(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118987017 A
(43)申请公布日 2024.11.22

(21)申请号 202411184883.6

(22)申请日 2019.12.12

(30)优先权数据
62/779,916 2018.12.14 US
62/807,603 2019.02.19 US
62/840,879 2019.04.30 US

(62)分案原申请数据
201980080996.2 2019.12.12

(71)申请人 渤健马萨诸塞州股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 I·A·内斯托罗夫 T·弗古森 D·A·诺里斯

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 张文辉

(51)Int.Cl.
A61K 31/7088(2006.01)
A61P 21/00(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
C12N 15/113(2010.01)

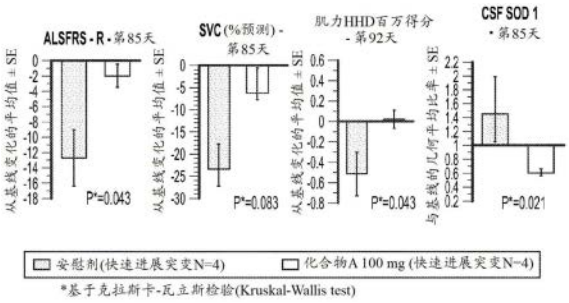
权利要求书2页 说明书40页
序列表（电子公布） 附图6页

(54)发明名称

用于治疗和预防肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的组合物和方法

(57)摘要

提供了SOD1靶向反义寡核苷酸及其盐的给药方案。这些给药方案应用于治疗患有肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症或处于发展肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的风险下的受试者。



CN 118987017 A

1.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

2.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

3.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

4.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

5.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、

17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

6.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

7.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

8.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

9.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V。

10.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S59I、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。

用于治疗和预防肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的组合物和方法

[0001] 本申请是基于申请日为2019年12月12日,优先权日为2018年12月14日,申请号为201980080996.2,发明名称为:“用于治疗和预防肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的组合物和方法”的专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2018年12月14日提交的美国临时申请号62/779,916、2019年2月19日提交的美国临时申请号62/807,603以及2019年4月30日提交的美国临时申请号62/840,879的优先权益,所有这些临时申请的内容以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

[0004] 本申请总体上涉及减少超氧化物歧化酶1(SOD1)的表达的反义寡核苷酸或其盐在有需要的人类受试者,例如具有经确认的人类SOD1基因突变的患有肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)的成人中的临床使用的给药方案。此类方法适用于通过抑制SOD1的表达治疗、预防或改善ALS。

背景技术

[0005] 可溶性SOD1酶(也称为Cu/Zn超氧化物歧化酶)是超氧化物歧化酶之一,它通过催化超氧化物歧化为过氧化氢(H_2O_2)来防御生物分子的氧化性损伤(Fridovich,Annu.Rev.Biochem.,64:97-112(1995))。超氧化物阴离子(O^{2-})是主要由线粒体中的氧化磷酸化错误产生的潜在有害的细胞副产物(Turrens,J.Physiol.,552:335-344(2003))。

[0006] 肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS,也称为路格里克氏病(Lou Gehrig’s disease))是在任何给定的时间影响多达30,000名美国人的毁灭性进行性神经退化疾病。SOD1基因中的突变与ALS的显性遗传形式,一种以上下运动神经元的选择性退化为特征的病症相关联(Rowland,N.Engl.J.Med.,2001,344:1688-1700(2001))。在家族性ALS与SOD1基因中的误义突变之间存在紧密的基因连锁(Rosen,Nature,362:59-62(1993))。

[0007] 据信突变体SOD1的毒性由初始误折叠(功能获得)降低对抗活性酶的核保护(核中的功能损失)而产生,一种可能涉及于ALS发病机理中的过程(Sau,Hum.Mol.Genet.,16:1604-1618(2007))。ALS中运动神经元的进行性退化最终导致运动神经元死亡。当运动神经元死亡时,脑启动和控制肌肉运动的能力丧失。在随意肌动作进行性地受影响下,处于疾病较晚期的患者可能变得完全瘫痪。

[0008] 当前缺乏可接受的选项用于治疗此类神经退化疾病。因此,本文的目的在于提供治疗此类疾病的方法。

发明内容

[0009] 本公开一部分涉及减少超氧化物歧化酶1(SOD1)的表达的反义寡核苷酸的给药方案以及此类反义寡核苷酸或其盐的用途,用以抑制SOD1的表达以及治疗、预防或改善在SOD1基因中具有突变的人类受试者的ALS。

[0010] 在第一个方面,本公开关于一种治疗或预防有需要的人类受试者的与人类超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及以足以递送约100mg或100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用(例如,通过鞘内施用)药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0011] 在第二个方面,本公开关于一种治疗或预防有需要的人类受试者的与人类SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及以足以递送约60mg或60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用(例如,通过鞘内施用)药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0012] 在第三个方面,本公开关于一种治疗或预防有需要的人类受试者的与人类SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及以足以递送约40mg或40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用(例如,通过鞘内施用)药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0013] 在第四个方面,本公开关于一种治疗或预防有需要的人类受试者的与人类SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及以足以递送约20mg或20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用(例如,通过鞘内施用)药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0014] 在第五个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及以足以递送约100mg或100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施

用向人类受试者施用药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0015] 在第六个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及以足以递送约60mg或60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向人类受试者施用药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0016] 在第七个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及以足以递送约40mg或40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向人类受试者施用药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0017] 在第八个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及以足以递送约20mg或20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向人类受试者施用药物组合物,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0018] 在上述方面的一些实施方案中,SOD1基因中的突变是A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S591、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。在一个实施方案中,SOD1基因中的突变是A4V。在另一个实施方案中,SOD1基因中的突变是H46R。在又一个实施方案中,SOD1基因中的突变是G93S。

[0019] 在一些实施方案中,通过基因测试鉴定人类SOD1基因中的突变。

[0020] 在某些实施方案中,上述方法进一步涉及通过基因测试鉴定人类SOD1基因中的突变。

[0021] 在一些实施方案中,在四个月的过程中至少5次(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24次)向人类受试者施用药物组合物。

[0022] 在某些实施方案中,向人类受试者施用药物组合物的一个或多个负载剂量,继之以一个或多个维持剂量。在一些情况下,施用三个负载剂量,其中在第一负载剂量之后约两周或之后两周施用第二负载剂量,并且在第二负载剂量之后约两周或之后两周施用第三负载剂量(例如,第1天、第15天和第29天施用负载剂量)。在一些情况下,在第三负载剂量之后4周开始约每4周或4周施用维持剂量(例如,持续1个月、2个月、三个月、四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月)。

[0023] 在某些实施方案中,向人类受试者施用药物组合物的三个负载剂量,继之以至少一个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个)维持剂量。在一些情况下,相隔约两周或两周施用三个负载剂量。在一些情况下,相隔约14天或14天施用三个负载剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后约4周或4周开始施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后一个月开始每个月施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后28天开始每28天施用一个或多个维持剂量。

[0024] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0025] (i)药物组合物的第一负载剂量;

[0026] (ii)在第一负载剂量之后14天施用的药物组合物的第二负载剂量;

[0027] (iii)在第一负载剂量之后28天施用的药物组合物的第三负载剂量;以及

[0028] (iv)在第三负载剂量之后28天或1个月施用的药物组合物的第一维持剂量。

[0029] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0030] (i)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第一负载剂量;

[0031] (ii)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第二负载剂量,其中在第一负载剂量之后14天施用第二负载剂量;

[0032] (iii)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第三负载剂量,其中在第一负载剂量之后28天施用第三负载剂量;以及

[0033] (iv)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第一维持剂量,其中在第三负载剂量之后28天施用第一维持剂量。

[0034] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0035] (i)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第一负载剂量;

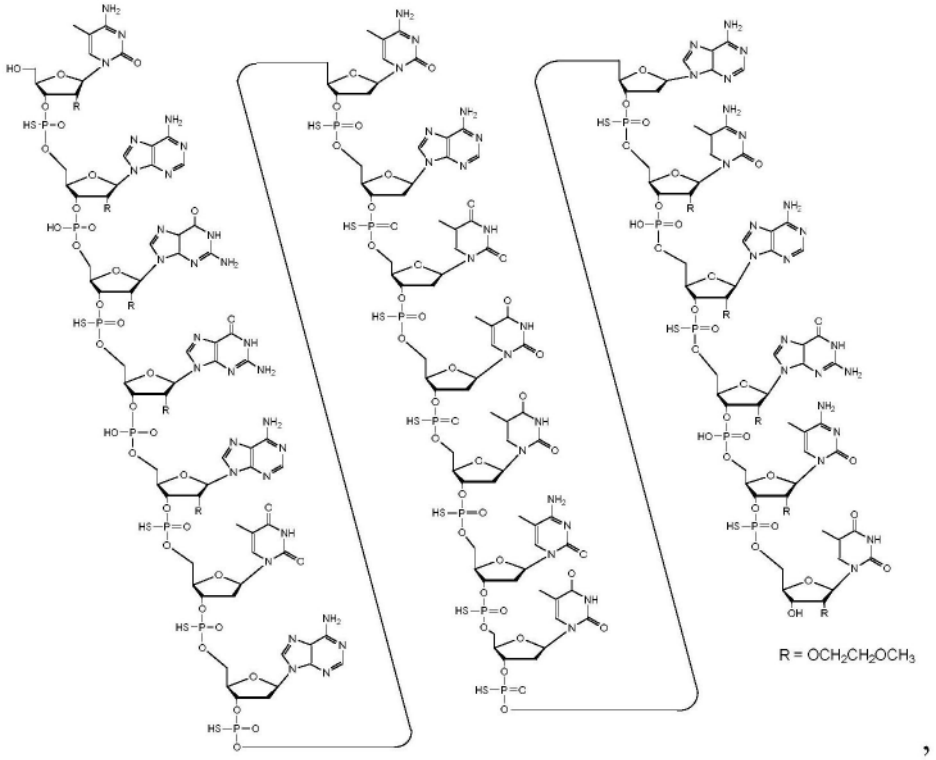
[0036] (ii)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第二负载剂量,其中在第一负载剂量之后14天施用第二负载剂量;

[0037] (iii)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第三负载剂量,其中在第一负载剂量之后28天施用第三负载剂量;以及

[0038] (iv)呈足以递送100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量的第一维持剂量,其中在第三负载剂量之后1个月施用第一维持剂量。

[0039] 在第九个方面,本公开提供了一种治疗或预防有需要的人类受试者的与SOD1基因

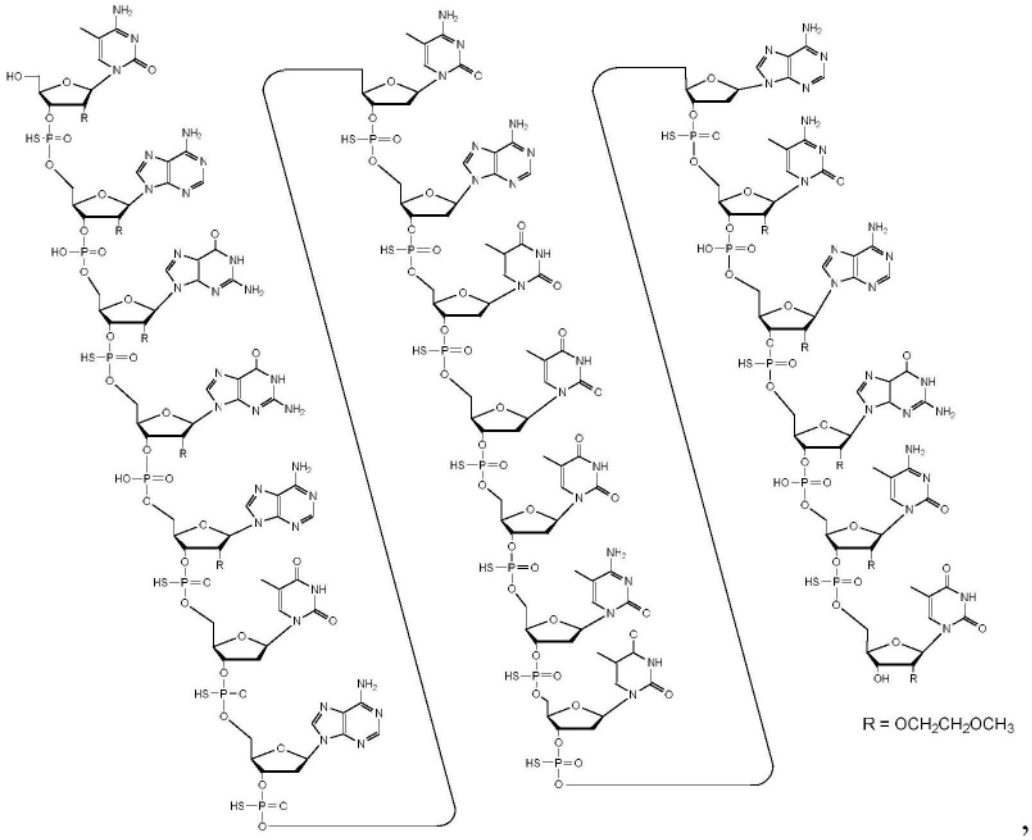
中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0040] 

,

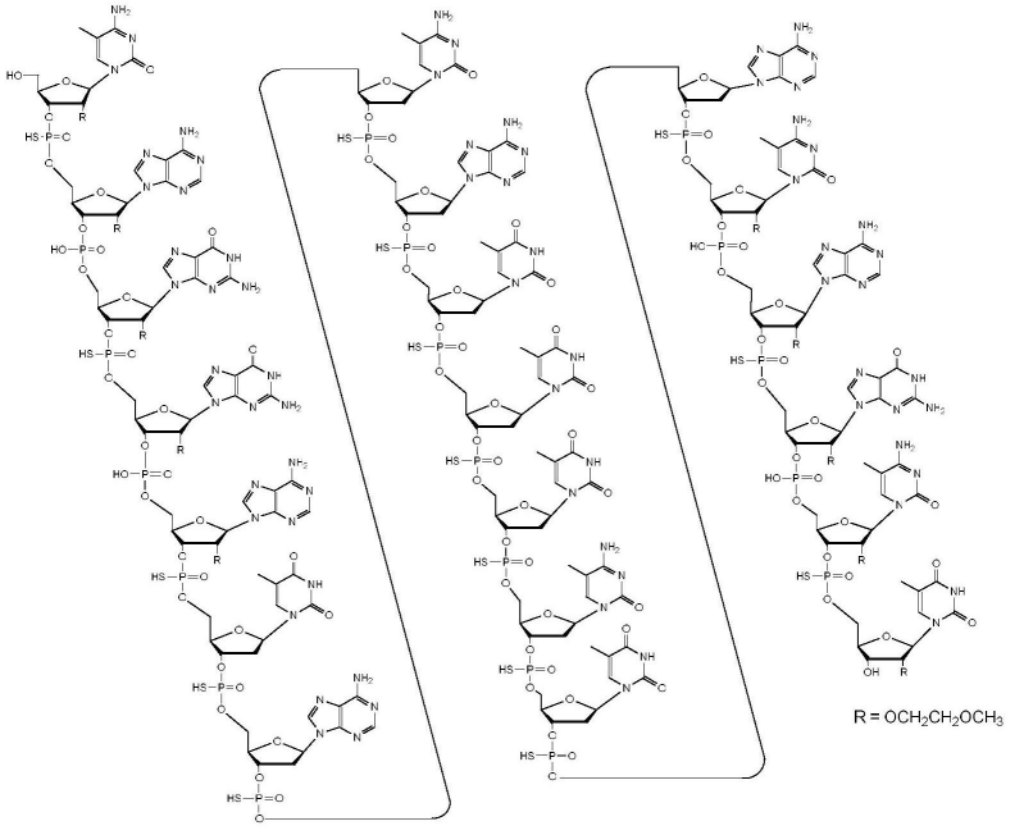
[0041] 并且其中以等效于100mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。105.9mg化合物A(即,ISIS 666853的十九钠盐)等效于100mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

[0042] 在第十个方面,本公开提供了一种治疗或预防有需要的人类受试者的与SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0043] 

[0044] 并且其中以等效于60mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。63.5mg化合物A等效于60mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

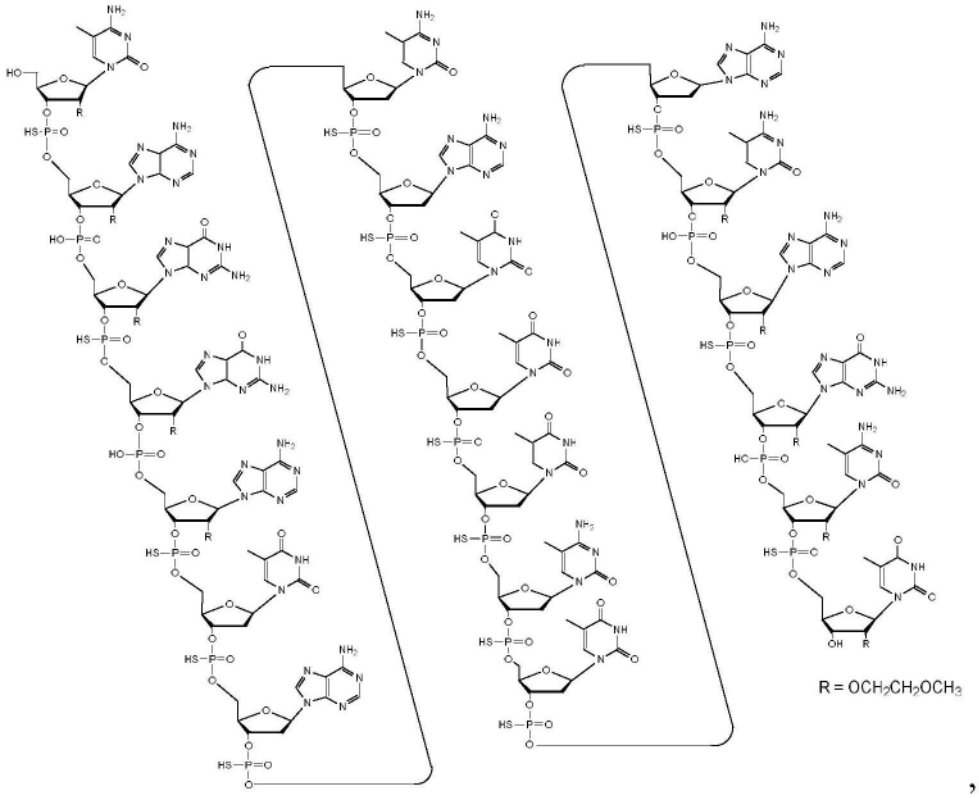
[0045] 在第十一个方面,本公开提供了一种治疗或预防有需要的人类受试者的与SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0046] 

