412個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 144~203: 欠失。下記表4に、4つのCD36アイソフォームの配列を示す。

10

20

30

40

50

【表 4】

表4. CD36タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム1 (UniProt:P16671-1) (配列番号36)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKGTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTDQEDNTVSFLQPN GA IFEPSSLVSGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTGVLFYPYNNADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLP SKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLVLPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYACACRSKTIK
アイソフォーム2 (UniProt:P16671-2) (配列番号37)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKGTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTDQEDNTVSFLQPN GA IFEPSSLVSGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTGVLFYPYNNADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRETCHFTSSFSVCKS
アイソフォーム3 (UniProt:P16671-3) (配列番号38)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKGTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTDQEDNTVSFLQPN GA IFEPSSLVSGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLINKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTGVLFYPYNNADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRSIYAVF ESDVNLKGIPVYRFVLP SKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLVLPSEKI QVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYACACRSKTIK
アイソフォーム4 (UniProt:P16671-4) (配列番号39)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQVVLEEGTIAFKNWVKGTGTE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPTYRVRFLAKENVTDQEDNTVSFLQPN GA IFEPSSLVSGTEADNFTVLNLAVAYNNADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLP SKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNTSYGVLDISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLVLPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISYACACRSKTIK

10

20

30

【0189】

本明細書で使用する場合、「CD36」なる用語は、細胞によって天然に発現されるCD36のあらゆるバリエーションまたはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36アイソフォーム1の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36アイソフォーム2の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36アイソフォーム3の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36アイソフォーム4の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はCD36のアイソフォーム1とアイソフォーム2、及び／またはアイソフォーム3とアイソフォーム4、及び／またはアイソフォーム1とアイソフォーム4、及び／またはアイソフォーム2とアイソフォーム3の両方の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤はすべてのCD36アイソフォームの発現を増加させることができる。特に断らない限り、アイソフォーム1、アイソフォーム2、アイソフォーム3、及びアイソフォーム4を本明細書ではまとめて「CD36」と呼ぶ。

40

【0190】

いくつかの態様では、細胞をmiRNA-485阻害剤と接触させることは、細胞内の

50

CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現及び／または活性を、参照細胞（例えば、miRNA-485阻害剤と接触させられていない対応する細胞）における発現及び／または活性と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約60倍、少なくとも約70倍、少なくとも約80倍、少なくとも約90倍、または少なくとも約100倍増加させる。

【0191】

いずれか1つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiRNA-485阻害剤は、miRNA-485、例えばmiRNA-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、CD36タンパク質及び／またはCD36遺伝子の発現を増加させる。

【0192】

PGC1の調節

いくつかの態様では、本明細書に記載のmiRNA-485阻害剤を細胞と接触させることで、細胞内のPGC-1 α タンパク質及び／またはPGC-1 α 遺伝子の発現を増加させることができる。

【0193】

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1-アルファ（PGC1- α ）は、PPARGコアクチベーター1アルファまたはリガンド作用モジュレーター6としても知られ、ヒトではPPARGC1A遺伝子によってコードされているタンパク質である。PGC-1 α 遺伝子はヒトの第4番染色体上に位置している（GenBankアクセッション番号NC_000004.12のヌクレオチド23,792,021~24,472,905（+鎖の方向））。PGC-1 α 遺伝子及びそのコードされたタンパク質の同義語が知られており、「PPARGC1A」、「LEM6」、「PGC1」、「PGC1A」、「PGC-1v」、「PPARGC1」、「PGC1 α 」、または「PGC-1（ α ）」が挙げられる。

【0194】

ヒトPGC1- α タンパク質には、選択的スプライシングから生じる少なくとも9種類の既知のアイソフォームがある。PGC1- α アイソフォーム1（UniProt識別番号：Q9UBK2-1）は798個のアミノ酸からなり、カノニカル配列として選択されている（配列番号40）。PGC1- α アイソフォーム2（「アイソフォームNT-7a」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-2）（配列番号41）は、271個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：269~271：DPK→LFL；272~798：欠失。PGC1- α アイソフォーム3（「アイソフォームB5」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-3）（配列番号42）は、803個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1~18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSPLREEDWKVKVLQREAGWQ。PGC1- α アイソフォーム4（「アイソフォームB4」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-4）（配列番号43）は、786個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1~18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF。PGC1- α アイソフォーム5（「アイソフォームB4-8a」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-5）（配列番号44）は、289個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1~18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF、294~301：LTPPTTPP→VKTNLISK、302~798：欠失。PGC1- α アイソフォーム6（「アイソフォームB5-NT」としても知られる（UniProt識別番号：Q9UBK2-6）（配列番号45）は、276個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる：1~18：MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSPLREEDWKVKVL

Q R E A G W Q、269-271: D P K → L F L、272-798: 欠失。P G C 1- α アイソフォーム7 (「B4-3ext」としても知られる (UniProt 識別番号: Q9UBK2-7) (配列番号46) は、138個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 1~18: M A W D M C N Q D S E S V W S D I E → M D E G Y F、144~150: L K K L L L A → V R T L P T V、151~798: 欠失。P G C 1- α アイソフォーム8 (「アイソフォーム8a」としても知られる (UniProt 識別番号: Q9UBK2-8) (配列番号47) は、301個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 294~301: L T P P T T P P → V K T N L I S K、302~798: 欠失。P G C 1- α アイソフォーム9 (「アイソフォーム9」または「L-PGG-1 α 」としても知られる (UniProt 識別番号: Q9UBK2-9) (配列番号48) は、671個のアミノ酸からなり、以下の点でカノニカル配列と異なる: 1~127: 欠失。下記表5に、9つのP G C 1- α アイソフォームの配列を示す。

10

【表5-1】

表5. PGC1- α タンパク質のアイソフォーム

アイソフォーム1 (UniProt: Q9UBK2-1) (配列番号40)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCS DQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEGLPSFDALTDG DVTDDNEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH RIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNS SRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVEL SGTAGLTPPTTP PHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNSTKKGPEQSELYAQLSK SSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSS DWQ GQICSSTDSQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEI RAELNKHFGHPSQAVFDDEADK TGELRDSDFSNEQFSKLP MFINSGLAMDGLFDDSEDESKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSC SSFNSPCRDVSPPKSLFSQRPQRMRSR SRFSRHRSCSRSPYSR SRSRSPGSRSSSRSC YYYESSHYRHR THRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERL KREEYRREYEKRESE RAKQ RERQQAIEERRVIYVGKIRPD TTRTELDRDFEVFGEIEECTVNL RDDGDSYGFITYRYTCDAA FAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQF FKSNYADLDSNSDDFD PASTKSKYDSLDFD SLLEAQRSLRR
アイソフォーム2 (UniProt: Q9UBK2-2) (配列番号41)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGLKWCS DQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEGLPSFDALTDG DVTDDNEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH RIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNS SRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESP NLF
アイソフォーム3 (UniProt: Q9UBK2-3) (配列番号42)	MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELDVNDLDTDSFLGGL KWCS DQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEGLPSFDALTDG DVTDDNEASPSSMPDGTTPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH RIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNS SRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVEL SGTAGLTPPTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNSTKKGPEQSELY AQLSKSSVLTGG HEERKTKRPSLRLFGDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQ GQICSSTDSQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEI RAELNKHFGHPSQAVFD

20

30

40

50

【表 5 - 2】

	DEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFN VSPSCSSFNSPCRDVSVPKSLFSQRPQMRMRSRSRFSRHRSCSRSPYSRSRSPGSR SSRSCYYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREYRREYE KRESERAKQREERQKQKAEERRVIYVGKIRPDTRTELDRFEVFGEIEECTVNLRDDGD SYGFITYRYTCDAAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPAS TKSKYDSLDFDSLKEAQRSLRR
アイソフォーム4 (UniProt: Q9UBK2-4) (配列番号43)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVL TGHEERK TKRPSLRLFGDHDYQCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSSTDSDQC YLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIARAEKNKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNE QFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRDVS PPKSLFSQRPQMRMRSRSRFSRHRSCSRSPYSRSRSPGSRSSSRSCYYYESSHYRHR HRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREYRREYEKRESERAKQREERQKQK AEERRVIYVGKIRPDTRTELDRFEVFGEIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCDAAFA LENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSLKEA QRSLRR
アイソフォーム5 (UniProt: Q9UBK2-5) (配列番号44)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNK AKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLISK
アイソフォーム6 (UniProt: Q9UBK2-6) (配列番号45)	MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGL KWCSDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDG DVTTDNEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNH IRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDK CTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNTLFL
アイソフォーム7 (UniProt: Q9UBK2-7) (配列番号46)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSDQSEIISNQYNNE PSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGT PPPQEAEEPSLVRTLPTV
アイソフォーム8 (UniProt: Q9UBK2-8) (配列番号47)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSD QSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDKCTSKK KSHTQSQSQHLQAKPTTLLSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLIS K
アイソフォーム9	MPDGTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTEN SWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSRDKCTSKKKSHTQSQ

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

(UniProt: Q9UBK2-9) (配列番号48)	SQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQD NPFRASPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNSTKKGPESQELYAQLSKSSVLTGG HEERKTKRPSLRLFGDHDYCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSST DSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAEINLKHFGHPSQAVFDDEADKTGELRDS DFSNEQFSKLPMFINSGLAMDGLFDDSEDESKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPC RDSVSPPKSLFSQRPQRMRSRSPSRFRRHRSRSPYSRSPSRSPGSRSSSRSCYYYESSH YRHRTHRNSPLYVRSRSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRER QRQKAIERRVIYVGKIRPDTRTELDRFEVFGIEECTVNLRDDGDSYGFITYRYTCD AFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDS LLKEAQRSLRR
------------------------------------	---

10

【0195】

本明細書で使用する場合、「PGC-1 α 」なる用語は、細胞によって天然に発現される PGC-1 α のあらゆる変異体またはアイソフォームを含む。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 2 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 3 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 4 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 5 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 6 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 7 の発現を増加させることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 8 の発現を増加させることができる。したがって、いくつかの態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 9 の発現を増加させることができる。さらなる態様では、本明細書に開示される miR-485 阻害剤は、PGC-1 α アイソフォーム 1、アイソフォーム 2、アイソフォーム 3、アイソフォーム 4、アイソフォーム 5、アイソフォーム 6、アイソフォーム 7、アイソフォーム 8、及びアイソフォーム 9 の発現を増加させることができる。特に断らない限り、本明細書では、アイソフォーム 1 及びアイソフォーム 2 の両方を併せて「PGC-1 α 」と呼ぶ。

20

30

【0196】

いくつかの態様では、細胞を miRNA-485 阻害剤と接触させることは、細胞内の PGC-1 α タンパク質及び／または PGC-1 α 遺伝子の発現及び／または活性を、参照細胞（例えば、miRNA-485 阻害剤と接触させられていない対応する細胞）における発現及び／または活性と比較して、少なくとも約 1 倍、少なくとも約 2 倍、少なくとも約 3 倍、少なくとも約 4 倍、少なくとも約 5 倍、少なくとも約 6 倍、少なくとも約 7 倍、少なくとも約 8 倍、少なくとも約 9 倍、少なくとも約 10 倍、少なくとも約 20 倍、少なくとも約 30 倍、少なくとも約 40 倍、少なくとも約 50 倍、少なくとも約 60 倍、少なくとも約 70 倍、少なくとも約 80 倍、少なくとも約 90 倍、または少なくとも約 100 倍増加させる。

40

【0197】

いずれか 1 つの理論に束縛されるものではないが、いくつかの態様では、本明細書に開

50

示されるmiR-485阻害剤は、miR-485、例えばmiR-485-3pの発現及び／または活性を低下させることにより、PGC-1αタンパク質及び／またはPGC-1α遺伝子の発現を増加させる。

【0198】

III. 本開示で有用なmiRNA-485阻害剤

本開示では、miR-485活性を阻害することができる化合物を開示する(miR-485阻害剤)。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、少なくとも1つのmiR-485結合部位を含むヌクレオチド分子をコードする、または含むヌクレオチド配列を含んでおり、ヌクレオチド分子はタンパク質をコードしていない。本明細書に記載されるように、いくつかの態様では、miR-485結合部位は、標的miRNA核

10

【0199】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR阻害剤のmiR-485結合部位は、miR-485、例えばmiRNA-485-3pの核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列同一性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、miR-485、例えばmiRNA-485-3pの核酸配列と完全に相補的である。

20

【0200】

miR-485のヘアピン前駆体はmiR-485-5p及びmiR-485-3pの両方を生成することができる。本開示との関連で、「miR-485」は、特に断らない限り、miR-485-5p及びmiR-485-3pの両方を包含する。ヒト成熟miR-485-3pは、配列5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3'、(配列番号1; miRBaseアクセッション番号MIMAT0002176)を有する。miR-485-3pの5'-UCAUACA-3' (配列番号49)の5'末端配列はシード配列である。ヒト成熟miR-485-5pは、配列5'-AGAGGCUGGC CGUGAUGAAUUC-3' (配列番号33; miRBaseアクセッション番号MIMAT0002175)を有する。miR-485-5pの5'-GAGGCUG-3' (配列番号50)の5'末端配列はシード配列である。

30

【0201】

当業者には明らかであるが、ヒト成熟miR-485-3pは、他の種のもものと相当の配列類似性を有している。例えば、マウス成熟miR-485-3pは、ヒト成熟miR-485-3pと、5'末端及び3'末端のそれぞれで1個のアミノ酸が異なっている(すなわち、5'末端に余分な「A」があり、3'末端の「C」がない)。マウス成熟miR-485-3pは以下の配列を有する：

【化6】

40

5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3'

(配列番号34; miRBaseアクセッション番号MIMAT0003129; 下線部はヒト成熟miR-485-3pとの重複部分に相当する)。マウス成熟miR-485-5pの配列はヒトの配列と同一である：5'-agaggcuggcccgugaugaauuc-3' (配列番号33; miRBaseアクセッション番号MIMAT0003128)。特定の態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、ヒト及びマウスのmiR-485-3p及び／またはmiR-485-5pに結合することができる。

50

【0202】

いくつかの態様では、miR-485結合部位は、miR-485-3pの配列（またはその部分配列）と相補的（例えば、完全に相補的）な一本鎖のポリヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、miR-485-3pの部分配列は、シード配列を含む。したがって、特定の態様では、miR-485結合部位は、配列番号49に記載される核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列相補性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを除いてmiR-485-3pと相補的である。さらなる態様では、miR-485結合部位は、配列番号1に記載される核酸配列と完全に相補的である。

10

【0203】

いくつかの態様では、miR-485結合部位は、miR-485-5pの配列（またはその部分配列）と相補的（例えば、完全に相補的）な一本鎖のポリヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、miR-485-5pの部分配列は、シード配列を含む。特定の態様では、miR-485結合部位は、配列番号50に記載される核酸配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列相補性を有する。特定の態様では、miR-485結合部位は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを除いてmiR-485-5pと相補的である。

20

【0204】

miRNAのシード領域は、標的mRNAと緊密な二重鎖を形成する。多くのmiRNAは、標的mRNAの3'非翻訳領域（UTR）と不完全に塩基対合し、miRNAの5'近位の「シード」領域が対合特異性の大部分を与える。いずれの理論にも束縛されるものではないが、最初の9個のmiRNAヌクレオチド（シード配列を含む）がより高い特異性を与えるのに対して、この領域の3'側のmiRNAヌクレオチドはより低い配列特異性を与え、それにより、より高度のミスマッチした塩基対合を許容し、2～7位が最も重要であると考えられる。したがって、本開示の特定の態様では、miR-485結合部位は、miR-485のシード配列の全長にわたって完全に相補的（すなわち、100%の相補性）な配列を含む。

30

【0205】

本開示との関連で 사용할ことができるmiRNA配列及びmiRNA結合配列（阻害剤）としては、これらに限定されるものではないが、本明細書に示される配列表の配列の全部または一部、ならびにmiRNA前駆体配列、またはこれらのmiRNAのうちの1つ以上のものの相補体が挙げられる。その配列が、示されるmiRNAの成熟配列またはその相補的配列と少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるようなmiRNAまたはその相補的配列を含めるために名前による特定のmiRNAまたはmiRNA結合部位を含む本開示のあらゆる態様も想到される。

40

50

【0206】

特定の態様では、本開示のmiRNA結合配列は、改変された配列がmiR-485に依然として特異的に結合できる限り、本明細書で提供される配列表に示される配列の5'末端、3'末端、または5'末端及び3'末端の両方にさらなるヌクレオチドを含んでもよい。いくつかの態様では、本開示のmiRNA結合配列は、改変された配列がmiR-485に依然として特異的に結合できる限り、提供される配列表に示される配列に対して、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個、またはそれ以上のヌクレオチドにおいて異なりうる。

【0207】

miRNA結合分子またはmiRNAに関して本明細書に記載されるあらゆる方法及び組成物は、合成miRNA結合分子に関して実施することができる点も具体的に想到される。本開示のRNA配列に関連した開示は、対応するDNA配列に等しく適用できる点も理解されよう。

