

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第5773535号
(P5773535)

(45) 発行日 平成27年9月2日 (2015.9.2)

(24) 登録日 平成27年7月10日 (2015.7.10)

(51) Int. Cl. F I

A 6 1 P 31/14 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/21 (2006.01)

A 6 1 P 31/14

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 43/00

A 6 1 K 37/66

1 2 1

G

請求項の数 16 (全 101 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-506632 (P2012-506632)	(73) 特許権者	504013269
(86) (22) 出願日	平成22年4月26日 (2010.4.26)		ロシュ・イノベーション・センター・コペンハーゲン・アクティールスカブ
(65) 公表番号	特表2012-524539 (P2012-524539A)		Roche Innovation Center Copenhagen A/S
(43) 公表日	平成24年10月18日 (2012.10.18)		デンマーク2970ヘルスホルム、フレティズヴァイ3番
(86) 国際出願番号	PCT/IB2010/051822	(74) 代理人	100081422
(87) 国際公開番号	W02010/122538		弁理士 田中 光雄
(87) 国際公開日	平成22年10月28日 (2010.10.28)	(74) 代理人	100084146
審査請求日	平成25年3月11日 (2013.3.11)		弁理士 山崎 宏
(31) 優先権主張番号	61/172, 486	(74) 代理人	100122301
(32) 優先日	平成21年4月24日 (2009.4.24)		弁理士 富田 憲史
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100157956
			弁理士 稲井 史生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロンに非応答性のHCV患者の治療のための医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

HCV感染対象におけるHCV感染の治療のためのマイクロRNA-122アンタゴニストを含む医薬組成物であって、該HCV感染対象がインターフェロン非応答者である組成物。

【請求項2】

HCV感染対象がさらに有効量のインターフェロンで治療される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】

インターフェロンがペグ化インターフェロン-アルファである、請求項2記載の医薬組成物。

【請求項4】

HCV感染対象がさらに有効量のリバビリンで治療される、請求項1～3のいずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項5】

対象が肝臓移植患者である、請求項1～4のいずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項6】

マイクロRNA-122アンタゴニストがマイクロRNA-122を標的とするアンチセンスオリゴマーであり、該オリゴマーが7～25連続ヌクレオチド長を有する、請求項1～5のいずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項 7】

マイクロRNA-122を標的とするオリゴマーが2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸(ANA)モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマー、2'-MOE-RNA(2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択されるアフィニティー増強性ヌクレオチドアナログの混合物を含むミキシマーである、請求項6記載の医薬組成物。

【請求項 8】

ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA(2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、請求項7記載の医薬組成物。

10

【請求項 9】

オリゴマーが2'-フルオロおよび2'-MOEヌクレオチドを含む、請求項8記載の医薬組成物。

【請求項 10】

マイクロRNA-122を標的とするオリゴマーがRNAまたはDNAを含まない、請求項7記載の医薬組成物。

【請求項 11】

オリゴマーが本質的にRNaseHを動員できない、請求項6～10のいずれか1項記載の医薬組成物。

20

【請求項 12】

オリゴマーがLNAおよびDNA単位を含む、請求項6記載の医薬組成物。

【請求項 13】

オリゴマーが8～17ヌクレオチド長である、請求項12記載の医薬組成物。

【請求項 14】

オリゴマーが5'-CcAttGTcAcAcTCC-3'であり、ここに、大文字はベータ-D-オキシ-LNA単位を示し、小文字はDNA単位であり、LNAシトシンは5-メチルシトシンであり、全てのヌクレオチド間結合はホスホロチオエートである、請求項6記載の医薬組成物。

【請求項 15】

対象が、対象に対する該組成物の少なくとも2回の連続的な投与を含む投与計画に付され、ここに、該少なくとも2回の連続的な投与間の投与間隔は、少なくとも2週であって、20週以内であってもよい、請求項1～14のいずれか1項記載の医薬組成物。