,

[0047] 并且其中以等效于40mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。42.3mg化合物A等效于40mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

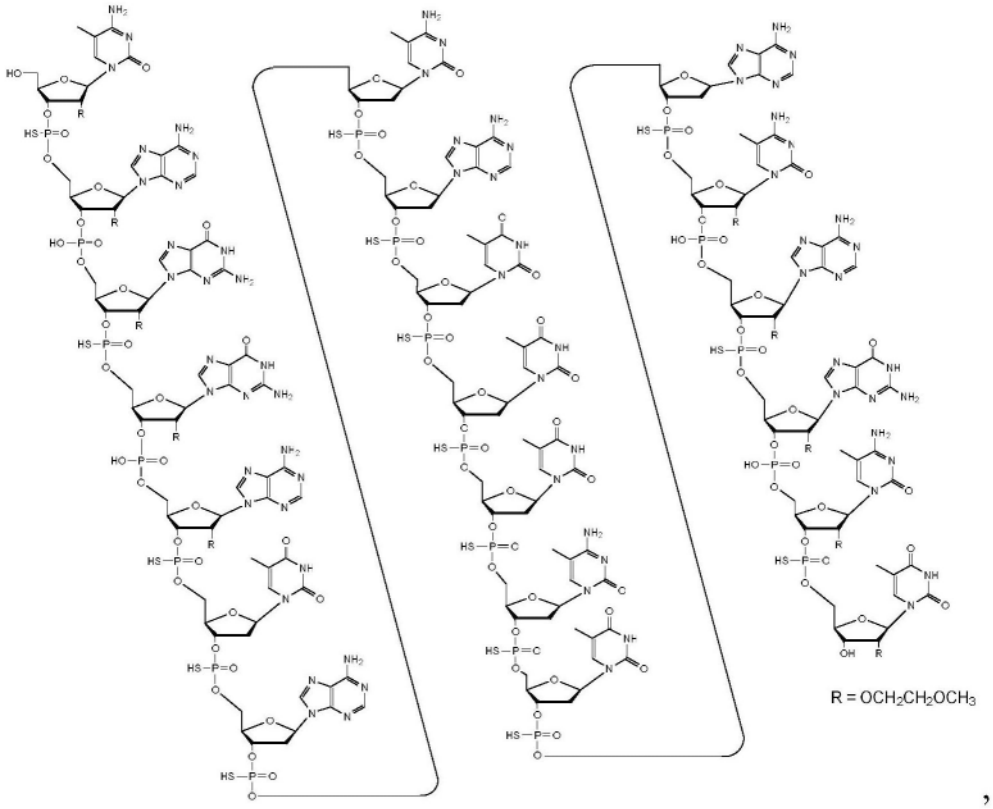
[0048] 在第十二个方面,本公开提供了一种治疗或预防有需要的人类受试者的与SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0049] 

,

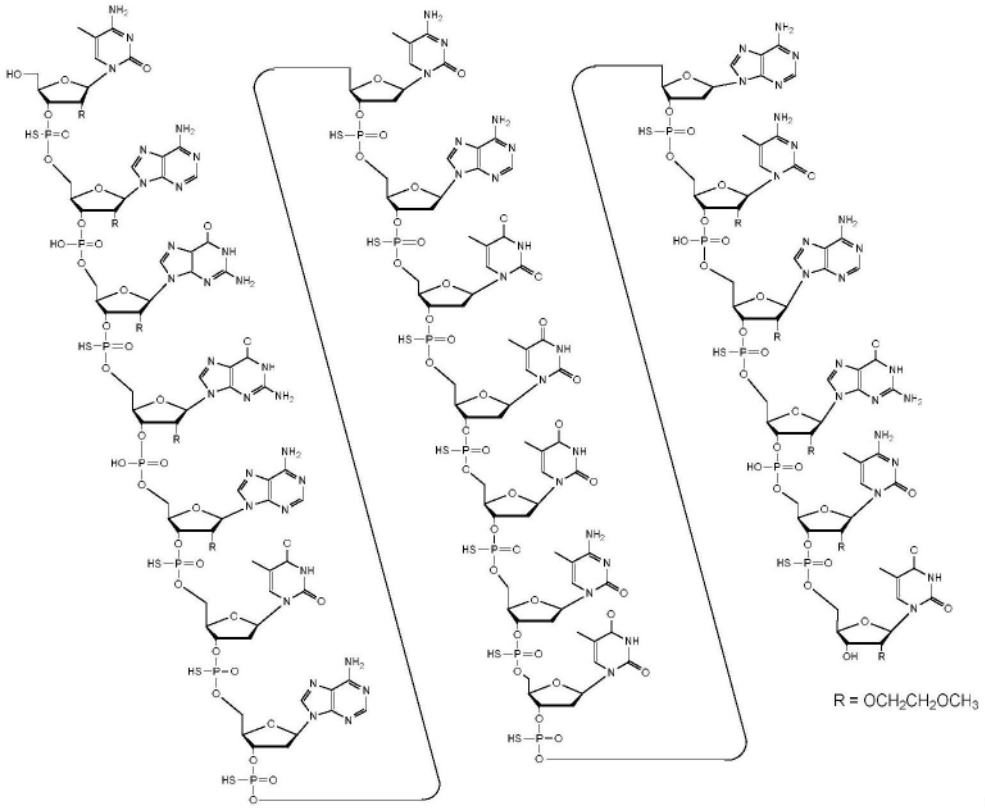
[0050] 并且其中以等效于20mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。21.2mg化合物A等效于20mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

[0051] 在第十三个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0052] 

[0053] 并且其中以等效于100mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。105.9mg化合物A等效于100mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

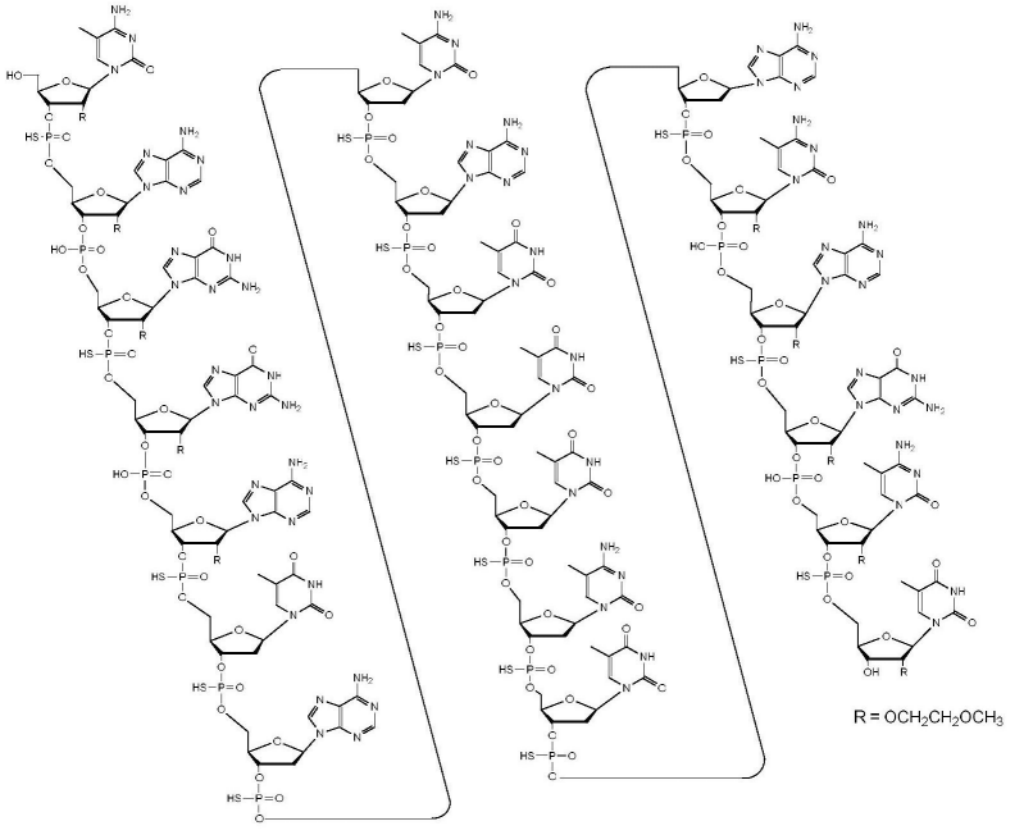
[0054] 在第十四个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0055] 

,

[0056] 并且其中以等效于60mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。63.5mg化合物A等效于60mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

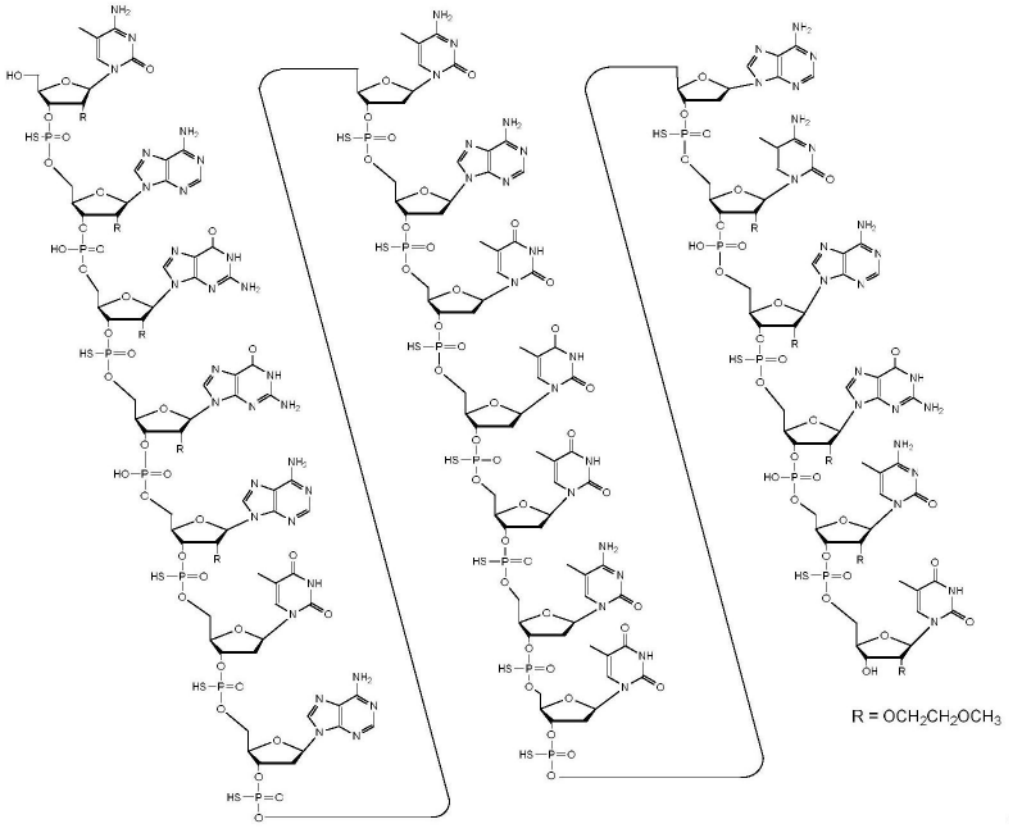
[0057] 在第十五个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0058] 

,

[0059] 并且其中以等效于40mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。42.3mg化合物A等效于40mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

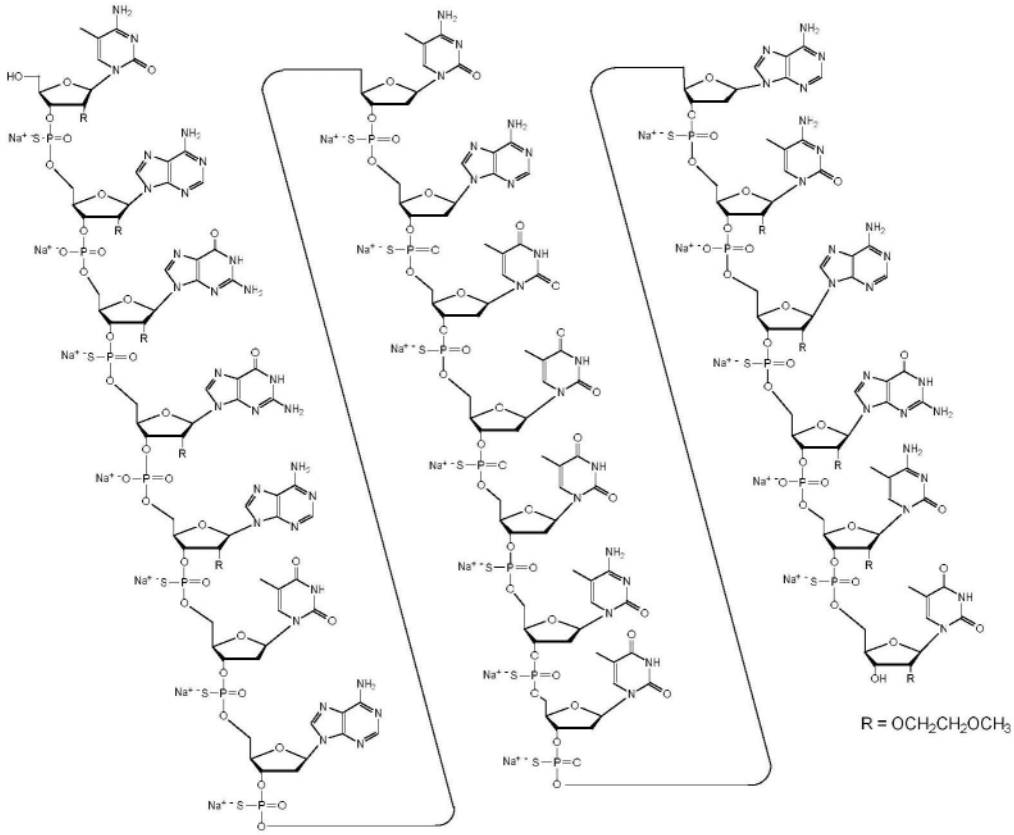
[0060] 在第十六个方面,本公开提供了一种减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成或人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0061] 

,

[0062] 并且其中以等效于20mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。21.2mg化合物A等效于20mg反义寡核苷酸。所施用的药物组合物可包含反义寡核苷酸、反义寡核苷酸的一种或多种盐,或它们的混合物。

[0063] 在一些实施方案中,向人类受试者施用反义寡核苷酸的盐。在一些实施方案中,盐是钠盐。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的盐具有以下结构:

[0064] 

[0065] 在上述方面的一些实施方案中,SOD1基因中的突变是A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S591、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。在一个实施方案中,SOD1基因中的突变是A4V。在另一个实施方案中,SOD1基因中的突变是H46R。在又一个实施方案中,SOD1基因中的突变是G93S。

[0066] 在一些实施方案中,通过基因测试鉴定人类SOD1基因中的突变。

[0067] 在某些实施方案中,上述方法进一步涉及通过基因测试鉴定人类SOD1基因中的突变。

[0068] 在一些实施方案中,在四个月的过程中至少5次向人类受试者施用药物组合物。

[0069] 在某些实施方案中,向人类受试者施用药物组合物的一个或多个负载剂量,继之以一个或多个维持剂量。在一些情况下,施用三个负载剂量,其中负载剂量间隔两周,例如,第1天、第15天和第29天。在一些情况下,在第三负载剂量之后4周开始每4周施用维持剂量(例如,持续1个月、2个月、三个月、四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月)。

[0070] 在某些实施方案中,向人类受试者施用药物组合物的三个负载剂量,继之以至少一个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个)维持剂量。在一些情况下,相隔两周施用三个负载剂量。在一些情况下,相隔14天施用三个负载剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后4周开始每4周施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后一个月开始每个月施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后28天开始每28天施用一个或多个维持剂量。

[0071] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0072] (i)药物组合物的第一负载剂量;

[0073] (ii)在第一负载剂量之后14天施用的药物组合物的第二负载剂量;

[0074] (iii)在第一负载剂量之后28天施用的药物组合物的第三负载剂量;以及

[0075] (iv)在第三负载剂量之后28天或1个月施用的药物组合物的第一维持剂量。

[0076] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0077] (i)等效于100mg反义寡核苷酸的第一负载剂量;

[0078] (ii)等效于100mg反义寡核苷酸的第二负载剂量,其中在第一负载剂量之后14天施用第二负载剂量;

[0079] (iii)等效于100mg反义寡核苷酸的第三负载剂量,其中在第一负载剂量之后28天施用第三负载剂量;以及

[0080] (iv)等效于100mg反义寡核苷酸的第一维持剂量,其中在第三负载剂量之后28天施用第一维持剂量。

[0081] 在某些实施方案中,如下向人类受试者施用药物组合物的负载剂量和维持剂量:

[0082] (i)等效于100mg反义寡核苷酸的第一负载剂量;