【0208】

いくつかの態様では、本開示のmiRNA-485阻害剤は、ヌクレオチド配列の5'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、miRNA-485阻害剤は、ヌクレオチド配列の3'末端に少なくとも1個のヌクレオチド、少なくとも2個のヌクレオチド、少なくとも3個のヌクレオチド、少なくとも4個のヌクレオチド、少なくとも5個のヌクレオチド、少なくとも6個のヌクレオチド、少なくとも7個のヌクレオチド、少なくとも8個のヌクレオチド、少なくとも9個のヌクレオチド、少なくとも10個のヌクレオチド、少なくとも11個のヌクレオチド、少なくとも12個のヌクレオチド、少なくとも13個のヌクレオチド、少なくとも14個のヌクレオチド、少なくとも15個のヌクレオチド、少なくとも16個のヌクレオチド、少なくとも17個のヌクレオチド、少なくとも18個のヌクレオチド、少なくとも19個のヌクレオチド、または少なくとも20個のヌクレオチドを含む。

【0209】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、約6～約30ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、7ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、8ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、9ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、10ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、miR-485阻害剤は、11ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、miR-485阻害剤は、12ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、13ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、14ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、15ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、miR-485阻害剤は、16ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、17ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、18ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、19ヌクレオチドの長さである。特定の態様では、miR-485阻害剤は、20ヌクレオチドの長さである。さらなる態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、21ヌクレオチドの長さである。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、22ヌクレオ

チドの長さである。

【0210】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、配列番号2～30から選択される配列と、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるヌクレオチド配列を含む。特定の態様では、miR-485阻害剤は、配列番号2～30からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含み、ヌクレオチド配列は1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを場合により含んでもよい。

10

【0211】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-UGUAUGA-3'（配列番号2）、5'-GUGUAUGA-3'（配列番号3）、5'-CGUGUAUGA-3'（配列番号4）、5'-CCGUGUAUGA-3'（配列番号5）、5'-GCCGUGUAUGA-3'（配列番号6）、5'-AGCCGUGUAUGA-3'（配列番号7）、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号8）、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号9）、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号10）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号11）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号12）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号13）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号14）、または5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号15）を含む。

20

【0212】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-UGUAUGAC-3'（配列番号16）、5'-GUGUAUGAC-3'（配列番号17）、5'-CGUGUAUGAC-3'（配列番号18）、5'-CCGUGUAUGAC-3'（配列番号19）、5'-GCCGUGUAUGAC-3'（配列番号20）、5'-AGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号21）、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号22）、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号23）、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号24）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号25）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号26）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号27）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号28）、または5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号29）を含む。

30

【0213】

いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-TGTAATGA-3'（配列番号30）、5'-GTGTATGA-3'（配列番号31）、5'-CGTGTATGA-3'（配列番号32）、5'-CCGTGTATGA-3'（配列番号33）、5'-GCCGTGTATGA-3'（配列番号34）、5'-AGCCGTGTATGA-3'（配列番号35）、5'-GAGCCGTGTATGA-3'（配列番号36）、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号37）、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号38）、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号39）、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号40）、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号41）、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号42）、5'-TGTAATGAC-3'（配列番号43）、5'-GTGTATGAC-3'（配列番号44）、5'-CGTGTATGAC-3'（配列番号45）、5'-CCGTGTATGAC-3'（配列番号46）、5'-GCCGTGTATGAC-3'（配列番号47）、5'-AGCCGTGTATGAC-3'（配列番号48）、5'-GAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号49）、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号50）、5'-GAGAGGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号51）、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号52）、5'-GAGAGGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号53）、5'-GAGAGGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号54）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号55）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号56）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号57）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号58）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号59）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号60）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号61）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号62）、5'-TGTAATGAC-3'（配列番号63）、5'-GTGTATGAC-3'（配列番号64）、5'-CGTGTATGAC-3'（配列番号65）、5'-CCGTGTATGAC-3'（配列番号66）、5'-GCCGTGTATGAC-3'（配列番号67）、5'-AGCCGTGTATGAC-3'（配列番号68）、5'-GAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号69）、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号70）、5'-GAGAGGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号71）、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号72）、5'-GAGAGGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号73）、5'-GAGAGGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号74）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号75）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号76）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号77）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号78）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号79）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号80）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号81）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号82）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号83）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号84）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号85）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号86）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号87）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号88）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号89）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号90）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号91）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号92）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号93）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号94）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号95）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号96）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号97）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号98）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号99）、5'-GAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'（配列番号100）を含む。

40

50

AGCCGTGTATGAC-3' (配列番号69)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号70)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号71)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号72)、5'-AGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号73)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号74)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号75)、及び5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号76) からなる群から選択される配列を有する。

【0214】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiRNA阻害剤 (すなわち、miR-485阻害剤) は、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) 10
) または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) と少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%同一であるヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) と少なくとも90%の類似性を有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、miRNA阻害剤は、1個の置換または2個の置換を有するヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) を含む。特定の態様 20
では、miRNA阻害剤は、ヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) または5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (配列番号77) を含む。特定の態様では、miRNA阻害剤は、ヌクレオチド配列5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号28) を含む。

【0215】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号2~30のいずれか1つと、N末端に少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、または少なくとも5個のさらなる核酸、C末端に少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、または少なくとも5個のさらなる核酸、またはその両方と、を含む。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号2~30のいずれか1つと、N末端に1個のさらなる核酸及び/またはC末端に1個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号2~30のいずれか1つと、N末端に1個または2個のさらなる核酸及び/またはC末端に1個または2個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、本明細書に開示される配列、例えば、配列番号2~30のいずれか1つと、N末端に1~3個のさらなる核酸及び/またはC末端に1~3個のさらなる核酸と、を含む。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号29) を含む。 30

【0216】

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、1個のmiR-485結合部位を含む。さらなる態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、少なくとも2個のmiR-485結合部位を含む。特定の態様では、miR-485阻害剤は、3個のmiR-485結合部位を含む。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、4個のmiR-485結合部位を含む。いくつかの態様では、miR-485阻害剤は、5個のmiR-485結合部位を含む。特定の態様では、miR-485阻害剤は、6個以上のmiR-485結合部位を含む。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は同じである。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は異なる。いくつかの態様では、少なくとも1つのmiR-485結合部位が異なる。いくつかの態様では、すべてのmiR-485結合部位は、miR-485-3p結合部位である。他の 40 50

態様では、すべてのmiR-485結合部位は、miR-485-5p結合部位である。さらなる態様では、miR-485阻害剤は、少なくとも1つのmiR-485-3p結合部位と、少なくとも1つのmiR-485-5p結合部位とを含む。

【0217】

III. a. 化学修飾されたポリヌクレオチド

いくつかの態様では、本明細書に開示されるmiR-485阻害剤は、少なくとも1つの化学修飾されたヌクレオシド及び／またはヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを含む。本開示のポリヌクレオチドが化学修飾されている場合、ポリヌクレオチドは、「修飾ポリヌクレオチド」と呼ぶことができる。

【0218】

「ヌクレオシド」は、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体を、有機塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体（本明細書において「核酸塩基」とも称される）とともに含有する化合物を指す。「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドを指す。修飾されたヌクレオチドは、1つ以上の修飾された非天然ヌクレオシドを含むように、任意の有用な方法により、例えば、化学的に、酵素的に、または組換えにより合成され得る。

【0219】

ポリヌクレオチドは、連結されたヌクレオシドの領域または複数の領域を含み得る。かかる領域は、可変的な骨格結合を有し得る。連結は、標準的なホスホジエステル結合であり得、その場合、ポリヌクレオチドはヌクレオチドの領域を含む。

【0220】

本明細書において開示される修飾されたポリヌクレオチドは、様々な異なる修飾を含み得る。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1種、2種、またはそれ以上（任意選択的に異なる）のヌクレオシドまたはヌクレオチド修飾を含有する。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1つ以上の所望の特性、例えば、未修飾ポリヌクレオチドと比較して改善された熱または化学安定性、低減された免疫原性、低減された分解、標的マイクロRNAに対する結合の増加、他のマイクロRNAまたは他の分子に対する低減された非特異的結合を示し得る。

【0221】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、化学修飾されている。本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチドに関して、「化学修飾」または必要に応じて「化学修飾された」という用語は、アデノシン（A）、グアノシン（G）、ウリジン（U）、チミジン（T）、またはシチジン（C）リボヌクレオシドまたはデオキシリボヌクレオシドに対する、限定されるものではないが、それらの核酸塩基、糖、骨格、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられるそれらの位置、パターン、パーセント、または集団のうちの1つ以上における修飾を指す。

【0222】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの均一な化学修飾、または同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかにおける同じ出発修飾の漸減滴定（downward titration）によって生成される修飾の群、またはランダムな組み込みを伴うことを除いて同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの測定されたパーセントの化学修飾を有し得る。さらなる態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、ポリヌクレオチド全体にわたって同じヌクレオシド種類のうちの2つ、3つ、または4つの均一な化学修飾を有し得る（例えば、すべてのウリジン及びすべてのシトシンなどが、同じように修飾される）。

【0223】

修飾されたヌクレオチドの塩基対形成は、標準的なアデニン-チミン、アデニン-ウラシル、またはグアニン-シトシン塩基対だけでなく、ヌクレオチド及び／または非標準的もしくは修飾塩基を含む修飾ヌクレオチドの間で形成される塩基対も包含し、ここで、水

10

20

30

40

50

素結合ドナー及び水素結合アクセプターの配置が、非標準的塩基と標準的塩基との間、または2つの相補的な非標準的塩基構造間の水素結合を可能にする。かかる非標準的塩基対形成の1つの例は、修飾された核酸塩基イノシンとアデニン、シトシン、またはウラシルとの間の塩基対形成である。塩基／糖またはリンカーの任意の組み合わせが、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。

【0224】

当業者は、特に注記される場合を除き、本出願に記載されるポリヌクレオチド配列は、代表的なDNA配列において「T」を列挙するが、配列がRNAを表す場合、「T」は「U」と置換されることを理解するであろう。例えば、本開示のTDは、RNAとして、DNAとして、またはRNA及びDNAユニットの両方を含むハイブリッド分子として投与され得る。

10

【0225】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、8つ、10、11、12、13、14、15、16、17、18、18、20以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。

【0226】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチドにおける核酸塩基、糖、骨格結合、またはそれらの任意の組み合わせは、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%修飾される。

20

【0227】

(i) 塩基修飾

特定の態様では、化学修飾は、本開示（例えば、miR-485阻害剤）のポリヌクレオチド内の核酸塩基に存在する。いくつかの態様では、少なくとも1つの化学修飾ヌクレオチドは、修飾されたウリジン（例えば、シュドウリジン（ψ）、2-チオウリジン（s2U）、1-メチルシュドウリジン（m1ψ）、1-エチルシュドウリジン（e1ψ）、または5-メトキシウリジン（mo5U））、修飾されたシトシン（例えば、5-メチルシチジン（m5C））、修飾されたアデノシン（例えば、1-メチルアデノシン（m1A）、N6-メチルアデノシン（m6A）、または2-メチルアデニン（m2A））、修飾されたグアノシン（例えば、7-メチルグアノシン（m7G）または1-メチルグアノシン（m1G））、またはそれらの組み合わせである。

30

【0228】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、配列全体にわたって修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドは、同じ種類の塩基修飾、例えば、5-メチルシチジン（m5C）により均一に修飾され得、これは、ポリヌクレオチド配列におけるすべてのシトシン残基が、5-メチルシチジン（m5C）と置き換えられることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、配列に存在する任意の種類のヌクレオチド残基について、修飾されたヌクレオチド、例えば、上記に記載されるもののいずれかとの置換により均一に修飾され得る。

40

【0229】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）における1種類の核酸塩基の少なくとも約5%、少なくとも約10%、

50

少なくとも約 15%、少なくとも約 20%、少なくとも約 25%、少なくとも約 30%、
少なくとも約 35%、少なくとも約 40%、少なくとも約 45%、少なくとも約 50%、
少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、
少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、
少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、
少なくとも約 99%、または約 100%が、修飾された核酸塩基である。

【0230】

(ii) 骨格修飾

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわち miR-485 阻害剤）は、ヌクレオシド間に任意の有用な結合を含むことができる。本開示の組成物において有用な、骨格修飾を含むそのような結合としては、これらに限定されるものではないが、以下のものが挙げられる：3'-アルキレンホスホネート、3'-アミノホスホロアミダート、アルケン含有骨格、アミノアルキルホスホロアミダート、アミノアルキルホスホトリエステル、ボラノホスフェート、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、キラルホスホネート、キラルホスホロチオネート、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレン（メチルイミノ）、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格、モルホリノ結合、 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、ヘテロ原子ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオシド、ホスフィナート、ホスホロアミダート、ホスホロジチオエート、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、ホスホロチオネート、ホスホトリエステル、PNA、シロキサン骨格、スルファメート骨格、スルフィド、スルホキシド、及びスルホン骨格、スルホネート及びスルホンアミド骨格、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびにチオノホスホロアミダート。

10

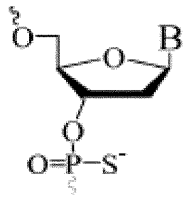
20

30

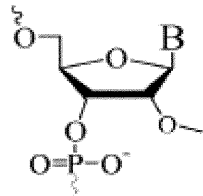
40

50

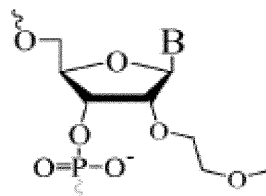
【化 7】



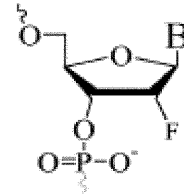
ホスホロチオエート



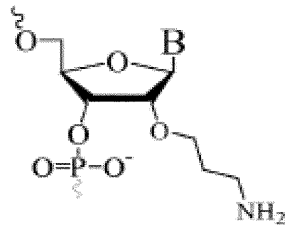
2'-O-メチル



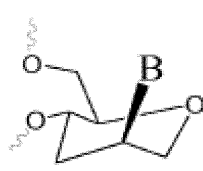
2'-MOE



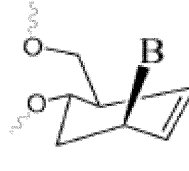
2'-フルオロ



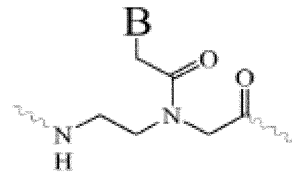
2'-AP



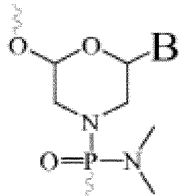
HNA



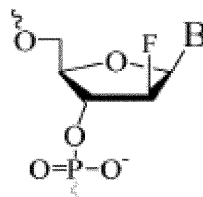
CeNA



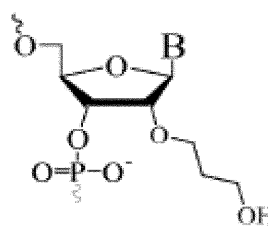
PNA



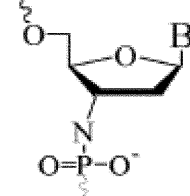
モルホリノ



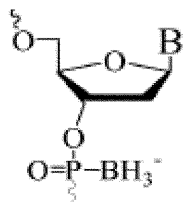
2'-F-ANA



2'-(3-ヒドロキシ) プロピル



3'-ホスホロアミダート



ボラノホスフェート

【0231】

いくつかの態様では、上記に開示される骨格結合の存在は、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）の安定性及び分解に対する耐性を増加させる。

【0232】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、miR-485阻害剤）における少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の骨格結合が修飾される（例えば、それらのすべてがホスホロチオエートである）。

【0233】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわち、miR-485阻害剤）に含めることができる骨格修飾は、ホスホロジアミダイトモルホリノオリゴマー（PMO）及び／またはホスホロチオエート（PS）修飾を含む。

【0234】

10

20

30

40

50

(i i i) 糖修飾

本開示のポリヌクレオチド（例えば、 $m i R-485$ 阻害剤）に組み込まれ得る修飾されたヌクレオシド及びヌクレオチドは、核酸の糖に対して修飾され得る。いくつかの態様では、糖修飾は、 $m i R-485$ 核酸配列に対する $m i R-485$ 阻害剤の結合の親和性を増加させる。 LNA または $2'$ -置換糖などの親和性改善ヌクレオチド類似体を $m i R-485$ 阻害剤に組み込むことによって、 $m i R-485$ 阻害剤の長さ及び／またはサイズを小さくすることができる。

【 0 2 3 5 】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（すなわち、 $m i R-485$ 阻害剤）における少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または約 100 % のヌクレオチドが糖修飾（例えば、 LNA ）を含有する。

【 0 2 3 6 】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドにおける少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、または 22 ヌクレオチド単位が糖修飾される（例えば、 LNA ）。

