

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-542889

(P2023-542889A)

(43)公表日 令和5年10月12日(2023.10.12)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/7088(2006.01)	A 6 1 K 31/7088	4 C 0 8 4
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 P 25/04	
C 1 2 N 15/113(2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z Z N A

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全37頁)

(21)出願番号	特願2023-517700(P2023-517700)	(71)出願人	516056971
(86)(22)出願日	令和3年9月17日(2021.9.17)		キュー - ステート バイオサイエンス
(85)翻訳文提出日	令和5年4月28日(2023.4.28)		ズ, インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2021/050866		Q - State Bioscience
(87)国際公開番号	WO2022/061108		s, Inc.
(87)国際公開日	令和4年3月24日(2022.3.24)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
(31)優先権主張番号	63/079,912		139, ケンブリッジ, シドニー ス
(32)優先日	令和2年9月17日(2020.9.17)		トリート 179
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		179 Sidney Street,
(31)優先権主張番号	63/180,875		Cambridge, Massach
(32)優先日	令和3年4月28日(2021.4.28)	(74)代理人	usetts 02139 United
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		States
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100078282
	最終頁に続く		弁理士 山本 秀策
		(74)代理人	100113413
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 複数の標的を介して疼痛を処置するための治療用組成物

(57)【要約】

本発明は、NaVチャンネルmRNA上の同定された標的に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)を含む非オピオイド性疼痛治療用組成物を提供する。ASOは、その標的RNAにハイブリダイズし、RNase Hを動員してRNAを分解する二重鎖を形成し、それによってNaVチャンネル合成を下方制御し、これが疼痛の知覚に寄与するニューロンの能力を阻害する。ASOは、同定された特定の標的の1つを標的とし、修飾RNAウィングに隣接する中央DNAセグメントを含むギャップマーとして提供され得る。組成物がインビトロで後根神経節(DRG)ニューロンに送達される場合、DRGニューロンは、NaV1.7、NaV1.8またはNaV1.9の用量依存的なロックダウンを示す。

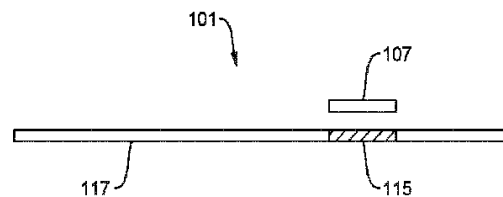


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

疼痛を処置するための組成物であって、

配列番号 1 ~ 164 のうちの 1 つに少なくとも約 75% 相補的な RNA のセグメントに沿ってナトリウムチャンネルタンパク質をコードする RNA にハイブリダイズし、それによって前記 RNA のナトリウムチャンネルタンパク質への翻訳を防止するオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

【請求項 2】

前記オリゴヌクレオチドが、NaV1.7、NaV1.8 および NaV1.9 のうちの 1 つまたは複数の pre-mRNA または mRNA にハイブリダイズし、その発現をノックダウンする、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 3】

前記オリゴヌクレオチド中の塩基の配列が、配列番号 1 ~ 164 のうちの 1 つと少なくとも 80% の同一性を有する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記オリゴヌクレオチドの塩基の配列が、配列番号 1 ~ 101 のうちの 1 つと少なくとも 90% 同一であり、前記オリゴヌクレオチドが、NaV1.7 の pre-mRNA もしくは mRNA または NaV1.8 の pre-mRNA もしくは mRNA のいずれかにハイブリダイズし、その RNase 切断を誘導することができる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記組成物が、それぞれが配列番号 1 ~ 164 のうちの 1 つと少なくとも 80% 同一の塩基配列を有する複数の治療用オリゴヌクレオチドを含み、前記治療用オリゴヌクレオチドの各々が、修飾 RNA ウィングに隣接する中央 DNA セグメントを含むギャップマー構造を有し、前記複数の治療用オリゴヌクレオチドが、髄腔内注射用に製剤化された溶液または担体中に提供される、請求項 1 に記載の組成物。

20

【請求項 6】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 10 個の DNA 塩基の中央領域に隣接する 2 つのウィングを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの末端が、修飾 RNA 塩基を含む、請求項 1 に記載の組成物。

30

【請求項 8】

各修飾 RNA 塩基が、2'-O-メトキシエチル RNA および 2'-O-メチル RNA からなる群から選択される、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも約 15 塩基を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記オリゴヌクレオチドが、約 15 ~ 約 25 塩基を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記オリゴヌクレオチドが、複数のホスホロチオエート結合を含む骨格を有する、請求項 1 に記載の組成物。

40

【請求項 12】

前記オリゴヌクレオチドが、スクリーニングされ、ヒトにおける任意の非標的転写物について閾値マッチを満たさないと決定された塩基配列を有する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記オリゴヌクレオチドが、非ヒト霊長類ゲノム中の相同セグメントとのミスマッチが 0 であり、げっ歯類ゲノム中の相同セグメント中のミスマッチが約 5 以下である塩基配列を有する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 14】

50

前記組成物がインビトロで後根神経節（DRG）ニューロンに送達される場合、前記DRGニューロンが、Nav1.7、Nav1.8またはNav1.9の用量依存的ノックダウンを示す、請求項1に記載の組成物。

【請求項15】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエート結合のみによって連結された塩基を有する、配列番号1～141のうちの1つと少なくとも90%の一致である塩基配列を有し、前記オリゴヌクレオチドが、5'ウイングおよび3'ウイングに隣接する中央の10個のDNA塩基をさらに含み、前記5'ウイングおよび前記3'ウイングがそれぞれ、5個の連続する2'修飾RNA塩基を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項16】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号1～141のうちの1つと一致する塩基配列を有し、塩基間結合の大部分がホスホロチオエート結合を有し、前記オリゴヌクレオチドが、5'ウイングおよび3'ウイングに隣接する中央の10個のDNA塩基をさらに含み、前記5'ウイングおよび前記3'ウイングがそれぞれ、5個の連続する2'MOE RNA塩基を含む、請求項1に記載の組成物。

10

【請求項17】

髄腔内投与のために製剤化された担体中に、先行する請求項のいずれか一項に記載の複数の異なる治療用ギャップマーの複数のコピーを含む組成物。

【請求項18】

前記オリゴヌクレオチドが、インビトロでDRGニューロンを使用するアッセイにおいて、対照ギャップマーよりも少なくとも25%良好なNavノックダウンを示す、請求項1に記載の組成物。

20

【請求項19】

前記RNA中の1またはそれを超える塩基がメチル化されている、請求項1に記載の組成物。

【請求項20】

前記メチル化塩基が、5-メチルシトシンおよび5-メチルウラシル（チミン）から選択される、請求項19に記載の組成物。

【請求項21】

疼痛を処置するための組成物であって、

30

配列番号142～164のうちの1つに少なくとも約75%相補的な各RNAのセグメントに沿って2つの異なるナトリウムチャンネルタンパク質をコードする2つのRNA上の位置にハイブリダイズし、それによって前記RNAのその各々のナトリウムチャンネルタンパク質への翻訳を防止するオリゴヌクレオチドを含む、組成物。

【請求項22】

前記オリゴヌクレオチドが、Nav1.7およびNav1.8のpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、その発現をノックダウンする、請求項21に記載の組成物。

【請求項23】

前記オリゴヌクレオチド中の塩基の配列が、配列番号142～164のうちの1つと少なくとも89%の同一性を有する、請求項21に記載の組成物。

40

【請求項24】

前記オリゴヌクレオチドの塩基の配列が、配列番号142～164のうちの1つと少なくとも94%同一であり、前記オリゴヌクレオチドが、Nav1.7またはNav1.8のpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、そのRNase切断を誘導することができる、請求項21に記載の組成物。

【請求項25】

前記組成物が、それぞれが配列番号140～164のうちの1つと少なくとも94%同一の塩基配列を有する複数の治療用オリゴヌクレオチドを含み、前記治療用オリゴヌクレオチドの各々が、修飾RNAウイングに隣接する中央DNAセグメントを含むギャップマ

50

一構造を有する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 6】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 9 個の DNA 塩基の中央領域に隣接する 2 つのウイングを含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 7】

前記オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つの末端が、修飾 RNA 塩基を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

各修飾 RNA 塩基が 2' - O - メトキシエチル RNA である、請求項 2 7 に記載の組成物。

【請求項 2 9】

前記オリゴヌクレオチドが、約 1 9 塩基を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 0】

前記オリゴヌクレオチドが、複数のホスホロチオエート結合を含む骨格を有する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

前記オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエート (P S) およびホスホジエステル (P O) の混合物を含む骨格を有し、最も外側の塩基間結合および DNA 塩基を含むすべての結合が P S であり、各ウイングの他の 3 つの RNA 間結合が 2 つまたは 3 ついずれかの P S 結合のいずれかを含み、残りが P O である、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記オリゴヌクレオチドが、スクリーニングされ、ヒトにおける任意の非標的転写物について閾値マッチを満たさないと決定された塩基配列を有する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 2 ~ 1 5 2 または 1 5 3 ~ 1 6 4 のうちの 1 つの塩基配列を有する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記組成物がインビトロで後根神経節 (D R G) ニューロンに送達される場合、前記 D R G ニューロンが、NaV 1 . 7 および NaV 1 . 8 の用量依存的ノックダウンを示す、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 2 ~ 1 6 4 のうちの 1 つと少なくとも 9 4 % の一致を有する塩基配列を有し、少なくとも、最も外側の塩基間結合および DNA 塩基を含むすべての結合がホスホロチオエートであり、前記オリゴヌクレオチドが、5' RNA ウィングおよび 3' RNA ウィングに隣接する中央の 9 個の DNA 塩基をさらに含み、前記 5' ウィングおよび前記 3' ウィングがそれぞれ、5 個の連続する 2' 修飾 RNA 塩基を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 4 2 ~ 1 6 4 のうちの 1 つの配列を有し、両方の RNA ウィングが 5 個の 2' - メトキシエチル修飾 RNA 塩基からなる、請求項 3 5 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

技術分野

本開示は、疼痛を処置するための非オピオイド治療用組成物に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

背景

10

20

30

40

50

米国では、疾病管理センターは、1億人もの人々が慢性疼痛に罹患していると推定している。疼痛の処置に対する1つの一般的なアプローチは、オピオイドの使用を含む。オピオイド薬は疼痛に対して非常に効果的な処置法であるが、これらの依存性薬物の乱用が蔓延していることが問題であると理解されている。それにもかかわらず、経験や生活に支障をきたす多くの一般的な医学的症状がある。

【0003】

重度の慢性疼痛を誘発することが多い一般的な症状の1つは変形性関節症である。変形性関節症は、関節内の軟骨が破壊または摩耗すると起こり、最終的に関節表面に露出した骨が生じ、互いに擦れ合い、断片化または裂けが生じる可能性がある。変形性関節症に罹患している多くの人々は、この症状がもたらす持続的な疼痛をよく理解している。重度の慢性疼痛を引き起こし得る別の一般的な症状は癌である。米国癌学会は、癌性疼痛を、単に癌に対する炎症反応だけでなく、癌自体に起因すると考えている。研究は、癌細胞自体が感覚ニューロンの過敏性を駆動することを示している。したがって、癌は腫瘍として現れるか、または身体全体に広がる可能性があるだけでなく、癌自体が重度の疼痛の直接的な原因となり得る。

10

【0004】

疼痛を処置するための様々なアプローチがあるが、それぞれが特定の制限に関連する。市販の非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)は、特定の形態の疼痛を処置するのに必要な有効性を欠くことがある。さらに、一部の人々は、NSAIDに反応しなくなるか、または消化器系および腎機能に対する有害作用に耐えることができない。オピオイドは、疼痛を処置するのに有効であると理解されているが、人的および社会的コストが高く、耐性がつくため時間が経つと効果がなくなる可能性がある。オピオイドは中毒性麻薬であり、乱用、転用、さらには不正行為および犯罪行為に関与しているとよく理解されている。NSAIDおよびオピオイド処置のさらに深刻な欠点には、高い死亡率が含まれる。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

要旨

本発明は、オピオイドを必要としないまたは伴わない疼痛を処置するのに有用な治療用組成物を提供する。組成物は、疼痛の知覚に関与するタンパク質の合成を防止する短い核酸またはオリゴヌクレオチドを含む。具体的には、特定のニューロンは、「疼痛感知」神経、または侵害受容器として機能する。これらの疼痛感知ニューロンは、電位依存性ナトリウムチャンネルとして機能するタンパク質を有する。神経終末の刺激が閾値電圧(V)を超えると、侵害受容器ニューロンは細胞膜を横切ってナトリウムイオン(Na⁺)を伝導し、これによりニューロンを再生的に脱分極させ、痛覚の根底にある電気信号を伝播する「発火」をもたらすことができる。本発明の組成物は、痛みの感覚を可能にするナトリウムチャンネルタンパク質の産生に使用されるメッセンジャーRNA(mRNA)または前駆体mRNA(pre-mRNA)に結合するオリゴヌクレオチドを含む。本発明は、それらのRNA内の多数の特定の検証された標的の同定を含む。オリゴヌクレオチドは、それらのタンパク質が産生されるのを妨げ、これにより、それらの疼痛感知ニューロンの感受性または活性が低下する。疼痛感知ニューロンの活性が低下するため、患者の経験する疼痛は、はるかに少ない。組成物は、オピオイドまたは他の麻薬を含む必要がなく、したがって、習慣性ではない。組成物は、オピオイドの有効用量を減少させるためにオピオイドと組み合わせて使用され得る。したがって、組成物は、疼痛感知ニューロンのナトリウムチャンネルを下方制御することによって長期の疼痛緩和を提供する。

30

40

【0006】

ヒトには、NaV1.1~NaV1.9と呼ばれる電位依存性ナトリウムチャンネルの9つのファミリーがある。これら9つのタンパク質のうち、NaV1.7、NaV1.8およびNaV1.9は、侵害受容器後根神経節(DRG)ニューロンにおいて発現され、疼痛の知覚に寄与する。