[0083] (ii)等效于100mg反义寡核苷酸的第二负载剂量,其中在第一负载剂量之后14天施用第二负载剂量;

[0084] (iii)等效于100mg反义寡核苷酸的第三负载剂量,其中在第一负载剂量之后28天施用第三负载剂量;以及

[0085] (iv)等效于100mg反义寡核苷酸的第一维持剂量,其中在第三负载剂量之后1个月施用第一维持剂量。

[0086] 在另一个方面,本公开关于一种包含反义寡核苷酸的无菌制剂的注射器或泵。注射器或泵适于以20mg、40mg、60mg或100mg的固定剂量鞘内施用反义寡核苷酸。反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0087] 除非另有规定,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。尽管类似或等效于本文所描述的那些的方法和材料可用于本发明的实施或测试,但下文描述了例示性方法和材料。本文所提及的所有公布、专利申请、专利和其它参考文献以全文引用的方式并入。在相矛盾的情况下,将以本申请,包括定义为准。材料、方法和实例仅仅是说明性的并且不意图具有限制性。

[0088] 本发明的其它特征和优点将从以下具体实施方式以及从权利要求书显而易见。

附图说明

[0089] 图1是具有不同人类SOD1突变的患者的平均疾病持续时间(从症状发作的年数)的图形化描绘。

[0090] 图2描绘了多递增剂量(MAD)群组中所观测的化合物A脑脊髓液(CSF)浓度的剂量

依赖性增加。最上方折线代表100mg剂量;下面两个折线代表60mg和40mg剂量;并且最下方折线代表20mg剂量。

[0091] 图3描绘了MAD群组中所观测的CSF SOD1浓度的剂量依赖性降低。在研究第85天,最上方圆圈对应于20mg;下面一个圆圈对应于安慰剂;下面一个圆圈对应于60mg;下面一个圆圈对应于40mg;并且最下方圆圈对应于100mg化合物A。

[0092] 图4A是在MAD群组的患者中肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症功能评分量表-修订版(ALFSFRS-R)从基线的LS平均变化的图。在研究第85天,最上方圆圈对应于40mg化合物A;下面一个圆圈对应于100mg化合物A;下面一个圆圈对应于60mg化合物A;下面一个圆圈对应于20mg化合物A;并且最下方圆圈对应于安慰剂。

[0093] 图4B是在MAD群组的患者中百分比预测慢肺活量(SVC)从基线的LS平均变化(90％CI)的图。在研究第85天,最上方圆圈对应于60mg化合物A;下面一个圆圈对应于40mg化合物A;下面一个圆圈对应于100mg化合物A;下面一个圆圈对应于20mg化合物A;并且最下方圆圈对应于安慰剂。

[0094] 图4C是在MAD群组的患者中手持式测力计(HHD)总百万得分从基线的LS平均变化(90％ CI)的图。在研究第92天,最上方圆圈对应于40mg化合物A;下面一个圆圈对应于100mg化合物A;下面一个圆圈对应于60mg化合物A;下面一个圆圈对应于20mg化合物A;并且最下方圆圈对应于安慰剂。

[0095] 图5图解了在接受安慰剂或100mg化合物A的具有快速进展突变的患者中ALSFRS-R、SVC、HHD百万得分和CSF SOD1水平从基线至第85天的变化。

[0096] 图6图解了在接受安慰剂或100mg化合物A的具有缓慢进展突变的患者中ALSFRS-R、SVC、HHD百万得分和CSF SOD1水平从基线至第85天的变化。

[0097] 图7描绘了在具有快速进展SOD1突变的患者中100mg化合物A处理对从基线至第85天的pNFH水平的影响。

[0098] 图8描绘了在具有缓慢进展SOD1突变的患者中100mg化合物A处理对从基线至第85天的pNFH水平的影响。

具体实施方式

[0099] 本公开关于减少超氧化物歧化酶1(SOD1)的表达的反义寡核苷酸或其盐的给药方案以及此类反义寡核苷酸或其盐的用途,用以治疗、预防或改善具有人类SOD1基因突变的成人的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)。

[0100] 定义

[0101] “2’-O-甲氧基乙基”(也是2’-MOE和2’-OCH_2CH_2-OCH_3以及MOE)是指呋喃糖环的2’位的O-甲氧基-乙基修饰。2’-O-甲氧基乙基修饰的糖是经修饰的糖。

[0102] “2’-MOE核苷”(也是2’-O-甲氧基乙基核苷)意指包含MOE修饰的糖部分的核苷。

[0103] “5-甲基胞嘧啶”意指用附接至5’位的甲基修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶是经修饰的核碱基。

[0104] “硫代磷酸酯键”意指核苷之间的键,其中通过用硫原子置换非桥连氧原子之一来修饰磷酸二酯键。硫代磷酸酯键是经修饰的核苷间键。

[0105] “约”在物质量的情形中意指所指示的值+/-10％。因此,约100mg反义寡核苷酸包

括90mg至110mg反义寡核苷酸。在时间单位,例如约10天或约1周的情形中,“约”意指+/-3天。

[0106] “鞘内或IT”意指在覆盖脑和脊髓的蛛网膜下方施用于脑脊髓液中。

[0107] “负载剂量”意指在起始施用并且达到药物(例如,反义寡核苷酸)的稳态浓度的给药期期间施用的剂量。

[0108] “维持剂量”意指在已经达到药物(例如,反义寡核苷酸)的稳态浓度之后的给药期期间施用的剂量。

[0109] “固定剂量”是指意图在受试者中达到所需治疗浓度(例如,稳态浓度)或作用的反义寡核苷酸的预定量(例如,20mg、40mg、60mg、100mg)。

[0110] 肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症

[0111] 肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)是由皮层、脑干和脊髓内运动神经元的损失引起的罕见神经退化疾病。患者遭受延髓肌、呼吸肌和随意肌的肌肉质量、强度和功能的进行性损失。衰退是不可避免的,并且在诊断之后平均2至5年发生通常因呼吸衰竭所致的死亡。尽管大多数患者罹患散发性ALS,但较小部分患者(约2%)患有由超氧化物歧化酶1(SOD1)中的多种突变引起的遗传性或家族性形式的ALS。自从最初在1993年发现以来,已经报道了超过180种SOD1突变引起这种形式的ALS(称作SOD1 ALS)。肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症在线基因数据库(ALSoD)。Institute of Psychiatry,Psychology&Neuroscience.2015年公布;Rosen,Nature,364(6435):362(1993)。个别突变的疾病进展是可变的,在最严重突变下存活期小于15个月。尽管突变引起SOD1 ALS的机制是未知的,但令人信服的数据表明毒性功能获得而非SOD1活性损失是起始导致运动神经元死亡的事件级联的起因(Bruijn等,Science,281(5384):1851-4(1998))。

[0112] 获准用于ALS的治疗是利鲁唑(riluzole)(Rilutek®)和依达拉奉(edaravone)(Radicava™)。利鲁唑提供了存活期的适度增加(2至3个月)而未证明强度或失能的改善。依达拉奉减轻了如由肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症功能评分量表-修订版(ALSFRS-R)测量的功能衰退。依达拉奉对存活期的影响是未知的。不存在可用的SOD1特异性ALS治疗。

[0113] 超氧化物歧化酶1

[0114] 超氧化物歧化酶[Cu-Zn],也称为超氧化物歧化酶1(SOD1),是在人类中由位于染色体21上的SOD1基因编码的酶。

[0115] SOD1是形成β桶并且在每个亚单位中含有分子内二硫键和双核Cu/Zn位点的32kDa同源二聚体。这个Cu/Zn位点保留铜和锌离子并且负责催化超氧化物歧化为过氧化氢和双氧。

[0116] SOD1是负责破坏体内游离超氧自由基的三种超氧化物歧化酶之一。经编码的同功酶是可溶性细胞质和线粒体膜间腔蛋白质,它充当同源二聚体以使天然存在但有害的超氧自由基转化为分子氧和过氧化氢。过氧化氢然后可被另一种称为过氧化氢酶的酶分解。

[0117] SOD1基因中的至少180种突变与家族性ALS有关(Conwit RA,JNeurol Sci.,.251(1-2):1-2(2006);Al-Chalabi A,Leigh PN,Curr.Opin.in Neurol.,13(4):397-405(2000);Redler RL,Dokholyan NV,Progress in Molecular Biology and Translational Science,107:215-62(2012))。然而,野生型SOD1在细胞应激条件下也已经牵涉于代表90%的ALS患者的一大部分散发性ALS病例中。人类SOD1中最频繁的突变在美国是A4V;在日本是

H46R;并且在冰岛是G93S。其它众所周知的人类SOD1突变包括:A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S591、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R和G147R。在基于SOD1突变的疾病持续时间中存在显著异质性(参见图1)。几乎所有已知的引起ALS的SOD1突变都以显性方式起作用;SOD1基因的单个突变体拷贝足以引起所述疾病。

[0118] 人类SOD1的胺基酸序列可按UniProt P00441和GENBANK入藏号NP_000445找到,并且提供如下:

[0119]
MATKAVCVLK GDGPVQGIIN FEQKESNGPV KVWGSIKGLT EGLHGFHVHE
FGDNTAGCTS AGPHFNPLSR KHGGPKDEER HVGDLGNVTA DKDGVADVSI
EDSVISLSGD HCIIGRTLVV HEKADDLGKG GNEESTKTGN AGSRLACGVI
GIAQ **(SEQ ID NO:2)**

[0120] 编码人类SOD1的核苷酸序列按GENBANK入藏号NM_000454.4提供,并且也提供如下(由本公开的反义寡核苷酸识别的区域加下划线):

[0121]
```
  1 gtttggggcc agagtgggcg aggcgcggag gtctggccta taaagtagtc gcggagacgg
 61 ggtgctggtt tgcgtcgtag tctcctgcag cgtctggggt ttccgttgca gtcctcggaa
121 ccaggacctc ggcgtggcct agcgagttat ggcgacgaag gccgtgtgcg tgctgaaggg
181 cgacggccca gtgcagggca tcatcaattt cgagcagaag gaaagtaatg gaccagtgaa
241 ggtgtgggga agcattaaag gactgactga aggcctgcat ggattccatg ttcatgagtt
301 tggagataat acagcaggct gtaccagtgc aggtcctcac tttaatcctc tatccagaaa
361 acacggtggg ccaaaggatg aagagaggca tgttggagac ttgggcaatg tgactgctga
421 caaagatggt gtggccgatg tgtctattga agattctgtg atctcactct caggagacca
481 ttgcatcatt ggccgcacac tggtggtcca tgaaaaagca gatgacttgg gcaaaggtgg
541 aaatgaagaa agtacaaaga caggaaacgc tggaagtcgt ttggcttgtg gtgtaattgg
601 gatcgcccaa taaacattcc cttggatgta gtctgaggcc ccttaactca tctgttatcc
661 tgctagctgt agaaatgtat cctgataaac attaaacact gtaatcttaa aagtgtaatt
721 gtgtgacttt ttcagagttg ctttaaagta cctgtagtga gaaactgatt tatgatcact
781 tggaagattt gtatagtttt ataaaactca gttaaaatgt ctgtttcaat gacctgtatt
841 ttgccagact taaatcacag atgggtatta aacttgtcag aatttctttg tcattcaagc
901 ctgtgaataa aaaccctgta tggcacttat tatgaggcta ttaaaagaat ccaaattcaa
961 actaaaaaaa aaaaaaaaaa a  (SEQ ID NO:3)
```

[0122] ISIS 666853

[0123] ISIS 666853是具有序列(从5'至3')CAGGATACATTTCTACAG CT(SEQ ID NO:1)的5-10-5MOE嵌合体(gapmer),其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。ISIS 666853由以下化学记法描述:mCes Aeo Ges Geo Aes Tds Ads mCds Ads Tds Tds Tds mCds Tds Ads mCeo Aes Geo mCes Te;其中,

[0124] A=腺嘌呤,

[0125] mC=5-甲基胞嘧啶,

[0126] G＝鸟嘌呤，

[0127] T＝胸腺嘧啶，

[0128] e＝2’-O-甲氧基乙基核糖修饰的糖，

[0129] d＝2’-脱氧核糖，

[0130] s＝硫代磷酸酯核苷间键，以及

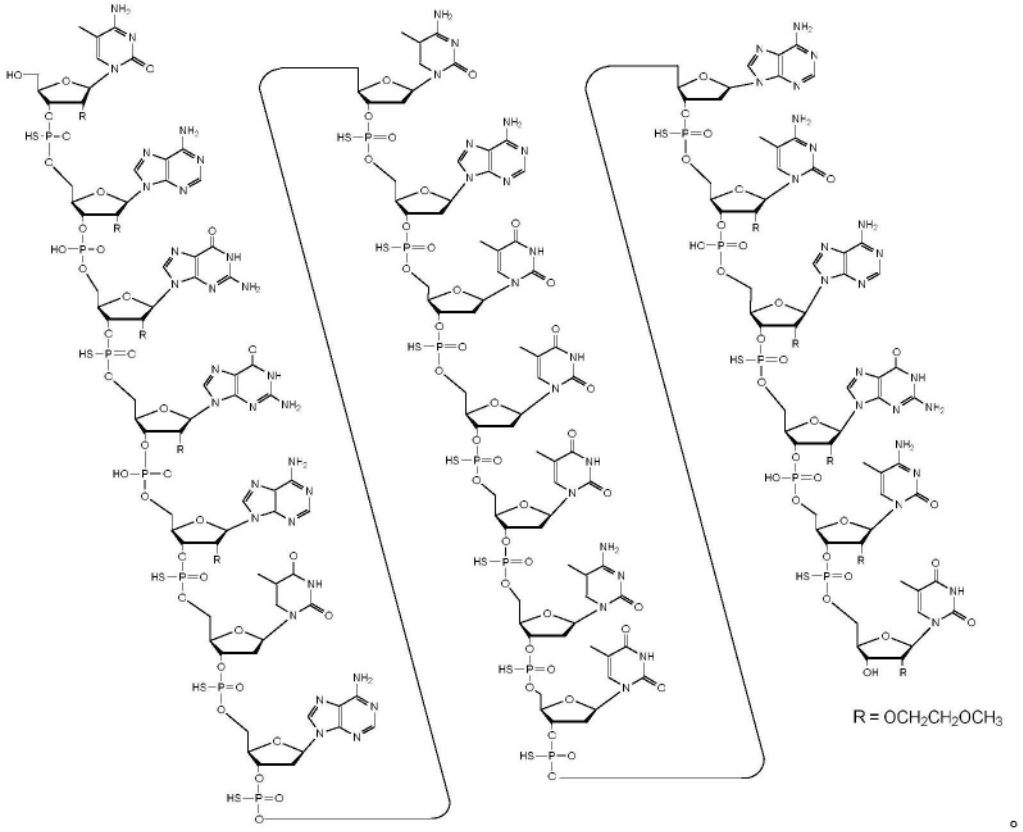
[0131] o＝磷酸二酯核苷间键。

[0132] ISIS 666853序列也可简写如下：

[0133] 5’-$^{Me}\underline{CA}_{P=O}\underline{GG}_{P=O}\underline{ATA}^{Me}CATTT^{Me}CTA^{Me}\underline{C}_{P=O}\underline{AG}_{P=O}{}^{Me}\underline{C}^{Me}\underline{U}$-3’

[0134] 加下划线的残基是2’-MOE核苷。P＝O批注反映磷酸二酯键的位置。

[0135] ISIS 666853由以下化学结构描绘：

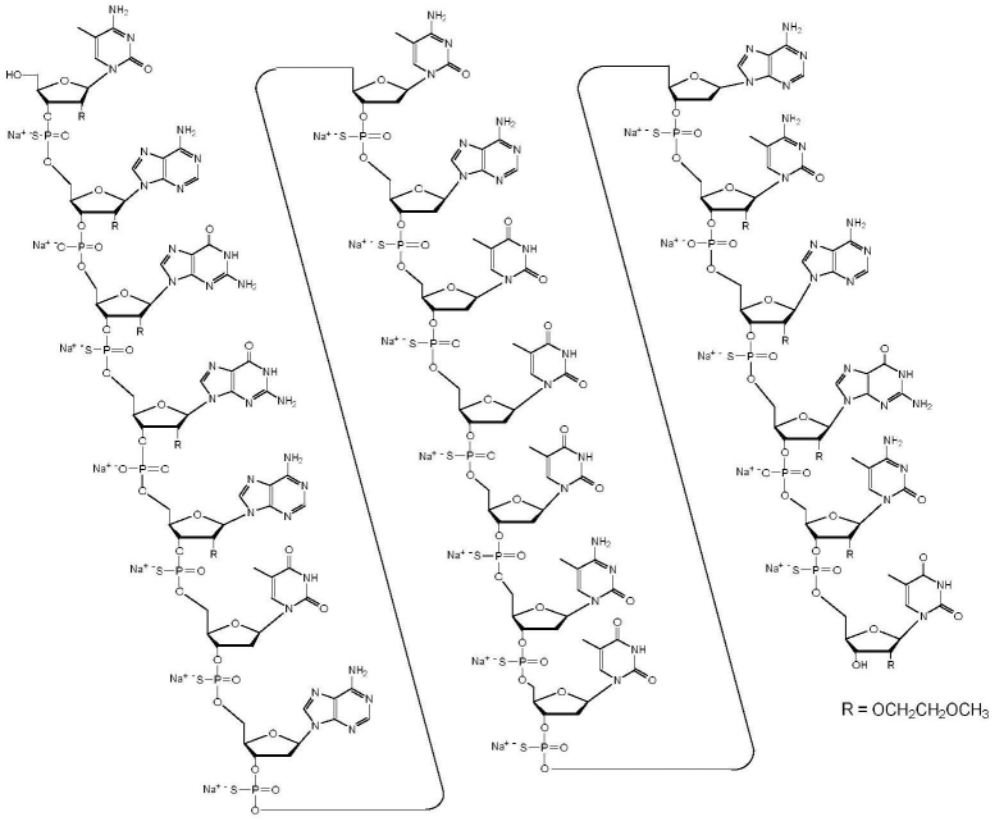
[0136] 