30

【請求項 16】

インターフェロン非応答対象をインターフェロン応答性にするための、マイクロRNA-122アンタゴニストを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

40

本発明は、インターフェロン調節遺伝子をダウンレギュレートする薬物に感受性のある患者の治療のための化合物、組成物および方法を提供する。特に、本発明は、マイクロRNA-122の活性を修飾するオリゴヌクレオチドを含む組成物に関連し、該組成物は、例えば霊長類において、例えば治療を必要とするヒトにおいて、細胞中のインターフェロン調節遺伝子(IRG)をダウンレギュレートするために製造される。本発明は、さらに、本発明の組成物を霊長類、好ましくはヒトに提供する治療法に関連し、ここに、該組成物は、インターフェロン非応答性と考えられるHCVに罹患している個体に投与する。さらに、肝臓移植したインターフェロン治療患者における臓器拒絶の治療のための組成物が提供される。

【背景技術】

50

【0002】

関連出願

本願は、米国仮出願番号第、61／172,486号（2009年4月24日出願）の優先権を主張し、出典明示により全体として本明細書の一部とされる。

【0003】

発明の背景

C型肝炎ウイルス（HCV）感染は、世界人口の約3%を冒し、しばしば、硬変および肝細胞癌をもたらす。ペグ化（pegylated）インターフェロンおよびリバビリン（ribavirin）による現行の治療法は、深刻な副作用を導き、患者の50%未満においてウイルス根絶を提供する。

10

【0004】

マイクロRNA（miRNA）は、発達および疾患において重要な役割を果たす小型調節RNAであり¹⁻³、かくして、治療的介入の標的の可能性のある新規なクラスを代表する⁴。げっ歯類におけるmiRNAのサイレンシングにおける近年の進歩にもかかわらず^{5,6}、イン・ビボでのマイクロRNAの配列特異的なアンタゴニズムのための有効かつ安全なアプローチの開発は、今だ、有意な科学的かつ治療的な挑戦である。さらに、霊長類におけるmiRNA拮抗作用の報告はない。ここに、発明者らは、非コンジュゲート型セーライン処方ロックド（Locked）核酸修飾オリゴヌクレオチド（LNA-anti miR）の単純な全身性デリバリーが、非ヒト霊長類において、肝臓に発現したマイクロRNA-122を効果的に拮抗することを示す。アフリカミドリザルに3または10mg/kgのLNA-anti miRを静脈内注射により急性投与すると、霊長類肝細胞の細胞質におけるLNA-anti miRの取り込みおよびLNA-anti miRとmiR-122との間の安定なヘテロ2本鎖の形成がもたらされた。これには、成熟miR-122の涸渇および血漿コレステロールの用量依存性低下が不随した。miR-122の効率の良いサイレンシングは、霊長類において、10mg/kg LNA-anti miRの3回の投与により、研究動物においてLNA-関連毒性または組織病理学的変化のいずれの証拠も伴わずに、全血漿コレステロールの長期かつ可逆的な減少を導くことによって達成された。発明者らの知見は、げっ歯類及び霊長類におけるマイクロRNA機能の研究において、全身的に投与されたLNA-anti miRsの有用性を明らかにし、疾患に関連するマイクロRNAのための新規なクラスの治療剤としてかかる化合物の可能性を支持する。MiR-122は、肝臓特異的マイクロRNAであり、脊椎動物内でよく保存されている。MiR-122は、コレステロール代謝に関与し（Esauら、2005）、近年、miR-122が培養細胞においてC型肝炎（HCV）複製に重要であることが示された（Joplingら、2005）。