【 0 2 3 7 】

一般に、 RNA は、酸素を有する五員環である糖基リボースを含む。非限定的な例示的修飾ヌクレオチドとしては、リボースにおける酸素の（例えば、 S 、 Se 、またはアルキレン、例えば、メチレンまたはエチレンとの）置換；二重結合の付加（例えば、リボースのシクロペンテニルまたはシクロヘキセニルとの置換）；リボースの環縮小（例えば、シクロブタンまたはオキセタンの四員環の形成）；リボースの環拡大（例えば、追加の炭素またはヘテロ原子を有し、6 または七員環の形成、例えば、アンヒドロヘキシトール、アルトリトール、マンニトール、シクロヘキサニル、シクロヘキセニル、及びホスホロアミダート骨格も有するモルホリノ）；多環式形態（例えば、トリシクロ）；及び「アンロックド」形態、例えば、グリコール核酸（ GNA ）（例えば、 $R-GNA$ または $S-GNA$ 、ここで、リボースは、ホスホジエステル結合に結合されたグリコールユニットと置き換えられる）、トレオース核酸（ TNA 、ここで、リボースは、 α - L -トレオフラノシル（ $3' \rightarrow 2'$ ）と置き換えられる）、及びペプチド核酸（ PNA 、ここで、 2 -アミノエチル-グリシン結合が、リボース及びホスホジエステル骨格と置き換わる）が挙げられる。糖基は、リボースにおける対応する炭素と反対の立体化学配置を有する 1 つ以上の炭素も含有し得る。したがって、ポリヌクレオチド分子は、糖として、例えば、アラビノースを含有するヌクレオチドを含み得る。

【 0 2 3 8 】

リボースの $2'$ ヒドロキシ基（ OH ）は、いくつかの異なる置換基で修飾または置換され得る。 $2'$ -位での例示的な置換としては、限定されるものではないが、 H 、ハロ、任意選択的に置換された $C_1 \sim 6$ アルキル；任意選択的に置換された $C_1 \sim 6$ アルコキシ；任意選択的に置換された $C_6 \sim 10$ アリールオキシ；任意選択的に置換された $C_3 \sim 8$ シクロアルキル；任意選択的に置換された $C_3 \sim 8$ シクロアルコキシ；任意選択的に置換された $C_6 \sim 10$ アリールオキシ；任意選択的に置換された $C_6 \sim 10$ アリール- $C_1 \sim 6$ アルコキシ、任意選択的に置換された $C_1 \sim 12$ （ヘテロシクリル）オキシ；糖（例えば、リボース、ペントース、または本明細書に記載されるいずれか）；ポリエチレングリコール（ PEG ）、 $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$ （ここで、 R は、 H または任意選択的に置換されたアルキルであり、 n は、 $0 \sim 20$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 8$ 、 $0 \sim 10$ 、 $0 \sim 16$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 8$ 、 $1 \sim 10$ 、 $1 \sim 16$ 、 $1 \sim 20$ 、 $2 \sim 4$ 、 $2 \sim 8$ 、 $2 \sim 10$ 、 $2 \sim 16$ 、 $2 \sim 20$ 、 $4 \sim 8$ 、 $4 \sim 10$ 、 $4 \sim 16$ 、及び $4 \sim 20$ ）の整数であ

る) ; 「ロックド」核酸 (LNA) (2'-ヒドロキシが、C₁~₆アルキレンまたはC₁~₆ヘテロアルキレン架橋により、同じリボース糖の4'-炭素に連結されており、ここで、例示的な架橋としては、メチレン、プロピレン、エーテル、アミノ架橋、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アミノ、及びアミノ酸が挙げられる) が挙げられる。

【0239】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド (すなわち、miR-485阻害剤) に存在するヌクレオチド類似体は、例えば、2'-O-アルキル-RNAユニット、2'-OMe-RNAユニット、2'-O-アルキル-SNA、2'-アミノ-DNAユニット、2'-フルオロ-DNAユニット、LNAユニット、アラビノ核酸 (ANA) ユニット、2'-フルオロ-ANAユニット、HNAユニット、INA (インターカレーティング核酸) ユニット、2'-MOEユニット、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、LNAは、例えば、オキシLNA (例えば、β-D-オキシ-LNAまたはα-L-オキシ-LNA)、アミノLNA (例えば、β-D-アミノ-LNAまたはα-L-アミノ-LNA)、チオLNA (例えば、β-D-チオ-LNAまたはα-L-チオ-LNA)、ENA (例えば、β-D-ENAまたはα-L-ENA)、またはそれらの任意の組み合わせである。さらなる態様では、本開示のポリヌクレオチド (すなわちmiR-485阻害剤) に含めることができるヌクレオチド類似体は、ロックド核酸 (LNA)、アンロックド核酸 (UNA)、アラビノ核酸 (ABA)、架橋核酸 (BNA)、及び/またはペプチド核酸 (PNA) を含む。

【0240】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド (すなわち、miR-485阻害剤) は、修飾されたRNAヌクレオチド類似体 (例えば、LNA) 及びDNAユニットの両方を含み得る。いくつかの態様では、miR-485阻害剤はギャップマーである。例えば、米国特許第8,404,649号、同第8,580,756号、同第8,163,708号、同第9,034,837号 (これらのすべてが参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる) を参照のこと。いくつかの態様では、miR-485阻害剤はマイクロマーである。米国特許公開第US20180201928号 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) を参照のこと。

【0241】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド (少なくとも、miR-485阻害剤) は、エンドヌクレアーゼ及びエキソヌクレアーゼ による速やかな分解を防止するための修飾を含むことができる。修飾としては、これらに限定されるものではないが、例えば、(a) 末端修飾、例えば、5'末端修飾 (リン酸化、脱リン酸化、共役化、反転結合など)、3'末端修飾 (共役化、DNAヌクレオチド、反転結合など)、(b) 塩基修飾、例えば、修飾塩基、安定化塩基、不安定化塩基、または広範なパートナーのレパートリーと塩基対合する塩基、または共役化塩基による置換、(c) 糖修飾 (例えば、2'位または4'位における) または糖の置換、ならびに (d) ホスホジエステル結合の修飾または置換を含む、ヌクレオシド間結合の修飾が挙げられる。

【0242】

IV. ベクター及び送達システム

いくつかの態様では、本開示のmiR-485阻害剤は、例えば、抜け毛のリスクのある対象に、当該技術分野では周知のあらゆる関連する送達システムを用いて投与することができる。特定の態様では、送達システムはベクターである。したがって、いくつかの態様では、本開示は、本開示のmiR-485阻害剤を含むベクターを提供する。

【0243】

いくつかの態様において、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルスベクターである。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、またはこれらの任意の組み合わせの血清型を有するAAVである。いくつかの態様では、アデノウイルスベクターは

、第3世代アデノウイルスベクターである。A D E A S Y（商標）は、アデノウイルスベクターコンストラクトを作製するうえで圧倒的に最も一般的な方法である。このシステムは、シャトル（または導入）ベクター及びアデノウイルスベクターの2つのタイプのプラスミドで構成される。目的の導入遺伝子をシャトルベクターにクローニングし、検証し、制限酵素Pme Iで直鎖化する。次いで、このコンストラクトを、P A D E A S Y（商標）を含むB J 5 1 8 3 E . c o l i細胞であるA D E A S I E R - 1細胞に形質転換する。P A D E A S Y（商標）は、ウイルス産生に必要なアデノウイルス遺伝子を含んだ約33 K bのアデノウイルスプラスミドである。シャトルベクターとアデノウイルスプラスミドとは、アデノウイルスプラスミド内への導入遺伝子の相同組み換えを促進する一致した左右のホモロジーアームを有している。標準的なB J 5 1 8 3に、スーパーコイルを形成したP A D E A S Y（商標）とシャトルベクターを同時形質転換することもできるが、この方法は非組換えアデノウイルスプラスミドの高いバックグラウンドを生じる。次いで、組換えアデノウイルスプラスミドをサイズ及び適当な制限消化パターンについて検証し、導入遺伝子がアデノウイルスプラスミドに挿入され、他のパターンの組み換えが生じていないことを確認する。検証が済んだなら、組換えプラスミドをP a c Iで直鎖化してI T Rで挟まれた直鎖状d s D N Aコンストラクトを作製する。293または911細胞に直鎖化したコンストラクトをトランスフェクトすると、ウイルスをおよそ7～10日後に回収することができる。この方法以外にも、本明細書に開示される方法を実施するために、本願が出願された時点で当該技術分野において周知のアデノウイルスベクターコンストラクトを作製するための方法を用いることができる。

10

20

【0244】

いくつかの態様では、ウイルスベクターは、レトロウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクター（例えば第3または第4世代のレンチウイルスベクター）である。レンチウイルスベクターは、1つの細胞株に3つの別々のプラスミド発現システムをトランスフェクトする一過性トランスフェクションシステムで通常は作製される。これらには、導入ベクタープラスミド（H I Vプロウイルスの部分）、パッケージングプラスミドまたはコンストラクト、及び異なるウイルスの異種エンベロープ遺伝子（e n v）を含むプラスミドが含まれる。ベクターの3つのプラスミドコンポーネントをパッケージング細胞に入れた後、これをH I Vシェル内に挿入する。ベクターのウイルス部分は挿入配列を含んでいるため、ウイルスは細胞系で複製することはできない。現在の第3世代レンチウイルスベクターは、9つのH I V - 1タンパク質のうちの3つのみ（G a g、P o l、R e v）をコードしており、これらは組換えによる複製能を有するウイルスの生成を防止するために別々のプラスミドから発現させられる。第4世代レンチウイルスベクターでは、レトロウイルスゲノムはさらに減らされている（例えば、T A K A R A（登録商標）L E N T I E X（商標）第4世代パッケージングシステムを参照）。

30

【0245】

当該技術分野では周知の任意のA A Vベクターを本明細書に開示される方法で使うことができる。A A Vベクターは既知のベクターを含んでよく、それらのバリエーション、フラグメント、または融合体を含んでよい。いくつかの態様では、A A Vベクターは、A A Vタイプ1（A A V 1）、A A V 2、A A V 3 A、A V V 3 B、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A V V 9、A V V 10、A V V 11、A V V 12、A V V 13、A A V r h . 74、トリA A V、ウシA A V、イヌA A V、ウマA A V、ヤギA V V、霊長類A A V、非霊長類A A V、ウシA A V、エビA V V、ヘビA V V、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

40

【0246】

いくつかの態様では、A A Vベクターは、A A V 1、A A V 2、A A V 3 A、A V V 3 B、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A V V 9、A V V 10、A V V 11、A V V 12、A V V 13、A A V r h . 74、トリA A V、ウシA A V、イヌA A V、ウマA A V、ヤギA V V、霊長類A A V、非霊長類A A V、ヒツジA A V、エビA V V、ヘビA V V、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択されたA A Vベク

50

ターから誘導される。

【0247】

いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAAV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAAV、ヘビAAV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される少なくとも2つのAAVベクターから誘導されるキメラベクターである。

【0248】

特定の態様では、AAVベクターは、当該技術分野では周知の少なくとも2つの異なるAAVベクターの領域を含む。

10

【0249】

いくつかの態様では、AAVベクターは、第1のAAV（例えば、AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAAV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAAV、ヘビAAV、またはこれらの任意の組み合わせ）に由来する末端逆位配列と、第2のAAV（例えば、AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAAV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAAV、ヘビAAV、またはこれらの任意の組み合わせ）に由来する第2の末端逆位配列と、を含む。

20

【0250】

いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、トリAAV、ウシAAV、イヌAAV、ウマAAV、ヤギAAV、霊長類AAV、非霊長類AAV、ヒツジAAV、エビAAV、ヘビAAV、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択されたAAVベクターの部分を含む。いくつかの態様では、AAVベクターは、AAV2を含む。

30

【0251】

いくつかの態様では、AAVベクターは、スプライスアクセプター部位を含む。いくつかの態様では、AAVベクターは、プロモーターを含む。当該技術分野では周知の任意のプロモーターを本開示のAAVベクターで 사용할 ことができる。いくつかの実施態様では、プロモーターはRNA Pol IIIプロモーターである。いくつかの態様では、RNA Pol IIIプロモーターは、U6プロモーター、H1プロモーター、7SKプロモーター、5Sプロモーター、アデノウイルス2 (Ad2) VAIプロモーター、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、プロモーターは、サイトメガロウイルス前初期遺伝子 (CMV) プロモーター、EF1aプロモーター、Sv40プロモーター、PGK1プロモーター、Ubcプロモーター、ヒトβアクチンプロモーター、CAGプロモーター、TREプロモーター、UASプロモーター、Ac5プロモーター、ポリヘドリンプロモーター、CaMKIIaプロモーター、GAL1プロモーター、GAL10プロモーター、TEFプロモーター、GDSプロモーター、ADH1プロモーター、CaMV35Sプロモーター、またはUbiプロモーターである。特定の態様では、プロモーターは、U6プロモーターを含む。

40

【0252】

いくつかの態様では、AAVベクターは、構成的に活性なプロモーター（構成的プロモーター）を含む。いくつかの態様では、構成的プロモーターは、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPR T)、アデノシンデアミナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、βアクチンプロモーター、サイトメガロウイルス (CMV)、サルウイルス（例えば、

50

S V 4 0)、パピローマウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス (H I V)、ラウス肉腫ウイルス、レトロウイルス末端反復配列 (L T R)、マウス幹細胞ウイルス (M S C V)、及び単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼプロモーターからなる群から選択される。

【0253】

いくつかの態様では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。いくつかの態様では、誘導性プロモーターは、組織特異的プロモーターである。特定の態様では、組織特異的プロモーターは、神経細胞、グリア細胞、または神経細胞及びグリア細胞の両方において、A A Vベクターのコーディング領域の転写を誘導する。

【0254】

いくつかの態様では、A A Vベクターは、1つ以上のエンハンサーを含む。いくつかの態様では、1つ以上のエンハンサーはA A V内に単独で、または本明細書に開示されるプロモーターとともに存在する。いくつかの態様では、A A Vベクターは、3' U T Rのポリ (A) テール配列を含むいくつかの態様では、3' U T Rのポリ (A) テール配列は、b G Hポリ (A)、アクチンポリ (A)、ヘモグロビンポリ (A)、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、3' U T Rのポリ (A) テール配列はb G Hポリ (A)を含む。

【0255】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるm i R - 4 8 5阻害剤は、送達剤とともに投与される。使用することができる送達剤の非限定的な例としては、エクソソーム、リピドイド、リボソーム、リボプレックス、脂質ナノ粒子、細胞外小胞、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、ミセルベクター、ウイルスベクター、またはコンジュゲートが挙げられる。

【0256】

したがって、いくつかの態様では、本開示は、本開示のm i R N A阻害剤 (すなわちm i R - 4 8 5阻害剤) と、送達剤と、を含む組成物も提供する。いくつかの態様では、送達剤は、例えば、ミセルに自己集合できるかまたはミセルに組み込むことができるキャリアユニットを含む。いくつかの態様では、送達剤は、下式：

[W P] - L 1 - [C C] - L 2 - [A M] (式I)

または

[W P] - L 1 - [A M] - L 2 - [C C] (式II)

(式中、

W Pは、水溶性バイオポリマー部分であり、

C Cは、正に帯電した (すなわち、カチオン性) キャリア部分であり、

A Mは、アジュバント部分であり、

L 1及びL 2は、独立して、任意選択のリンカーである) を有するカチオン性キャリアユニットを含み、

カチオン性キャリアユニットは、約1 : 1のイオン比で核酸と混合される場合にミセルを形成する。したがって、いくつかの態様では、m i R N A阻害剤とカチオン性キャリアユニットとは、互いに混合される際に互いに結合 (例えば、共有結合または非共有結合を介して) することができる。

【0257】

いくつかの態様では、本開示のm i R N A阻害剤 (すなわち、m i R - 4 8 5阻害剤) を含む組成物は、イオン結合を介してカチオン性キャリアユニットと相互作用する。

【0258】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ (アルキレングリコール)、ポリ (オキシエチル化ポリオール)、ポリ (オレフィンアルコール)、ポリ (ビニルピロリドン)、ポリ (ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ (ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ (サッカライド)、ポリ (α -ヒドロキシ酸)、ポリ (ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン (「P O Z」)、ポリ (N-ア

10

20

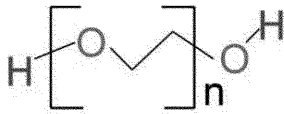
30

40

50

クリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、下式:

【化8】



(式III),

10

(式中、nは、1~1000である)を有する。

【0259】

いくつかの態様では、nは、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、または少なくとも約141である。いくつかの態様では、nは、約80~約90、約90~約100、約100~約110、約110~約120、約120~約130、約140~約150、または約150~約160である。

20

【0260】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7、少なくとも8つ、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、少なくとも41、少なくとも42、少なくとも43、少なくとも44、少なくとも45、少なくとも46、少なくとも47、少なくとも48、少なくとも49、または少なくとも50の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約30~約50の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リシン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約40個のリシンモノマーを含む。

30

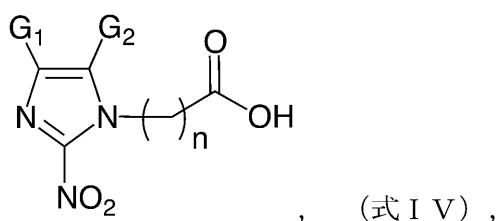
40

【0261】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応、炎症反応、及び/または組織微小環境を調節することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式:

50

【化 9】



(式中、G 1 及び G 2 のそれぞれは、H、芳香環、もしくは 1 ～ 1 0 アルキルであるか、または G 1 と G 2 はともに芳香環を形成し、n は 1 ～ 1 0 である) を有する。