[0137] 应了解，在溶液中，反义寡核苷酸可呈游离酸形式、盐形式或它们的混合物存在。

[0138] ISIS 666853的十九钠盐(“化合物A”)

[0139] 化合物A是ISIS 666853的十九钠盐，它是降低患有SOD1 ALS的受试者中的SOD1蛋白质水平的SOD1信使核糖核酸(mRNA)的反义寡核苷酸抑制剂。减少SOD1 mRNA并且随后减少毒性SOD1蛋白质可为患有SOD1 ALS的受试者提供治疗效益。

[0140] 化合物A的结构提供如下：

[0141] 

[0142] 化合物A的分子式是:C_{230} H_{298} N_{72} Na_{19} O_{123} P_{19} S_{15},它的分子量＝7545.59amu。

[0143] 化合物A与人类SOD1的mRNA的3'非翻译区(3'UTR)的一部分互补,通过瓦生克立克碱基配对(Watson Crick base pairing)而结合。化合物A与同源mRNA的杂交(结合)引起SOD1的mRNA的RNase-H1介导的降解,并且由此减少SOD1蛋白质合成的量。RNase H是广泛表达的酶(核酸酶),所述酶识别脱氧核糖核酸-核糖核酸(DNA-RNA)异源双链体并且使双链体的RNA链裂解。通过结合至SOD1 mRNA的3'-UTR区,化合物A使RNase H1选择性地靶向SOD1mRNA并且促进SOD1 mRNA的裂解,使得SOD1的野生型和突变型变异体的表达均减少。

[0144] 化合物A显著增加SOD1 G93A转基因小鼠的中位存活期(Mantel-Cox,$p<0.01$)。化合物A也促成对神经肌肉功能的剂量依赖性保护,如由SOD1 G93A转基因小鼠中的复合肌肉动作电位所测量。

[0145] 缀合的反义寡核苷酸

[0146] 本公开的反义寡核苷酸可共价连接至增强所得反义寡核苷酸的活性、细胞分布或细胞摄取的一个或多个部分或缀合物。典型的缀合基团包括胆固醇部分和脂质部分。另外的缀合基团包括碳水化合物、磷脂、生物素、啡嗪(phenazine)、叶酸、啡啶(phenanthridine)、蒽醌、吖啶、荧光素、罗丹明(rhodamine)、香豆素和染料。反义寡核苷酸还可经修饰以具有一个或多个稳定基团,所述一个或多个稳定基团一般附接至反义寡核苷酸的一端或两端以增强如核酸酶稳定性的特性。稳定基团中包括帽结构。这些末端修饰保护具有末端核酸的反义寡核苷酸免于核酸外切酶降解,并且可帮助在细胞内递送和/或定位。帽可存在于5'端(5'帽)或3'端(3'帽),或可存在于两端。帽结构在本领域中是众所周知的并且包括例如反向脱氧无碱基帽。可用于将反义寡核苷酸的一端或两端封帽以赋予核酸酶稳定性的其它3'和5'稳定基团包括WO 03/004602中所公开的那些。

[0147] 用于配制药物组合物的组合物和方法

[0148] 本公开的反义寡核苷酸或其盐可与药学上可接受的活性或惰性物质混合用于制备药物组合物或配方。用于配制药物组合物的组合物和方法取决于许多准则,包括但不限于施用途径、疾病程度或将施用的剂量。

[0149] 靶向SOD1核酸的反义寡核苷酸或其盐可通过将反义寡核苷酸或其盐与适合的药学上可接受的稀释剂或载剂组合而用于药物组合物中。药学上可接受的稀释剂包括磷酸盐缓冲盐水(PBS)。PBS是适合用于将肠道外递送的组合物中的稀释剂。因此,在一个实施方案中,本文所描述的方法中采用包含靶向SOD1核酸的反义寡核苷酸或其盐以及药学上可接受的稀释剂的药物组合物。

[0150] 本文所描述的反义寡核苷酸或其盐可配制成用于向受试者鞘内施用的药物组合物。

[0151] 包含本公开的反义寡核苷酸的药物组合物涵盖任何药学上可接受的盐、酯或此类酯的盐,或者在向包括人类的动物施用后能够(直接或间接)提供生物活性代谢物或其残余物的任何其它寡核苷酸。因此,举例来说,本公开还涉及反义寡核苷酸的药学上可接受的盐和其它生物等效物。适合的药学上可接受的盐包括但不限于钠盐和钾盐。

[0152] 治疗方法

[0153] 本公开关于治疗或预防有需要的人类受试者的与人类SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用固定剂量的反义寡核苷酸,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。在某些情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约100mg或100mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约60mg或60mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约40mg或40mg。在一些其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约20mg或20mg。在某些情况下,反义寡核苷酸的钠盐的固定剂量为约105.9mg或105.9mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的钠盐的固定剂量为约63.5mg或63.5mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的钠盐的固定剂量为约42.3mg或42.3mg。在一些其它情况下,反义寡核苷酸的钠盐的固定剂量为约21.2mg或21.2mg。

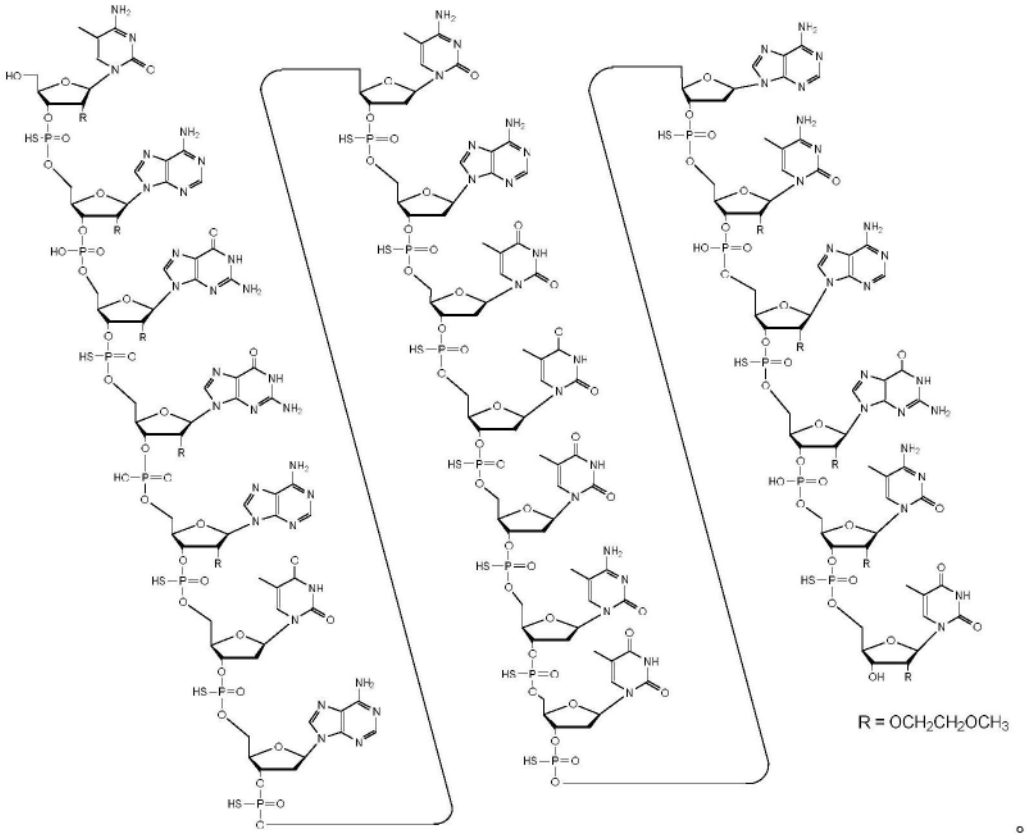
[0154] 还提供了减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用固定剂量的反义寡核苷酸,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。在某些情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约100mg或100mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约60mg或60mg。

在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约40mg或40mg。在一些其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约20mg或20mg。

[0155] 还提供了降低在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1 mRNA水平的方法。所述方法涉及通过鞘内施用向人类受试者施用固定剂量的反义寡核苷酸,其中反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。在某些情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约100mg或100mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约60mg或60mg。在其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约40mg或40mg。在一些其它情况下,反义寡核苷酸的固定剂量为约20mg或20mg。

[0156] 还提供了治疗或预防有需要的人类受试者的与SOD1基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,其中所述方法需要通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:

[0157]

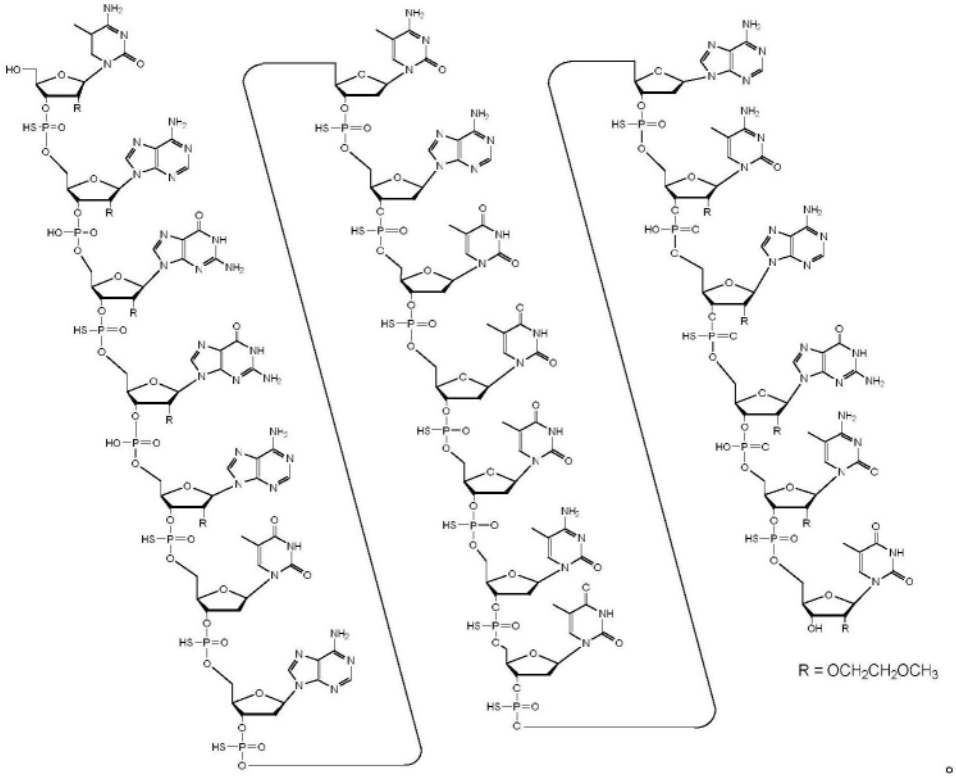


。

在某些情况下,以等效于约100mg或100mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约60mg或60mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约40mg或40mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约20mg或20mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。

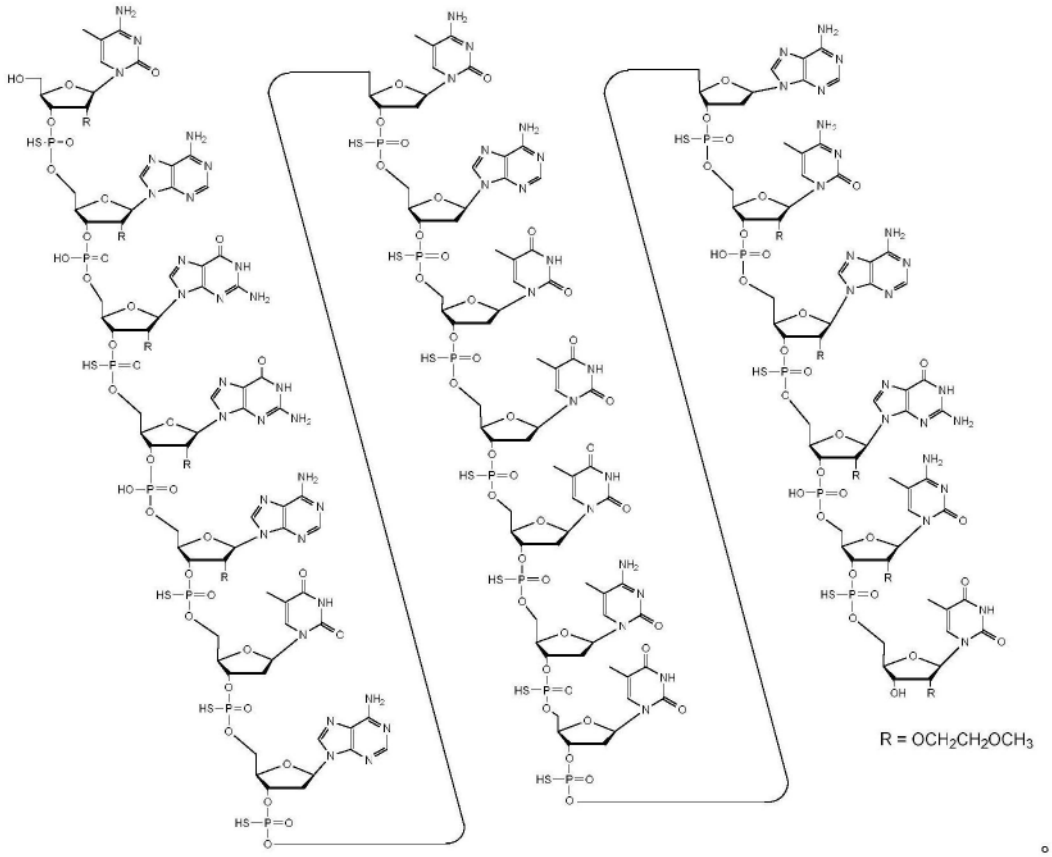
[0158] 还提供了减少在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突

变的人类受试者中的人类SOD1蛋白质合成的方法,其中所述方法需要通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:



在某些情况下,以等效于约100mg或100mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约60mg或60mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约40mg或40mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约20mg或20mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。

[0159] 还提供了降低在人类SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的人类SOD1 mRNA水平的方法,其中所述方法需要通过鞘内施用向人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中反义寡核苷酸具有以下结构:



在某些情况下,以等效于约100mg或100mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约60mg或60mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约40mg或40mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。在其它情况下,以等效于约20mg或20mg反义寡核苷酸的剂量施用反义寡核苷酸或其盐。

[0160] 在一些情况下,每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次向人类受试者施用上述固定剂量的反义寡核苷酸或其盐。

[0161] 在一些情况下,作为药物组合物的一部分向人类受试者施用本文所描述的反义寡核苷酸。在某些实施方案中,以足以递送约20mg固定剂量(即,等效于约20mg)的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用药物组合物。在某些实施方案中,以足以递送约40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用药物组合物。在某些实施方案中,以足以递送约60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用药物组合物。在某些实施方案中,以足以递送约100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量向人类受试者施用药物组合物。

[0162] 在某些实施方案中,作为一个或多个负载剂量施用上述固定剂量的反义寡核苷酸或其盐。在一些实施方案中,作为一个或多个维持剂量施用上述固定剂量的反义寡核苷酸。在某些情况下,作为一个或多个负载剂量并且继之以一个或多个维持剂量施用上述固定剂量的反义寡核苷酸。可例如每周、每两周、每三周或每四周施用一个或多个负载剂量。在最后一个负载剂量之后,可例如每周、每两周、每三周或每四周施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,每个月施用一个或多个维持剂量。

[0163] 在某些实施方案中,向人类受试者施用反义寡核苷酸或其盐的三个负载剂量,继之以至少一个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个或更多个)维持剂量。在一些情况下,相隔两周施用三个负载剂量。在一些情况下,相隔14天施用三个负载剂量。在一些情况下,

在第三负载剂量之后4周开始施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后开始每个月施用一个或多个维持剂量。在一些情况下,在第三负载剂量之后开始每28天施用一个或多个维持剂量。

[0164] SOD1中的突变可为人类SOD1基因中与ALS有关的任何突变。在一些情况下,突变是缓慢进展ALS疾病突变。在其它情况下,突变是快速进展ALS疾病突变。在某些情况下,人类SOD1基因中的突变是以下一者或多者:A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S591、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。在一个特定实施方案中,人类受试者具有人类SOD1基因中的A4V突变。在另一个特定实施方案中,人类受试者具有人类SOD1基因中的H46R突变。在又一个特定实施方案中,人类受试者具有人类SOD1基因中的G93S突变。

[0165] 在某些情况下,通过基因测试鉴定SOD1基因中的突变。

[0166] 在一些情况下,上文所描述的方法涉及通过基因测试鉴定SOD1基因中的突变。

[0167] 在某些实施方案中,治疗有效量的反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)向人类受试者的施用伴随监测人类受试者中的SOD1水平,以确定人类受试者对反义寡核苷酸或其盐的施用的反应。人类受试者对反义寡核苷酸或其盐的施用的反应可由医师用于确定治疗性干预的量和持续时间。在某些实施方案中,监测CSF中的人类SOD1水平。在某些实施方案中,监测血浆中的人类SOD1水平。

[0168] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的施用使得SOD1蛋白质表达减少。在某些实施方案中,反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的施用使得SOD1蛋白质表达减少了至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,或由这些值中的任两者界定的范围。在某些实施方案中,SOD1蛋白质表达的减少是CSF中的减少。在某些实施方案中,SOD1蛋白质表达的减少是血浆中的减少。

[0169] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的施用使得人类受试者的运动功能和呼吸改善。在某些实施方案中,反义寡核苷酸或其盐的施用使运动功能和呼吸改善了至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,或由这些值中的任两者界定的范围。