20

30

【0005】

miR-122の配列は、種々の哺乳動物種間でよく保存されている（mirbase, Sanger Center, UK）。

>hsa-miR-122 MIMAT0000421

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG

>mmu-miR-122 MIMAT0000246

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG

>rno-miR-122 MIMAT0000827

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG

>dre-miR-122 MIMAT0001818

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG

>xtr-miR-122 MIMAT0003585

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGU

>gga-miR-122 MIMAT0001190

UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGU

>bta-miR-122 MIMAT0003849

40

50

U G G A G U G U G A C A A U G G U G U U U G
【 0 0 0 6 】

J o p l i nらはまた、オリゴヌクレオチドによるm i R - 1 2 2の遮断が、イン・ビトロでのH C Vゲノム複製を阻害することを示す。m i R - 1 2 2は、ウイルスの5' UTRおよび3' UTRにおいて標的配列と相互作用し、これらの部位における変異がウイルス複製を減少させる。5' UTRおよび3' UTR m i R - 1 2 2標的部位はどちらも、H C V遺伝子型1 a、1 b、2、3、4、5、および6において保存されている。このことは、m i R - 1 2 2を遮断することによって、全てのH C V遺伝子型複製を減少させることができることを示唆する。また、近年、遺伝子型2の複製が、m i R - 1 2 2を標的とすることによって相補的オリゴヌクレオチドで遮断されることが示されている（R a n d a l lら、P N A S 2 0 0 7）。全感染者の約70%が慢性感染を確立する。H C Vに対する現行の抗ウイルス治療は、インターフェロンとリバビリンの組み合わせからなり、幾人かの患者には効果的であるが、大多数は、該治療に非応答性であるか、または耐容性がない。したがって、H C Vのための新規な治療法に対する要望が存在する。本発明は、インターフェロンによる治療に応答しないH C V患者のための新規な治療を提供し、ここに、有効量のm i R - 1 2 2阻害剤を該患者に提供する。提供される治療は、H C Vの完全な複製に必要な内在性宿主因子m i R - 1 2 2の減少を導き、さらに、インターフェロン調節遺伝子転写産物の発現を修正する。

【 0 0 0 7 】

大多数のH C V感染患者は、インターフェロン治療に応答しないので、インターフェロン治療の代わりとなる、またはかかる治療に患者を応答させることのできる新規な治療法が必要である。いくつかのインターフェロン刺激遺伝子転写産物の治療前肝臓レベルと治療に対するウイルス学的応答との間に逆相関が観察された（C h e nら、2 0 0 5, G a s t r o e n t e r o l o g y, 1 2 8; 1 4 3 7 - 1 4 4 4）。特に、インターフェロンに対する抗ウイルス応答を欠くH C V感染チンパンジーの肝臓において、該肝臓におけるI F Nに対するインターフェロン-ガンマ誘導性プロテイン-10（I P - 1 0またはC X C L 1 0）転写応答の欠失を観察することができる（L a n f o r dら、2 0 0 7, H e p a t o l o g y, v o l 4 6, 9 9 9 - 1 0 0 8）。さらに、L a n f o r dは、H C V感染チンパンジーにおける基底レベルのI P - 1 0転写産物が、非感染動物における基底レベルよりも有意に高いことを示した。より一般的には、L a n f o r dは、いくつかのI R G（ここでは、H C V感染肝臓におけるインターフェロン刺激遺伝子という）の誘導欠損を示す。リバビリンは、F e l dら^{2 6} 2 0 1 0によって、I R Gの誘導増加により、P E G - インターフェロンに対する応答を増加することが示された。しかしながら、リバビリンをインターフェロンと組み合わせた場合に見られた応答増加のサイズは、単独投与時のインターフェロンに対する初期応答のサイズと相関し（H C V R N Aの減少に関して）、その結果、インターフェロンに対する良好な応答の場合よりもあまり効果的でない乏しい応答が増強された。故に、患者におけるインターフェロン治療に対する乏しい初期応答は、リバビリンを該治療に加えた場合、該応答の比較的乏しい増強をもたらすであろう。したがって、インターフェロン非応答者（低い応答を示すか、または全く応答を示さない）は、正常な応答者によって経験される利益と比べてわずかしかりバビリンが有効ではないので、リバビリンは、インターフェロン非応答者を応答性になるように変化させる化合物または化合物群を提供するという問題の解決策ではない。インターフェロンアルファはH C V感染患者において選択される主要な治療であるが、肝臓移植レシピエントにおける再発性C型肝炎の治療にも重要である。しかしながら、インターフェロンでのかかる治療の可能性のある深刻な副作用の一つは、急性及び慢性の拒絶であり、次いで、移植片が喪失される（W a l t e r rら、2 0 0 7, A m e r i c a l J o u r n a l o f T r a n s p l a n t a t i o n, 7, 1 7 7 - 1 8 4）。移植後のH C V再発は万国共通であり、H C V感染は、患者および移植片生着を損なう。H C V移植片疾患の進行は、免疫コンピテント患者と比べて、移植レシピエントにおいて加速する（S a m u e l, L i v e r T r a n s p l a n t a t i o n, V