10

【0 2 6 2】

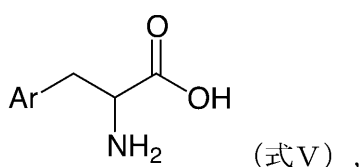
いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。

【0 2 6 3】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、下式：

【化 1 0】

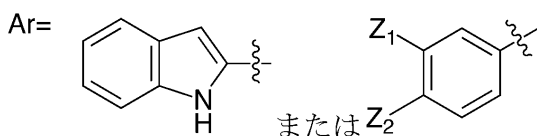
20



(式中、A r は、

【化 1 1】

30



であり、

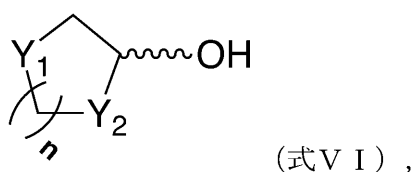
Z 1 及び Z 2 のそれぞれは、H または O H である) を有する。

【0 2 6 4】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンを含む。いくつかの態様では、ビタミンは、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。いくつかの態様では、ビタミンは、下式：

40

【化 1 2】



(式中、Y 1 及び Y 2 のそれぞれは、C、N、O、または S であり、n は 1 または 2 であ

50

る)を有する。

【0265】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンA、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB6、ビタミンB7、ビタミンB9、ビタミンB12、ビタミンC、ビタミンD2、ビタミンD3、ビタミンE、ビタミンM、ビタミンH、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンB3である。

【0266】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約2個、少なくとも約3個、少なくとも約4個、少なくとも約5個、少なくとも約6個、少なくとも約7個、少なくとも約8個、少なくとも約9個、少なくとも約10個、少なくとも約11個、少なくとも約12個、少なくとも約13個、少なくとも約14個、少なくとも約15個、少なくとも約16個、少なくとも約17個、少なくとも約18個、少なくとも約19個、または少なくとも約20個のビタミンB3を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約10個のビタミンB3を含む。

【0267】

いくつかの態様では、組成物は、約120個～約130個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、約30個～約40個のリシンを有するポリリシンを含むカチオン性キャリア部分と、約5個～約10個のビタミンB3を有するアジュバント部分と、を含む。

【0268】

いくつかの態様では、組成物は、(i)約100個～約200個のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分と、(ii)アミン基を有する約30個～約40個のリシン(例えば、約32個のリシン)と、(iii)それぞれがチオール基を有する約15個～20個のリシン(例えば、それぞれがチオール基を有する約16個のリシン)と、(iv)ビタミンB3に融合された約30個～40個のリシン(例えば、それぞれがビタミンB3に融合された約32個のリシン)と、を含む。いくつかの態様では、組成物溶解度、水溶性ポリマーに結合された標的化部分、例えばLAT1標的化リガンド、例えばフェニルアラニンをさらに含む。いくつかの態様では、組成物中のチオール基は、ジスルフィド結合を形成する。

【0269】

いくつかの態様では、組成物は、(1)(i)約100個～約200個のPEGユニットと、(ii)アミン基を有する約30個～約40個のリシン(例えば、約32個のリシン)と、(iii)それぞれがチオール基を有する約15個～20個のリシン(例えば、それぞれがチオール基を有する約16個のリシン)と、(iv)ビタミンB3に融合された約30個～40個のリシン(例えば、それぞれがビタミンB3に融合された約32個のリシン)と、を含むミセルと、(2)m i R 4 8 5阻害剤(例えば、配列番号28)と、を含み、m i R 4 8 5阻害剤はミセル内に封入される。いくつかの態様では、組成物は、PEGユニットに結合された標的化部分、例えばLAT1標的化リガンド、例えばフェニルアラニンをさらに含む。いくつかの態様では、ミセル中のチオール基は、ジスルフィド結合を形成する。

【0270】

本開示は、本開示のm i R N A阻害剤(すなわちm i R - 4 8 5阻害剤)を含むミセルであって、m i R N A阻害剤と送達剤とが互いに結合した、ミセルも提供する。

【0271】

いくつかの態様では、結合は、共有結合、非共有結合、またはイオン結合である。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷は、溶液中で本明細書に開示されるm i R - 4 8 5阻害剤と混合される際にミセルを形成するのに十分であり、溶液中のカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷とm i R - 4 8 5阻害剤(または阻害剤を含むベクター)の負電荷の全体的イオン比は、

10

20

30

40

50

約 1 : 1 である。

【 0 2 7 2 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、酵素分解から本開示の m i R N A 阻害剤（すなわち、m i R - 4 8 5 阻害剤）を保護することができる（本明細書に参照によりその全体を援用する、P C T 公開第 W O 2 0 2 0 / 2 6 1 2 2 7 を参照）。

【 0 2 7 3 】

V . 医薬組成物

いくつかの態様では、本開示は、対象に投与するのに適した本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤（例えば、m i R - 4 8 5 阻害剤を含むポリヌクレオチドまたはベクター）を含む医薬組成物も提供する。医薬組成物は、一般的に、本明細書に記載される m i R - 4 8 5 阻害剤（例えば、ポリヌクレオチドまたはベクター）と、薬学的に許容される賦形剤またはキャリアとを、対象への投与に適した形態で含む。薬学的に許容される賦形剤またはキャリアは、投与される特定の組成物、及び組成物を投与するために使用される特定の方法により部分的に決定される。

【 0 2 7 4 】

したがって、本開示の m i R - 4 8 5 阻害剤を含む医薬組成物の多種多様な適当な製剤が存在する（（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990) を参照）。医薬組成物は一般に、無菌状態で、米国食品医薬品局の適正製造基準（GMP）規制のすべてに完全に準拠したものとして製剤化される。

【 0 2 7 5 】

V I . キット

本開示は、本開示の m i R N A 阻害剤（例えば、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、ベクター、または医薬組成物）と、必要に応じて使用説明書、例えば本明細書に開示される方法に従った使用説明書と、を含むキットまたは製品も提供する。いくつかの態様では、キットまたは製品は、m i R - 4 8 5 阻害剤（例えば、本開示のベクター、例えば A A V ベクター、ポリヌクレオチド、または医薬組成物）を 1 つ以上の容器に含む。いくつかの態様では、キットまたは製品は、m i R - 4 8 5 阻害剤（例えば、本開示のベクター、例えば A A V ベクター、ポリヌクレオチド、または医薬組成物）と、パンフレットと、を含む。本明細書に開示される m i R - 4 8 5 阻害剤（例えば、本開示のベクター、ポリヌクレオチド、及び医薬組成物、またはこれらの組み合わせ）は、当該技術分野では周知の確立されたキット形式の 1 つに容易に組み込むことができる点は当業者には容易に認識されよう。

【実施例】

【 0 2 7 6 】

以下の実施例は、例示のために示すものであって、限定のために示すものではない。

実施例

実施例 1 : m i R - 4 8 5 阻害剤の調製

【 0 2 7 7 】

（a）アルキン修飾チロシンの合成：本開示のミセルを B B B の L A T 1 輸送体に誘導するためのカチオン性キャリアユニットの組織特異的標的化部分（T M、図 1 を参照）の合成のための中間体として、アルキン修飾されたチロシンを調製した。

【 0 2 7 8 】

アセトニトリル（4.0 m l）中、N - （t e r t - ブトキシカルボニル） - L - チロシンメチルエステル（B o c - T y r - O M e）（0.5 g, 1.69 m m o l）及び K₂ C O₃（1.5 当量, 2.54 m m o l）の混合物を、臭化プロパルギル（1.2 当量, 2.03 m m o l）に滴下した。反応混合物を 60 ° C で一晩加熱した。反応後、反応混合物を、水：酢酸エチル（E A）を使用して抽出した。次いで、有機層を、ブライン溶液を使用して洗浄した。粗製物を、フラッシュカラム（ヘキサン中、10 % E A）により精製した。次に、得られた生成物を、1, 4 - ジオキサン（1.0 m l）及び 6.0 M の H

C L (1 . 0 m l) 中に溶解した。反応混合物を 1 0 0 ° C で一晩加熱した。次に、ジオキサンを除去し、E A により抽出した。水性 N a O H (0 . 5 M) 溶液を p H 値が 7 になるまで混合物に加えた。反応物質をエバポレーターで濃縮し、1 2 0 0 0 r p m で 0 ° C で遠心分離した。沈殿物を脱イオン水で洗浄して凍結乾燥した。

【 0 2 7 9 】

(b) ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L - リシン) (P E G - P L L) の合成 : この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー (W P) 及びカチオン性キャリア (C C) を調製した (図 1 を参照) 。

【 0 2 8 0 】

ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L - リシン) を、モノメトキシ P E G (M e O - P E G) を高分子開始剤として用いて L y s (T F A) - N C A の開環重合により合成した。要約すると、M e O - P E G (6 0 0 m g , 0 . 1 2 m m o l) 及び L y s (T F A) - N C A (2 5 7 4 m g , 9 . 6 m m o l) を、1 M のチオ尿素を含有する D M F 及び D M F (または N M P) 中に別々に溶解した。L y s (T F A) - N C A 溶液を、マイクロシリンジにより M e O - P E G 溶液に滴下し、反応混合物を 3 7 ° C で 4 日間撹拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中で沈殿させた。沈殿物をメタノールに再溶解し、冷ジエチルエーテル中で再び沈殿させた。次いで、沈殿物を濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。P E G - P L L (T F A) の T F A 基の脱保護を行うため、次のステップを行った。

【 0 2 8 1 】

M e O - P E G - P L L (T F A) (5 0 0 m g) をメタノール (6 0 m L) に溶解し、1 N の N a O H (6 m L) をポリマー溶液に撹拌下で滴下した。混合物を撹拌しながら 3 7 ° C で 1 日維持した。反応混合物を 1 0 m M の H E P E S に対して 4 回及び蒸留水に対して透析した。凍結乾燥後に P E G - P L L の白色粉末を得た。

【 0 2 8 2 】

(b) アジド - ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L - リシン) (N ₃ - P E G - P L L) の合成 : この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー (W P) 及びカチオン性キャリア (C C) を調製した (図 1 を参照) 。

【 0 2 8 3 】

アジド - ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L - リシン) を、アジド - P E G (N ₃ - P E G) を用いて L y s (T F A) - N C A の開環重合により合成した。要約すると、N ₃ - P E G (3 0 0 m g , 0 . 0 6 m m o l) 及び L y s (T F A) - N C A (1 2 8 7 m g , 4 . 8 m m o l) を、1 M のチオ尿素を含んだ D M F 及び D M F (または N M P) に別々に溶解した。L y s (T F A) - N C A 溶液を、マイクロシリンジにより N ₃ - P E G 溶液に滴下し、反応混合物を 3 7 ° C で 4 日間撹拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中で沈殿させた。沈殿物をメタノールに再溶解し、冷ジエチルエーテル中で再び沈殿させた。次いで、沈殿物を濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。P E G - P L L (T F A) の T F A 基の脱保護を行うため、次のステップを行った。

【 0 2 8 4 】

N ₃ - P E G - P L L (5 0 0 m g) をメタノール (6 0 m L) に溶解し、1 N の N a O H (6 m L) を撹拌しながらポリマー溶液に滴下した。混合物を撹拌しながら 3 7 ° C で 1 日維持した。反応混合物を 1 0 m M の H E P E S に対して 4 回及び蒸留水に対して透析した。凍結乾燥後に N ₃ - P E G - P L L の白色粉末を得た。

【 0 2 8 5 】

(c) (メトキシまたは) アジド - ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (L - リシン / ニコチンアミド / メルカプトプロパンアミド) (N ₃ - P E G - P L L (N i c / S

10

20

30

40

50

H)) の合成：このステップでは、組織特異的アジュバント部分（AM、図1を参照）を本開示のカチオン性キャリアユニットのWP-CCコンポーネントに結合させた。カチオン性キャリアユニットに使用した組織特異的アジュバント部分（AM）は、ニコチンアミド（ビタミンB3）とした。このステップにより、図1に示されるカチオン性キャリアユニットのWP-CC-AMコンポーネントが得られる。

【0286】

アジド-ポリ（エチレングリコール）-b-ポリ（L-リシン／ニコチンアミド／メルカプトプロパンアミド）（N₃-PEG-PLL（Nic／SH））を、EDC／NHSの存在下でN₃-PEG-PLL及びニコチン酸の化学修飾により合成した。N₃-PEG-PLL（372mg，25.8μmol）及びニコチン酸（556.7mg，PEG-PLLのNH₂に対して1.02当量）を、脱イオン水及びメタノール（1：1）の混合物に別々に溶解した。EDC・HCl（556.7mg，N₃-PEG-PLLのNH₂に対して1.5当量）をニコチン酸溶液に加え、NHS（334.2mg，PEG-PLLのNH₂に対して1.5当量）を混合物に段階的に加えた。

10

【0287】

反応混合物をN₃-PEG-PLL溶液に加えた。反応混合物を攪拌しながら37℃で16時間維持した。16時間後、3，3'-ジチオジプロピオン酸（36.8mg，0.1当量）をメタノールに溶解し、EDC・HCl（40.3mg，0.15当量）、及びNHS（24.2mg，0.15当量）を脱イオン水にそれぞれ溶解した。次いで、NHS及びEDC・HClを、3，3'-ジチオジプロピオン酸溶液に順次加えた。粗製のN₃-PEG-PLL（Nic）溶液を加えた後、混合液を37℃で4時間攪拌した。

20

【0288】

精製を行うため、混合物をメタノールに対して2時間透析し、DL-ジチオトレイトール（DTT，40.6mg，0.15当量）を加えた後、30分間活性化した。

【0289】

DTTを除去するために、混合物を、メタノール、脱イオン水中50%のメタノール、脱イオン水に対して順次透析した。

【0290】

(d) フェニルアラニン-ポリ（エチレングリコール）-b-ポリ（L-リシン／ニコチンアミド／メルカプトプロパンアミド）（Phe-PEG-PLL（Nic／SH））の合成：このステップでは、組織特異的標的化部分（TM）を上記のステップで合成したWP-CC-AMコンポーネントに結合させた。TMコンポーネント（フェニルアラニン）は、ステップ（a）で調製した中間体とステップ（c）の生成物との反応によって調製した。

30

【0291】

血管内の脳の内皮組織を標的化するため、LAT1標的化アミノ酸としてフェニルアラニンを、銅触媒の存在下でN₃-PEG-PLL（Nic／SH）とアルキン修飾されたチロシンとの間のクリック反応により導入した。要約すると、N₃-PEG-PLL（Nic／SH）（130mg，6.5μmol）及びアルキン修飾されたフェニルアラニン（5.7mg，4.0当量）を脱イオン水（または50mMのリン酸ナトリウム緩衝液）に溶解した。次いで、CuSO₄・H₂O（0.4mg，25mol%）及びTris（3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル）アミン（THPTA，3.4mg，1.2当量）を脱イオン水に溶解し、N₃-PEG-PLL（Nic／SH）溶液を加えた。次いで、アスコルビン酸ナトリウム（3.2mg，2.5当量）を混合液に加えた。反応混合物を、室温で16時間攪拌しながら維持した。反応後、混合物を透析膜（MWCO=7，000）に移し、脱イオン水に対して1日間透析した。最終生成物を凍結乾燥後に得た。

40

【0292】

(E) ポリイオン複合体（PIC）ミセル製剤—上記に記載したようにして本開示のカチオン性キャリアユニットを調製した後、ミセルを作製した。本実施例に記載されるミセ

50

ルは、アンチセンスオリゴヌクレオチドペイロードと組み合わせられたカチオン性キャリアユニットからなるものである。

【0293】

MeO-PEG-PLL (Nic) または Phe-PEG-PLL (Nic) と miRNA を混合することによりナノサイズのPICミセルを調製した。PEG-PLL (Nic) を、0.5 mg/mL の濃度で HEPES 緩衝液 (10 mM) に溶解した。次いで、RNアーゼ非含有水中の miRNA 溶液 (22.5 μM) を、2:1 (v/v) の miRNA 阻害剤 (配列番号 28) (485 ASO-001) 対ポリマー比率でポリマー溶液と混合した。

【0294】

ポリマーとアンチ miRNA との混合比は、ミセル形成条件、すなわち、ポリマー (本開示のキャリア) 中のアミンとアンチ miRNA (ペイロード) 中のリン酸との比を最適化することにより決定した。ポリマー (キャリア) と抗 miRNA (ペイロード) との混合物を、マルチボルテックスにより 3000 rpm で 90 秒間はげしく混合し、室温で 30 分間維持して、ミセルを安定化した。

【0295】

使用に先立ち、ミセル (10 μM の抗 miRNA 濃度) を 4℃ で保存した。MeO-ミセルまたは Phe-ミセルを同じ方法を用いて調製し、ミセル調製時に両方のポリマーを混合することにより異なる量の Phe (25% ~ 75%) を含有するミセルも調製した。