[0170] 在某些实施方案中,包含反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的药物组合物用于制备用以治疗罹患或易患ALS的人类受试者(例如,在SOD1中具有与ALS有关的突变的人类受试者)的药剂。

[0171] 递送装置

[0172] 在某些实施方案中,使用供鞘内递送的注射器向人类受试者施用反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)。在另一个实施方案中,使用供鞘内递送的泵向人类受试者施用反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)。因此,本公开还提供了一种包含反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的无菌制剂的泵或注射器。注射器或泵可适于鞘内施用反义寡核苷酸或其盐。在一些情况下,注射器或泵递送一个或多个固定剂量(例如,约20mg或20mg、约40mg或40mg、约60mg或60mg,或约100mg或100mg)的反义寡核苷酸。本公开还提供了一种包含含有反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)的药物组合物的无菌制剂的泵或注射器。注射器或泵可适于

鞘内施用药物组合物。在一些情况下,注射器或泵递送一个或多个固定剂量(例如,约20mg或20mg、约40mg或40mg、约60mg或60mg,或约100mg或100mg)的反义寡核苷酸的药物组合物。在特定实施方案中,泵或注射器包含反义寡核苷酸或其盐的无菌制剂,其中注射器或泵适于以20mg、40mg、60mg或100mg反义寡核苷酸的固定剂量鞘内施用反义寡核苷酸或其盐(例如,化合物A)。

[0173] 测定

[0174] RNA分离

[0175] 可对总细胞RNA或聚(A)+mRNA进行RNA分析。根据制造商推荐的方案,使用本领域中众所周知的方法,例如使用TRIZOL试剂(Invitrogen,Carlsbad,CA)制备RNA。

[0176] 标靶水平或表达的抑制的分析

[0177] 可按本领域中已知的多种方式测定SOD1核酸水平或表达的抑制。举例来说,可通过例如北方墨点分析、竞争聚合酶链反应(PCR)或定量实时PCR来定量标靶核酸水平。可对总细胞RNA或聚(A)+mRNA进行RNA分析。RNA分离方法在本领域中是众所周知的。北方墨点分析在本领域中也是常规的。可使用可获自PE-Applied Biosystems,Foster City,CA并且根据制造商的说明书使用的可商购的ABIPRISM 7600、7700或7900序列检测系统便利地实现定量实时PCR。

[0178] 标靶RNA水平的定量实时PCR分析

[0179] 可通过定量实时PCR使用ABIPRISM 7600、7700或7900序列检测系统(PE-Applied Biosystems,Foster City,CA)根据制造商的说明书实现SOD1 RNA水平的定量。定量实时PCR的方法在本领域中是众所周知的。

[0180] 在实时PCR之前,对分离的RNA进行逆转录酶(RT)反应,产生互补DNA(cDNA),cDNA然后用作实时PCR扩增的底物。RT和实时PCR反应在同一样品孔中依序进行。RT和实时PCR试剂获自Invitrogen(Carlsbad,CA)。通过本领域技术人员众所周知的方法进行RT实时PCR反应。

[0181] 使用表达恒定的基因,例如亲环素A(cyclophilin A)的表达水平,或通过使用RIBOGREEN(Invitrogen,Inc.Carlsbad,CA)定量总RNA对通过实时PCR获得的基因(或RNA)标靶量进行归一化。通过实时PCR,通过与标靶同时、多任务或独立运作来定量亲环素A的表达。使用RIBOGREEN RNA定量试剂(Invitrogen,Inc.Eugene,OR)来定量总RNA。由RIBOGREEN进行RNA定量的方法在Jones,L.J.等(Analytical Biochemistry,1998,265,368-374)中教示。CYTOFLUOR 4000仪器(PE Applied Biosystems)用于测量RIBOGREEN荧光。

[0182] 探针和引物经设计以杂交至SOD1核酸。设计实时PCR探针和引物的方法在本领域中是众所周知的,并且可包括使用软件,例如PRIMER EXPRESS软件(Applied Biosystems,Foster City,CA)。

[0183] 蛋白质水平的分析

[0184] 可通过测量SOD1蛋白质水平来评定SOD1核酸的反义抑制。可按本领域中众所周知的多种方式,例如免疫沉淀、西方墨点分析(免疫墨点法)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、定量蛋白质测定、蛋白质活性测定(例如,半胱天冬酶活性测定)、免疫组织化学、免疫细胞化学或荧光活化细胞分选(FACS)来评估或定量SOD1的蛋白质水平。针对标靶的抗体可从多种来源,例如MSRS抗体目录(Aerie Corporation,Birmingham,MI)鉴定和获得,或可经由本领域

中众所周知的常规单克隆或多克隆抗体产生方法来制备。适用于检测人类SOD1的抗体是可商购的。

[0185] 用于SOD1突变的测试

[0186] 关于ALS的一种潜在基因原因是人类SOD1基因中的一个或多个突变。因此,可通过使用本领域中已知的测定,例如基因测序对受试者的SOD1基因的基因测试来进行罹患或易患ALS的受试者的鉴定。在本领域中已知人类SOD1中的至少180种突变与ALS有关。

[0187] 还可通过分析受试者的ALS家族史来进行受试者对ALS疾病的易感性的分析。家族史分析可包括文件记载ALS的三代谱系、医疗记录的查阅和家族成员的尸检研究,以及SOD1突变的常染色体显性模式的鉴定。

[0188] 以下实施例不应解释为以任何方式限制本发明的范围。

[0189] 实施例

[0190] 实施例1:试验设计

[0191] 化合物A处于进行中的临床试验的研究下。试验涉及SOD1 ALS患者中的随机化、安慰剂对照、单递增剂量(SAD)和多递增剂量(MAD)研究。在MAD部分中,参与者经过约3个月接受研究药物的5个剂量。将五十名参与者随机化(每个群组3:1)以接受20mg、40mg、60mg或100mg化合物A,或安慰剂。在1与4之间,每个群组的经化合物A处理的参与者具有先验判定为快速进展的文件记载的SOD1突变(主要是A4V)。

[0192] 实施例2:安全性型态

[0193] 在试验中,70名患者中的66名(94%)经历至少1个不良事件(AE),其中大多数分级为轻度或中度。在≥3名接受化合物A的参与者中发生的最常见AE是头痛(n=16)、程序性疼痛(n=14)和腰椎穿刺后综合征(n=13)。七名患者经历严重不良事件(SAE),其中3个是致命事件。在最高剂量组(化合物A 100mg)中无SAE报告。六名受试者具有评定为与化合物A无关并且感觉与ALS或合并症相关的SAE。所有致命事件都评定为无关的。一名患者具有评定为与化合物A相关的CSF白血球增加和CSF蛋白质增加的SAE。不管化合物A的持续给药,那些实验室异常消退,并且患者完成研究。在所测试的最高剂量100mg中无严重不良事件报告。

[0194] 实施例3:药物动力学和药效学

[0195] 在SAD(未示出)和MAD群组(图2)中观测到化合物A血浆(未示出)和CSF浓度的剂量依赖性增加。第1天和第85天测量的化合物A的血浆浓度与剂量成比例,而化合物A在CSF中的暴露显示小于剂量成比例的反应。在40mg多剂量水平和更高水平(即,60mg和100mg)下观测到CSF SOD1浓度从基线的降低,所述降低随剂量而增大,在100mg多剂量组中最大平均降低36%(图3)。在100mg剂量组中的所有参与者中观测到CSF SOD1从基线的降低。在最后一个剂量时或之后立即观测到最大SOD1降低,指示超过5个剂量的连续给药可引起进一步降低。基于临床前数据的建模表明化合物A 100mg有效地使脊髓中的SOD1水平降低>99%并且皮层中降低约25-30%。

[0196] 实施例4:临床观测

[0197] 在多个时间点在包括肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症功能评分量表-修订版(ALFSFRS-R)、慢肺活量(SVC)和手持式测力计(HHD)标度的若干标度上评定功效。在所有群组中,经化合物A处理的组与经安慰剂处理的组相比具有较高,即较佳得分(图4A至4C)。在100mg剂量组(N=10)中经化合物A处理的参与者的ALSFRS-R得分从基线至第85天的平均变

化是-1.1对比经安慰剂处理的参与者(N＝12)的-5.6;4.4个点的差异。在具有已知快速进展的SOD1突变,例如A4V的参与者中,在100mg剂量组中的经化合物A处理的参与者与经安慰剂处理的参与者之间观测到明显差异。在这些快速进展的参与者中,ALSFRS-R从基线至第85天的变化的平均差异接近10个点(图5)。在快速进展(图5)和非快速进展的参与者(图6)中,处理效果跨越多个临床标度和CSF SOD1降低似乎是一致的。作为参考框架,在ALS的依达拉奉关键性试验中6个月时的ALSFRS-R差异是2.5个点。

[0198] 总之,试验已经证明化合物A对于患有SOD1 ALS的受试者是安全和有效的治疗。此是由经化合物A处理的具有快速进展突变亚型(主要是A4V)的受试者中,尤其100mg剂量组中的结果最强有力地支持,在不存在有效治疗的情况下将预期所述受试者快速衰退。如上文所指出,在多个时间点在包括肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症功能评分量表-修订版(ALSFRS-R)、慢肺活量(SVC)和手持式测力计(HHD)的若干标度上评定功效。结果显示在化合物A 100mg剂量组中3个临床功能终点中的每一者与安慰剂组相比小得多的衰退。

[0199] 实施例5:CSF磷酸化神经丝重链(pNFH)水平

[0200] 在具有快速进展SOD1突变的患者中,用化合物A处理与安慰剂相比使得CSF pNFH水平降低和临床衰退减缓。与具有其它SOD1突变的患者(图8)相比,在具有快速进展SOD1突变的患者(图7)中观测到第85天在化合物A 100mg与安慰剂组之间pNFH水平的较大差异。

[0201] 其它实施方案

[0202] 尽管本发明已经结合其具体实施方式来描述,但前述描述意图说明并且不限制本发明的范围,所述范围由随附权利要求书的范围界定。其它方面、优点和修改处于所附权利要求书的范围内。

[0203] 本申请进一步涉及以下实施方案:

[0204] 1.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0205] 2.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0206] 3.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约40mg固定剂量

的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0207] 4.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括以足以递送约20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0208] 5.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约100mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0209] 6.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约60mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0210] 7.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约40mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15

至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0211] 8.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括以足以递送约20mg固定剂量的反义寡核苷酸的量通过鞘内施用向所述人类受试者施用药物组合物,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

[0212] 9.如实施方案1至8中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V。

[0213] 10.如实施方案1至8中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S59I、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。

[0214] 11.如实施方案1至10中任一项所述的方法,其中通过基因测试鉴定所述SOD1基因中的所述突变。

[0215] 12.如实施方案1至10中任一项所述的方法,所述方法包括通过基因测试鉴定所述SOD1基因中的所述突变。

[0216] 13.如实施方案1至12中任一项所述的方法,其中在四个月的过程中至少5次向所述人类受试者施用所述药物组合物。

[0217] 14.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其中向所述人类受试者施用所述药物组合物的负载剂量,继之以所述药物组合物的维持剂量。

[0218] 15.如实施方案14所述的方法,其中向所述人类受试者施用三个负载剂量,并且其中相隔两周施用所述负载剂量。

[0219] 16.如实施方案14所述的方法,其中在所述第三负载剂量之后4周开始每4周施用所述维持剂量。

[0220] 17.如实施方案14所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0221] (i)所述药物组合物的第一负载剂量;

[0222] (ii)在所述第一负载剂量之后14天施用的所述药物组合物的第二负载剂量;

[0223] (iii)在所述第一负载剂量之后28天施用的所述药物组合物的第三负载剂量;以及

[0224] (iv)在所述第三负载剂量之后28天或1个月施用的所述药物组合物的第一维持剂量。

[0225] 18.如实施方案14所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0226] (i)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第一负载剂量;

[0227] (ii)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第二负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后14天施用所述第二负载剂量;

[0228] (iii)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第三负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后28天施用所述第三负载剂量;以及

[0229] (iv)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第一维持剂量,其中在所述第三负载剂量之后28天施用所述第一维持剂量。

[0230] 19.如实施方案14所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0231] (i)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第一负载剂量;

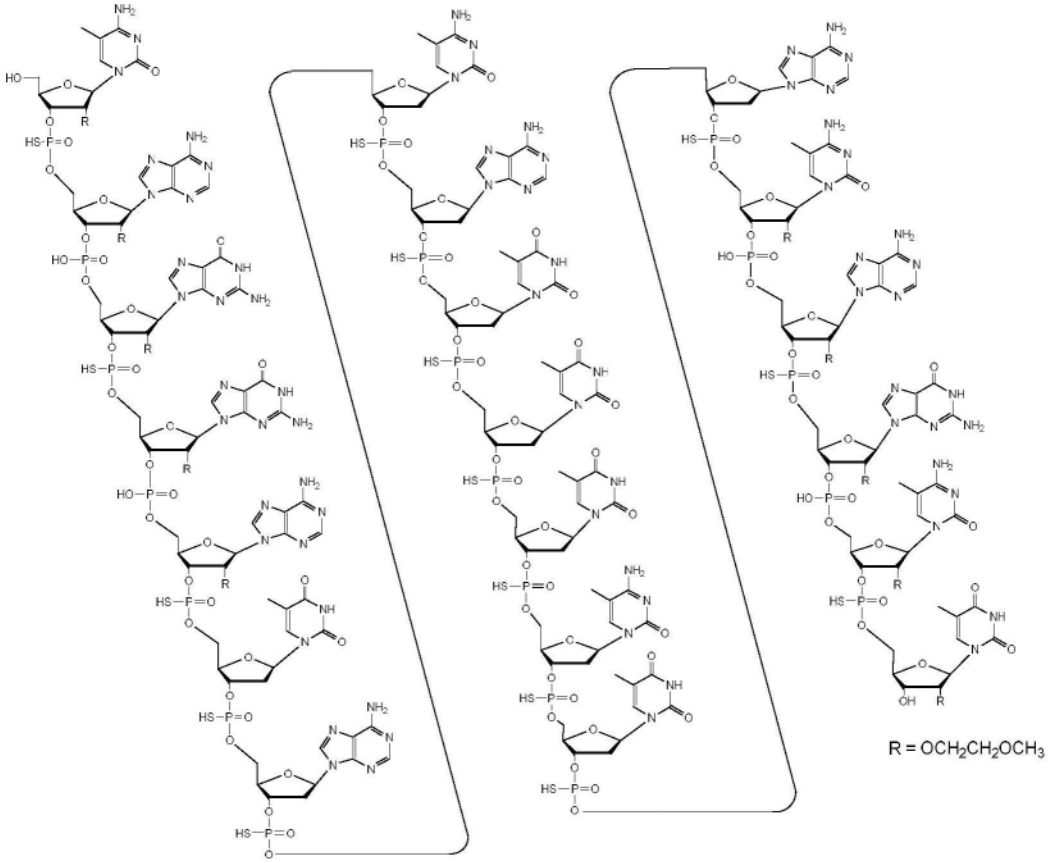
[0232] (ii)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第二负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后14天施用所述第二负载剂量;

[0233] (iii)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第三负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后28天施用所述第三负载剂量;以及

[0234] (iv)呈足以递送约100mg固定剂量的所述反义寡核苷酸的量的第一维持剂量,其中在所述第三负载剂量之后1个月施用所述第一维持剂量。

[0235] 20.一种包含反义寡核苷酸的无菌制剂的注射器或泵,其中所述注射器或泵适于以约20mg、约40mg、约60mg或约100mg的固定剂量鞘内施用所述反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸的核碱基序列由CAGGATACATTTCTACAGCT(SEQ ID NO:1)组成,其中核苷1-5和16-20中的每一者是2'-O-甲氧基乙基核糖修饰的核苷,并且核苷6-15中的每一者是2'-脱氧核苷,其中核苷2至3、4至5、16至17以及18至19之间的核苷间键是磷酸二酯键并且核苷1至2、3至4、5至6、6至7、7至8、8至9、9至10、10至11、11至12、12至13、13至14、14至15、15至16、17至18以及19至20之间的核苷间键是硫代磷酸酯键,并且其中每个胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶。

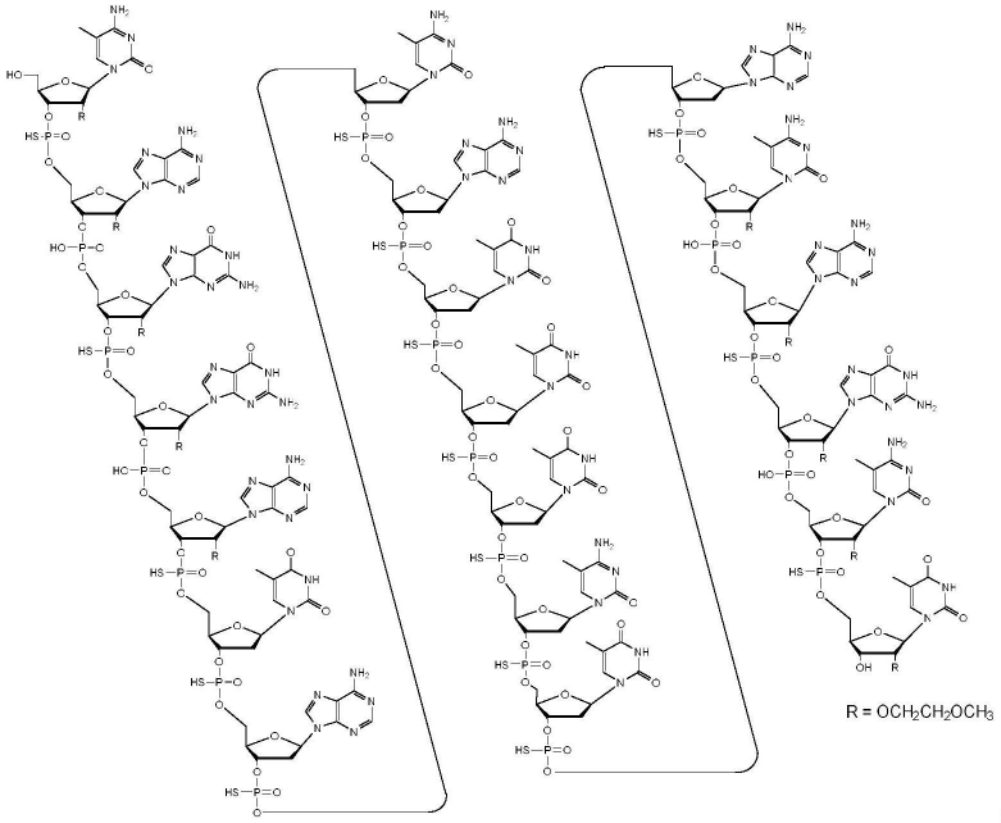
[0236] 21.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0237] 