50

【0007】

本開示のオリゴヌクレオチドは、NaV1.7、NaV1.8およびNaV1.9タンパク質の合成に使用されるRNA中の特定の標的に結合するように設計されている。オリゴヌクレオチドの結合は、タンパク質合成を妨げ、対応するNaVチャンネルの発現を下方制御する。具体的には、オリゴヌクレオチドは、NaVチャンネルのpre-mRNAまたはmRNA上の同定された標的のうちの1つに実質的にまたは完全に相補的な配列を有する。すなわち、オリゴヌクレオチドは、同定された標的に対してアンチセンスである。アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)は、その標的RNAにハイブリダイズすると、二本鎖二重鎖の一部を分解する酵素(RNase H)を動員する二本鎖ASO:RNA二重鎖を形成する。ASO:RNA二重鎖を分解すると、NaVチャンネルmRNAのニューロンが枯渇し、細胞によって合成されるNaVチャンネルの量が減少する。NaVチャンネル発現の下方制御は、疼痛の感覚に寄与するニューロンの能力を妨げる。

10

【0008】

したがって、NaV1.7、NaV1.8、またはNaV1.9のpre-mRNAまたはmRNA中の同定された標的に対してアンチセンスであるオリゴヌクレオチドを含む組成物を患者に投与すると、その患者は疼痛の経験が減少する。したがって、本開示の組成物は、オピオイドの使用を必要とせずに患者の疼痛を処置するのに有用であり、オピオイドの使用を最小限に抑えるか、または減少させることもできる。

【0009】

特定の態様では、本開示は、疼痛を処置するための組成物を提供する。組成物は、配列番号1~141のうちの1つに少なくとも約75%相補的なRNAのセグメントに沿ってナトリウムチャンネルタンパク質をコードするpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、それによってRNAのナトリウムチャンネルタンパク質への翻訳を防止するオリゴヌクレオチドを含む。オリゴヌクレオチドは、NaV1.7、NaV1.8およびNaV1.9のうちの1つまたは複数のpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、その発現をロックダウンし得る。好ましくは、オリゴヌクレオチド中の塩基の配列は、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも80%の同一性を有する。例えば、オリゴヌクレオチドの塩基の配列は、配列番号1~101のうちの1つと少なくとも90%または95%同一であってもよく、オリゴヌクレオチドは、NaV1.7またはNaV1.8のpre-mRNAまたはmRNAのいずれかにハイブリダイズし、それらのRNase Hでの切断を誘導し得る。組成物は、それぞれが配列番号1~141のうちの1つと少なくとも80、90、95、または100%同一の塩基配列を有する複数の治療用オリゴヌクレオチドを含み得る。

20

30

【0010】

本開示の治療用オリゴヌクレオチドは、修飾RNAウィングに隣接する中央DNAセグメントを含むギャップマー構造を有し得る。そのような治療用オリゴヌクレオチドは、DNA塩基の中央領域(例えば、約8~10個のDNA塩基)に隣接する2つのウィングを含み得る。好ましくは、オリゴヌクレオチドの少なくとも1つの末端は、修飾RNA塩基、例えば、2'-O-メトキシエチルRNA(「2'-MOE」)および/または2'-O-メチルRNA(「2'-OMe」)の任意の数または任意の組み合わせを含む。さらに、本発明の組成物は、細胞質mRNA対核mRNAを示差的に標的とするために、エクソン-エクソン接合部を標的とするように設計され得る。したがって、本発明のASOは、スプライシングの前または後にRNAと相互作用し、組成物に特異性および汎用性を付加するように設計することができる。

40

【0011】

治療用オリゴヌクレオチドは、髄腔内注射用に製剤化された溶液または担体中に、好ましくは約3~4回/年で提供され得る。オリゴヌクレオチドは、任意の適切な長さ、例えば、少なくとも約13塩基、好ましくは約15~25塩基であってもよい。オリゴヌクレオチドは、骨格にホスホロチオエート結合を有していてもよい。好ましい実施形態では、オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされ、ヒトにおける任意の長い非コードRNAま

50

たは他のオフターゲット配列もしくは転写物について閾値マッチを満たさないと決定された塩基配列を有する。オリゴヌクレオチドは、非ヒト霊長類ゲノム中の相同セグメントとのミスマッチが0であり、げっ歯類ゲノム中の相同セグメント中のミスマッチが約5以下である塩基配列を有し得る。

【0012】

組成物がインビトロで後根神経節(DRG)ニューロンに送達される場合、DRGニューロンは、NaV1.7、NaV1.8またはNaV1.9の用量依存的ロックダウンを示す。オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート結合によって結合された塩基を有する、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも90%の一致を有する塩基配列を有するギャップマーであってもよい。結合は、すべてホスホロチオエートであっても、ホスホロチオエートとホスホジエステル結合との混合物であってもよい。オリゴヌクレオチドは、5'ウィングおよび3'ウィングに隣接する中央の10個のDNA塩基をさらに有し得、5'ウィングおよび3'ウィングはそれぞれ、5個の連続する2'修飾RNA塩基を含む。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート結合によって連結された塩基を有する配列番号1~141のうちの1つと一致する塩基配列と、5'ウィングおよび3'ウィングに隣接する中央DNA塩基を有する構造とを有する。ウィング中のRNA塩基および中央セグメント中のDNA塩基の数は、5-10-5または4-12-4、または同様の適切なパターンであってもよい。5'ウィングおよび3'ウィングはそれぞれ、いくつかの2'-MOE RNA塩基を含み得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、中央の10個のDNA塩基を有する各ウィング中に5個の連続する2'-MOE RNA塩基(「5-10-5」構造)を有し得、中央DNAセグメント全体にホスホロチオエート結合があり、ウィング中にホスホロチオエート結合とホスホジエステル結合の混合物がある。

【0013】

組み合わせ実施形態では、本発明は、各々が上記の記載による複数の異なる治療用ギャップマーの複数のコピーを適切な製剤または担体中に含む組成物を提供する。

【0014】

好ましくは、本開示のオリゴヌクレオチドは、対照ギャップマー(例えば、インビトロでDRGニューロンを使用するアッセイでは、対照ギャップマーは、ホスホロチオエート結合のみによって連結されたGCCAUAATCCGGGTTCUGC(配列番号165)からなり、5つの連続する2'-MOE RNA塩基の5'ウィングおよび5つの連続する2'-MOE RNA塩基の3'ウィングに隣接する中央の10個のDNA塩基をさらに含む)よりも少なくとも25%良好なNaVロックダウンを示す。

【0015】

本開示の態様は、患者の疼痛を処置するための医薬品を製造するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)の使用を提供する。使用において、ASOは、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも約75%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、例えば95%または100%の同一性を有する。好ましい実施形態は、約15~25塩基長、好ましくは約18~22塩基長または約19~21塩基長(両端を含む)のASOを使用する。一般に、「ASO」への言及は、実質的に同一の分子の多数のコピーを含む。したがって、「ASO」は、示されたASOの任意の数、例えば数十万または数百万のコピーであってもよい。好ましい実施形態では、ASOは、20塩基長であり、配列番号1~141のうちの1つの配列を有し、疼痛を処置するための医薬品の製造に使用される。ASOは、例えば、微量遠心管または試験管などの管内で凍結乾燥されたもの、または管内で溶液になったものなど、任意の適切な形式で提供されてもよい。使用の好ましい実施形態は、NaV1.7および/またはNaV1.8を標的とする。1またはそれを超える(例えば、2つ、3つ、4つ、または5またはそれを超える)ASOを医薬品の製造に使用することができる。1またはそれを超えるASOは、NaV1.7またはNaV1.8のpre-mRNAまたはmRNA中の標的にハイブリダイズし得る。使用の特定の実施形態では、ASO中の塩基の配列は、配列番号1~101のうちの1つと少なくとも90%同一である。実施形態では、ASOは、RNAウィングに隣接する中央DNA

セグメント、例えば中央領域の両側に5個の修飾RNA塩基を有する10個のDNA塩基の中央領域を有するギャップマー構造を有し得る。各修飾RNA塩基は、2'-MOEであってもよい。好ましくは、ASOの骨格は、複数のホスホロチオエート結合を有し、例えば、使用実施形態では、糖結合の大部分またはすべてがホスホロチオエートであってもよい。対応する医薬品は、髄腔内送達のために製剤化され得る。したがって、ASOは、最初は注射またはポンプによる導入に適した製剤への混合に適した形態であってもよい。例えば、ASO(1つのASOの数千または数百万またはそれを超えるコピー)は、管内で凍結乾燥されてもよく、または既知のモル濃度もしくは濃度の溶液であってもよい。ASOは、溶媒および/または賦形剤などの担体がASOを含む薬学的に許容され得る組成物に溶解または希釈されてもよく、IVバッグ、シリンジ、またはポンプに装填されてもよい。医薬品は、2つ以上のASO、例えば2、3、4、または5、またはそれを超える任意の組み合わせを使用して作成され得る。本発明の組成物中の塩基は、本発明の組成物の幅および有効性を増加させるために修飾されてもよく、またはゆらぎ塩基が使用されてもよい。一例では、本発明で使用するためのASOは、メチル化塩基(例えば、5-メチルシトシン、5-メチルウラシル(チミン)など)を含有し得る。

10

【0016】

本発明の組成物は、連続投与に対応するように製剤化され得る。例えば、製剤は、最適な治療ウィンドウを利用し、ASO間の潜在的な競合を回避するために、2またはそれを超える別々の時間に、および必要に応じて2またはそれを超える異なるASOと共に投与される投与量を提供し得る。さらに、本発明の組成物は、連続的に投与されるか否かにかわらず、関与するASOの組成に応じて、2つ以上の標的と相互作用し得る。例えば、ASOは、複数の標的(mRNAおよびpre-mRNA種の内部および全体の両方)との相互作用を可能にし、したがって関連する処置が2つ以上のチャンネルに影響を及ぼすことを可能にする標的化ミスマッチを含み得る。

20

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】図1は、疼痛を処置するための組成物を示す。

【図2】図2は、ギャップマー構造を有するオリゴヌクレオチドを示す。

【図3】図3は、2'-O-メトキシエチル(MOE)修飾リボース糖を示す。

【図4】図4は、DNAのセグメント中のホスホロチオエート結合を示す。

30

【図5】図5は、17の異なるASOによるNav1.7のノックダウンのためのqPCRアッセイの結果を示す。

【図6】図6は、対照と比較したNav1.7標的化ASOの効果を示す。

【図7】図7は、本開示のASOの標的選択性を示す。

【図8】図8は、ASOに対するリボース糖修飾の効果と比較する。

【図9】図9は、抗Nav1.7 ASOの効果を示す。

【図10】図10は、抗Nav1.8 ASOの効果を示す。

【図11】図11は、組み合わせ組成物による処置下での神経活性レベルを示す。

【図12】図12は、本開示のASOが複数のNav標的の強力かつ選択的なノックダウンを提供することを示す。

40

【図13】図13は、どのNavチャンネルが神経活動の閾値、閾値未満および閾値を超える興奮性に実質的または主に関与しているかを示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

詳細な説明

図1は、疼痛を処置するための組成物101を示す。組成物101は、mRNA117またはpre-mRNA中の標的セグメント115にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド107を含む。mRNA117はナトリウムチャンネルタンパク質をコードする。標的を含むmRNA117のセグメント115は、配列番号1~141のうちの1つに少なくとも約75%相補的である。mRNA117のセグメント115へのオリゴヌクレオチド

50

107のハイブリダイゼーションは、ナトリウムチャンネルタンパク質へのmRNAの翻訳を妨げる。オリゴヌクレオチド107は、NaV1.7、NaV1.8およびNaV1.9のうちの1つまたは複数のpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、その発現をノックダウンし得る。好ましくは、オリゴヌクレオチド中の塩基の配列は、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも80%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性を有する。

【0019】

特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドの塩基の配列は、配列番号1~101のうちの1つと少なくとも90%同一であり、オリゴヌクレオチドは、NaV1.7のmRNAまたはNaV1.8のmRNAのいずれかにハイブリダイズし、そのRNase H切断を誘導することができる。

10

【0020】

オリゴヌクレオチド107がmRNA117の標的セグメント115に対して実質的にまたは完全にアンチセンスであるので、オリゴヌクレオチド107はmRNA117のセグメント115にハイブリダイズする。その意味で、組成物はアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)を含む。組成物101は、ASOの化学構造および設計に基づいて、塩基対相補性で標的RNAに結合し、様々な効果を発揮するASOを含む。神経疾患の前臨床モデルおよびヒト臨床試験開発で一般的に使用される様々な機構を使用することができる。これらの機構には以下のRNase H酵素の動員によるRNA標的分解、エクソンを含むかまたは排除するための選択的スプライシング修飾、およびその標的へのmiRNA結合を阻害するためのmiRNA阻害が含まれる。

20

【0021】

本開示の好ましい実施形態は、電位依存性ナトリウムチャンネル(NaVチャンネル)のpre-mRNAまたはmRNAにハイブリダイズし、RNase H酵素を動員するASOを含む。RNase H酵素は、NaVチャンネルRNAを切断し、NaVチャンネルタンパク質の発現を下方制御する。したがって、本開示のオリゴヌクレオチド107は、疼痛治療の標的としてNaVチャンネルに対処する。本開示は、臨床データおよび前臨床データが疼痛治療のための小分子NaV遮断薬の使用を支持するという洞察に基づいている。例えば、IVリドカインおよびリドカインパッチは疼痛緩和効果を示しており、リドカイン標的の合成の遮断が同様の効果をもたらし得ることを示唆している。実際、神経因性疼痛に使用される三環系および選択的セロトニン再取り込み阻害剤などの多くの薬剤は、複数の作用機序を有するが、NaVチャンネルを遮断する能力を共有する。ナトリウムチャンネルNaV1.7、NaV1.8およびNaV1.9は疼痛に関与している。これらのタンパク質は、疼痛表現型との遺伝的リンクを提供する。例えば、NaV1.7機能喪失は、疼痛に対する先天性不感受性に関連している(マウスモデルで再現される)。さらに、NaV1.7およびNaV1.8の機能獲得は両方とも過剰な疼痛障害に関連している。さらに、NaV1.9機能獲得は、疼痛に対する無関心を伴う神経障害に関連している。遺伝的洞察により、NaV1.7およびNaV1.8およびNaV1.9を選択的に標的とするための理論的根拠が提供される。抗NaV ASOを含む組成物を対象に投与して、疼痛を処置または軽減することができる。抗NaV ASOは状態に依存せず、サブタイプ選択性であってもよいので、抗NaV ASOはリドカインなどの他のアプローチよりも利点を提供することが見出され得る。