【0296】

実施例 2: 材料及び方法

特に断らない限り、下記に述べる実施例では下記の材料及び方法のうちの 1 つ以上のものを用いる。

C57BL/6J マウスにおけるインビボ毛髪成長のアッセイ

【0297】

6 週齢の C57BL/6J マウスを DBL Co. Ltd. 実験動物施設より入手し、新しい環境に 1 週間適応させた。同期した休止期を観察するため、各マウスからバリカンで体毛を除去し、休止期に脱毛クリームによって背部を脱毛した。特に断らない限り、溶媒コントロールの筋肉内 (IM) 注射、または miR-485 阻害剤 485 ASO-001 の筋肉内注射を (PD PD0 及び PD7) に 2 回 (0.3 mpk 及び 0.6 mpk)。皮膚色素沈着の外観及び発毛を観測し、実験者 (複数可) を処置条件に対して盲検化してデジタル顕微鏡写真により記録した。進行状態に、色素沈着レベル及び毛幹密度に基づいて、0 を発毛なし (及び色素沈着なし) とし、数字が大きくなるにつれて皮膚が黒ずみ、密な発毛面積が大きくなるものとして、0 ~ 6 の値を指定した。スコアリングは盲検で行った。異なるスコアを表す画像を再発毛定量化スケール (0 ~ 6) として示し、グレード 0 = 皮膚がピンク色で、色素沈着なし、グレード 1 = 黒ずみを示す皮膚面積が 30% 未満であるが視認される体毛なし、グレード 2 = 黒ずみを示す皮膚が 30% ~ 70%、視認される体毛なし、グレード 3 = 黒ずみを示す皮膚面積が 70% より大きいか、または視認される体毛が 30%、グレード 4 = 黒ずみを示す皮膚面積が 70% より大きく、かつ視認される体毛が 30% ~ 70%、グレード 5 = 黒ずみを示す皮膚面積が 70% より大きく、かつ視認される体毛が 70% 超、及びグレード 6 = 黒ずみを示す皮膚面積が 90% より大きく、かつ視認される体毛が 90% 超とした。

【0298】

組織染色、皮膚の組織学的構造の測定、及び毛包

すべての群の背部皮膚を PD10 及び PD16 に 4% PFA 中で固定し、ヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色で評価した。真皮及び皮下組織の HF の数をカウントした (断面)。真皮及び皮下組織の厚さを、可視顕微鏡視野 (視野 3 個分) で測定し、少なくとも 7 つの測定値を得た。毛包の長さ及び毛球の直径を、Motic images plus 2.0 ML により画像を解析することにより、背部皮膚の縦断面及び横断面で測定した。

10

20

30

40

50

【0299】

リアルタイムPCR

全RNAを、Isolation of small and large RNA kit (Macherey Nagel, Dren) を使用して単離した。採取したRNAの濃度を、核酸定量システム (Nanodrop. Thermo Scientific Inc.) で測定した。cDNAをmiScript II RT Kit (Qiagen, Hilden, Germany) で合成した。分析では、miR-485-3pの発現を、CFX Connectシステム (Bio-Rad) でTOPREAL (商標) qPCR 2X PreMix (Enzynomics, Korea) を使用してTaqMan miRNA分析により行った。個々のcDNAのリアルタイムPCR測定を、TaqManプローブを使用して行ってBio-RadリアルタイムPCRシステムによりDNA形成を測定した。以下のプライマーを用いた。

10

【0300】

プローブ：FAM-CGAGGTCGACTTCCTAGA-NFQ。miR-485-3pフォワード：5' CATACACGGCTCTCCTCTCTAAA-3'。相対遺伝子発現量を $2^{-\Delta\Delta C_T}$ により分析した。

【0301】

ウェスタンブロット

皮膚試料を脱毛後10及び16日目に採取した。マウス皮膚組織のライセートを、プロテアーゼ／ホスファターゼ阻害剤カクテル (Cell Signaling Technology, Cat# 5872) を含む氷冷RIPAバッファー (iNtRON Biotechnology) 中でホモジナイズすることにより調製した。組織破片を13000rpmで15分間、4℃で遠心して除去し、上清を回収した。ライセートを5%β-メルカプトエタノール (Fisher Scientific) を含む1×SDS (Fisher Scientific) ローディングバッファー中で5分間、煮沸した。次いで、試料を、MOPS SDS Running Buffer (Invitrogen) 中、PAGE 8%、12% Bis-Trisゲル (Invitrogen) でSDS-PAGEにかけ、PVDF膜に転写し、以下の一次抗体、すなわち、ウサギ抗CD36 (Abcam、カタログ番号ab80080、1:1000)、ウサギ抗VEGF-A (Abcam、カタログ番号ab51745、1:1000)、ウサギ抗Wnt3a (IBL、カタログ番号11088、1:1000)、ウサギ抗β-アクチン (Abcam、カタログ番号ab1997、1:100)、抗アクチン (Santa Cruz、カタログ番号sc-47778) とインキュベートした。結果を、増強化学発光系を使用して可視化し、濃度測定解析 (Image J software, NIH) により定量化した。すべての実験を独立して少なくとも3回行った。

20

30

【0302】

免疫蛍光染色

C57BL/6Jマウス皮膚組織を凍結組織包埋剤 (OTC Compound, Sakura Finetek Japan Co., Ltd.) に包埋し、凍結切片作製システム (Cryostat, Leica Camera AG) を用いて凍結切片スライドを作製した。4% PFAで15分間固定した後、組織をPBSで洗浄し、5% スキムミルク、1% ロバ血清、及び0.1% Triton (登録商標) X-100をPBSに加えることにより得たブロッキング溶液を使用して1時間、反応させた。次いで、CD36抗体溶液 (Invitrogen カタログ番号PA1-16813) をブロッキング溶液で50倍に希釈して得た一次抗体溶液を使用して、組織を室温で1時間または4℃で一晩、反応させた。PBSで3回洗浄した後、FITC標識した抗マウスIgG抗体 (Invitrogen Corp.) をそれぞれブロッキング溶液で200倍に希釈して得た二次抗体溶液を使用して、組織を室温で1時間反応させた。DAPI溶液と反応させた後、組織をPBSで3回洗浄し、退色防止試薬 (Prolong Gold Anti fade Reagent) で封入した。蛍光顕微鏡 (Olympus Corp.) を

40

50

使用して組織を観察した。

【0303】

実施例3. *miRNA-485* 阻害剤の用量依存的発毛促進効果の分析

脱毛したマウスに対する*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) (実施例1に示される) の再発毛効果の評価を開始するため、6週齢のC57BL/6Jマウスを購入し、新しい環境に1週間適応させた。同期した休止期を観察するため、各マウスから脱毛クリームによって脱毛した。次いで、動物を5群 ($n=6$) に分け、*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) の再発毛効果の評価した。ネガティブコントロール (PBS) 及び485 ASO-001 (0.1 mpk、0.3 mpk、及び0.6 mpk) を、1回の筋肉内注射で投与した。マウスのデジタル写真を脱毛後 (pd)、処置後の5日目 (図2A)、7日目 (図2B)、9日目 (図2C)、12日目 (図2D)、14日目 (図2E)、及び16日目 (図2F) に撮影し、発毛面積を0~6点のスコアによる形態学的観察によって分析した (図2G)。

10

【0304】

図2Gに示されるように、485 ASO-001 (0.3 mpk 及び 0.6 mpk) で処置したマウス群では、7日目及び12日目に、PBSで処置したコントロール群と比較して発毛スコアに有意な増加が認められた。さらに、485 ASO-001 (0.6 mpk) で処置したマウス群は、485 ASO-001 (0.1 mpk 及び 0.3 mpk) で処置したマウス群と比較してより多くの再発毛を示した (図2G)。

【0305】

さらに、C57BL/6Jマウスを5群 ($n=5$) に分け、*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) の再発毛効果の評価した。ネガティブコントロール (PBS)、及びポジティブコントロール (2%ミノキシジル)、及び485 ASO-001 (0.3 mpk、及び0.6 mpk) を2回 (PD0及びPD7) の筋肉内注射により投与した。マウスのデジタル写真を脱毛後 (pd)、処置後の5日目 (図4D)、7日目 (図4E)、10日目 (図4F)、12日目 (図4G)、14日目 (図4H)、及び16日目 (図4I) に撮影し、発毛面積を0~6点のスコアによる形態学的観察によって分析した (図4J)。485 ASO-001の2回の繰り返し筋肉内注射 (0.3 mpk 及び 0.6 mpk) で処置したマウス群では、7、10、12、14、及び16日目に、PBSで処置したコントロール群及びポジティブコントロールのミノキシジル処置群と比較して発毛スコアに有意な増加が認められた (図4J)。さらに、485 ASO-001 (0.6 mpkで2回) で処置したマウス群は、485 ASO-001 (0.3 mpkで2回) で処置したマウス群と比較してより多くの再発毛を示した (図4J)。

20

30

【0306】

上記の結果は、発毛を誘導するうえでの*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) の用量依存的有効性を示すものである。例えば、これらの結果は、*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) が、休止期のマウスにおける成長期発毛の初期の徴候を促進したことを示している (例えば、図4D~4Jを参照)。詳細には、*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) (0.6 mpkで2回) で処置したマウス群は、PBSで処置したコントロール群及びミノキシジル処置群と比較して強力に活性化され、成長期発毛を維持することが示された (図4D~4J)。これらの結果は、*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) が休止期から成長期への移行を活性化し、それにより発毛を促進することを示唆するものである。

40

【0307】

実施例4: 毛髪密度に対する*miRNA-485* 阻害剤の用量依存的効果の分析

実施例1に示されるように調製された*miRNA-485* 阻害剤 (485 ASO-001) の、実施例1に示されるようにPBS及び485 ASO-001で処置した脱毛マウスに対する再発毛効果をさらに評価するため、485 ASO-001 (0.1 mpk、0.3 mpk、0.6 mpk) による処置後の体毛密度をPBS処置したコントロール群と比較した。各マウスのダーモスコープ画像を、Kong, Bom-Viewer Plu

50

sソフトウェア (Bomtech Electronics Co., Ltd., Seoul, Korea) を使用して12日目 (図3A) 及び16日目 (図3B) に肩甲骨間の皮膚の同じ領域 (3.6 mm^2) で取得した。画像を分析することにより体毛密度を評価した (倍率200倍、実際の面積 = 3.6 mm^2)。

【0308】

図3Cに示されるように、PBSで処置したコントロール群と比較して、485ASO-001 (0.6 mpk) で処置したマウス群では12日目及び16日目に体毛密度の有意な増加が認められた。485ASO-001 (0.6 mpk) で処置したマウス群は、485ASO-001 (0.1 mpk) 及び485ASO-001 (0.3 mpk) で処置したマウス群と比較して体毛密度の増加を示した。

10

【0309】

上記の結果は、体毛密度を増加させるうえでmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の用量依存的有効性を示すものである。

【0310】

実施例5：毛髪の長さに対するmiRNA-485阻害剤の用量依存的効果の分析

実施例1に示されるように調製されたmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の、実施例1に示されるようにPBS及び485ASO-001で処置した脱毛マウスに対する再発毛効果をさらに評価するため、485ASO-001 (0.1 mpk 、 0.3 mpk 、 0.6 mpk) による処置後の体毛の長さをPBS処置したコントロール群と比較した。処置後、16日目 (図4A) 及び21日目 (図4B) に背中の脱毛した背部肩甲骨間領域の代表的な部分から体毛を抜き取った。

20

【0311】

図4Cに示されるように、485ASO-001 (0.3 mpk 及び 0.6 mpk) で処置したマウス群では、16日目に、PBSで処置したコントロール群と比較して体毛の長さに有意な増加が認められた。

【0312】

上記の結果は、体毛の長さを増加させるうえでmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の用量依存的有効性を示すものである。

【0313】

実施例6：皮膚生成及び毛包サイクリングにおけるmiR-485-3pの発現

miRNA-485-3p (FW7__模倣体) の発現レベルに対するmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の効果を試験するため、マウス発毛周期の早期成長期から後期成長期の組織試料をpd10 (図5A) 及びpd16 (図5B) に得た。miRNAの発現は、成体体毛周期の後期成長期で早期成長期と比較して減少していた。(485ASO-001) (0.3 mpk で2回) 及びPBSで処置したコントロール群と比較して、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6 mpk で2回) で処置したマウス群ではpd10 ($p=0.01$) 及びpd16 ($p=0.03$) にmiRNAの発現に有意な減少が認められた。上記の結果は、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) によるmiRNA-485-3pの発現の用量依存的なダウンレギュレーションを示すものである。

30

【0314】

実施例7：皮膚及び毛包密度に対するmiRNA-485阻害剤の用量依存的効果の分析

発毛に対するmiRNA-485 (485ASO-001) の効果を、H&E染色 (図6A、図6B、図7A、図7B) によりさらに評価した。pd10日目に真皮 ($p=0.03$) (図6C)、皮下組織 ($p=0.0001$) (図6D)、毛包直径 ($p=0.001$) (図6E)、毛球直径 ($p=0.01$) (図6F)、真皮内の毛包密度 ($p<0.0009$) (図6G)、及び皮下組織内の毛包密度 ($p<0.0009$) (図6H) に有意な増加が認められた。485ASO-001 (0.6 mpk で2回) で処置したマウス群では、PBSで処置したコントロール処置群と比較して皮下組織 ($p=0.0003$) (図7C)、毛包直径 ($p=0.008$) (図7F)、真皮内の毛包密度 ($p<0.000$

40

50

1) (図7G)、及び皮下組織内の毛包密度 ($p < 0.0001$) (図7H) に有意な増加が認められた。485ASO-001 (0.6mpk) で処置したマウス群は、ミノキシジルで処置したマウス群と比較してpd10日目に皮下組織内の毛包数 ($p < 0.001$) (図6H) の、pd16日目に真皮内の毛包数 ($p = 0.004$) (図7G) の増加を示した。miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.3mpk及び0.6mpk) ($p < 0.001$) による処置により、毛包数は、コントロールと比較して用量依存的に増加した (図6G、図6H、図7G、図7H)。ミノキシジル処置もネガティブコントロールと比較して毛包数を有意に ($p < 0.01$) 増加させたが、この増加はmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) 処置による増加よりも低かった (図6G、図6H)。miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) 及びミノキシジル処置は、コントロール群と比較して真皮の厚さを有意に増加させた ($p < 0.03$ 及び $p < 0.04$) が、ミノキシジル処置による真皮及び皮下組織の厚さの増加は、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) ($p < 0.001$) 処置による増加よりも低かった (図6C、図6D)。miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) 処置は、コントロール及びミノキシジル処置群と比較してpd10日目に毛球の直径を有意に増加させた ($p < 0.01$)。pd16日目に、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.3mpk及び0.6mpk) は、コントロールと比較して皮下組織の厚さを有意に増加させた ($p < 0.001$ 及び 0.0003)。

10

20

【0315】

実施例8：miRNA-485阻害剤は、Wnt及びβ-カテニタンパク質の発現を増加させた

Wnt3a及びβ-カテニタンパク質発現に対するmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の効果をウエスタンブロッティングにより評価した。具体的には、Wnt/β-カテニンシグナル伝達は、毛包の形態形成、再生、及び成長に関与している。Wnt3aは、真皮乳頭 (DP) 細胞におけるWnt/β-カテニンシグナル伝達経路を活性化できるように発毛を誘導する。β-カテニンは、真皮乳頭で発現し、成長期の誘導及び期間だけでなく、ケラチノサイトの調節及び分化を促進する。miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) はWnt3a (図9B) 及びβ-カテニン (図9C) の発現を増加させた。β-カテニンは皮膚及び毛包の発生への関与が示されており、Wntシグナル伝達経路において不可欠な分子である。上記の結果は、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) が毛幹の伸長及び分化を有意に促進することを示すものである。

30

【0316】

実施例9：miRNA-485阻害剤は、CD36及びVEGF-Aタンパク質の発現を増加させた

CD36及び血管内皮増殖因子A (VEGF-A) タンパク質発現に対するmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) の効果をウエスタンブロッティングにより評価した。miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) による処置は、PBS処置群と比較してCD36 (図8B) 及びVEGF-A (図8C) のタンパク質発現レベルを増加させた。VEGF-Aは、最も強力かつ特異的な血管増殖因子であり、生理学的及び病理学的血管形成 (毛細血管形成) における重要な調節因子である。VEGF-Aレベルは、転写制御及びmRNA安定性によって調節されている。

40

【0317】

マウスの毛包の間葉は、真皮毛根鞘 (DS) として知られる毛包ライニング平滑筋で構成されている。DSは、毛髪サイクリングに伴い毛包内の毛細血管を調節する。免疫蛍光実験を行ってDSに影響される血管形成におけるCD36の発現に対するmiRNA-485阻害剤 (485ASO-001) (0.6mpk) の効果を評価した。免疫蛍光の結果 (図10B) は、miRNA-485阻害剤 (485ASO-001) で処置された毛包のDSでCD36発現細胞が増加することを示した。これは血管形成、特に成長期の毛

50

包と関連付けることができる。

【0318】

特許請求の範囲を解釈するうえで、「発明の概要」及び「要約」のセクションではなく、「発明の詳細な説明」のセクションを用いることが意図されている点は認識されるべきである。発明の概要及び要約セクションは、本発明者（複数可）により意図される1つ以上であるが、すべてではない本開示の例示的態様を示し得、したがって、本開示及び添付の特許請求の範囲を如何様にも限定することを意図しない。

【0319】

本開示は、特定の機能及びそれらの関係の実施を示す機能的構成単位を用いて上記された。これらの機能的要素の境界は、説明の便宜上、本明細書では任意に定義されている。特定の機能及びそれらの関係性が適切に実施されている限り、代替的な境界を定義することもできる。