,

[0238] 并且其中以等效于约100mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

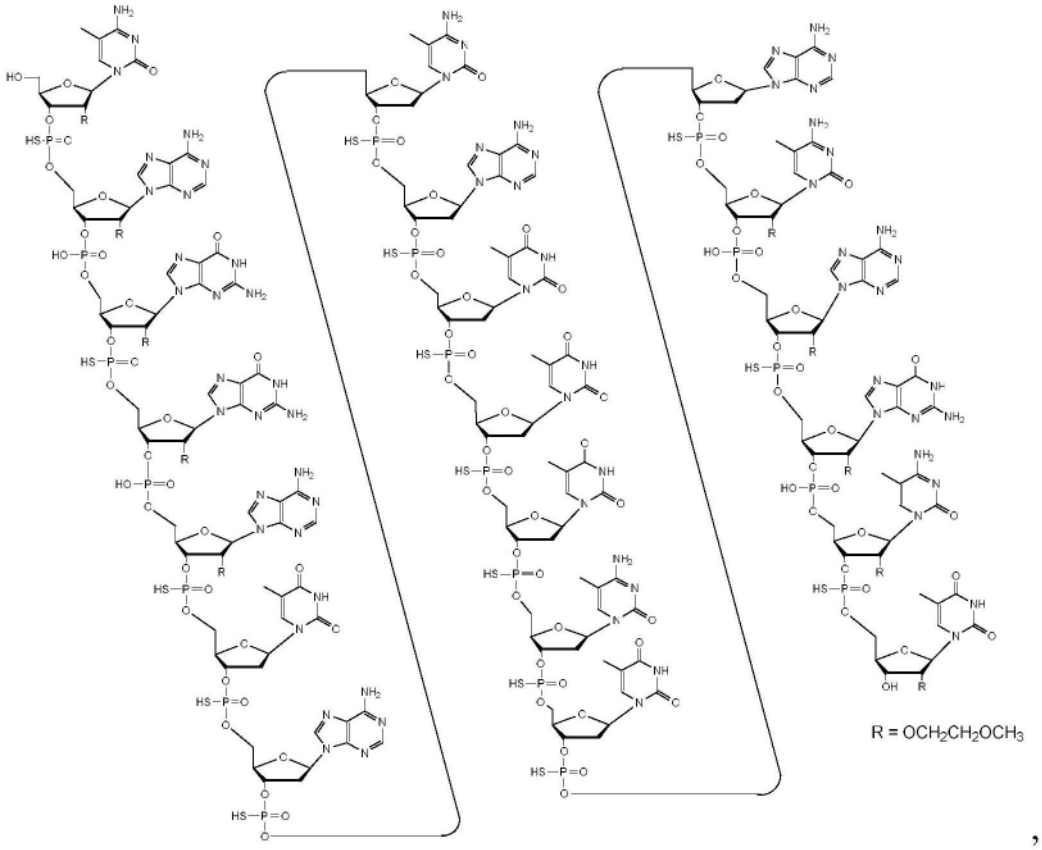
[0239] 22.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0240] 

,

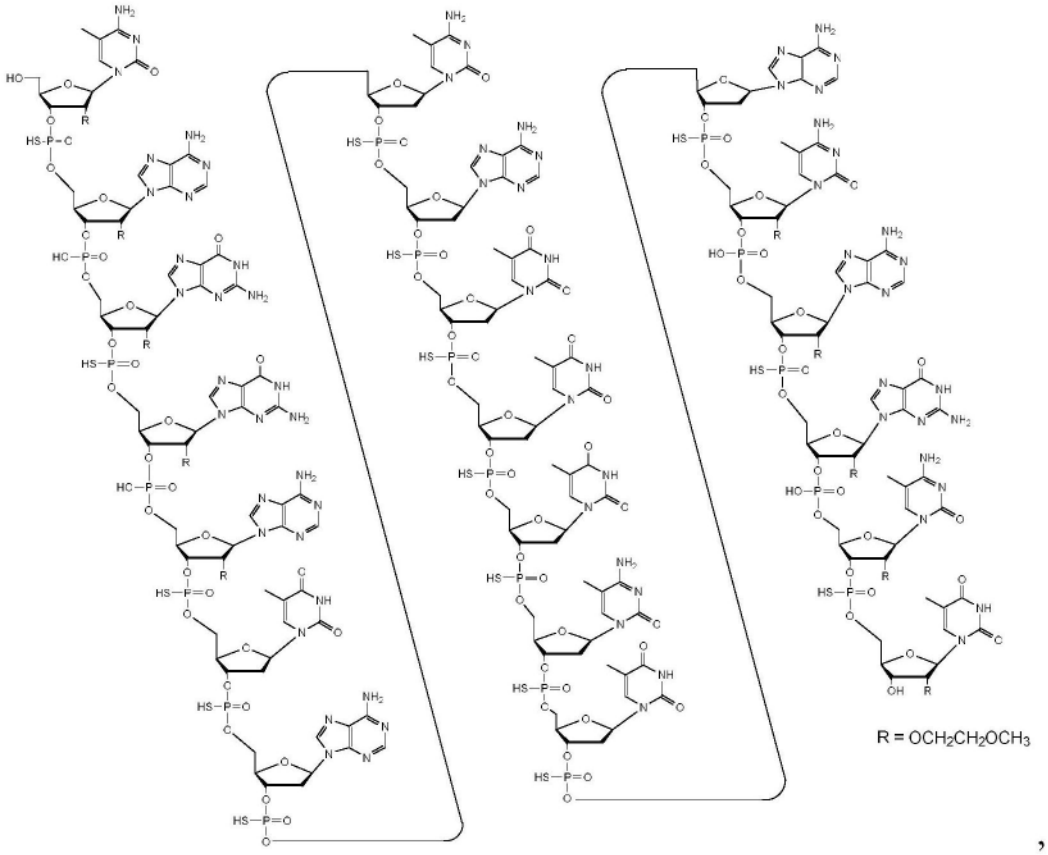
[0241] 并且其中以等效于约60mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

[0242] 23.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0243] 

[0244] 并且其中以等效于约40mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

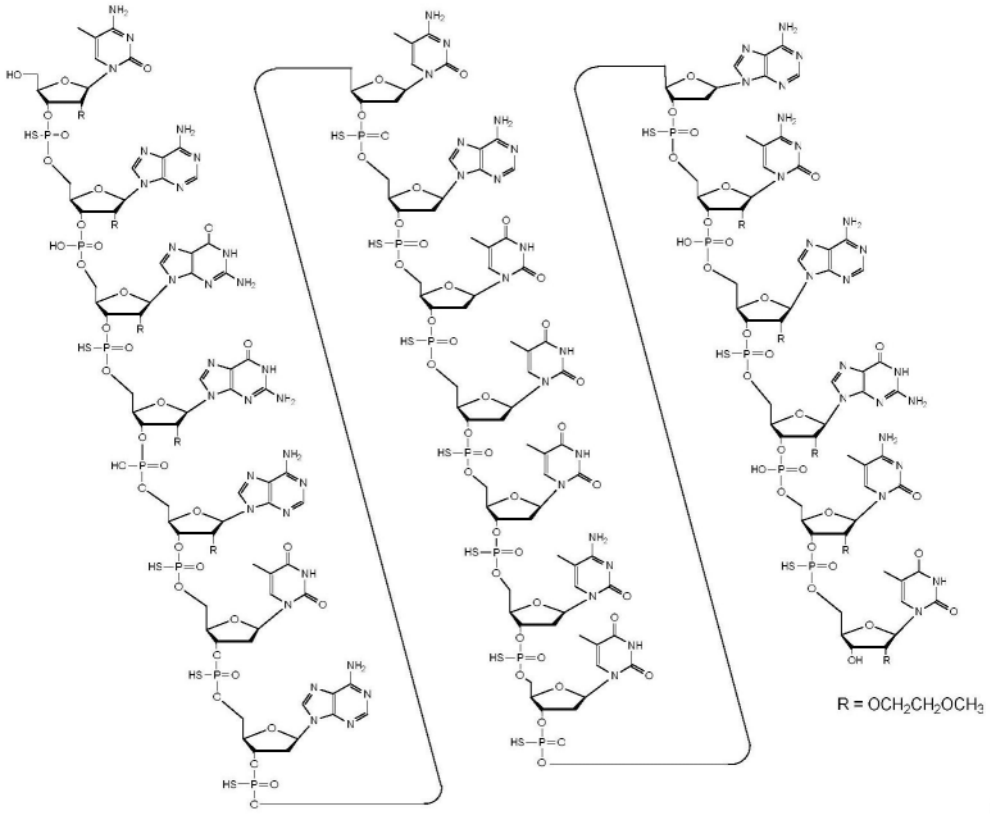
[0245] 24.一种治疗或预防有需要的人类受试者的与超氧化物歧化酶1(SOD1)基因中的突变相关联的肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0246] 

,

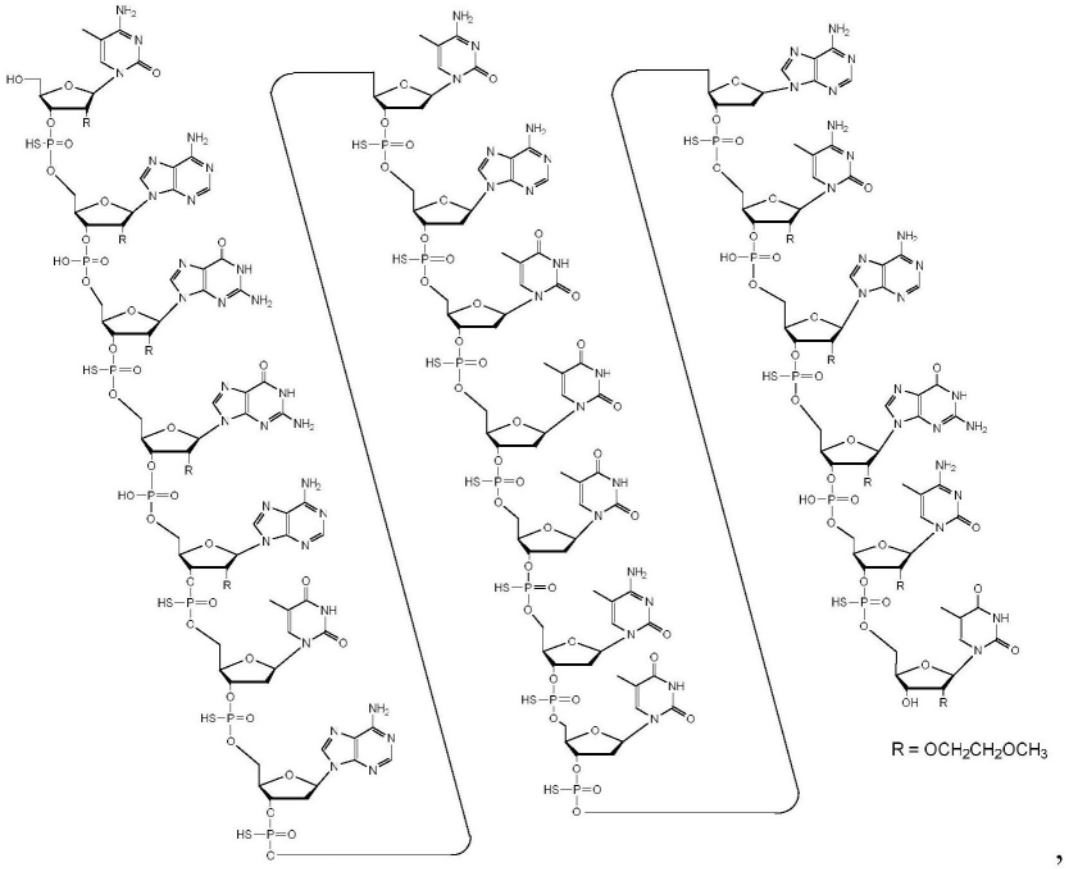
[0247] 并且其中以等效于约20mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

[0248] 25.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0249] 

[0250] 并且其中以等效于约100mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

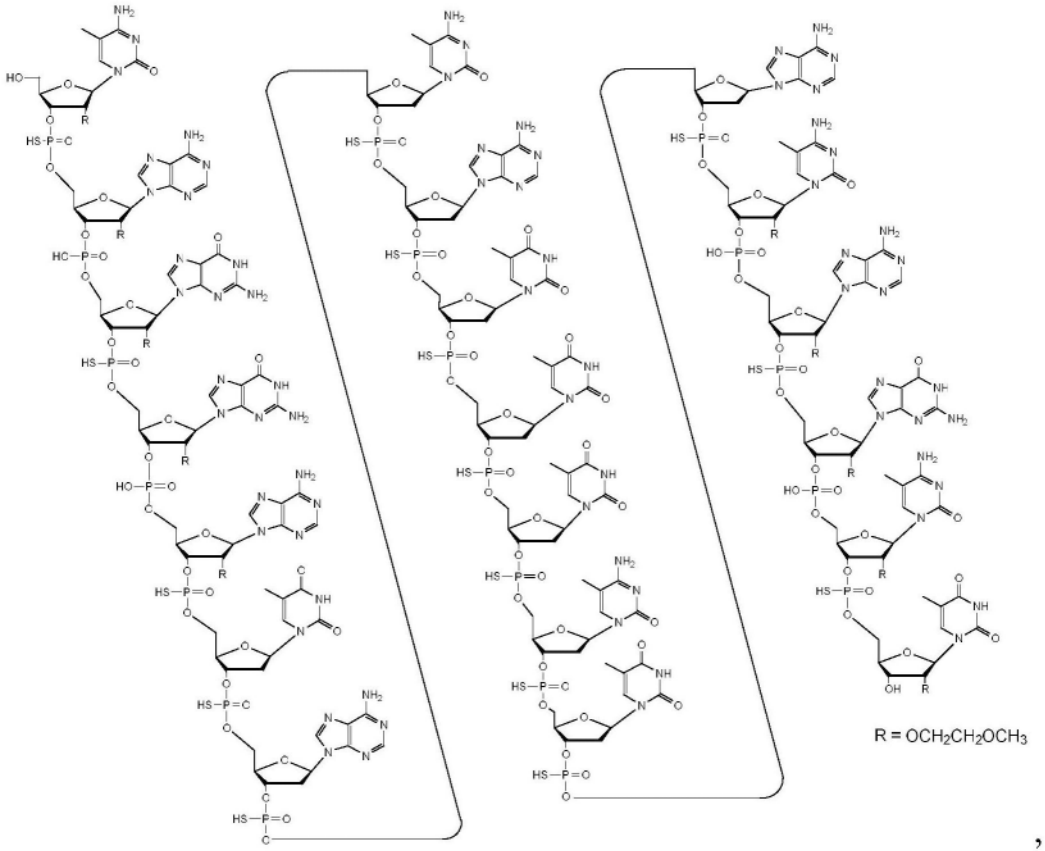
[0251] 26.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0252] 

,

[0253] 并且其中以等效于约60mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

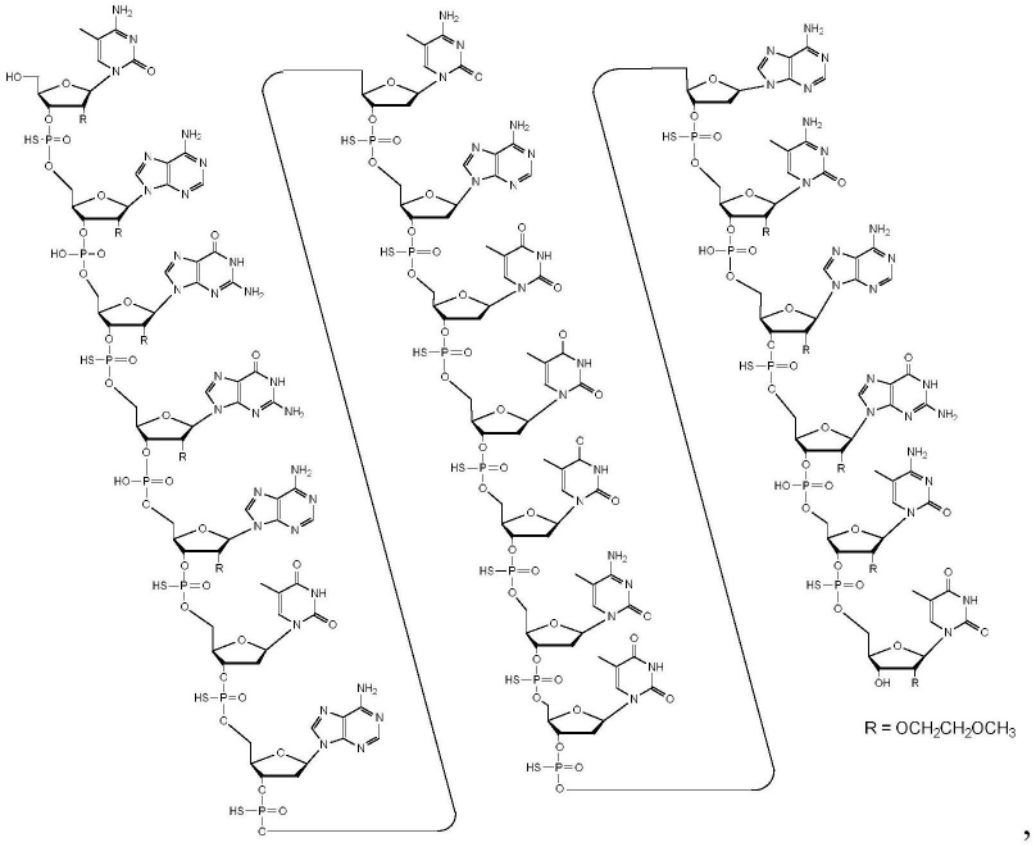
[0254] 27.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0255] 