30

40

【0022】

したがって、本開示の態様は、患者の疼痛を処置するための医薬品を製造するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)の使用を提供する。使用において、ASOは、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも約75%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、例えば95%またはそれを超える同一性を有する。好ましい実施形態は、約15~25塩基長、好ましくは約18~22塩基長(両端を含む)のASOを使用する。一般に、「ASO」への言及は、実質的に同一の分子の多数のコピーを含む。したがって、「ASO」は、定義されたASOの数十万または数百万を超えるコピーであっ

50

てもよい。好ましい実施形態では、ASOは、20塩基長であり、配列番号1～141のうちの一つの配列を有し、疼痛を処置するための医薬品の製造に使用される。ASOは、例えば、微量遠心管または試験管などの管内で凍結乾燥されたもの、または管内で溶液になったものなど、任意の適切な形式で提供されてもよい。使用の好ましい実施形態は、NaV1.7および/またはNaV1.8を標的とする。1またはそれを超える（例えば、2つ、3つ、4つ、または5またはそれを超える）ASOを医薬品の製造に使用することができる。1またはそれを超えるASOは、NaV1.7またはNaV1.8のmRNA中の標的にハイブリダイズし得る。使用の特定の実施形態では、ASO中の塩基の配列は、配列番号1～101のうちの一つと少なくとも90%同一である。使用の実施形態では、ASOは、RNAウィングに隣接する中央DNAセグメント、例えば中央領域の両側に5個の修飾RNA塩基を有する10個のDNA塩基の中央領域を有するギャップマー構造を有し得る。各修飾RNA塩基は、2'-MOE RNA、2'-O-Me RNA、または他の適切な糖であってもよい。好ましくは、ASOの骨格は、複数のホスホロチオエート結合を排他的に有するか、またはホスホジエステル結合も含み、例えば、使用実施形態では、糖結合の大部分またはすべてがホスホロチオエートであってもよい。医薬品は、髄腔内（IT）送達のために製剤化され得る。したがって、ASOは、最初は髄腔内ポンプへの導入に適した製剤への混合に適した形態であってもよい。例えば、ASO（一つのASOの数千または数百万またはそれを超えるコピー）は、管内で凍結乾燥されてもよく、または既知のモル濃度の溶液であってもよい。ASOは、溶媒または賦形剤などの担体がASOを含む薬学的に許容され得る組成物に溶解または希釈されてもよく、IVバッグ、シリンジ、または髄腔内ポンプに装填されてもよい。医薬品は、2つ以上のASO、例えば2、3、4、または5、またはそれを超える任意の組み合わせを使用して作成され得る。

【0023】

使用実施形態に記載された任意のASOは、本開示の組成物に含まれてもよい。本開示の組成物の好ましい実施形態は、それぞれが配列番号1～141のうちの一つと少なくとも80%同一の塩基配列を有する1または複数の治療用オリゴヌクレオチドを含み、治療用オリゴヌクレオチドの各々は、修飾RNAウィングに隣接する中央DNAセグメントを含むギャップマー構造を有し、複数の治療用オリゴヌクレオチドは、髄腔内注射用に製剤化された溶液または担体中に提供される。

【0024】

図2は、ギャップマー構造を有するオリゴヌクレオチド207を示す。オリゴヌクレオチド207は、約10個のDNA塩基の中央領域221に隣接する2つのウィング（第1のウィング215および第2のウィング216）を含む。好ましい実施形態では、ウィング215、216は、すべてまたは主にRNA塩基であり、中央領域221は、すべてまたは主にDNA塩基である。好ましくは、ウィングはすべてRNA塩基（修飾または非修飾）であり、中央領域はすべてDNA塩基である。いくつかの実施形態では、各ウィングは、5個のRNA塩基からなり、その全部または大部分は修飾RNA塩基であり、例えば、各修飾RNA塩基は、2'-O-メトキシエチルRNAおよび2'-O-メチルRNAからなる群から選択される。修飾RNA塩基は、リボース糖の2'ヒドロキシル基上の置換を含み得る。

【0025】

図3は、RNA塩基に含まれ得る2'-O-メトキシエチル（「2'-MOE」）修飾された糖を示す。

【0026】

オリゴヌクレオチド207は、好ましくは少なくとも約15塩基を含み、約15～約25塩基を含み得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド207は、複数のホスホロチオエート結合を含む骨格を有する。

【0027】

図4は、オリゴヌクレオチド207の中央領域221などのDNAのセグメントの骨格

内のホスホロチオエート結合505を示す。オリゴヌクレオチド207は、1または任意の数のホスホロチオエート結合505を含み得る。例えば、オリゴヌクレオチド207内のすべての骨格結合は、ホスホロチオエートであってもよく、または大部分、または約半分がホスホロチオエートであってもよい。

【0028】

組成物101は、送達のために製剤化され得る。したがって、オリゴヌクレオチド107は、最初は、シリンジ、バッグ、または注射ポンプへの導入に適した製剤への混合に適した形態であってもよい。例えば、オリゴヌクレオチド107(1つのオリゴヌクレオチド107の数千または数百万またはそれを超えるコピー)は、管内で凍結乾燥されてもよく、または既知のモル濃度の溶液であってもよい。オリゴヌクレオチド107は、溶媒または賦形剤などの担体がオリゴヌクレオチド107を含む薬学的に許容され得る組成物に溶解または希釈されてもよく、IVバッグ、シリンジ、または髄腔内ポンプに装填されてもよい。記載されるように、組成物101は、配列番号1~141のうちの1つとの比較によって定義される配列を有する少なくとも1つのオリゴヌクレオチド107を含む。したがって、本開示の組成物は、同定された標的によって定義および例示される。

10

【0029】

具体的には、オリゴヌクレオチド107は、配列番号1~141のうちの1つに少なくとも約75%相補的なmRNAのセグメントに沿ってナトリウムチャンネルタンパク質をコードするmRNAにハイブリダイズし、それによってmRNAのナトリウムチャンネルタンパク質への翻訳を防止する。これは、オリゴヌクレオチドが配列番号1~141のうちの1つと少なくとも約75%の同一性、好ましくは少なくとも約90%または95%の同一性を有する場合に達成される。特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、配列番号1~141のうちの1つの配列を有するが、当業者は、相補的な標的に対して90%または好ましくは95%の同一性を有するオリゴヌクレオチドが依然として標的に配列特異的にハイブリダイズする傾向があることを理解するであろう。二本鎖構造を形成することは、ワトソン-クリック型塩基対形成および塩基スタッキングによって十分にエネルギー的に有利であり、二本鎖構造は、およそ10個ごとに約1個のミスマッチ塩基対を許容することができる。したがって、DRGニューロンにおける中程度にストリンジェントな生理学的条件下では、特に、オリゴヌクレオチドを酵素分解から保護するためにオリゴヌクレオチドが少なくとも数個の修飾RNA塩基またはホスホロチオエート骨格結合を有するギャップマー構造を有する場合、95%の同一性が有効であるはずである。

20

30

【0030】

実際、本開示の組成物の特徴および利点は、ナトリウムチャンネル転写物以外の補完物が分子中に存在する配列を除外するために標的(配列番号1~141)がスクリーニングされていることである。例えば、長い非コードRNA(IncRNA)を含むRNA転写物のデータベースに対して配列をスクリーニングし、非標的配列と一致する初期配列を除外した。したがって、患者に投与した場合の配列番号1~141の配列を有するASOは、非標的配列にハイブリダイズする可能性を最小限に抑えるべきである。したがって、好ましい実施形態では、オリゴヌクレオチド107は、スクリーニングされ、ヒトにおける任意のオフターゲットコードまたは長い非コードRNAについての閾値マッチを満たさない決定された塩基配列を有する。上記の基準を満たす組成物または使用は、含まれる配列がIncRNAのデータベースに対してスクリーニングされているので、インビボでIncRNAなどのオフターゲット物質に結合しないはずである。本開示の配列は、標的特異性についてスクリーニングされている。好ましくは、オリゴヌクレオチド107は、ヒトまたは非ヒト霊長類ゲノム中の相同セグメントとのミスマッチが0であり、げっ歯類ゲノム中の相同セグメント中のミスマッチが約5以下である塩基配列を有する。

40

【0031】

組成物がインビトロで後根神経節(DRG)ニューロンに送達される場合、DRGは、NaV1.7、NaV1.8またはNaV1.9の用量依存的ノックダウンを示す。

【0032】

50

図5は、本開示の実施形態に従って設計された17個の異なるASO（各3つの濃度）によるラットにおけるNav1.7のノックダウンのためのqPCRアッセイの結果を示す（20塩基、ASOを介した2'-O修飾RNAおよびホスホロチオエート結合を有するRNAウィングに隣接する10塩基のDNA中央領域）。図の下部に沿って、「開始位置」、すなわちラットSCN9A mRNA内の位置が示されている。最も右側の3つのバーは、対照のみを投与した場合の発現レベルを示す。17個すべてのASOは、少なくとも最高濃度で、対照と比較してNav1.7発現を減少させた。位置1294から始まる20塩基標的に特異的なASOについて、最も強いノックダウンが示された。グラフは、GAPDHに対して正規化された発現レベルで、ジムノシス送達を使用してDIV8で適用された17個のASO、3つの濃度の結果を示す。グラフは、本開示の組成物101がNav1.7の用量依存的ノックダウンを示すことを示している。

【0033】

核酸ハイブリダイゼーションはミスマッチに対するいくらかの許容性を有するので、ホスホロチオエート結合によってのみ連結された塩基を有する、配列番号1~141のうちの1つと少なくとも90%の一致である塩基配列を有し、オリゴヌクレオチド107が5'ウィングおよび3'ウィングに隣接したDNA塩基の中央セグメント（例えば、5'ウィングおよび3'ウィングがそれぞれ、10個のDNA塩基に隣接する5個の連続する2'修飾RNA塩基を含む5-10-5構造、または4-12-4構造、または同様のもの）を有するオリゴヌクレオチド107は、チャートに示されるパターンに従って用量依存的ノックダウンを示すことが見出され得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド107は、具体的には、配列番号1~141（より好ましくは、配列番号1~101のうちの1つ）のうちの1つと一致する塩基配列を有し、塩基は、ホスホロチオエート結合（必要に応じて、ウィング中にいくつかのホスホジエステル結合を有する）によって結合されており、オリゴヌクレオチド107は、5'ウィングおよび3'ウィングに隣接する中央の10個のDNA塩基を有し、5'ウィングおよび3'ウィングはそれぞれ、5個の連続する2' MOE RNA塩基を含む。

【0034】

図6は、対照と比較したラットDRGニューロンにおけるDIV14でのmRNA発現に対するNav1.7標的化ASOの効果を示す。本開示の組成物101は、髄腔内投与のために製剤化された担体中に、前述の主張のいずれか一項に記載の複数の異なる治療用ギャップマーの複数のコピーを含み得ることに留意されたい。好ましくは、任意の1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド107は、インビトロでDRGを使用するアッセイにおいて対照ギャップマーよりも少なくとも25%良好なNavノックダウンを示し、候補オリゴヌクレオチドおよび対照は、ホスホロチオエート結合によって大部分が連結されるか、またはホスホロチオエート結合によってのみ連結され、2'-MOE RNA塩基の5'ウィングおよび2'-MOE RNA塩基の3'ウィングに隣接するDNA塩基の中央セグメントを含む。

【0035】

これらの組成物はナトリウムチャンネルの発現をノックダウンするのに有効であるので、本開示の組成物は、重度の難治性疼痛を経験する患者集団を処置するために使用され得る。本開示の方法は、投与を必要とする患者に本開示の任意の組成物を投与し、それにより癌性疼痛（例えば、転移性骨癌に由来する）もしくは神経因性疼痛（例えば、機能獲得型Nav変異に関連する小線維性神経障害）または他の集団を処置または緩和することを含む。本開示の方法は、任意のNavチャンネルを一次標的として標的にするために使用することができ、二次標的のためのオリゴをさらに含み得る。例えば、一次標的はNav1.7（オリゴが、配列番号1~53のうちの1またはそれを超えるものと実質的な同一性を有する）であってもよく、二次標的はNav1.8および/またはNav1.9（オリゴが、それぞれ配列番号54~101および/または配列番号102~141のうちの1またはそれを超えるものと実質的な同一性を有する）であってもよい。

【0036】

図7は、ラットDRGにおいてqPCRによって試験したラットNav標的ASOの選択性を示す。上部パネルは、Nav1.7に特異的なASOを送達した場合のmRNAレベルに対する効果を示す。中央のパネルは、Nav1.8に特異的なASOを送達する効果を示し、下部パネルはNav1.9に特異的なASOを送達する効果である。すべてのパネルにおいて、バーの4番目の三つ組は、450nMカクテルASO(150nM Nav1.7 ASO + 150nM Nav1.8 ASO + 150nM Nav1.9 ASO)を送達した場合の結果を提供する。各パネルにおいて、非標的NavチャンネルはASOによってノックダウンされなかった(Nav1.7 ASOは、Nav1.8またはNav1.9などの発現をノックダウンせず、標的選択性を示した)。3つのオリゴヌクレオチド107のカクテルは、3つの標的すべてをノックダウンすることが示されている。