【0320】

具体的な態様の上記の具体的な説明は本開示の一般的な性質を余すところなく示しているため、他者は、当業者の技能の範囲内の知識を適用することで、不要な実験を行うことなく、本開示の一般的概念から逸脱せずに、かかる具体的な態様を容易に改変し、及び／またはさまざまな用途に適合させることができる。したがって、そのような適合及び改変は、本明細書に示される教示及び助言に基づき、開示される態様の均等物の意味及び範囲内に包含されるものとする。本明細書における語句または用語は、説明を目的としたものであって、限定を目的とするものではなく、本明細書における語句または用語は本明細書の教示及び助言を考慮することで当業者によって理解されるはずである。

【0321】

本開示の幅及び範囲は、上記に記載した例示的な態様のいずれによっても限定されるべきでなく、下記の請求項及びそれらの均等物のみにしたがって定義されるべきものである。

【0322】

本出願全体を通じて引用され得る全ての引用参考文献（参考文献、特許、特許出願、及びウェブサイトを含む）の内容の全体を、あらゆる目的で、参照によって本明細書に明示的に援用し、また、それらに引用される文献も同様に援用する。

10

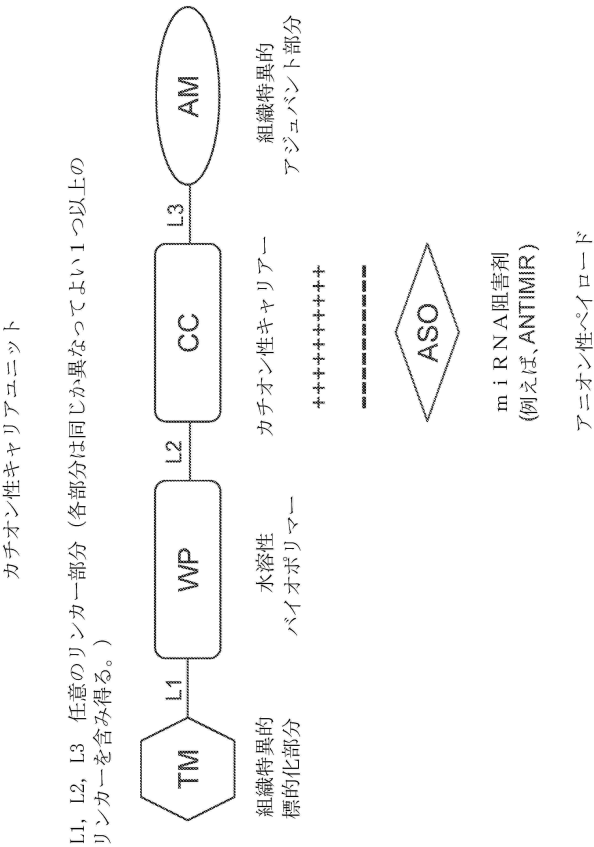
20

30

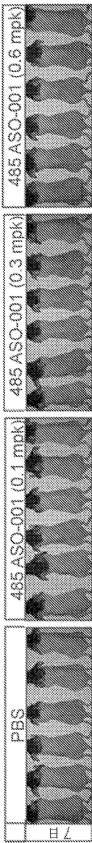
40

50

【図面】
【図 1】



【図 2 B】



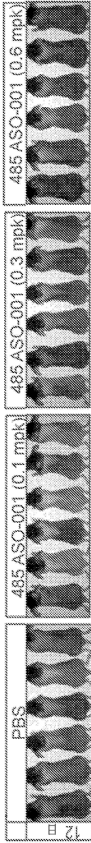
【図 2 C】



【図 2 A】



【図 2 D】



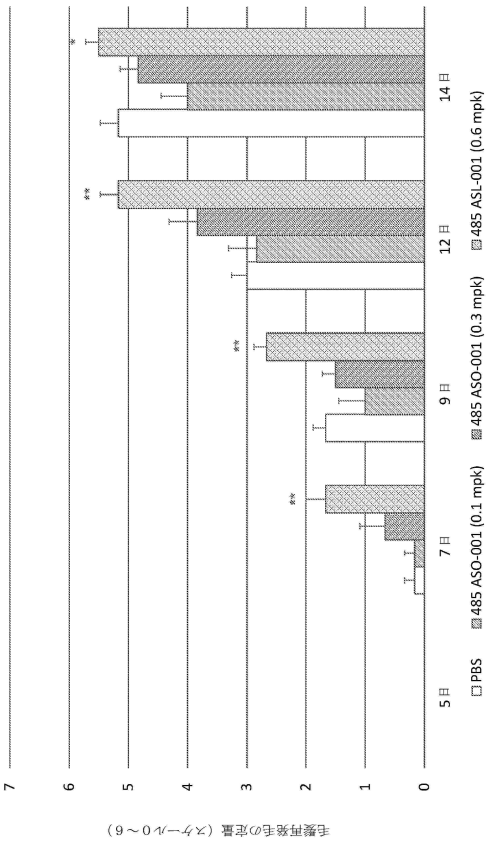
【図 2 E】



【図 2 F】



【図 2 G】



10

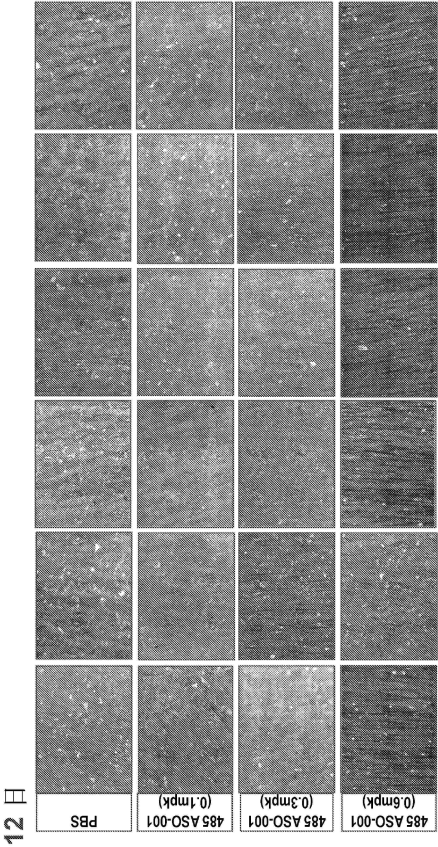
20

30

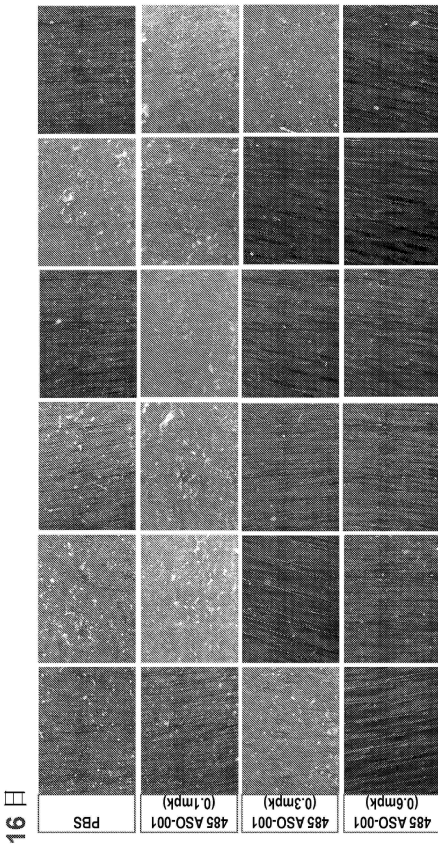
40

50

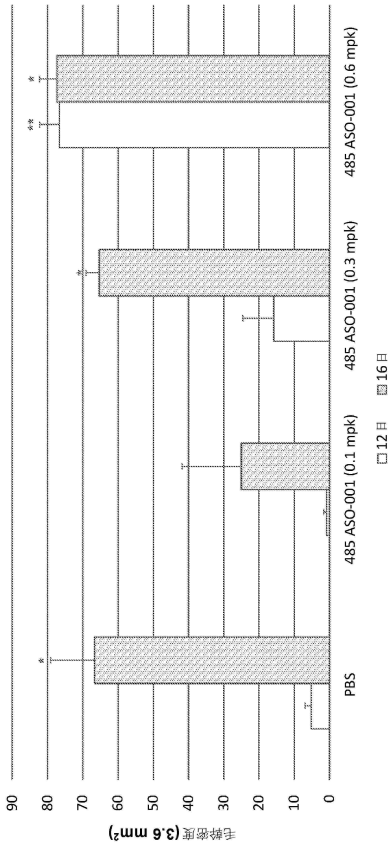
【図 3 A】



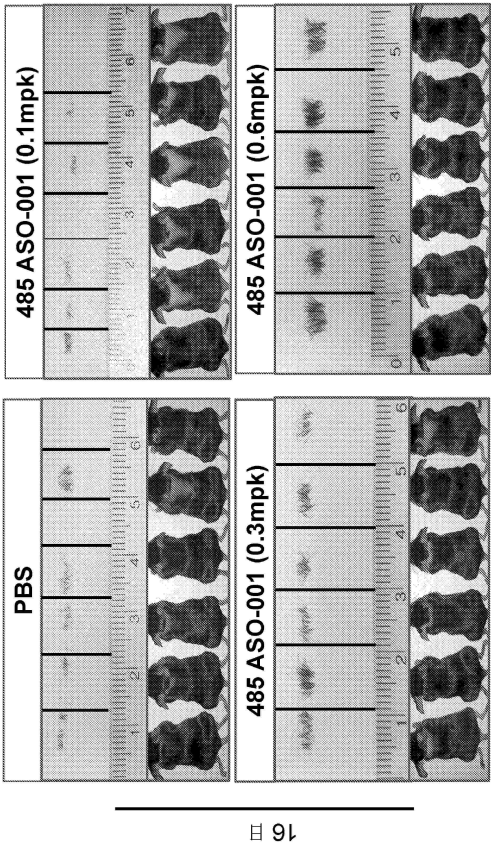
【図 3 B】



【図 3 C】



【図 4 A】



10

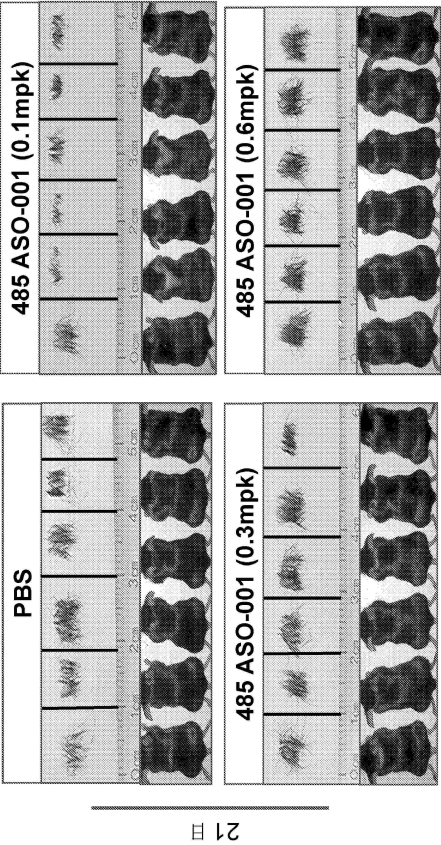
20

30

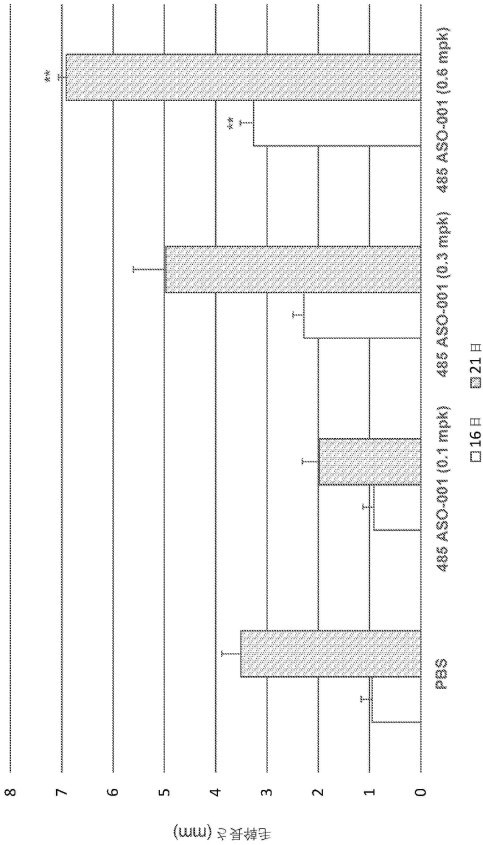
40

50

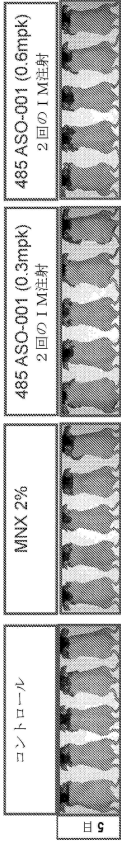
【図 4 B】



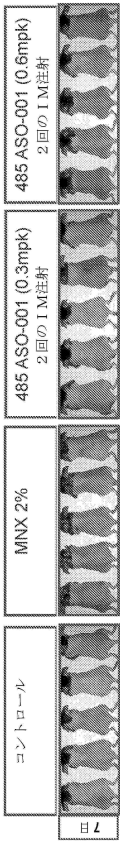
【図 4 C】



【図 4 D】



【図 4 E】



10

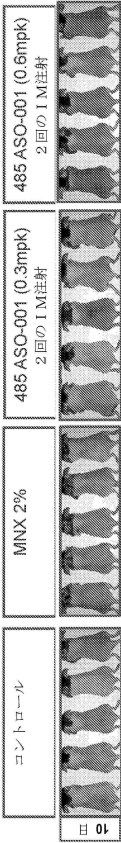
20

30

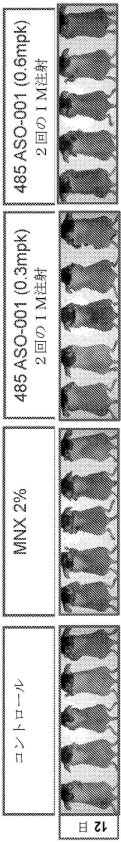
40

50

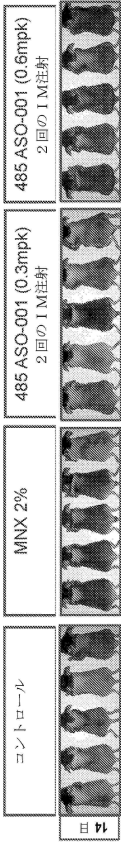
【図 4 F】



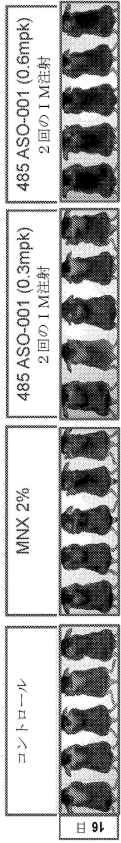
【図 4 G】



【図 4 H】



【図 4 I】



10

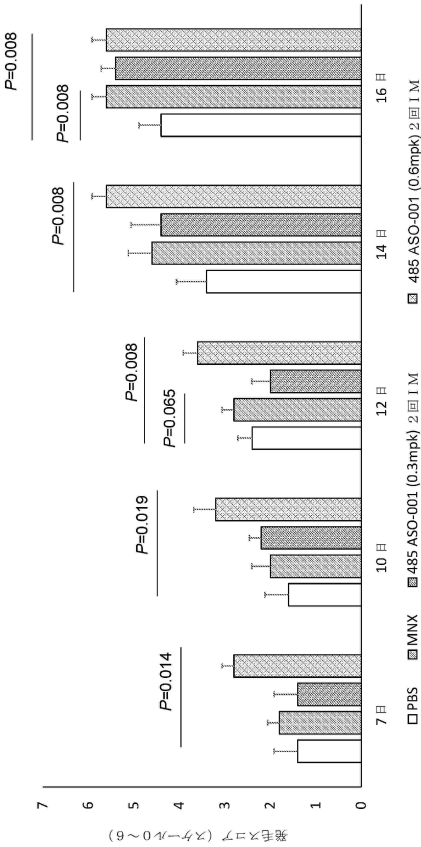
20

30

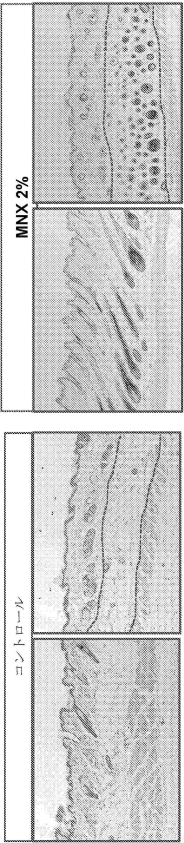
40

50

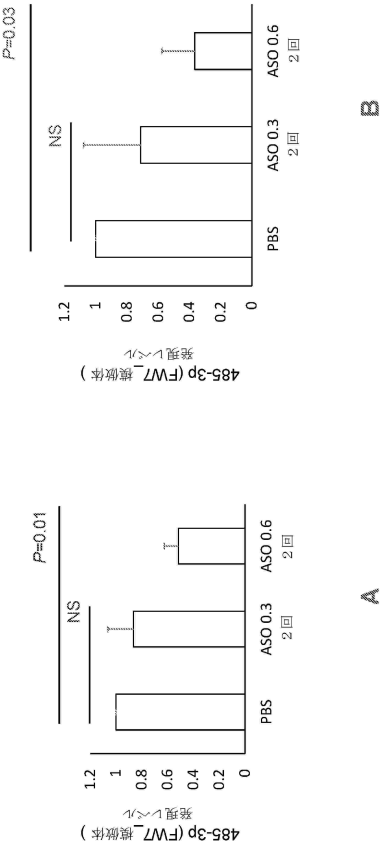
【図 4 J】



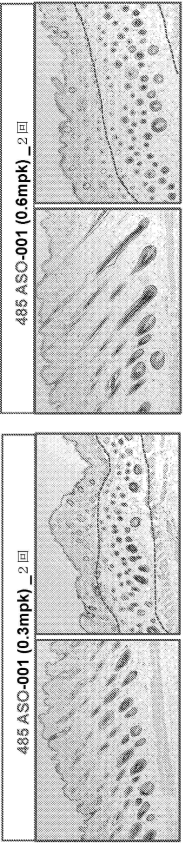
【図 6 A】



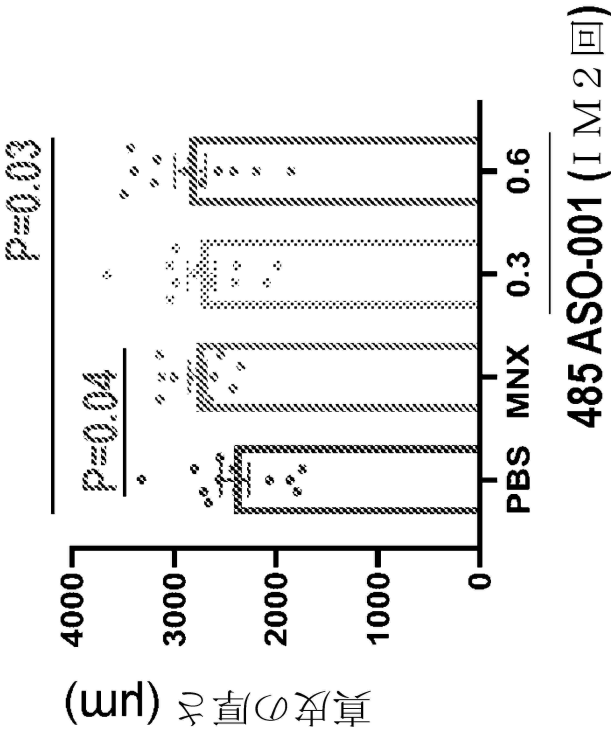
【図 5】



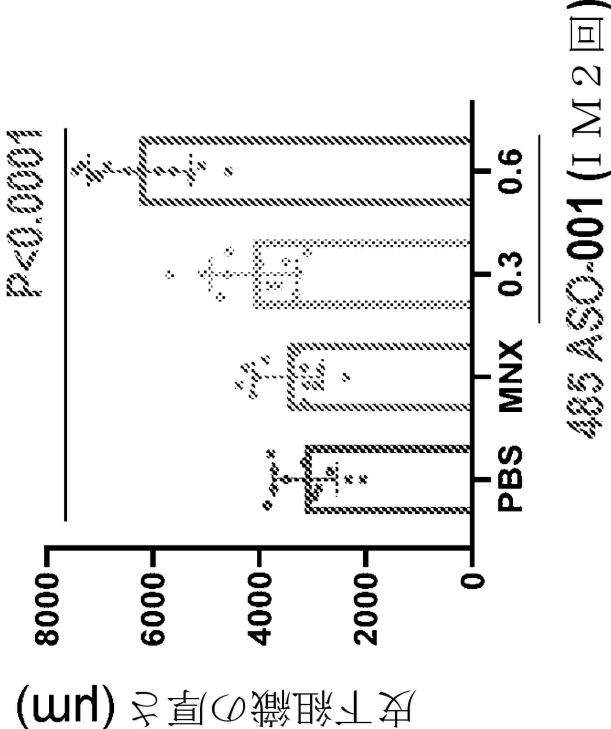
【図 6 B】



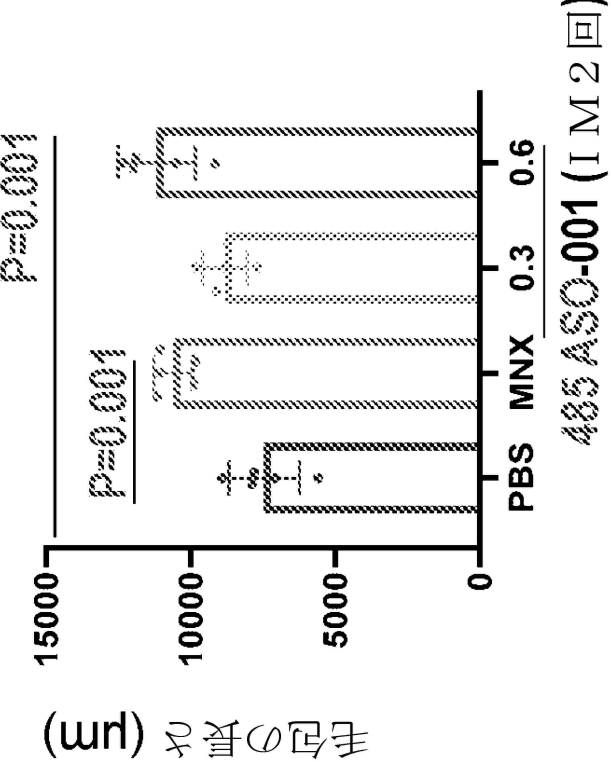
【図 6 C】



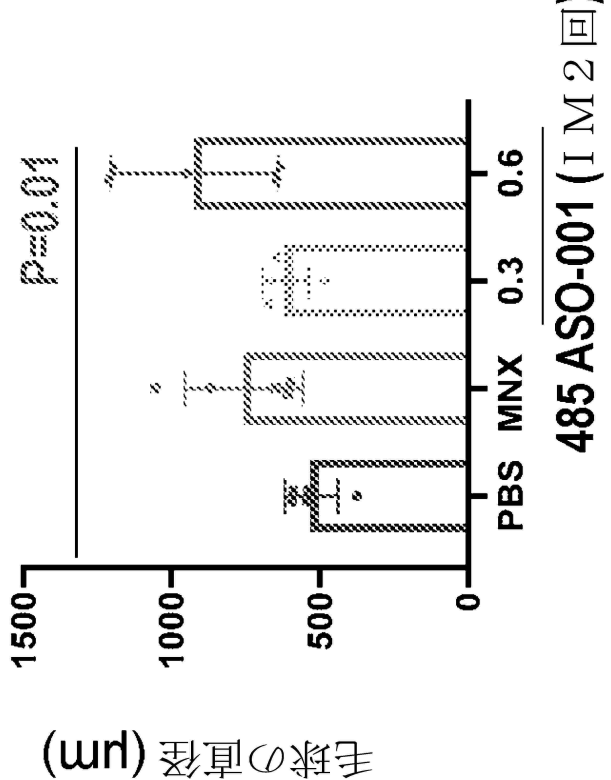
【図 6 D】



【図 6 E】



【図 6 F】



10

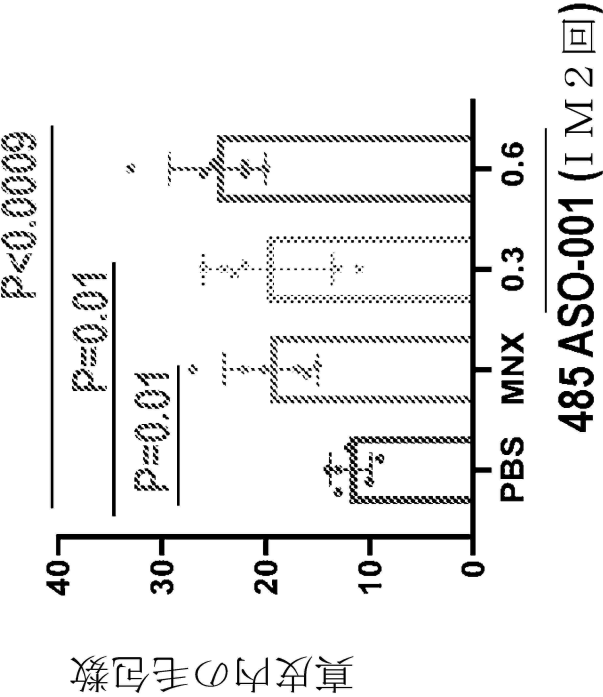
20

30

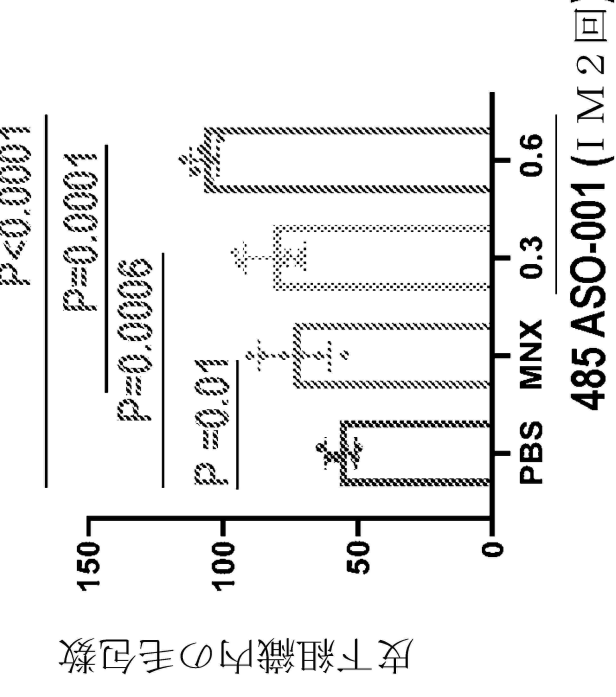
40

50

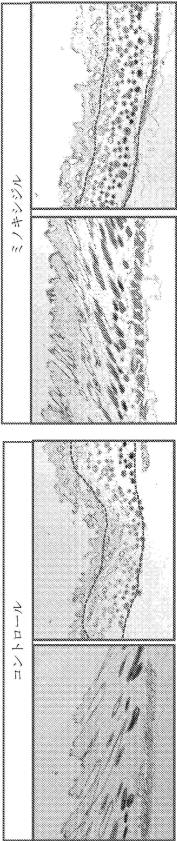
【図 6 G】



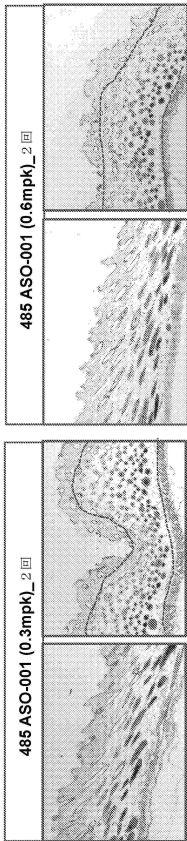
【図 6 H】



【図 7 A】



【図 7 B】



10

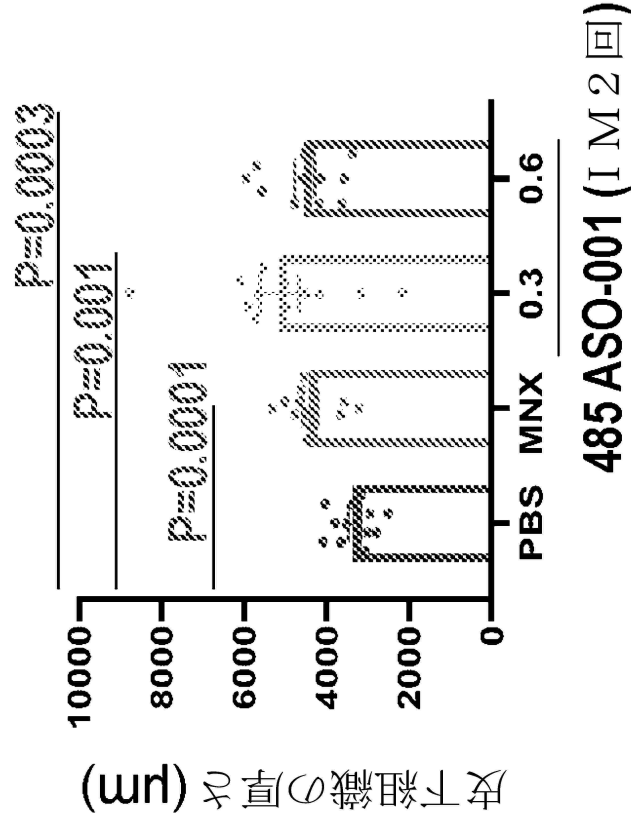
20

30

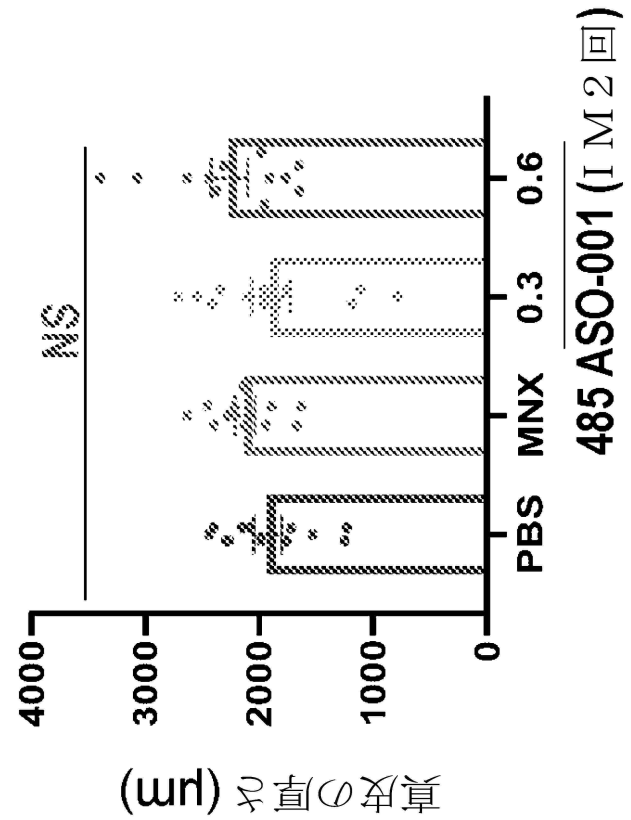
40

50

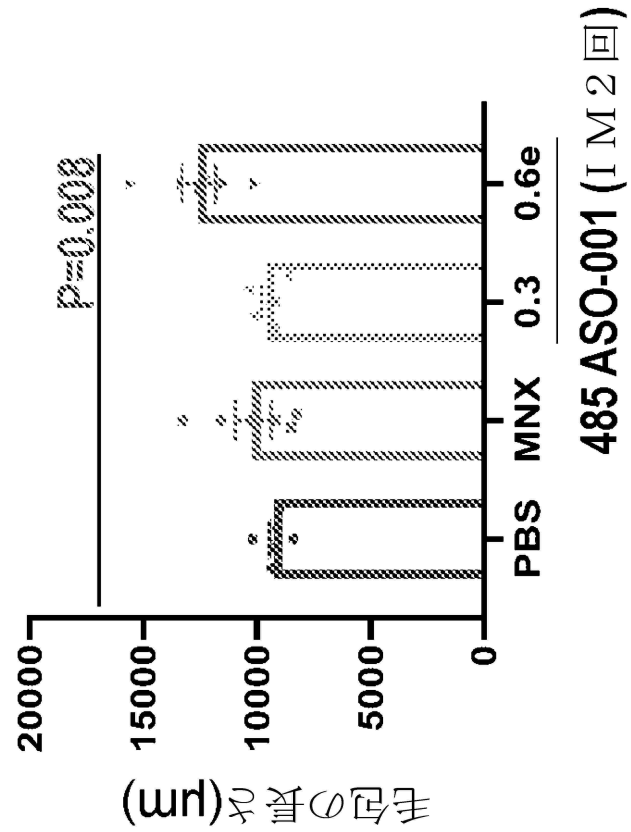
【図 7 C】



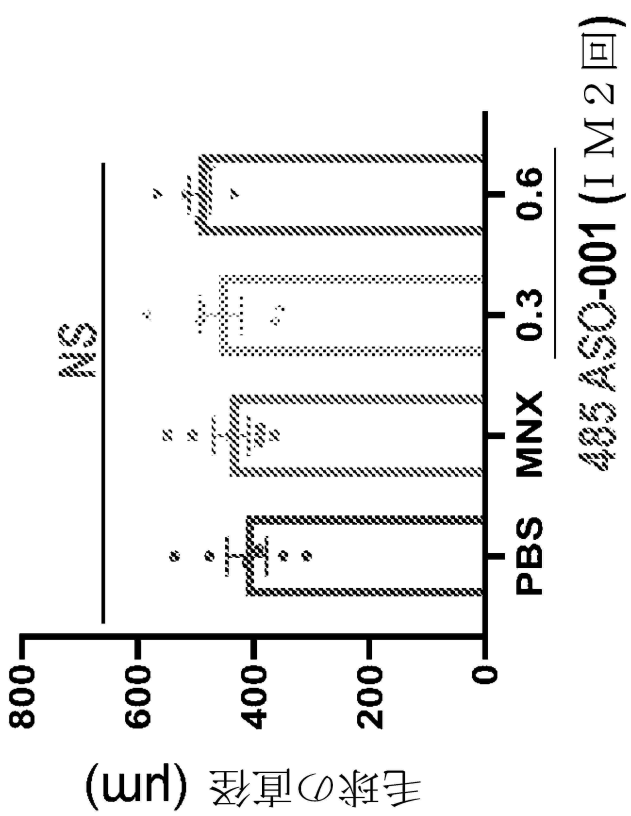
【図 7 D】



【図 7 E】



【図 7 F】



10

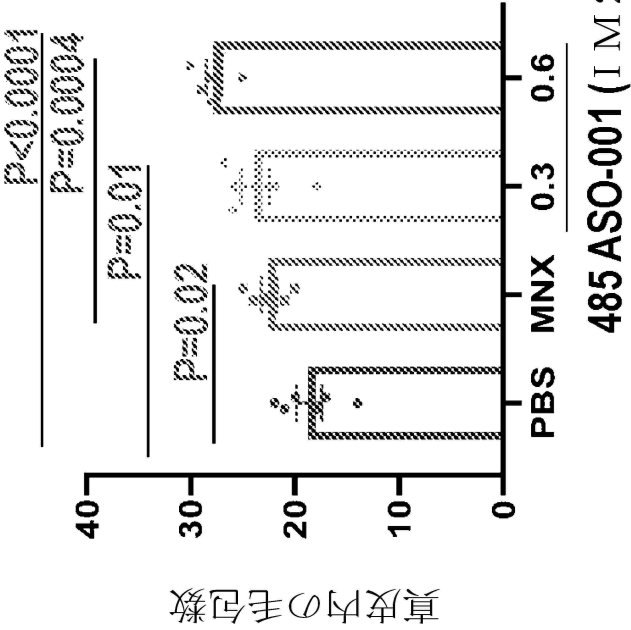
20

30

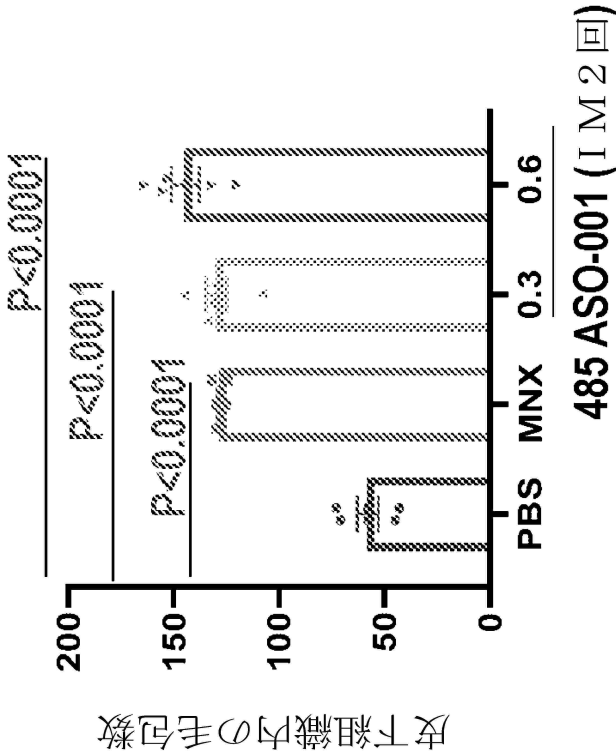
40

50

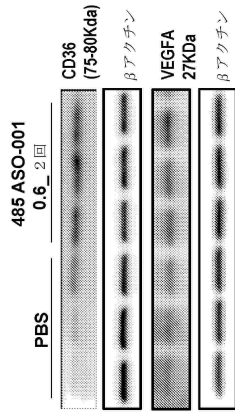
【図 7 G】



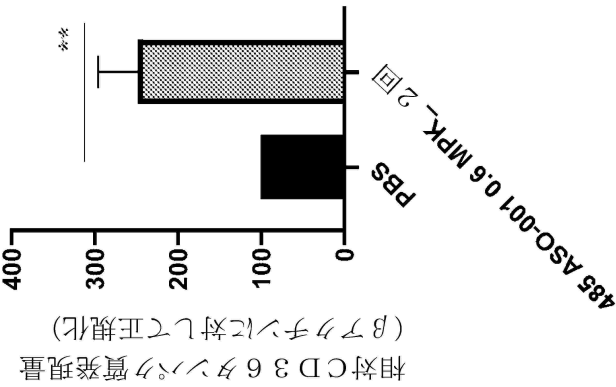
【図 7 H】



【図 8 A】



【図 8 B】



10

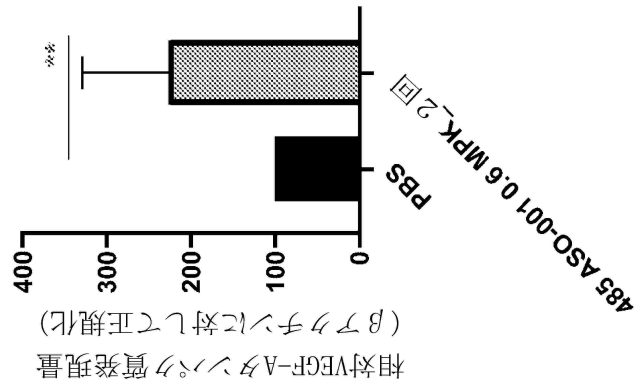
20

30

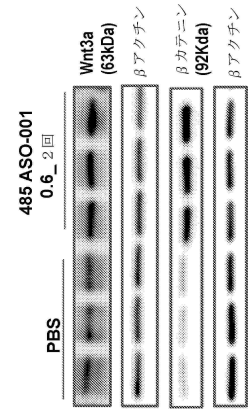
40

50

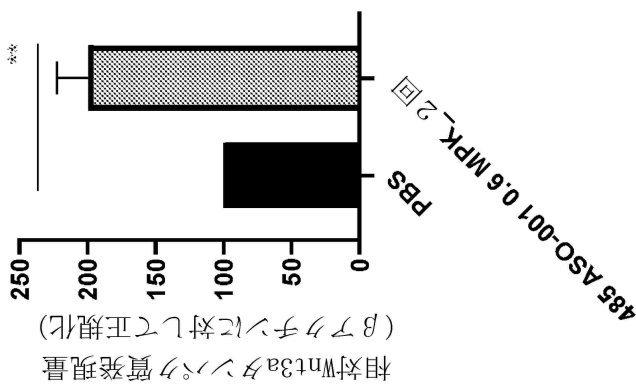
【図 8 C】



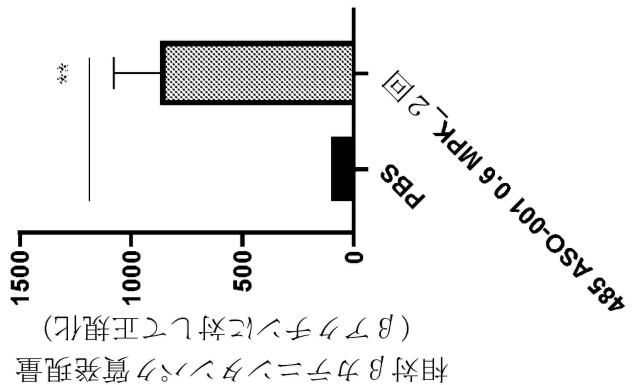
【図 9 A】



【図 9 B】



【図 9 C】



10

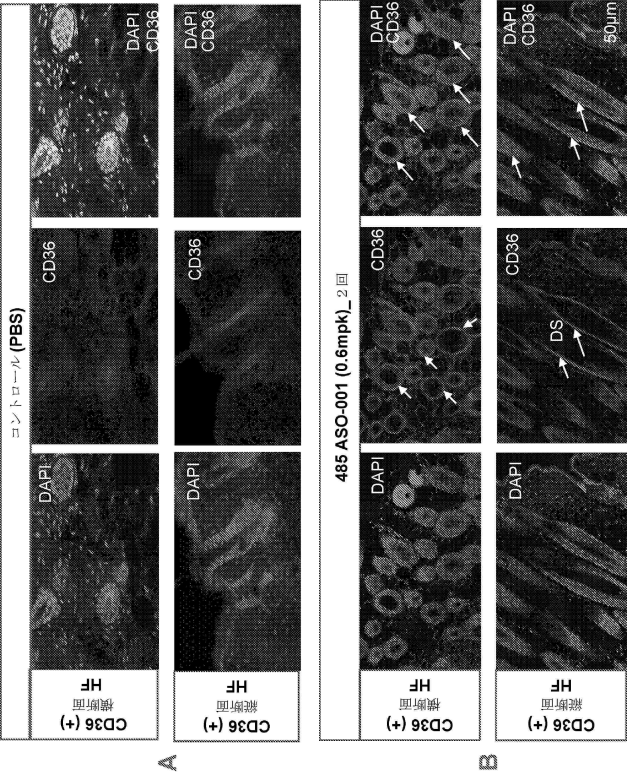
20

30

40

50

【図 10】



【配列表】

2024501437000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/062226