,

[0256] 并且其中以等效于约40mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

[0257] 28.一种减少在SOD1基因中具有与肌肉萎缩性脊髓侧索硬化症相关联的突变的人类受试者中的超氧化物歧化酶1(SOD1)蛋白质合成的方法,所述方法包括通过鞘内施用向所述人类受试者施用包含反义寡核苷酸或其盐的药物组合物,其中所述反义寡核苷酸具有以下结构:

[0258] 

[0259] 并且其中以等效于约20mg所述反义寡核苷酸的剂量施用所述反义寡核苷酸或其盐。

[0260] 29.如实施方案21至28中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V。

[0261] 30.如实施方案21至28中任一项所述的方法,其中所述SOD1基因中的所述突变是A4V、H46R、G93S、A4T、G141X、D133A、V148G、N139K、G85R、G93A、V14G、C6S、I113T、D49K、G37R、A89V、E100G、D90A、T137A、E100K、G41A、G41D、G41S、G13R、G72S、L8V、F20C、Q22L、H48R、T54R、S591、V87A、T88δTAD、A89T、V97M、S105δSL、V118L、D124G、L114F、D90A、G12R或G147R。

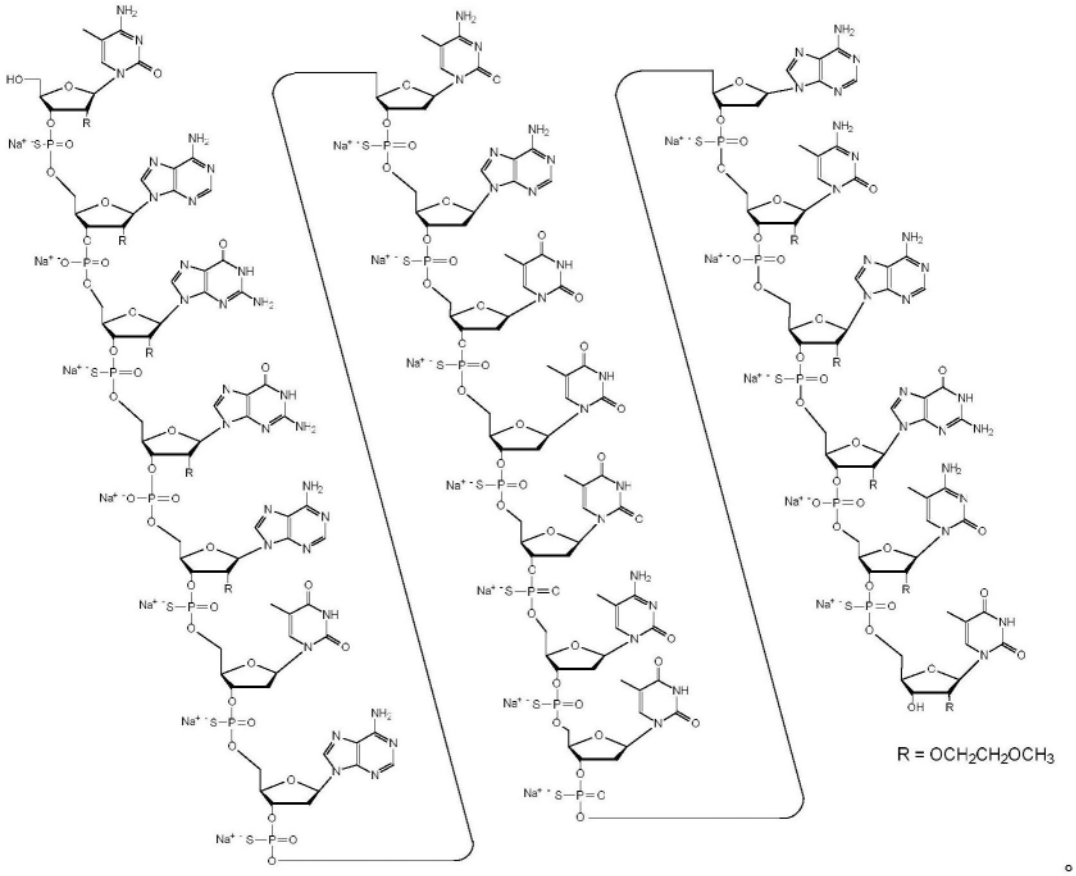
[0262] 31.如实施方案21至30中任一项所述的方法,其中通过基因测试鉴定所述SOD1基因中的所述突变。

[0263] 32.如实施方案21至30中任一项所述的方法,所述方法包括通过基因测试鉴定所述SOD1基因中的所述突变。

[0264] 33.如实施方案21至32中任一项所述的方法,其中向所述人类受试者施用所述反义寡核苷酸的盐。

[0265] 34.如实施方案33所述的方法,其中所述盐是钠盐。

[0266] 35.如实施方案33所述的方法,其中所述反义寡核苷酸的所述盐具有以下结构:

[0267] 

[0268] 36.如实施方案21至35中任一项所述的方法,其中向所述人类受试者施用所述药物组合物的负载剂量,继之以所述药物组合物的维持剂量。

[0269] 37.如实施方案36所述的方法,其中向所述人类受试者施用三个负载剂量,并且其中相隔两周施用所述负载剂量。

[0270] 38.如实施方案36所述的方法,其中在所述第三负载剂量之后4周开始每4周施用所述维持剂量。

[0271] 39.如实施方案36所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0272] (i)所述药物组合物的第一负载剂量;

[0273] (ii)在所述第一负载剂量之后14天施用的所述药物组合物的第二负载剂量;

[0274] (iii)在所述第一负载剂量之后28天施用的所述药物组合物的第三负载剂量;以及

[0275] (iv)在所述第三负载剂量之后28天或1个月施用的所述药物组合物的第一维持剂量。

[0276] 40.如实施方案36所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0277] (i)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第一负载剂量;

[0278] (ii)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第二负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后14天施用所述第二负载剂量;

[0279] (iii)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第三负载剂量,其中在所述第一负载剂

量之后28天施用所述第三负载剂量;以及

[0280] (iv)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第一维持剂量,其中在所述第三负载剂量之后28天施用所述第一维持剂量。

[0281] 41.如实施方案36所述的方法,其中如下向所述人类受试者施用所述药物组合物的所述负载剂量和维持剂量:

[0282] (i)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第一负载剂量;

[0283] (ii)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第二负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后14天施用所述第二负载剂量;

[0284] (iii)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第三负载剂量,其中在所述第一负载剂量之后28天施用所述第三负载剂量;以及

[0285] (iv)等效于约100mg所述反义寡核苷酸的第一维持剂量,其中在所述第三负载剂量之后1个月施用所述第一维持剂量。

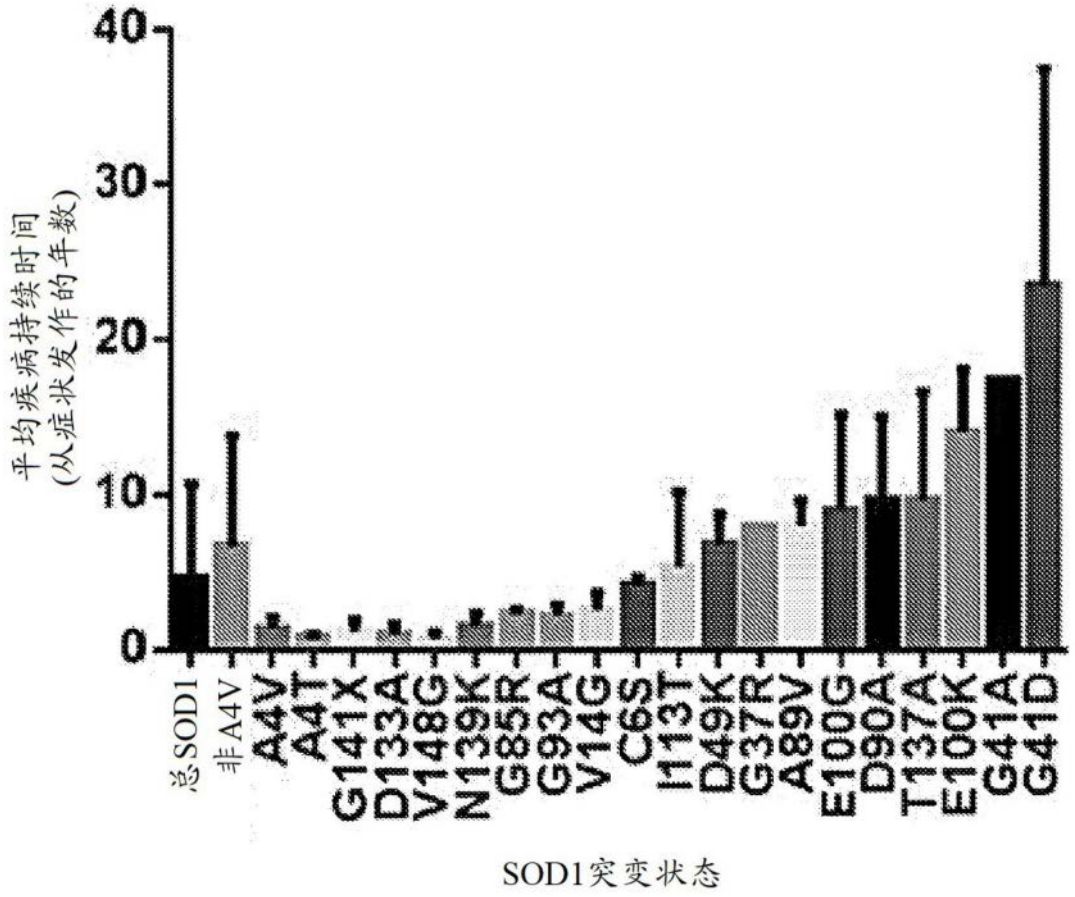

平均疾病持续时间
(从症状发作的年数)
40
30
20
10
0
总SOD1
非A4V
A4V
A4T
G141X
D133A
V148G
N139K
G85R
G93A
V14G
C6S
I113T
D49K
G37R
A89V
E100G
D90A
T137A
E100K
G41A
G41D
SOD1突变状态

图1

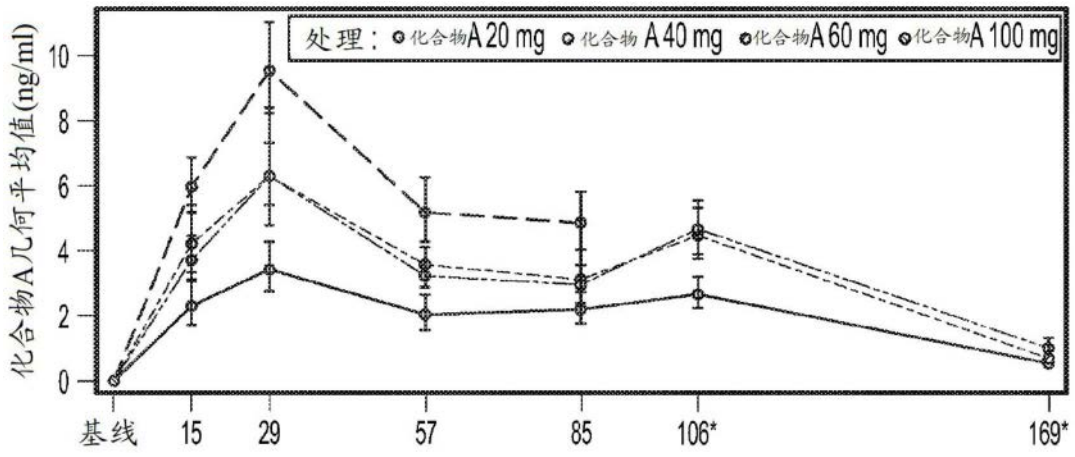

处理：化合物A 20 mg 化合物A 40 mg 化合物A 60 mg 化合物A 100 mg
化合物A几何平均值(ng/ml)
10
8
6
4
2
0
基线
15
29
57
85
106*
169*

图2

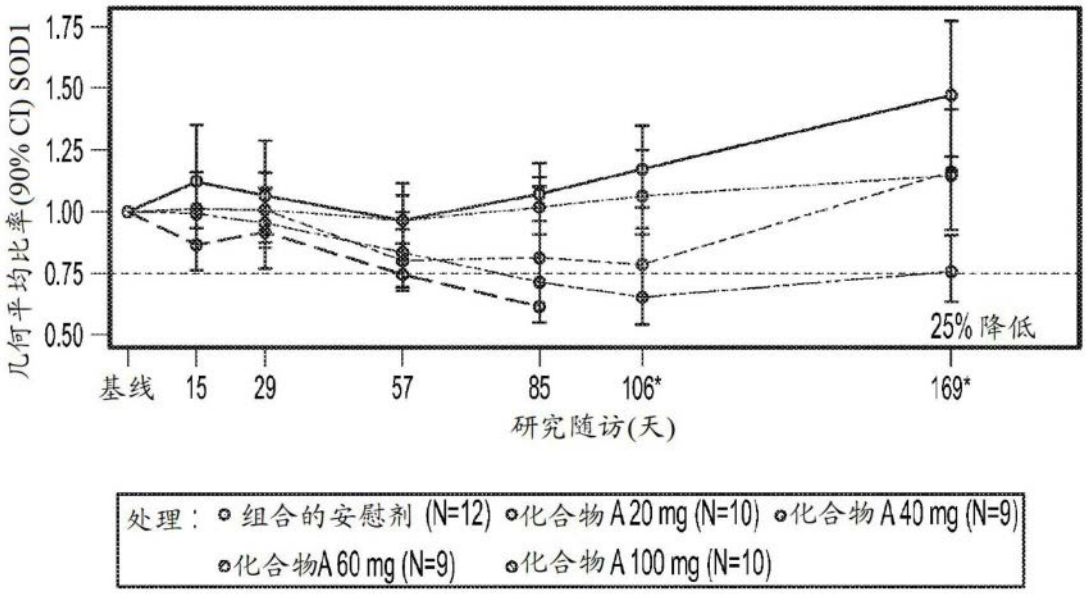

几何平均比率(90% CI) SOD1
1.75
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
25% 降低
基线
15
29
57
85
106*
169*
研究随访(天)
处理：
组合的安慰剂 (N=12)
化合物 A 20 mg (N=10)
化合物 A 40 mg (N=9)
化合物A 60 mg (N=9)
化合物 A 100 mg (N=10)

图3

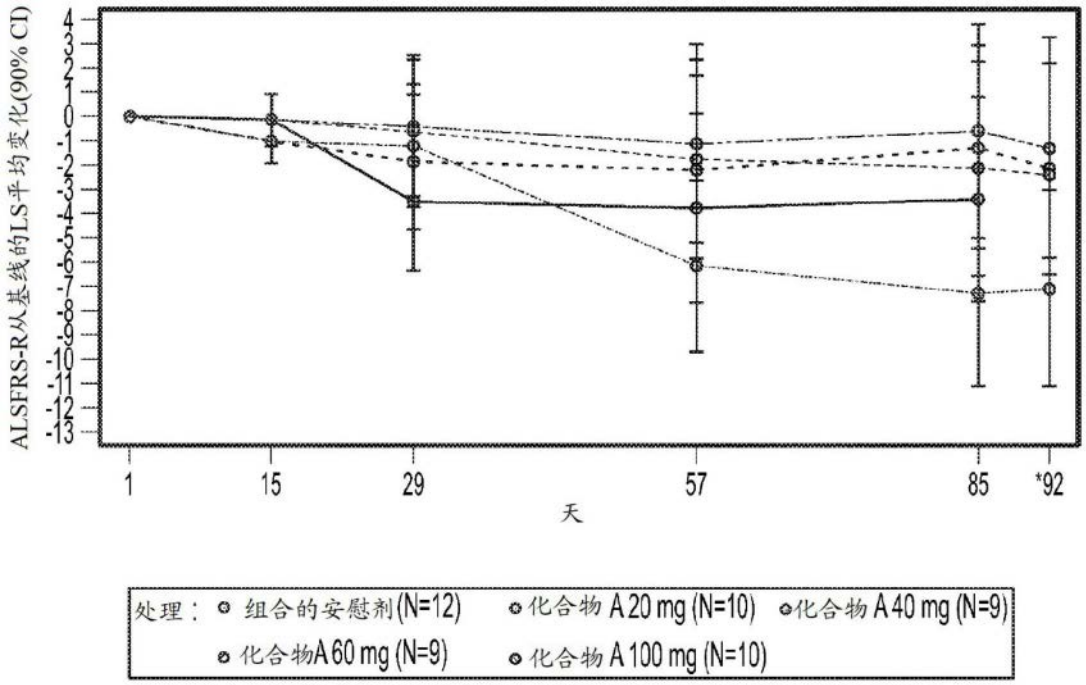

ALSFRS-R从基线的LS平均变化(90% CI)
1
15
29
57
85
*92
天
处理：
组合的安慰剂(N=12)
化合物 A 20 mg (N=10)
化合物 A 40 mg (N=9)
化合物A 60 mg (N=9)
化合物 A 100 mg (N=10)