10

【0037】

図8は、本開示のオリゴヌクレオチド107内のリボース糖修飾の効果を比較する。ヒトSCN9A遺伝子の位置1294から始まる20塩基と一致する20塩基配列を有するオリゴヌクレオチド107(配列番号6)を、2'-O-メチル-(OMe)リボース糖修飾を有する形態および2'-O-メトキシエチル-(MOE)リボース糖修飾を有する形態で試験した。配列番号165の対照オリゴに対して同様の試験を行った。本開示のオリゴヌクレオチドは対照よりも優れており、また示されるように、MOE修飾はOMe修飾よりも優れている(標的相対発現のより大きな阻害を示す)ことが見出された。したがって、本開示のオリゴヌクレオチドがRNAリボース糖に1またはそれを超える2'-O

20

【0038】

Nav1.7およびNav1.8 ASOの併用効果をインビトロでラットDRGニューロンにおいて試験した。インビトロでのニューロンには、光刺激下で神経活性化を提供する光遺伝学的構築物(例えば、光に応答してニューロンを発火させる改変藻類チャンネルロドプシン)および神経活性の光学的レポーター(ニューロン膜電位に比例して光を放出し、ニューロン活性のシグナルを生じる修飾アーキロドプシン)が含まれた。インビトロでのニューロンを蛍光顕微鏡装置でアッセイし、インビボでの疼痛の経験と同様の方法でDRGニューロンを発火させる刺激物質として働く疼痛メディエータ組成物(例えば、シミュレートされた「癌性疼痛スープ」)で処理した。任意の適切な光遺伝学的構築物、光遺伝学的顕微鏡、または疼痛メディエータ組成物が使用され得る。例えば、適切な光遺伝学的構築物としては、参照により組み込まれる、米国特許第9,594,075号に記載されているものが挙げられる。適切な光遺伝学的顕微鏡としては、参照により組み込まれる、米国特許第10,288,863号に記載されているものが挙げられる。適切な疼痛メディエータ組成物としては、参照により組み込まれる、国際公開第2018/165577号に記載されているものが挙げられる。

30

【0039】

インビトロでのDRGアッセイは、増加する光刺激下で、光遺伝学的神経試料単独からの光を測定することを含む。これにより、神経興奮性の基準値が得られる。次いで、神経試料を刺激物質、ここではサイトカイン、プロテアーゼ、pH、壊死因子、または有痛性腫瘍の部位でインビボで見られ得る他の因子の混合物を含む疼痛メディエータ組成物で刺激する。その刺激物質で処理している神経試料から光を測定する。最後に、神経試料を本開示の組成物で処理する。刺激物質が測定された興奮性を測定されたベースラインから遠ざける場合、オリゴヌクレオチド107は、測定された興奮性をベースラインに向かって回復させる傾向があると仮定される。さらに、Nav1.7およびNav1.8は、異なる(重複するが)神経活性条件下でそれらの効果を示すことが予想される。結果は、抗Nav1.7および抗Nav1.8 ASOを組み合わせると、個々のNav1.7またはNav1.8 ASOと比較して、より多くの量およびより広い範囲の入力刺激レベルに

40

50

わたって、有痛性刺激物質に対する神経応答を緩和することを示している。

【0040】

図9は、ベースライン、刺激物質での処理下、ならびに刺激物質および抗NaV1.7 ASOでの処理下での青色光刺激の増加勾配に応答した神経活性の測定レベルを示している。予想されるように、NaV1.7 ASOは、刺激物質に反応して示される神経興奮性を減少させる。

【0041】

図10は、ベースライン、刺激物質での処理下、ならびに刺激物質および抗NaV1.8 ASOでの処理下での青色光刺激の増加勾配に反応した神経活性の測定レベルを示している。予想されるように、NaV1.8 ASOは、入力刺激力の異なる領域ではあるが、刺激物質に反応して示される神経興奮性を減少させる。

10

【0042】

図11は、ベースライン、刺激物質での処理下、ならびに刺激物質と抗NaV1.7 ASOおよび抗NaV1.8 ASOを含む組成物での処理下での青色光刺激の増加勾配に反応した神経活性の測定レベルを示している。オリゴの組み合わせの正味の疼痛軽減効果は、いずれかのオリゴ単独よりも良好である。DRGニューロンの活性レベルは、入力刺激の全範囲にわたって有意に低い。様々な有痛性症状を経験して生きている対象は、異なるNaVチャネルを標的とする異なるオリゴを含む組成物を投与することによって、鎮痛効果のより大きな範囲および効力によって利益を得ることが見出され得る。

【0043】

本開示の方法および組成物は、疼痛に罹患している患者においてインビボで後根神経節(DRG)ニューロンに本明細書に記載の治療用オリゴヌクレオチド107を送達するために有益に使用され得る。例えば、全身送達(例えば、注射によって)または局所送達(例えば、皮下注射または徐放装置の埋め込みによって)を含む任意の適切な送達アプローチが使用され得る。いくつかの実施形態では、本開示の組成物101は、髄腔内注射によって送達される。本開示の方法は、約数ヶ月ごと、例えば約3回または4回/年の髄腔内注射によって本開示の組成物を送達することを含み得る。

20

【0044】

髄腔内注射とは、脳脊髄液(CSF)に到達し、脊髄麻酔、化学療法、または疼痛管理用途に有用であるように、脊柱管内またはくも膜下腔内への注射を介した薬物の投与経路を指す。髄腔内送達は、組成物が血液脳関門によって停止されるのを回避する。好ましくは、組成物101は、標準的な注射用薬物調製物に時折見られる防腐剤または他の潜在的に有害な不活性成分を含有しないように、そのような製剤に配合される。組成物101は、髄腔内ポンプで提供されてもよく、または髄腔内ポンプを介した送達のための診療所での再構成に適した製剤で提供されてもよい。例えば、組成物101は、規定の濃度で溶液(例えば、生理食塩水中)中にあるのもよい。技術者は、濃縮物を診療所で適切な希釈剤と混合して送達することができる。他の実施形態では、ASOは、凍結乾燥されるか、そうでなければ乾燥固体形態で保存され、診療所で再懸濁され、適切に希釈される。髄腔内送達は、PK、代謝、末梢オン/オフターゲット効果に関する懸念を軽減する。髄腔内投与アプローチは、ジコヌクレオチドなどの他の薬物およびヌシネルセンなどのASOとの臨床使用について検証されている。そのような方法は、本開示の組成物101を神経系に直接送達するために使用され得る。

30

40

【0045】

組成物101中のギャップマー、ASO、または治療用オリゴヌクレオチド107などの本開示のオリゴヌクレオチドは、表1に示される配列の1つを参照して定義される配列を有し得る。例えば、本開示のオリゴヌクレオチドは、表1に示す配列番号1~141のうちの1つと少なくとも約75%、80%、90%、95%、または完全に同一の配列を有し得る。SCN9Aに対する最も好ましい実施形態には、以下のようにラベル付けされた表1の実施形態が含まれる。「4/6」(配列番号6)、「4/10」(配列番号10)、および「4/11」(配列番号11)。これらの3つの候補は、用量依存的様式でN

50

a V 1 . 7 の強力で有意なノックダウン活性 (7 5 % 超) を示す。S C N 1 0 A に対する最も好ましい実施形態には、以下のようにラベル付けされた表 1 の実施形態が含まれる。「 5 / 8 」 (配列番号 6 1)、「 5 / 1 8 」 (配列番号 7 1)、「 5 / 2 0 」 (配列番号 7 3)。これらの 3 つの候補は、用量依存的様式で N a V 1 . 8 の強力で有意なノックダウン活性 (6 5 % 超) を示す。S C N 1 1 A に対する最も好ましい実施形態には、以下のようにラベル付けされた表 1 の実施形態が含まれる。「 6 / 1 」 (配列番号 1 0 2)、「 6 / 3 」 (配列番号 1 0 4)、および「 6 / 6 」 (配列番号 1 0 7)。これらの 3 つの候補は、用量依存的様式で N a V 1 . 9 の強力で有意なノックダウン活性 (7 0 % 超) を示す。

【 0 0 4 6 】

【 表 1 - 1 】

10

表1:治療用オリゴヌクレオチドの配列

参照番号 (標的コード/番号)	配列	配列番号	((i)イントロンに対する)標的
4/1	GCCAGTTCCACGGGTCACGA	(配列番号 1)	SCN9A
4/2	ATCCAGCCAGTTCCACGGGT	(配列番号 2)	SCN9A
4/3	CAGGTGTACCCCTCTGGACA	(配列番号 3)	SCN9A
4/4	AGCACGCAGCGTCTGTGGT	(配列番号 4)	SCN9A

20

30

40

50

【表 1 - 2】

4/5	TGCCAGCAGCACGCAGCGTC	(配列番号 5)	SCN9A
4/6	TTGCCAGCAGCACGCAGCGT	(配列番号 6)	SCN9A
4/7	TTTGCCAGCAGCACGCAGCG	(配列番号 7)	SCN9A
4/8	GTTTTGCCAGCAGCACGCAG	(配列番号 8)	SCN9A
4/9	GTTTGCCTGGTTCTGTCTT	(配列番号 9)	SCN9A
4/10	TGTGCTCGCCTATGCCCTTC	(配列番号 10)	SCN9A
4/11	GTTCTGCTGCTTCGCCTTGC	(配列番号 11)	SCN9A
4/12	CCCCTCTGCTCTCATGTGC	(配列番号 12)	SCN9A
4/13	GCCCCCTCTGCTCTCATGT	(配列番号 13)	SCN9A
4/14	GAGCCCCCTCTGCTCTCATT	(配列番号 14)	SCN9A
4/15	GTGAGCCCCCTCTGCTCTCA	(配列番号 15)	SCN9A
4/16	AGTGAGCCCCCTCTGCTCTC	(配列番号 16)	SCN9A
4/17	ACTGCTGCGTCGCTCCTGGG	(配列番号 17)	SCN9A
4/18	GCATTTTCCCGTTCACCGGC	(配列番号 18)	SCN9A
4/19	TGCAGTCCACAGCACTGTGC	(配列番号 19)	SCN9A
4/20	GCATGAGGGCTGAGCGTCCA	(配列番号 20)	SCN9A
4/21	CTCTCAGGGCTGCTTCTTTT	(配列番号 21)	SCN9A
4/22	CTGTTTGCCAGCTTCCAAGT	(配列番号 22)	SCN9A
4/23	TTGGTCCAGTCCGGTGGGTT	(配列番号 23)	SCN9A
4/27	TTGCCTCAGCTTCTTCTTGC	(配列番号 24)	SCN9A
4/31	GTTGCAGTCCACAGCACTGT	(配列番号 25)	SCN9A
4/33	AGGTTACCTAGAGCCCCTAC	(配列番号 26)	SCN9A
4/34	GGTTGTTTGCATCAGGGTCT	(配列番号 27)	SCN9A
4/35	AGGTTACAGCTCTGCTTCTT	(配列番号 28)	SCN9A
4/36	CTTGACCCCAGCTTTTTC	(配列番号 29)	SCN9A
4/37	GGGTTACCACAGTCTCCTTC	(配列番号 30)	SCN9A
4/38	GAATCCATCTCCCCACTCTC	(配列番号 31)	SCN9A
4/39	GCTGCCCACCTTTCTTAGGA	(配列番号 32)	SCN9A
4/40	GCCAATTCCTGGCCATCCT	(配列番号 33)	SCN9A
4/41	CCTTGGGATCTCTGCCAGGT	(配列番号 34)	SCN9A (i)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

4/42	GTCCCTGGAGTCTTGTCTGA	(配列番号 35)	SCN9A (i)
4/43	CTCCCATATCTCCAGTCTGC	(配列番号 36)	SCN9A (i)
4/44	GCTCTTGCTCTGGTTCAGCT	(配列番号 37)	SCN9A (i)
4/45	GGTCTTCCAGCTTCTCTGC	(配列番号 38)	SCN9A (i)
4/46	CATGTCCCTGTCCATCCCTA	(配列番号 39)	SCN9A (i)
4/47	GTGTGGCAGCAGTGACCAGT	(配列番号 40)	SCN9A (i)
4/48	CCCTTGCTGCTGGGTCTATGT	(配列番号 41)	SCN9A (i)
4/49	GCTCTACCCTAGCTGTCAGG	(配列番号 42)	SCN9A (i)
4/50	GCTCCTCCTCAGAGTTTTGC	(配列番号 43)	SCN9A (i)
4/51	GAGCCTCTTCTCTTCAGGCC	(配列番号 44)	SCN9A (i)
4/52	TGGCTCATCCAGGCTCATCA	(配列番号 45)	SCN9A (i)
4/53	GCATTATCCCACCAGGTCC	(配列番号 46)	SCN9A (i)
4/54	TCTCTTCAGTCTCCTCCACA	(配列番号 47)	SCN9A (i)
4/55	CCAGCAGTTGGCAGAGGTTTC	(配列番号 48)	SCN9A (i)
4/56	GCTTGTCATCCCAGTGCCT	(配列番号 49)	SCN9A (i)
4/57	CCTCCATCTGATTCCTCCTC	(配列番号 50)	SCN9A (i)
4/58	GCCTTCTCACCAGTGCTGCT	(配列番号 51)	SCN9A (i)
4/59	TCTAGCCTTCTCACCAGTGC	(配列番号 52)	SCN9A (i)
4/60	GGTGGCAGGTCAAGCAGGGT	(配列番号 53)	SCN9A (i)
5/1	TCTTGGICCTTCTGCTCCCT	(配列番号 54)	SCN10A
5/2	GCTCCCCGATCAGTTCTGCT	(配列番号 55)	SCN10A
5/3	TGTCGGTGTGTGCTGTAGA	(配列番号 56)	SCN10A
5/4	TGGTCCCTCCCTTGTTCAGC	(配列番号 57)	SCN10A
5/5	GTTCAGCCCCACCAAGGCA	(配列番号 58)	SCN10A
5/6	GGGTCTGCTGGTAGAGGCGT	(配列番号 59)	SCN10A
5/7	GCACCTCCTGCTCCTCCGG	(配列番号 60)	SCN10A
5/8	GTTGTCTTCTGTGGAGCCCT	(配列番号 61)	SCN10A
5/9	GCTGGTCAAGCAGGGTGGGC	(配列番号 62)	SCN10A
5/10	GGCCACGCCAGCTCTAGCA	(配列番号 63)	SCN10A
5/11	GGTGAGGTTCCCCAGTGCCC	(配列番号 64)	SCN10A