10

20

30

40

50

ol 10, No 7 (July), 2004: pp 868-87参照)。インターフェロン調節IP-10 (CXCL10)の高発現は、腎臓移植拒絶の前兆となることが示された(Matzeら、Kidney International (2006) 69, 1683-1690)。Krukemeyerら(2004, Transplantation, vol 78, 65-70)は、拒絶された肝臓移植片におけるIP-10の発現上昇を明らかにした。したがって、インターフェロン応答性遺伝子転写産物発現、例えばIP-10の発現を細胞中、例えば、移植器官、すなわち移植肝臓中、すなわちHCV患者の移植肝臓中において、正常化に向けて調節する治療が必要である。さらに、本発明の知見は、本発明の抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物を製造することができ、該組成物が細胞、例えば、霊長類細胞に投与するために製造され、該投与がインターフェロン応答性遺伝子、例えばIP-10 (CXCL10)の発現レベルを正常レベルに改変して、HCV感染個体におけるインターフェロンに対する非応答を予防し、または臓器移植拒絶を予防することを示す。

10

【発明の概要】**【課題を解決するための手段】****【0008】**

発明の概要

本発明は、HCV感染対象におけるHCV感染の治療のためのマイクロRNA-122アンタゴニストを提供し、ここに、該HCV感染対象はインターフェロン非応答性である。本発明は、HCV感染対象におけるHCV感染の治療のための医薬の調製または製造におけるマイクロRNA-122アンタゴニストの使用を提供し、ここに、該HCV感染対象はインターフェロン非応答性である。本発明は、インターフェロン非応答者におけるHCV感染の治療方法を提供し、該方法は、有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを該インターフェロン非応答者に投与することを含む。

20

【0009】

本発明は、インターフェロン調節遺伝子、例えば、限定するものではないが、IP-10 (CXCL10)、OAS1およびIFI44をダウンレギュレートする薬物に感受性の患者の治療方法およびかかる治療のための組成物を提供する。特に、本発明は、マイクロRNA-122の活性を修飾するオリゴヌクレオチドの有効投与量を含む組成物であって、細胞中、例えば霊長類において、例えば治療を必要とするヒトにおいて、インターフェロン調節遺伝子(IRG)のダウンレギュレーションを容易にするために製造される組成物に関する。IRGのダウンレギュレーションは、臓器移植拒絶を予防するために、およびインターフェロン非応答性HCV患者をインターフェロン応答性にするために、有益である。本発明は、さらに、本発明の組成物を細胞に、例えば霊長類、好ましくはヒトにおいて提供する治療方法に関し、ここに、該組成物は、インターフェロン非応答者と考えられるHCVに罹患している個体への投与のために製造される。さらに、肝臓移植したインターフェロン治療患者において臓器拒絶の治療のための組成物が提供される。特に、本発明は、かかる方法および組成物であって、マイクロRNA、短い非コーディングRNA、mRNA、またはウイルス性ゲノムの活性のモジュレーターが霊長類、例えば、ヒトに投与され、該維持量の投与が各投与間の長期の投与間隔で起こる方法および組成物に関する。好ましい具体例において、マイクロRNA、短い非コーディングRNA、mRNA、またはウイルス性ゲノムの活性のモジュレーターは、オリゴヌクレオチドを含む。好ましい具体例において、該化合物は、RNase Hによって切断されないアンチセンスオリゴヌクレオチドである。本発明は、マイクロRNA-122の活性を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いる霊長類における研究に基づき、ここに、非常に長期の効果が血中コレステロールレベルおよびC型肝炎ウイルス力価の両方に見られる。