图4A

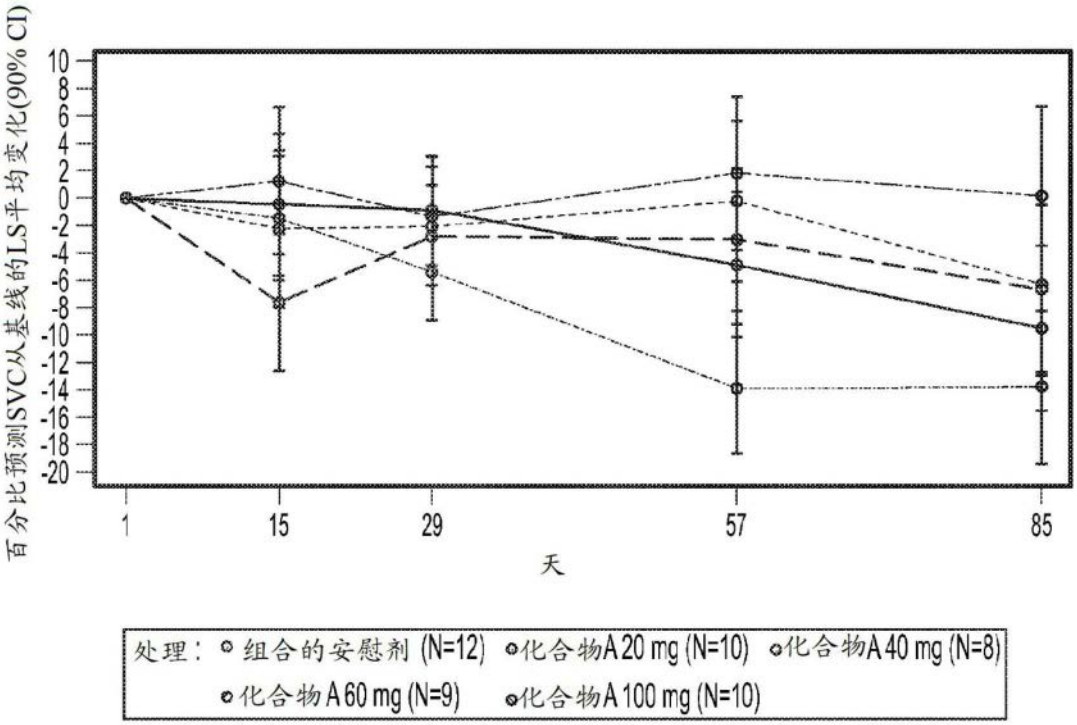

百分比预测SVC从基线的LS平均变化(90% CI)
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
-16
-18
-20
1
15
29
57
85
天
处理：组合的安慰剂 (N=12) 化合物A 20 mg (N=10) 化合物A 40 mg (N=8)
化合物A 60 mg (N=9) 化合物A 100 mg (N=10)

图4B

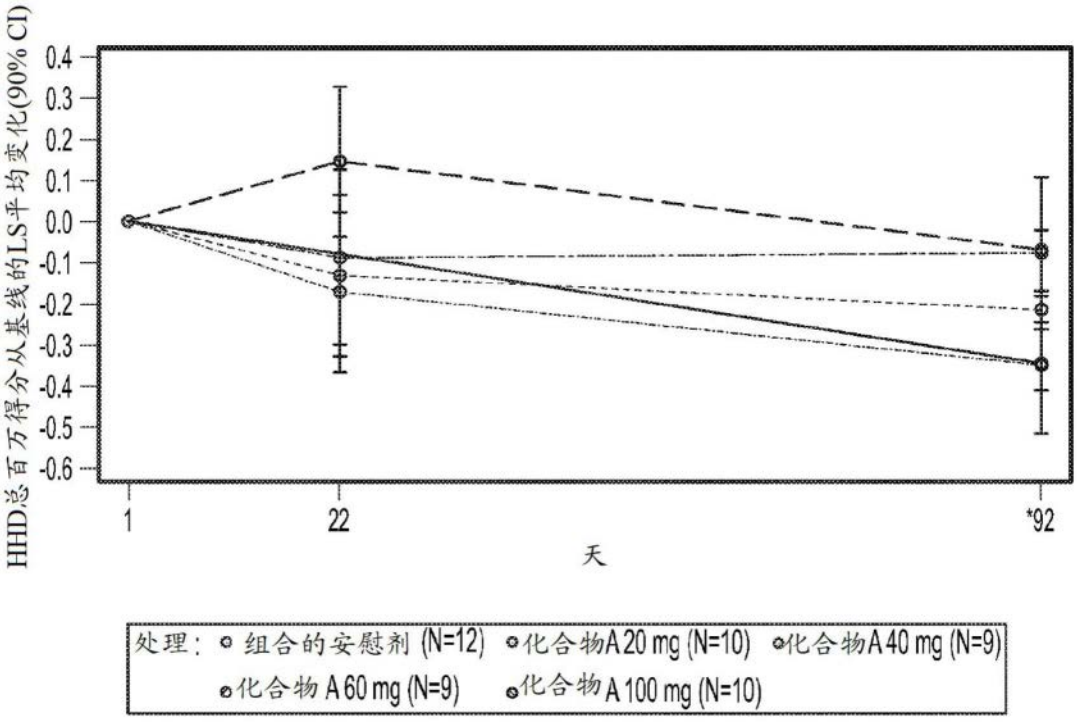

HHD总百万得分从基线的LS平均变化(90% CI)
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
1
22
*92
天
处理：组合的安慰剂 (N=12) 化合物A 20 mg (N=10) 化合物A 40 mg (N=9)
化合物A 60 mg (N=9) 化合物A 100 mg (N=10)

图4C

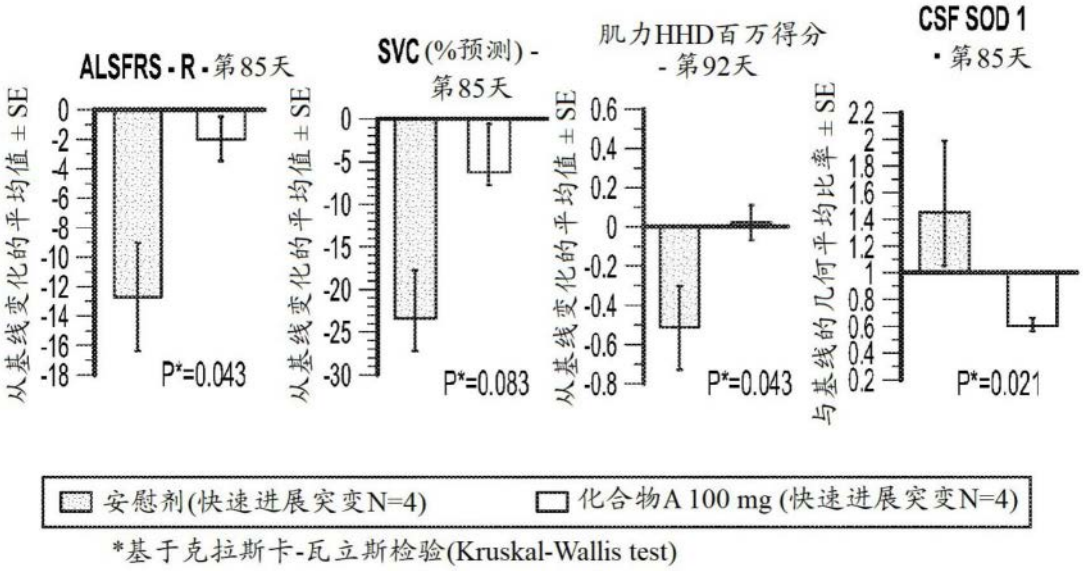

ALSFRS - R - 第85天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.043
SVC (%预测) - 第85天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.083
肌力HHD百万得分 - 第92天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.043
CSF SOD 1 - 第85天
与基线的几何平均比率 ± SE
P*=0.021
安慰剂(快速进展突变N=4)
化合物A 100 mg (快速进展突变N=4)
*基于克拉斯卡-瓦立斯检验(Kruskal-Wallis test)

图5

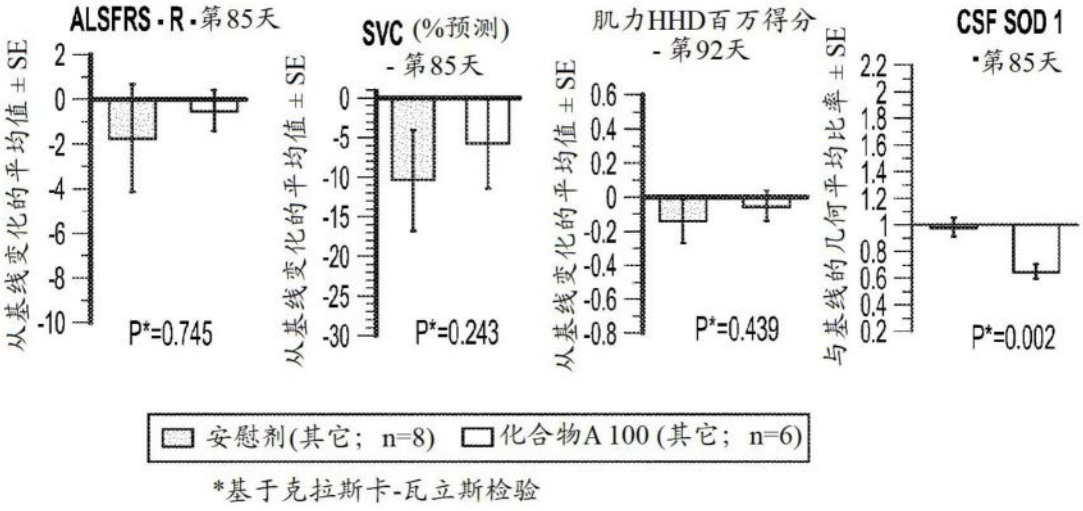

ALSFRS - R - 第85天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.745
SVC (%预测) - 第85天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.243
肌力HHD百万得分 - 第92天
从基线变化的平均值 ± SE
P*=0.439
CSF SOD 1 - 第85天
与基线的几何平均比率 ± SE
P*=0.002
安慰剂(其它; n=8)
化合物A 100 (其它; n=6)
*基于克拉斯卡-瓦立斯检验

图6

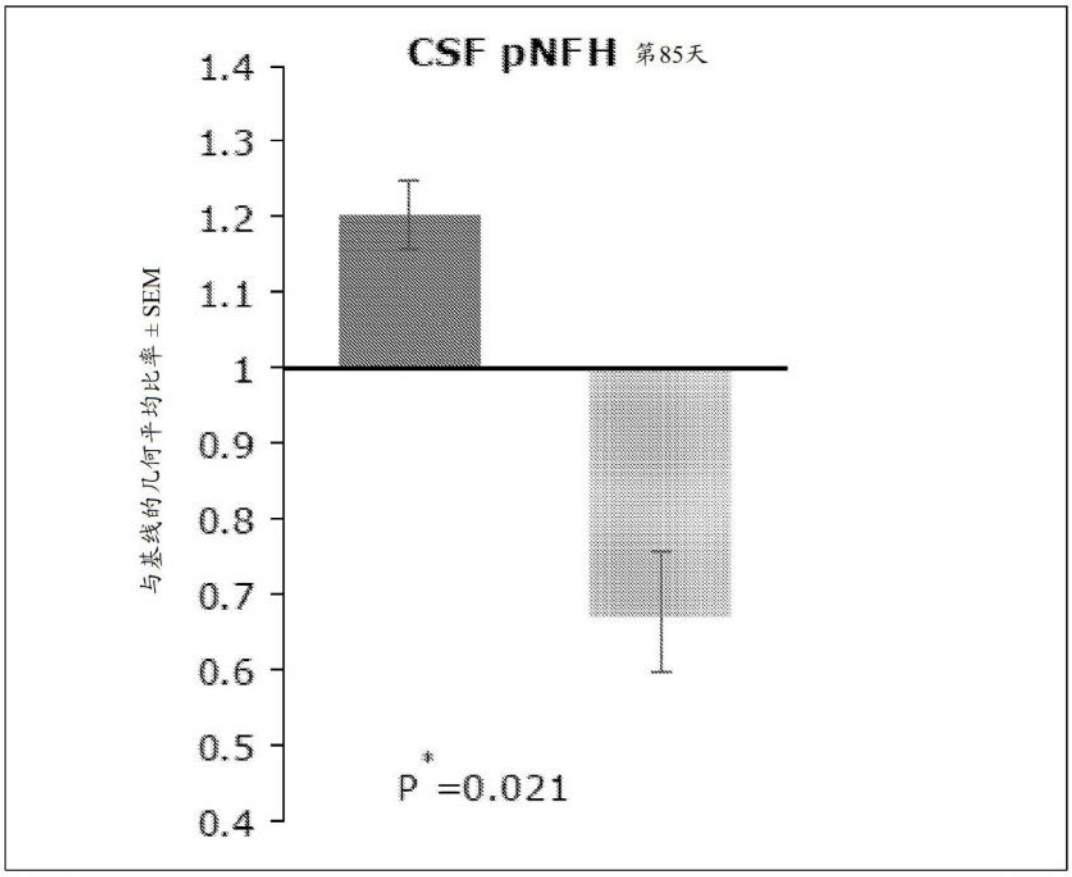

CSF pNFH 第85天
与基线的几何平均比率 ± SEM
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
P*=0.021
安慰剂(快速进展突变N=4)
化合物A 100 mg (快速进展突变N=4)

图7

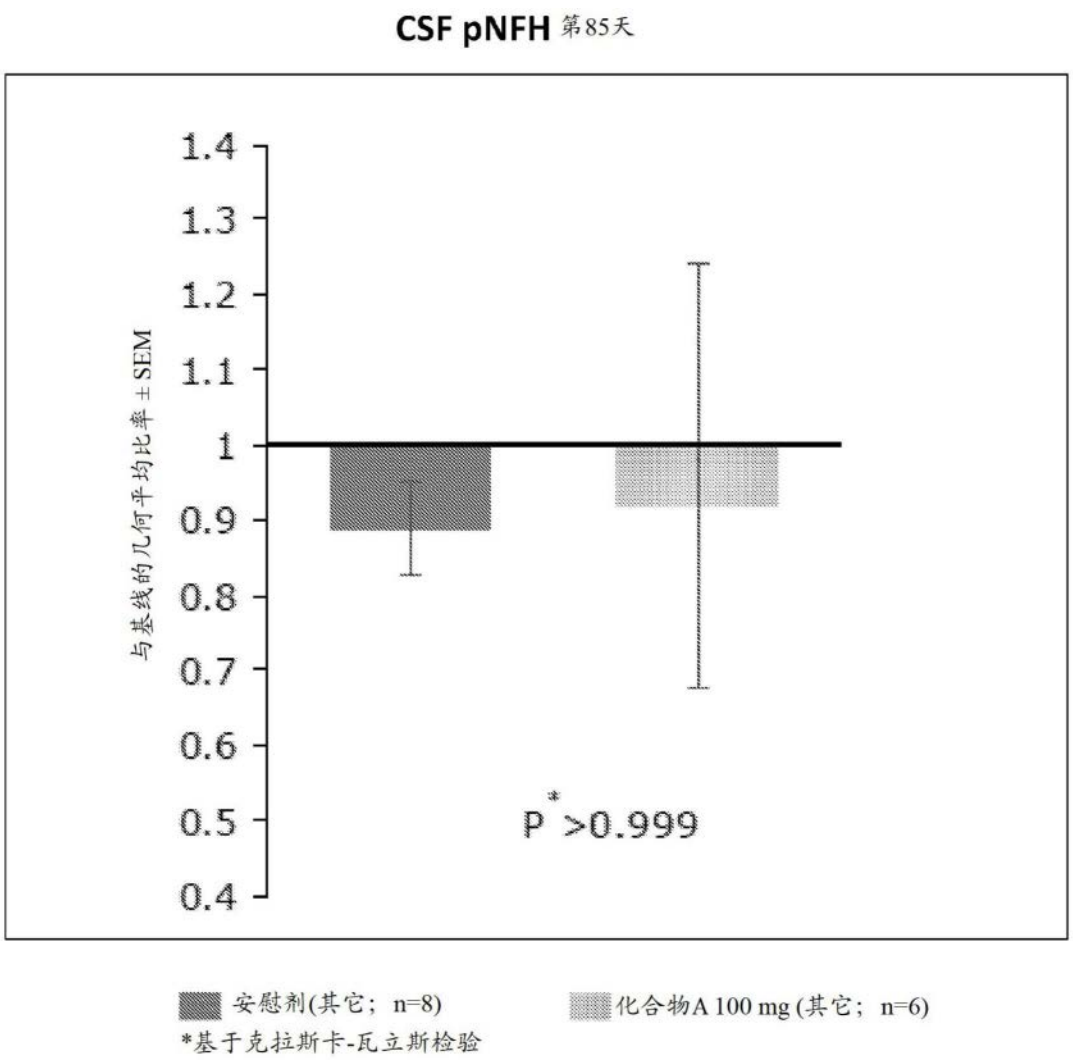

CSF pNFH 第85天
与基线的几何平均比率 ± SEM
1.4
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
P* >0.999
安慰剂(其它； n=8)
化合物A 100 mg (其它； n=6)
*基于克拉斯卡-瓦立斯检验

图8