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

5/12	GTCGTGCATGTGCCAGCGGG	(配列番号 65)	SCN10A
5/13	TCCGTGCCAGGGCCACCTGC	(配列番号 66)	SCN10A
5/14	GGGAGCTTGGAGCCCTCCAG	(配列番号 67)	SCN10A
5/15	GTTCCAGTGCCTGGGCTCCT	(配列番号 68)	SCN10A
5/16	CCAGCTCAGGGATCTTCCTC	(配列番号 69)	SCN10A
5/17	GTCTTGCGCACCTGCCAGCC	(配列番号 70)	SCN10A
5/18	CGTGGGCTTCTGGTCCAGGT	(配列番号 71)	SCN10A
5/19	GCCCGCAGTGGCCGAGAGC	(配列番号 72)	SCN10A
5/20	GGGCATCCACCACCCGC	(配列番号 73)	SCN10A
5/21	GGCGCCACCAGGGCATCCA	(配列番号 74)	SCN10A
5/22	TGTCTCCCCTTGGGTTGC	(配列番号 75)	SCN10A
5/23	TCCCCTCTGGTGCATTGCT	(配列番号 76)	SCN10A
5/24	GGGCTCCCACAGTCCCCTCT	(配列番号 77)	SCN10A
5/25	GCAGCCTCCTCCTCAGCTCT	(配列番号 78)	SCN10A
5/26	GCCATATCCTCACCTCTCA	(配列番号 79)	SCN10A (i)
5/27	GGGACTGCTTCTCCCTTCC	(配列番号 80)	SCN10A (i)
5/28	TGCCTTGTCTCTGGCCTCCC	(配列番号 81)	SCN10A (i)
5/29	GCTTGTTCCAGTCTCAGC	(配列番号 82)	SCN10A (i)
5/30	GACCTTCTCCACAGTGCC	(配列番号 83)	SCN10A (i)
5/31	GAGCCACCCTCCACACAGC	(配列番号 84)	SCN10A (i)
5/32	ACAGCAGTGTCTCCTGGCC	(配列番号 85)	SCN10A (i)
5/33	CCCAGTGTCCACATGTCTCC	(配列番号 86)	SCN10A (i)
5/34	TCTGTTGCTCCCACCAGCTT	(配列番号 87)	SCN10A (i)
5/35	GCCTCTTCTGTGGAGGTGGG	(配列番号 88)	SCN10A (i)
5/36	CCACTCACCACCAGTTCCC	(配列番号 89)	SCN10A (i)
5/37	GGTCTCCTCTGCATTTCCCT	(配列番号 90)	SCN10A (i)
5/38	GCCCTGCATGTTCTGAGGC	(配列番号 91)	SCN10A (i)
5/39	GCTGGCTGTCCAACCTCTCC	(配列番号 92)	SCN10A (i)
5/40	CCAGCCTCTACCAGCCACT	(配列番号 93)	SCN10A (i)
5/41	GCCCTCCCTCTTATCTTACC	(配列番号 94)	SCN10A (i)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

5/42	GCCACCCTAGTTTCCTCCC	(配列番号 95)	SCN10A (i)
5/43	GGTGCCAGCCTGTTTCAGTCC	(配列番号 96)	SCN10A (i)
5/44	GTCCACCCAAGCCCACCTCC	(配列番号 97)	SCN10A (i)
5/45	GGAACTCCCTGCCAGCCTC	(配列番号 98)	SCN10A (i)
5/46	GTCTGGGTCCTGGTGGCTGT	(配列番号 99)	SCN10A (i)
5/47	GCCCTGCCAGTCACACTGCC	(配列番号 100)	SCN10A (i)
5/48	GGCTGATCCTTGCCCTTCTGC	(配列番号 101)	SCN10A (i)
6/1	TTGCTCTAGGAGCTGTGGCT	(配列番号 102)	SCN11A
6/2	AGCACTCAGTGCTCTCTGCC	(配列番号 103)	SCN11A
6/3	GATGGTGATGGCCAGCTCAG	(配列番号 104)	SCN11A
6/4	GGCCTCCATCTTGTGATGCT	(配列番号 105)	SCN11A
6/5	AGGGCTCCGACAGAGTTGCC	(配列番号 106)	SCN11A
6/6	GTCAGGCTTCCAAGGGCTCC	(配列番号 107)	SCN11A
6/7	AGTCAGGCTTCCAAGGGCTC	(配列番号 108)	SCN11A
6/8	GGACCACAGTCAGGCTTCCA	(配列番号 109)	SCN11A
6/9	GTCGGGCCTGTCGGGTTACA	(配列番号 110)	SCN11A
6/10	TGTCGGGCCTGTCGGGTTAC	(配列番号 111)	SCN11A
6/11	CTGTCGGGCCTGTCGGGTTA	(配列番号 112)	SCN11A
6/12	ACTGTCGGGCCTGTCGGGTT	(配列番号 113)	SCN11A
6/13	GACTGTCGGGCCTGTCGGGT	(配列番号 114)	SCN11A
6/14	AGACTGTCGGGCCTGTCGGG	(配列番号 115)	SCN11A
6/15	CCCCATGTGCCAGTGCCGTA	(配列番号 116)	SCN11A
6/16	CCTGGGTCTCTGAGCCCCTT	(配列番号 117)	SCN11A
6/17	TCCTGGGTCTCTGAGCCCCT	(配列番号 118)	SCN11A
6/18	AAGCTCCTCCTGGGTCTCTG	(配列番号 119)	SCN11A
6/19	GTGGGCTTCTTGTCTCTCTG	(配列番号 120)	SCN11A
6/20	GTAGCAGGTTTTCCGCAGGT	(配列番号 121)	SCN11A
6/21	GGTACTAGCTCCTCCTGCCT	(配列番号 122)	SCN11A (i)
6/22	CATCCACCTCCAGACCTCCC	(配列番号 123)	SCN11A (i)
6/23	GCCCAAGTCCCTCAAGCCTT	(配列番号 124)	SCN11A (i)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

6/24	GGTTCAGGTTCCACCCAGC	(配列番号 125)	SCN11A (i)
6/25	CTGTCTCCTCCATAGGTCCT	(配列番号 126)	SCN11A (i)
6/26	TTCCTCCCTGCCTTATGGGT	(配列番号 127)	SCN11A (i)
6/27	GCTCCTCCTTGCTTCAGGCT	(配列番号 128)	SCN11A (i)
6/28	GCATCCAGGCATCTCAGTGC	(配列番号 129)	SCN11A (i)
6/29	GCCCTATGCCTGCCTCAGTG	(配列番号 130)	SCN11A (i)
6/30	CCACACCTGTCTGCCTGTGT	(配列番号 131)	SCN11A (i)
6/31	GTGTCCTCTGCCTCTCTACT	(配列番号 132)	SCN11A (i)
6/32	CCTGCCTTCTCAGAGTGCCA	(配列番号 133)	SCN11A (i)
6/33	GCCCTCTTTCTCACCAGACC	(配列番号 134)	SCN11A (i)
6/34	CCCATGTCCCTACCTCCTTT	(配列番号 135)	SCN11A (i)
6/35	GTCCCATCCCAAGTCTAGCC	(配列番号 136)	SCN11A (i)
6/36	TCTTAGGTCCTGTTGCCCT	(配列番号 137)	SCN11A (i)
6/37	CCCACTCCTCCCTTCTTTGA	(配列番号 138)	SCN11A (i)
6/38	GGGCTCTCTTCACTCTGCCT	(配列番号 139)	SCN11A (i)
6/39	GGGTCTCTCTGTTGCCACT	(配列番号 140)	SCN11A (i)
6/40	CTCCCTAGCCCTGCCTCTTC	(配列番号 141)	SCN11A (i)
4/61	AAAATCCAGCCAGTCCAC	(配列番号 142)	SCN9A/SCN10A
4/62	CAAAATCCAGCCAGTTCCA	(配列番号 143)	SCN9A/SCN10A
4/63	TGCAATGTACATGTTACCC	(配列番号 144)	SCN9A/SCN10A
4/64	CTGCAATGTACATGTTAC	(配列番号 145)	SCN9A/SCN10A
4/65	ACTGCAATGTACATGTTCA	(配列番号 146)	SCN9A/SCN10A
4/66	TGACTGCAATGTACATGTT	(配列番号 147)	SCN9A/SCN10A
4/67	ATGACTGCAATGTACATGT	(配列番号 148)	SCN9A/SCN10A
4/68	GTCATTTTIGCCATGTTAT	(配列番号 149)	SCN9A/SCN10A
4/69	TCAAATAACCCAGAAGCCT	(配列番号 150)	SCN9A/SCN10A
4/70	TTCAAATAACCCAGAAGCC	(配列番号 151)	SCN9A/SCN10A
4/71	TTTCAAATAACCCAGAAGC	(配列番号 152)	SCN9A/SCN10A

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

5/49	AAAATCCAGCCAGTTCCAA	(配列番号 153)	SCN9A/SCN10A
5/50	AGGCCTGGGATCACAGAAA	(配列番号 154)	SCN9A/SCN10A
5/51	CAGGCCTGGGATCACAGAA	(配列番号 155)	SCN9A/SCN10A
5/52	TCAGGCCTGGGATCACAGA	(配列番号 156)	SCN9A/SCN10A
5/53	TTCAGGCCTGGGATCACAG	(配列番号 157)	SCN9A/SCN10A
5/54	CTTCAGGCCTGGGATCACA	(配列番号 158)	SCN9A/SCN10A
5/55	TGCTCTGTGAATAAATGCT	(配列番号 159)	SCN9A/SCN10A
5/56	TAATTTGGCATCTGTCTTT	(配列番号 160)	SCN9A/SCN10A
5/57	TCAGATAACCCAGAAGCCT	(配列番号 161)	SCN9A/SCN10A
5/58	TTCAGATAACCCAGAAGCC	(配列番号 162)	SCN9A/SCN10A
5/59	TTTCAGATAACCCAGAAGC	(配列番号 163)	SCN9A/SCN10A
5/60	GGATGATGAATAGATGGAA	(配列番号 164)	SCN9A/SCN10A
C/1	GCCAUAATCCGGGTTUCUGC	(配列番号 165)	対照

10

20

30

上で論じられたように、ベースライン、刺激物での処理下、ならびに刺激物質と抗 NaV1.7 ASO および抗 NaV1.8 ASO を含む組成物での処理下での神経活性の測定レベルは、オリゴの組み合わせがオリゴ単独よりも良好に機能することを示している。本明細書に開示されるように、SCN9A (別名 NaV1.7) に対する最も好ましい実施形態は、配列番号 6、配列番号 10、または配列番号 11 のうちの 1 つを有するものを含む。SCN10A (別名 NaV1.9) に対する最も好ましい実施形態は、配列番号 61、配列番号 71、または配列番号 73 のうちの 1 つを有するものを含む。したがって、本開示の最も好ましい組み合わせの実施形態は、疼痛を処置するための組成物を含む。組成物は、配列番号 6、配列番号 10、および配列番号 11 のうちの 1 つに少なくとも約 90% 相補的な mRNA のセグメントに沿ってナトリウムチャンネルタンパク質をコードする mRNA にハイブリダイズする第 1 のオリゴヌクレオチド、ならびに配列番号 61、配列番号 71、および配列番号 73 のうちの 1 つ少なくとも約 90% 相補的な mRNA のセグメントに沿ってナトリウムチャンネルタンパク質をコードする mRNA にハイブリダイズする第 2 のオリゴヌクレオチドを含む。好ましい組み合わせの実施形態では、治療用オリゴヌクレオチドの各々は、修飾 RNA ウィングに隣接する中央 DNA セグメントを含むギャップマー構造を有し得る。

40

【0047】

ウィングのいずれかまたは両方は、修飾 RNA 塩基を含んでもよく、例えば、両方のウ

50

ィングは、2'-O-メトキシエチルリボース修飾を有する5個の連続したRNA塩基を含み得る。各オリゴヌクレオチドの全体は、ホスホジエステル結合またはホスホロチオエート結合または当業者には明らかである他の結合を介して連結されていてもよい。好ましくは、複数の治療用オリゴヌクレオチドは、髄腔内注射のために診療所で希釈または再構成するために、凍結乾燥または溶液で提供される。すなわち、1またはそれを超える管に包装された凍結乾燥または溶液中のものは、少なくとも数千~数百万コピーの第1のオリゴヌクレオチドおよび少なくとも数千~数百万コピーの第2のオリゴヌクレオチドである。図11によって実証されるような効果を示すように、組成物のこの好ましい組み合わせの実施形態は、疼痛の処置のための非オピオイド治療薬として予想外の利益を有することを証明することができる。

10

【0048】

他の特徴および実施形態は、本開示の範囲内である。本開示の実施形態は、Nav1.7および/またはNav1.8を発現している細胞においてNav1.7またはNav1.8の発現を阻害することができる、SCN9AまたはSCN10Aを標的とするロックド核酸(LNA)アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを含む。本発明のオリゴヌクレオチドは、疼痛の予防または処置に使用され得る。本発明はさらに、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのヒトNav1.7のオリゴヌクレオチド阻害剤、またはsiRNAもしくはshRNAなどのRNAi剤によって標的化され得るヒトNav1.7 pre-mRNA上の有利な標的部位配列を提供する。