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 9/48(2006.01); A61K 47/24(2006.01); A61K 36/28(2006.01); A61K 33/30(2006.01); A61K 31/375(2006.01); A61K 31/59(2006.01); A61K 9/00(2006.01); A61P 37/00(2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 9/48(2006.01); A61K 8/98(2006.01); A61Q 7/00(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: miR-485 inhibitor, hair growth, hair density, follicular density, hair shaft thickness, hair length, hair loss, dermal sheath of hair follicle, CD36		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	LEE, MYUNG JOO et al., "Analysis of the microRNA expression profile of normal human dermal papilla cells treated with 5 α -dihydrotestosterone", Molecular Medicine Reports, 12 March 2015 (Online publication date), Vol. 12, No. 1, pages 1205-1212 pages 1205, 1207, 1210, 1212; and table 1	1-7,9,10 8
A	US 2016-0193140 A1 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 07 July 2016 (2016-07-07) abstract; claims 1-12	1-10
A	YOSHIDA, YUZO et al., "Characterization of human dermal sheath cells reveals CD36-expressing perivascular cells associated with capillary blood vessel formation in hair follicles", Biochemical and Biophysical Research Communications, 02 July 2019 (Online publication date), Vol. 516, pages 945-950 pages 945-950	1-10
A	AKSENENKO, MARIYA et al., "MiR-92a-1-5p and miR-328-3p are up-regulated in skin of female pattern hair loss patients", Annals of Dermatology, 28 February 2019 (Online publication date), Vol. 31, No. 2, pages 256-259 pages 256-258	1-10
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08 April 2022		Date of mailing of the international search report 08 April 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer HEO, Joo Hyung Telephone No. +82-42-481-5373

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/062226
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments:		10
		20
		30
		40
		50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/062226
Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	10
2.	☒ Claims Nos.: 14,21,24,26,28,30,32,33,35,37,41,42,45,46,51-53,55,57,58,62,65 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: As claims 14, 21, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 35, 37, 41, 42, 45, 46, 51-53, 55, 57, 58, 62 and 65 refer to one of claims which are not drafted in accordance with PCT Rule 6.4(a), the claims are unclear (PCT Article 6).	
3.	☒ Claims Nos.: 11-13,15-20,22,23,25,27,29,31,34,36,38-40,43,44,47-50,54,56,59-61,63,64,66-72 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	20
		30
		40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/IB2021/062226

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOH, HAN SEOK et al., "Reducing miR485-3p ameliorates Alzheimer's disease pathology by regulation of amyloid beta and neuro-inflammation", Research Square, 29 March 2020 (Publication date), DOI: https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-19583/v1 , Internal pages 1-54 internal pages 1-30	1-10

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No.			
Information on patent family members				PCT/IB2021/062226			
Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2016-0193140	A1	07 July 2016	CN	103237554	A	07 August 2013
				CN	103237554	B	12 August 2015
				EP	2623106	A1	07 August 2013
				EP	2623106	B1	23 May 2018
				HK	1183790	A1	10 January 2014
				IN	607MUN2013	A	11 September 2015
				KR	10-1730216	B1	25 April 2017
				KR	10-2013-0112872	A	14 October 2013
				SG	189167	A1	31 May 2013
				US	10172332	B2	08 January 2019
				US	2013-0212724	A1	15 August 2013
				WO	2012-042618	A1	05 April 2012

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/712 (2006.01)
A 6 1 K 31/7125 (2006.01)
A 6 1 K 35/761 (2015.01)
A 6 1 K 35/76 (2015.01)
A 6 1 P 29/00 (2006.01)
A 6 1 K 9/127 (2006.01)
A 6 1 K 9/16 (2006.01)
A 6 1 K 47/10 (2017.01)
A 6 1 K 47/32 (2006.01)
A 6 1 K 47/34 (2017.01)
A 6 1 K 47/36 (2006.01)
A 6 1 K 47/18 (2017.01)
A 6 1 K 47/22 (2006.01)
A 6 1 K 47/28 (2006.01)
A 6 1 K 9/12 (2006.01)
A 6 1 K 9/08 (2006.01)
A 6 1 K 9/06 (2006.01)
A 6 1 K 8/86 (2006.01)
A 6 1 K 8/81 (2006.01)
A 6 1 K 8/73 (2006.01)
A 6 1 K 8/85 (2006.01)
A 6 1 K 8/84 (2006.01)
A 6 1 K 8/44 (2006.01)
A 6 1 K 8/49 (2006.01)
A 6 1 K 8/67 (2006.01)
A 6 1 K 8/72 (2006.01)
A 6 1 Q 5/02 (2006.01)
A 6 1 Q 5/06 (2006.01)
A 6 1 Q 5/12 (2006.01)
A 6 1 Q 7/00 (2006.01)
A 6 1 Q 19/10 (2006.01)
C 1 2 N 15/113 (2010.01)
C 1 2 N 15/11 (2006.01)
C 1 2 N 15/864 (2006.01)

A 6 1 K 31/7115
A 6 1 K 31/712
A 6 1 K 31/7125
A 6 1 K 35/761
A 6 1 K 35/76
A 6 1 P 29/00
A 6 1 K 9/127
A 6 1 K 9/16
A 6 1 K 47/10
A 6 1 K 47/32
A 6 1 K 47/34
A 6 1 K 47/36
A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 47/22
A 6 1 K 47/28
A 6 1 K 9/12
A 6 1 K 9/08
A 6 1 K 9/06
A 6 1 K 8/86
A 6 1 K 8/81
A 6 1 K 8/73
A 6 1 K 8/85
A 6 1 K 8/84
A 6 1 K 8/44
A 6 1 K 8/49
A 6 1 K 8/67
A 6 1 K 8/72
A 6 1 Q 5/02
A 6 1 Q 5/06
A 6 1 Q 5/12
A 6 1 Q 7/00
A 6 1 Q 19/10
C 1 2 N 15/113
C 1 2 N 15/11
C 1 2 N 15/864

Z Z N A

Z

1 0 0 Z

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
 E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
 G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
 TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 リュ, ジン-ヒョブ

大韓民国 3 5 2 4 3 テジョン, ソーグ, ドゥンサンブク-口, 1 7 5, 5-1 5 0 1

(72)発明者 シャーナズ, ベーグム

大韓民国 3 4 0 0 7 テジョン, ユソング, 1 2 ボン-ギル, ボンサン-口, 9, 2 0 1

(72)発明者 エムディー ホサイン, ジャミル

大韓民国 3 4 0 0 7 テジョン, ユソング, 1 2 ボン-ギル, ボンサン-口, 9, 2 0 1

(72)発明者 ミン, ヒュン ス

大韓民国 3 0 1 5 0 テジョン, セジョン-シ, ソダム-ドン, 3 2-4 1, 6 0 4-1 3 0 3

(72)発明者 リム, ユ ナ

大韓民国 3 4 0 0 9 テジョン, ユソング, 5 2 ボン-ギル, グジュク-口, 1 5, 1 0 5

F ターム (参考)	4C076	AA06 AA09 AA12 AA19 AA24 AA31 BB13 BB15 BB16 BB21 BB24 BB31 CC04 CC18 CC26 CC29 DD37 DD51 DD59 DD60 DD61 DD70 EE06 EE12 EE13 EE16 EE17 EE23 EE24 EE26 EE30
	4C083	AC851 AD041 AD071 AD091 AD111 AD211 AD601 AD611 AD621 AD631 AD641 AD651 AD661 BB53 CC25 CC32 CC33 CC38 CC39 DD08 DD16 DD22 DD23 DD41 EE07 EE22
	4C084	AA17 MA24 MA41 NA10 NA14 ZA921 ZB111 ZB211 ZC411
	4C086	AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA24 MA41 NA10 NA14 ZA92 ZB11 ZB21 ZC41
	4C087	AA01 AA03 BC83 CA08 CA12 NA10 NA14 ZA92 ZB11 ZB21 ZC41