【0049】

20

本発明は、ヒトNav1.7標的核酸およびヒトNav1.8標的核酸に対して少なくとも90%の相補性、例えば100%の相補性を有し、細胞内のNav1.7またはNav1.8の両方の発現を阻害することができる、10~30ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む、10~30ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドを提供する。オリゴヌクレオチド107は、配列番号1~141のいずれかと100%同一であってもよいが、または少なくとも90%同一である。

【0050】

実施形態は、本発明によるアンチセンスオリゴヌクレオチド、または本発明によるコンジュゲートの薬学的に許容され得る塩を含む。

【0051】

30

本発明は、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは本発明のコンジュゲートと、薬学的に許容され得る希釈剤、溶媒、担体、塩および/またはアジュバントとを含む医薬組成物を提供する。

【0052】

本発明は、薬剤に使用するための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドもしくは本発明のコンジュゲート、または本発明の医薬塩もしくは組成物を提供する。

【0053】

本発明は、疼痛の処置または予防または緩和に使用するための本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドもしくは本発明のコンジュゲート、または本発明の医薬塩もしくは組成物を提供する。本発明は、疼痛を処置、予防または緩和するための医薬品を調製するための、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドもしくは本発明のコンジュゲート、または本発明の医薬塩もしくは組成物の使用を提供する。

40

【0054】

いくつかの実施形態では、疼痛は、慢性疼痛、神経因性疼痛、炎症性疼痛、自発性疼痛、または侵害受容性疼痛である。

【0055】

オリゴヌクレオチドは、一般に、固相化学合成とそれに続く精製および単離によって実験室で作製される。オリゴヌクレオチドの配列に言及する場合、共有結合したヌクレオチドまたはヌクレオシドの核酸塩基部分またはその修飾の配列または順序が参照される。本発明のオリゴヌクレオチドは、人工のもの、すなわち化学的に合成されたものであっても

50

よく、典型的には精製または単離される。本発明のオリゴヌクレオチドは、1またはそれを超える修飾ヌクレオシドまたはヌクレオチド、例えば2'糖修飾ヌクレオシドを含み得る。

【0056】

修飾ヌクレオチドは、独立して、デオキシ-ヌクレオチド、3'-末端デオキシ-チミン(dT)ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-デオキシ修飾ヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、アンロックドヌクレオチド、立体配座制限ヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、無塩基ヌクレオチド、2'-アミノ修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、2'-C-アルキル修飾ヌクレオチド、2'-ヒドロキシル修飾ヌクレオチド、2'-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホロアミデート、非天然塩基含有ヌクレオチド、1,5-アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、5'-ホスフェートを含むヌクレオチド、5'-ホスフェート模倣物を含むヌクレオチド、グリコール修飾ヌクレオチド、および2'-O-(N-メチルアセトアミド)修飾ヌクレオチド、およびそれらの組み合わせからなる群から選択されてもよい。

【0057】

ASOの窒素塩基は、アデニン、グアニン、シトシン、チミジン、ウラシル、キサンチンおよびヒポキサンチンなどの天然に存在する核酸塩基、ならびに置換プリンまたは置換ピリミジンなどの非天然変異体、例えばイソシトシン、プソイドイソシトシン、5-メチルシトシン、5-チアゾロ(thiazolo)-シトシン、5-プロピニル-シトシン、5-プロピニル-ウラシル、5-プロモウラシル、5-チアゾロ-ウラシル、2-チオ-ウラシル、2'チオ-チミン、イノシン、ジアミノプリン、6-アミノプリン、2-アミノプリン、2,6-ジアミノプリンおよび2-クロロ-6-アミノプリンから選択される核酸塩基であってもよい。

【0058】

核酸塩基部分は、各対応する核酸塩基、例えばA、T、G、CまたはUの文字コードによって示されてもよく、各文字は、必要に応じて同等の機能の修飾核酸塩基を含み得る。例えば、例示されるオリゴヌクレオチドにおいて、核酸塩基部分は、A、T、G、C、および5-メチルシトシンから選択される。必要に応じて、LNAギャップマーの場合、5-メチルシトシンLNAヌクレオシドを使用してもよい。

【0059】

本開示のオリゴヌクレオチド107は、ナトリウムチャンネル(NaV1.7、1.8または1.9)の発現を下方制御する(阻害する)ことができる。いくつかの実施形態では、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、阻害または下方制御することによって、標的の発現を調節することができる。好ましくは、そのような調節は、標的の正常発現レベルと比較して少なくとも20%の発現の阻害、より好ましくは標的の正常発現レベルと比較して少なくとも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%、または少なくとも90%の阻害をもたらす。

【0060】

本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)は、例えばpre-mRNAのスプライシングの調節を介して、標的核酸のレベルを(例えば、RNaseH切断を介して)低下させ得るか、または標的核酸の機能性を低下させ得る(または機能性を変化させ得る)。

【0061】

本開示のオリゴヌクレオチド107は、修飾された糖部分、すなわち、DNAおよびRNAに見られるリボース糖部分と比較した場合、糖部分の修飾を有する1またはそれを超えるヌクレオシドを含み得る。主に、親和性および/またはヌクレアーゼ耐性などのオリゴヌクレオチドの特定の特性を改善する目的で、リボース糖部分を修飾した多数のヌクレ

オシドが作製されている。そのような修飾には、リボース環構造が、例えば、典型的にはリボース環（LNA）上のC2炭素とC4炭素との間に架橋を有するヘキソース環（HNA）、もしくは二環式環、または典型的にはC2炭素とC3炭素との間の結合を欠く非連結リボース環（例えば、UNA）での置換によって修飾されるものが含まれる。修飾ヌクレオシドにはまた、例えばペプチド核酸（PNA）、またはモルホリノ核酸の場合、糖部分が非糖部分で置き換えられているヌクレオシドも含まれる。

【0062】

糖修飾にはまた、リボース環上の置換基を水素以外の基、またはDNAおよびRNAヌクレオシドに天然に見られる2'-OH基に変更することによって行われる修飾も含まれる。置換基は、例えば、2'、3'、4'または5'位に導入され得る。

10

【0063】

オリゴヌクレオチドは、1またはそれを超えるロックド核酸（LNA）塩基を含み得る。LNAは、リボース環の立体配座を制限またはロックする、当該ヌクレオシドのリボース糖環のC2'とC4'とを連結するピラジカル（2'-4'ブリッジとも呼ばれる）を含む2'修飾ヌクレオシドを含み得る。これらのヌクレオシドはまた、文献では架橋核酸または二環式核酸（BNA）とも呼ばれる。相補的なRNAまたはDNA分子に対してLNAがオリゴヌクレオチドに組み込まれる場合、リボースの立体配座のロックは、ハイブリダイゼーションの増強された親和性（二重鎖安定化）に関連する。これは、オリゴヌクレオチド/補完物二重鎖の融解温度を測定することによって日常的に決定することができる。非限定的で例示的なLNAヌクレオシドは、国際公開第99/014226号、国際公開第00/66604号、国際公開第98/039352号、国際公開第2004/046160号、国際公開第00/047599号、国際公開第2007/134181号、国際公開第2010/077578号、国際公開第2010/036698号、国際公開第2007/090071号、国際公開第2009/006478号、国際公開第2011/156202号、国際公開第2008/154401号、国際公開第2009/067647号および国際公開第2008/150729号に開示されており、これらはすべて参照により組み込まれる。

20

【0064】

本開示のオリゴヌクレオチドの薬学的に許容され得る塩には、遊離塩基または遊離酸の生物学的有効性および特性を保持し、生物学的にまたは他の点で望ましくないものではない塩が含まれる。塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、特に塩酸などの無機酸、および酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、スルホン酸、またはサリチル酸などの有機酸で形成される。さらに、これらの塩は、遊離酸への無機塩基または有機塩基の添加から調製され得る。無機塩基から誘導される塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩が挙げられるが、これらに限定されない。有機塩基から誘導される塩としては、第一級、第二級および第三級アミン、天然に存在する置換アミンを含む置換アミン、環状アミンおよび塩基性イオン交換樹脂、例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、リジン、アルギニン、N-エチルピペリジン、ピペリジン、ポリアミン樹脂の塩が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0065】

オリゴヌクレオチド107は、ナトリウムチャンネルpre-mRNAまたはmRNA転写物のヌクレアーゼ媒介分解を媒介または促進し得る。ヌクレアーゼ媒介分解は、そのような配列と二重鎖を形成する際に相補的なヌクレオチド配列の分解を媒介することができるオリゴヌクレオチドを指す。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、標的核酸のヌクレアーゼ媒介分解を介して機能することができ、本発明のオリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼ、特にエンドヌクレアーゼ、好ましくはRNase Hなどのエンドリボヌクレアーゼ（RNase）を動員することができる。ヌクレアーゼ媒介機構を介して作

50

用するオリゴヌクレオチド設計の例は、典型的には少なくとも5個または6個の連続するDNAヌクレオシドの領域を含み、親和性増強ヌクレオチドによって片側または両側に隣接するオリゴヌクレオチド、例えばギャップマーである。アンチセンスオリゴヌクレオチド107のRNase H活性とは、相補的RNA分子との二重鎖にあるときにRNase Hを動員する能力を指す。

【0066】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド107またはその連続するヌクレオチド配列は、ギャップマーオリゴヌクレオチドまたはギャップマー設計とも呼ばれるギャップマーであってもよい。アンチセンスギャップマーは、一般に、RNase H媒介性分解を介して標的核酸を阻害するために使用される。ギャップマーオリゴヌクレオチドは、少なくとも3つの異なる構造領域の5'-フランク、ギャップおよび3'-フランクであるF-G-F'を、「5 3」配向で含む。「ギャップ」領域(G)は、オリゴヌクレオチドがRNase Hを動員することを可能にする一続きの連続するDNAヌクレオチドを含む。ギャップ領域は、1またはそれを超える糖修飾ヌクレオシド、有利には高親和性糖修飾ヌクレオチドを含む5'隣接領域(F)と、1またはそれを超える糖修飾ヌクレオチド、有利には高親和性糖修飾ヌクレオチドを含む3'隣接領域(F')とに隣接している。領域FおよびF'における1またはそれを超える糖修飾ヌクレオチドは、標的核酸に対するオリゴヌクレオチドの親和性を高める(すなわち、親和性増強糖修飾ヌクレオチドである)。いくつかの実施形態では、領域FおよびF'における1またはそれを超える糖修飾ヌクレオチドは、2'糖修飾ヌクレオチドであり、LNAおよび2'-MOEから独立して選択されるものなどの高親和性2'糖修飾などである。

【0067】

混合ウィングギャップマーは、LNAギャップマーであり、領域FおよびF'の一方または両方が2'置換ヌクレオチド、例えば2'-O-アルキル-RNA単位、2'-O-メチル-RNA、2'-アミノ-DNA単位、2'-フルオロ-DNA単位、2'-アルコキシ-RNA、MOE単位、アラビノ核酸(ANA)単位、2'-フルオロ-ANA単位、またはそれらの組み合わせからなる群から独立して選択される2'置換ヌクレオチドを含む。領域FおよびF'の少なくとも一方、または領域FおよびF'の両方が少なくとも1つのLNAヌクレオチドを含むいくつかの実施形態では、領域FおよびF'の残りのヌクレオチドは、2'-MOEおよびLNAからなる群から独立して選択される。領域FおよびF'の少なくとも一方、または領域FおよびF'の両方が少なくとも2つのLNAヌクレオチドを含むいくつかの実施形態では、領域FおよびF'の残りのヌクレオチドは、2'-MOEおよびLNAからなる群から独立して選択される。いくつかの混合ウィングの実施形態では、領域FおよびF'の一方または両方は、1またはそれを超えるDNAヌクレオチドをさらに含み得る。ギャップマー設計は、いずれも参照により組み込まれる国際公開第2008/049085号および国際公開第2012/109395号に論じられている。

【0068】

1またはそれを超える非ヌクレオチド部分へのオリゴヌクレオチド107のコンジュゲーションは、例えば、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、細胞取り込みまたは安定性に影響を及ぼすことによって、オリゴヌクレオチドの薬理学を改善し得る。いくつかの実施形態では、コンジュゲート部分は、オリゴヌクレオチドの細胞分布、バイオアベイラビリティ、代謝、排泄、透過性および/または細胞取り込みを改善することによって、オリゴヌクレオチドの薬物動態学的特性を改変または増強することができる。特に、コンジュゲートは、オリゴヌクレオチドを特定の器官、組織または細胞型に標的化し、それによってその器官、組織または細胞型におけるオリゴヌクレオチドの有効性を高めることができる。コンジュゲートはまた、非標的細胞型、組織または器官におけるオリゴヌクレオチドの活性、例えば非標的細胞型、組織または器官におけるオフターゲット活性または活性を低下させるのに役立つ。

【0069】

一実施形態では、非ヌクレオチド部分（コンジュゲート部分）は、炭水化物、細胞表面受容体リガンド、原薬、ホルモン、親油性物質、ポリマー、タンパク質、ペプチド、毒素（例えば細菌毒素）、ビタミン、ウイルスタンパク質（例えばキャプシド）またはそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0070】

本開示のオリゴヌクレオチド107は、上述のオリゴヌクレオチドおよび/またはオリゴヌクレオチドコンジュゲートもしくはその塩、ならびに薬学的に許容され得る希釈剤、担体、塩および/またはアジュバントのいずれかを含む医薬組成物で提供され得る。薬学的に許容され得る希釈剤には、ACSF人工脳脊髄液が含まれ、薬学的に許容され得る塩には、ナトリウム塩およびカリウム塩が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、薬学的に許容され得る希釈剤は、滅菌リン酸緩衝生理食塩水または滅菌炭酸ナトリウム緩衝液である。いくつかの好ましい実施形態では、臨床用途のための希釈剤は、エリオットB溶液および/またはACSF人工脳脊髄液を含む。

10

【0071】

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、薬学的に許容され得る希釈剤中の溶液、例えばPBSまたは炭酸ナトリウム緩衝液に溶解した溶液の形態である。オリゴヌクレオチドは、溶液中に予め製剤化されてもよく、またはいくつかの実施形態では、投与前に薬学的に許容され得る希釈剤に溶解され得る乾燥粉末（例えば、凍結乾燥粉末）の形態であってもよい。適切には、例えば、オリゴヌクレオチドは、0.1~100mg/mL、例えば1~10mg/mLの濃度で溶解され得る。

20

【0072】

本開示の組成物は、慢性疼痛、神経因性疼痛、炎症性疼痛、自発性疼痛、または侵害受容性疼痛などの疼痛の予防または処置のために患者に投与され得る。本発明のオリゴヌクレオチド、または本発明のコンジュゲート、塩もしくは医薬組成物は、局所鎮痛薬として使用するためのものであってもよい。

【0073】

本発明のオリゴヌクレオチド、または本発明のコンジュゲート、塩もしくは医薬組成物によって処置され得る疼痛は、疼痛シグナルが末梢神経系にある疼痛であってもよい。末梢性の要素が大きい疼痛に関連する適応症としては、例えば、糖尿病性神経障害、癌、頭蓋神経痛、帯状疱疹後神経痛および術後神経痛が挙げられる。

30

【0074】

本発明のオリゴヌクレオチド、コンジュゲート、組成物または塩を使用して予防、処置または改善され得る疼痛は、例えば、遺伝性先端紅痛症（IEM）、発作性激痛症（PEPD）、三叉神経痛、神経因性疼痛、慢性疼痛に関連する疼痛からなる群から選択されるが、侵害受容性（例えば、神経の圧迫）、神経因性疼痛（例えば、糖尿病性神経障害）、内臓痛、癌性疼痛または混合疼痛の一般的な処置からも選択され得る。本発明は、慢性疼痛、神経因性疼痛、炎症性疼痛、自発性疼痛、癌性疼痛、または侵害受容性疼痛などの疼痛の予防または処置に使用するための本発明のオリゴヌクレオチド、コンジュゲート、組成物または塩を提供する。

【0075】

本開示は、疼痛に罹患しているか、または疼痛に罹患している可能性があるヒトなどの対象における疼痛を処置または予防する方法であって、治療上または予防上有効量の本発明のオリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドコンジュゲートまたは医薬組成物を、癌性疼痛、変形性関節症性疼痛、慢性疼痛、神経因性疼痛、炎症性疼痛、自発性疼痛、または侵害受容性疼痛などの疼痛に罹患しているか、または疼痛に罹患している可能性がある対象に投与することを含み、オリゴヌクレオチドが、配列番号1~141のうちの1つに相補的な配列を標的とする、方法を提供する。

40

【0076】

二重ノックダウンの実施形態

本開示の実施形態は、複数の標的を介して疼痛を処置するための治療用組成物に関する

50

。組成物は、配列番号142～164のうちの1つに少なくとも約75%相補的なRNAのセグメントに沿ったナトリウムチャンネルタンパク質（例えば、ヒトNav1.7/Nav1.8）の2つ以上の遺伝子からのRNAにハイブリダイズし、それによってRNAのナトリウムチャンネルタンパク質への翻訳を防止するオリゴヌクレオチドを含む。ただし、SCN9AはNav1.7であり、SCN10AはNav1.8であり、SCN11AはNav1.9である。

【0077】

オリゴヌクレオチドは、配列番号142～164（「ギャップマー」構造ではあるが、DNAコアおよびRNAウィングを有する）のうちの1つと少なくとも80%類似する配列を有し得る。オリゴヌクレオチドの外側ウィングは、例えば、大部分または全体が2-メトキシエチル（2'-MOE）RNA塩基で作成されている修飾RNA化学を含み得る。好ましい実施形態は、ウィング内にいくつかの（例えば、2～4）ホスホジエステル結合を含み、他のすべての塩基間結合はホスホロチオエートである。例えば、第2、第3、第4、第15および第17の結合（配列に記載された方向）は、ホスホジエステルであってもよく、他はすべてホスホロチオエートである。特に、そのような実施形態では、最も外側の結合およびDNA塩基を含むすべての結合は、好ましくはホスホロチオエートであり、RNA間結合のうちの3つが、2つまたは3ついずれかのホスホジエステル結合を含むように残る（残りはホスホロチオエートである）。好ましい実施形態では、組成物は、それぞれが配列番号142～164のうちの1つによって与えられる配列を有し、5-9-5（RNA-DNA-RNA）ギャップマー設計を有する1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド（oligonucleotides）のコピーを含み、最も外側の塩基間結合およびDNA塩基を含むすべての結合はホスホロチオエートであり、各ウィングの他の3つのRNA間結合は2つまたは3ついずれかのホスホジエステル結合を含む（残りはホスホロチオエートである）。

【0078】

配列番号142～164によって例示されるヒトNav1.7/Nav1.8二重ロックダウン配列はそれぞれ、好ましくは、5×9×5の立体配置に従う19merのASOギャップマー設計として提供され、9塩基のDNAコアに5'および3'のRNA様ウィングを有する。好ましくは、5'および3'ウィングは、少なくとも実質的に2-メトキシエチル（2'-MOE）化学の後に続き、骨格結合は、ホスホロチオエート（PS）およびホスホジエステル（PO）（例えば、最も外側の塩基間結合およびDNA塩基を含むすべての結合はPSであり、各ウィングの他の3つのRNA間結合は2つまたは3ついずれかのPS結合を含み、残りはPOである）の混合物を含む。特定の実施形態では、ヒトNav1.7/Nav1.8二重ロックダウンは、配列番号142～164のうちの1つによって与えられる配列を有するオリゴヌクレオチドおよび上記のギャップマー組成物を含む。

【0079】

二重ロックダウン配列のうち、グループ1と呼ばれる第1の好ましい実施形態は、参照番号（標的コード/番号）4/61～4/71とも記載される配列番号142～152によって示される。グループ1の二重ロックダウンASOはすべて、ヒトSCN9A転写物と100%一致し、ヒトSCN10Aとのミスマッチは1ヌクレオチドのみである。グループ1の示された二重ロックダウンASOオリゴヌクレオチドは、9塩基のDNAコアならびに5'および3'のRNA様ウィングを有する5-9-5ギャップマー設計を有する。5'および3'ウィングは、2-メトキシエチル（2'-MOE）化学を含む。骨格は、ホスホロチオエート（PS）およびホスホジエステル（PO）の混合物を含み、例えば、第2、第3、第4、第15および第17の結合（配列に記載された方向）はPOであってもよく、他はすべてPSである。好ましくは、配列番号142～152のいずれかは、その骨格化学を有する。このグループ1の各配列は、ヒトSCN9AプレRNAまたはmRNAの標的配列に対するミスマッチが0個であり、ヒトSCN10AプレRNAまたはmRNAの標的配列に対するミスマッチが1個である。

【0080】

二重ノックダウン配列のうち、第2の好ましい実施形態は、グループ2と呼ばれ、参照番号(標的コード/番号)5/49~5/60とも記載される配列番号153~164によって示される。グループ2の二重ノックダウンASOはすべて、ヒトSCN10A転写物と100%一致し、ヒトSCN9Aとのミスマッチは1ヌクレオチドのみである。グループ2の示された二重ノックダウンASOオリゴヌクレオチドは、9塩基のDNAコアに5'および3'のRNA様ウィングを有する5'-9'-5'ギャップマー設計を有する。5'および3'ウィングは、2-メトキシエチル(2'-MOE)化学を含む。骨格は、ホスホリチオエート(PS)およびホスホジエステル(PO)の混合物を含み、例えば、第2、第3、第4、第15および第17の結合(配列に記載された方向)はPOであってもよく、他はすべてPSである。好ましくは、配列番号153~164のいずれかは、その骨格化学を有する。このグループ2の各配列は、ヒトSCN9AプレRNAまたはmRNAの標的配列に対するミスマッチが1個であり、ヒトSCN10AプレRNAまたはmRNAの標的配列に対するミスマッチが0個である。

10

【0081】

特定の二重ノックダウン実施形態では、本発明は、ヒトNav1.7標的核酸およびヒトNav1.8標的核酸に対して少なくとも90%の相補性、例えば100%の相補性を有し、細胞内のNav1.7またはNav1.8の両方の発現を阻害することができる、10~30ヌクレオチド長の連続ヌクレオチド配列を含む、10~30ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドを提供する。

20

【0082】

図12は、本開示のASOが複数のNav標的の強力かつ選択的なノックダウンを提供することを示している。図において、上のグラフは、2つの濃度で4つの異なるASO(標識ASO1、ASO2、ASO3、およびASO4)で処理した場合の、Nav1.5およびNav1.2と比較したNav1.7の比較発現レベルを示す。下のグラフは、2つの濃度で同じ4つの異なるASO(標識ASO1、ASO2、ASO3、およびASO4)で処理した場合の、Nav1.5およびNav1.2と比較したNav1.8の比較発現レベルを示す。

【0083】

上部パネルにおける6つのバーからなる第1のグループは、5nMまたは15nMのどちらの濃度のASO1でも、Nav1.5およびNav1.2の発現と比較してNav1.7の発現が有意にノックダウンされたことを示している。予想外にも、下部パネルにおける6つのバーからなる第1のグループは、5nMまたは15nMのどちらの濃度のASO1でも、Nav1.5およびNav1.2の発現と比較してNav1.8の発現が有意にノックダウンされたことを示している。すなわち、上部パネルおよび下部パネルの6つのバーの左端の群は、ASO1が、Nav1.5およびNav1.2と比較して、Nav1.7およびNav1.8の両方の発現を特異的にノックダウンすることを示している。上部パネルおよび下部パネルを一緒に見ると、部品の第2のグループは、ASO2について同様のことを示し、バーの第3のグループは、ASO3について同様の結果を示し、6つのバーの第4のグループは、ASO4について同様の結果を示している。これらのデータは、本開示のASOがNav1.7またはNav1.8の両方の発現を阻害することができることを強く示している。

30

40

【0084】

異なるNavチャンネルは、異なる生物物理学的特性および興奮性における役割を有する。

【0085】

図13は、どのNavチャンネルが神経活動の閾値、閾値未満および閾値を超える興奮性に実質的または主に関与しているかを示している。データは、青色光およびOptopatch構築物を使用してニューロンを刺激し、ナトリウム(Na)伝導率を測定することによって得られる。青色光刺激プロトコルを使用して、侵害受容器発火における各Nav

50

の役割を特性決定した。データは、NaV1.7およびNaV1.8が閾値以上での活性の主な駆動因子であり、したがってそれらの標的が疼痛を処置するための治療用組成物の貴重な標的であることを示している。ここで、本開示は、検証された標的NaV1.7およびNaV1.8に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドに基づく治療薬を提供する。

【図面】

【図 1】

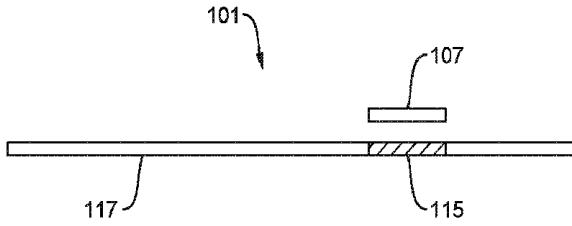


FIG. 1

【図 2】

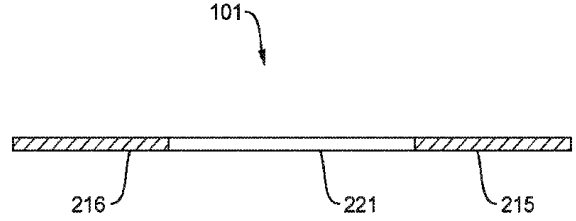


FIG. 2

10

【図 3】

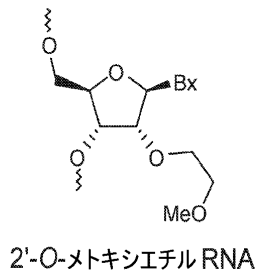


FIG. 3

【図 4】

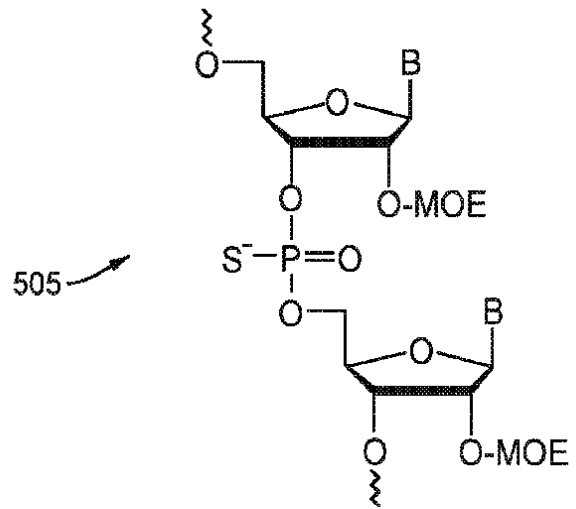


FIG. 4

20

30

40

50

【 図 5 】

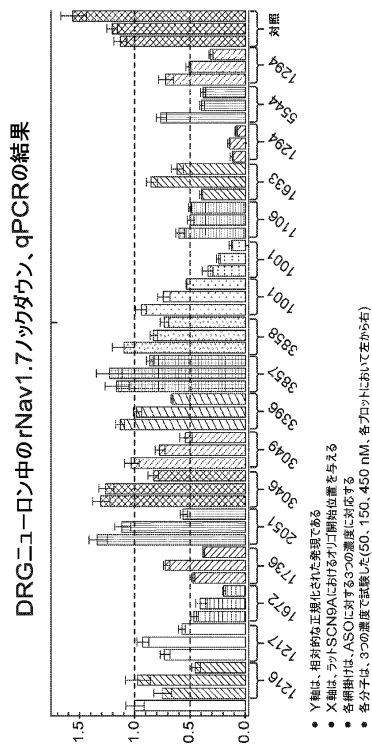
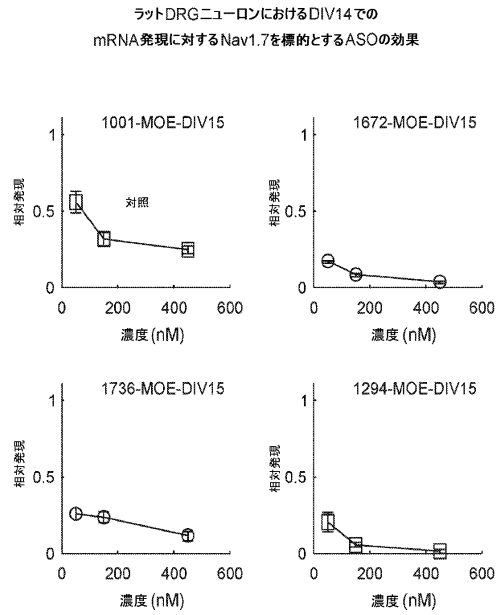


FIG. 5

【 図 6 】



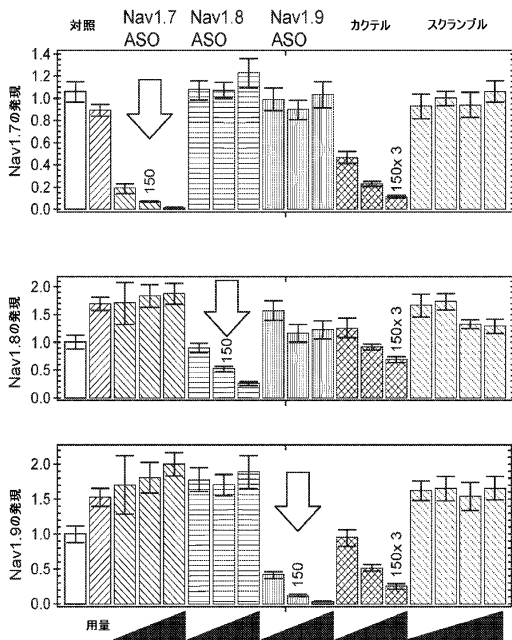
- 1. 1672-MOE および1294-MOEはDIV14においてmRNAの95%超の低下を示す
- 2. ASO候補は対照より良好な性能を示す

FIG. 6

10

20

【 図 7 】



- ▶ Nav1.x ASOは、高い効力およびサブタイプ選択性を有する
- ▶ 450 nMカクテル ASO (150 nM Nav1.7 ASO + 150 nM Nav1.8 ASO + 150 nM Nav1.9 ASO)は、3つの標的すべてをノックダウンすることができる

FIG. 7

【 図 8 】

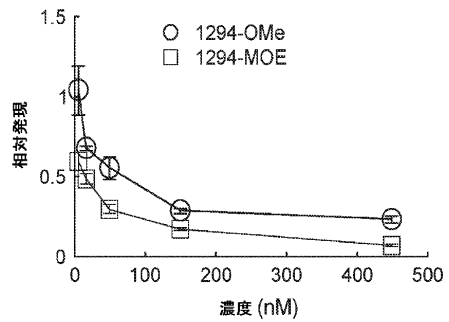


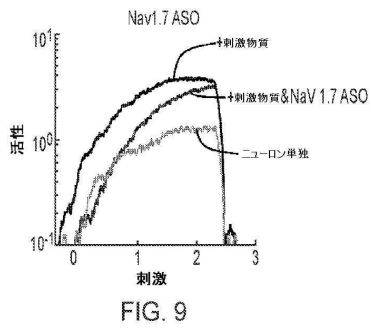
FIG. 8

30

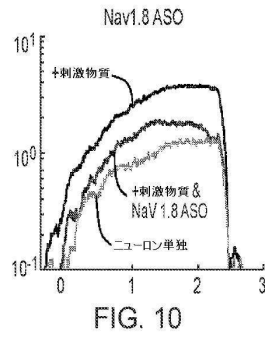
40

50

【 図 9 】

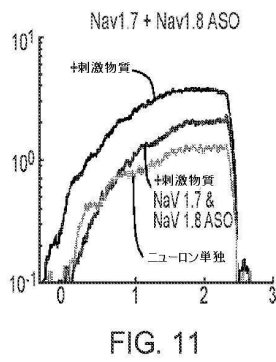


【 図 10 】

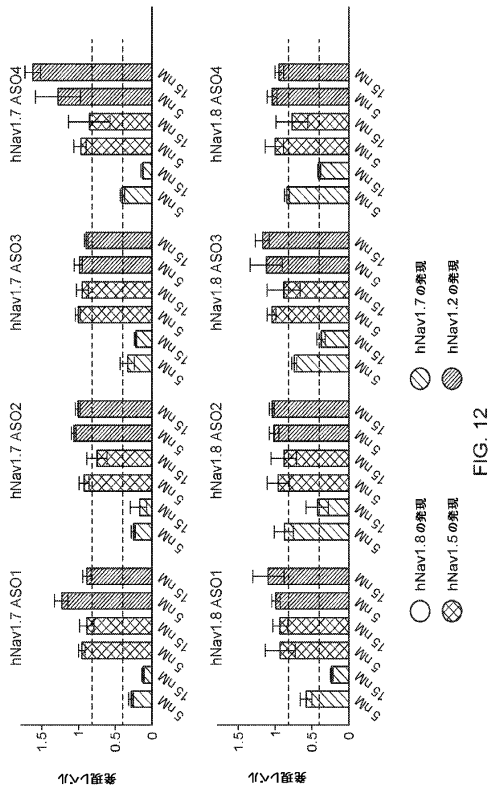


10

【 図 11 】



【 図 12 】



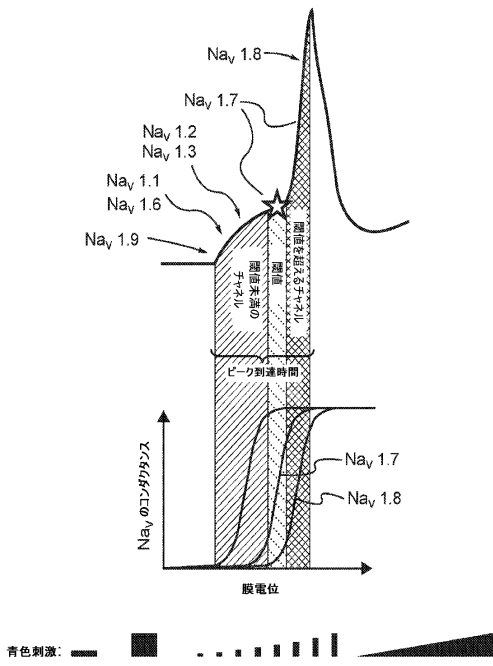
20

30

40

50

【 図 1 3 】



10

20

FIG. 13

【 配 列 表 】

202354288900001.app

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/50866

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - C12N 15/113; C12N 15/11; A61P 25/04 (2021.01)
CPC - C12N 15/113; C12N 2310/14; C12N 15/1138; C12N 2310/315; C12N 2310/321; A61P 25/04; A61K 31/713; C12N 2310/341; C12N 2310/11; C12N 2310/322; A61K 31/712; A61K 31/7125; A61K 31/7115

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

10

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

20

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2019/243430 A1 (ROCHE INNOVATION CENTER COPENHAGEN AS) 26 December 2019; page 8, lines 3-18; page 9, lines 16-32; page 53, lines 9-18; page 89, lines 25-26; claim 1	1-11, 13-17, 19-20 — 12, 18
Y	WO 2018/098328 A1 (ALNYLAM PHARMA INC) 31 May 2018; paragraph [00503]	12
Y	(YU, YQ ET AL.). "Antisense-Mediated Knockdown of NaV1.8, but Not NaV1.9, Generates Inhibitory Effects on Complete Freund's Adjuvant-Induced Inflammatory Pain in Rat." Pages 1-9. PLoS ONE. Vol. 6, No. 5, Article E19865. 10 May 2011; page 3, column 2, paragraph 1; figure 3C 3D; DOI: 10.1371/journal.pone.0019865; DOI: 10.1371/journal.pone.0019865	18

30

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

40

Date of the actual completion of the international search 07 February 2022 (07.02.2022)	Date of mailing of the international search report MAR 14 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/50866

Box No. 1 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:

10

- 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.

20

3. Additional comments:

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/50866

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

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

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
-***-Please See Supplemental Page-***-

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Group I+, Claims 1-36; SEQ ID NO: 1 (oligonucleotide); NaV1.7 (sodium channel)

30

40

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US21/50866

.-***-Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking.-***-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+, Claims 1-36, SEQ ID NO: 1 (oligonucleotide) and Nav1.7 (sodium channel) are directed towards pain therapeutic compositions that include an antisense oligonucleotide (ASO) complementary to an identified target on a Nav channel mRNA.

10

The compositions of Claims 1-20 (each in-part) are believed to encompass the first named invention of Group I+ and are the claims that will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (first exemplary oligonucleotide) and Nav1.7 (first exemplary sodium channel).

Applicant is invited to elect additional oligonucleotide(s) and sodium channel(s), with specified SEQ ID NO: for each, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO., such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), to be searched. Additional oligonucleotide(s) and sodium channel(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the searchable claims that encompass any additionally elected oligonucleotide(s) and sodium channel(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be SEQ ID NO: 2 (oligonucleotide).

No technical features are shared between the oligonucleotides and sodium channels of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: a composition for treating pain, the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to an RNA encoding a sodium channel protein along a segment of the RNA that is at least about 75% complementary to a sequence to thereby prevent translation of the RNA into the sodium channel protein; a composition comprising a plurality of copies of a plurality of distinct therapeutic gapmers in a carrier formulated for intrathecal administration; a composition for treating pain, the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to locations on two RNAs that encode two different sodium channel proteins along a segment of each RNA that is at least about 75% complementary to a sequence to thereby prevent translation of the RNA its respective sodium channel protein; these shared technical features are previously disclosed by WO 2019/243430 A1 ROCHE INNOVATION CENTER COPENHAGEN (hereinafter 'Roche').

20

Roche discloses a composition for treating pain (a composition for treating pain; abstract; page 8, lines 3-5), the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to an RNA encoding a sodium channel protein along a segment of the RNA that is at least about 75% complementary to a sequence (the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to an RNA encoding SCN9A and SCN10A (a sodium channel protein) along a segment of the RNA that is at least about 75% complementary to a sequence; abstract; page 8, lines 3-18; page 9, lines 16-32) to thereby prevent translation of the RNA into the sodium channel protein (to thereby inhibit expression (prevent translation) of the RNA into the sodium channel protein; page 8, lines 3-18); a composition comprising distinct therapeutic gapmers in a carrier formulated for intrathecal administration (a composition comprising distinct therapeutic gapmers in a carrier formulated for intrathecal administration; page 6, lines 31-34; page 80, lines 14-32; page 88, lines 6-10; claims 12, 20); a composition for treating pain (a composition for treating pain; abstract; page 8, lines 3-5), the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to locations on two RNAs that encode two different sodium channel proteins along a segment of each RNA that is at least about 75% complementary to a sequence (the composition comprising: an oligonucleotide that hybridizes to locations on two RNAs that encode two different sodium channel proteins along a segment of each RNA that is at least about 75% complementary to a sequence; abstract; page 8, lines 3-18; page 9, lines 16-32; page 20, lines 26-31) to thereby prevent translation of the RNA its respective sodium channel protein (to thereby inhibit expression (prevent translation) of the RNA into the sodium channel protein; page 8, lines 3-18).

30

Roche does not disclose a plurality of copies of a plurality of distinct therapeutic gapmers.

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have included a plurality of copies of a plurality of distinct therapeutic gapmers, as Roche provides guidance for designing gapmers (page 9, lines 18-20; page 12, lines 15-18; page 52, line 14 – page 53, line 18), and a plurality of copies could have been readily achieved and implemented through routine experimentation and testing, in order to provide superior oligonucleotides that are capable of inhibiting the expression of voltage-gated sodium ion channels, such as Nav1.7, and are useful in the prevention or the treatment of pain.

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Roche reference, unity of invention is lacking.

40

フロントページの続き

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 デンプシー, グラハム ティー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 7 6, サドベリー, パートリッジ レーン 2 7

(72)発明者 マクマナス, オーウェン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 8, ベルモント, チェスター ロード 7 6, アパ
ートメント 2

(72)発明者 ジャン, ホンカン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 8 2, ウェルズリー, パインウッド ロード 2 5

(72)発明者 ガーバー, デイビッド

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 4, サマービル, バーナム ストリート 3 3

(72)発明者 リウ, ピン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 - 4 2 3 8, ケンブリッジ, シドニー ストリー
ト 1 7 9

(72)発明者 ジャン, ダウエイ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 - 4 2 3 8, ケンブリッジ, シドニー ストリー
ト 1 7 9

(72)発明者 ブラウン, ダンカン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 - 4 2 3 8, ケンブリッジ, シドニー ストリー
ト 1 7 9

(72)発明者 アグラワル, スディール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 - 4 2 3 8, ケンブリッジ, シドニー ストリー
ト 1 7 9

(72)発明者 リワーク, ケイトリン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 - 4 2 3 8, ケンブリッジ, シドニー ストリー
ト 1 7 9

F ターム (参考) 4C084 AA13 MA17 MA21 MA66 NA14 ZA08

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA17 MA21 MA66 NA14 ZA08