30

40

【0010】

本発明の組成物は、いくつかの具体例において、HCV感染のための既存の治療、例えば、限定するものではないが、インターフェロンアルファ、および／またはリバビリンと組み合わせて使用するために製造される。

50

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】 LNA-anti mi Rによる、正常および高コレステロール血症マウスにおけるmi R-122機能のサイレンシング。a, 直接的mi R-122標的アルドラーゼAの抑制解除(derepression) (GAPDHに対して正規化, 平均およびSEM, n=5)。完全ホスホロチオエート骨格(PS)、混合型ホスホロチオエート/ホスホジエステル骨格(PS/PO)または非修飾ホスホジエステル(PO)骨格を有するLNA-anti mi Rで処理したマウス由来の肝臓RNAのノーザンブロット。ノーザンブロットは、LNA-anti mi Rについてプローブし、mi R-122について再プローブした。b, 完全ホスホロチオエート骨格(PS) ((a)と同じ試料)、混合型ホスホロチオエート/ホスホジエステル骨格(PS/PO)または非修飾ホスホジエステル(PO)骨格を有するLNA-anti mi Rで処理したマウス由来の肝臓RNAのノーザンブロット。ノーザンブロットは、LNA-anti mi Rについてプローブし、mi R-122について再プローブした。直接的mi R-122標的アルドラーゼA ((a)におけるものと同じ試料, GAPDHに対して正規化, 平均およびSEM, n=5)の抑制解除。c, LNA-anti mi Rの1~200mg/kgの範囲の単一i. p. 投与で処理後のマウスにおける全血漿コレステロール(平均およびSEM, n=5, 1mg/kg n=4)。d, セーライン、LNA-anti mi RまたはLNAミスマッチ対照を各々、6週に渡って週に2回5mg/kg i. p.の投与量で処理した高コレステロール血症マウスにおける全コレステロールレベル(平均およびSEM, n=10, セーライン n=9)。e, mi R-122ノーザンブロット ((d)におけるのと同じ試料)。f, アルドラーゼA mRNAの定量化 ((e)と同じ試料, 平均およびSEM, n=10, セーライン n=9)。g, 肝臓mRNA発現プロファイルの管理されていないクラスタリング ((d)におけるのと同じ試料)。h, 対照と比べた、LNA-anti mi R処理マウスにおける肝臓mRNAの発現変化。mRNAは、3' UTRにおける種々の型の規範的mi R-122シードマッチの存在/非存在によってグループ化される。シードマッチを伴わないmRNAからの分離を示し(挿入)、全型の部位について有意であった(各々、6mer、7mer-1A、7mer-m8および8mer部位について、p値 1.4×10^{-6} , 2.2×10^{-13} 、 $<10^{-15}$ 、および 2.4×10^{-14} (K-Sテスト))。

【図2】 LNA-anti mi Rによる、非ヒト霊長類におけるmi R-122のサイレンシング。a, LNA-anti mi Rまたはセーラインで3回、i. v注射により5日に渡って処理されたアフリカミドリザルにおける全血漿コレステロールレベル(矢印) (1群あたりn=5)。b, Lowess平滑化およびlog2変換したセーライン対照群に対して正規化された(a)におけるコレステロールデータの傾向プロット。c, 6日目および96日目に実施した肝臓生検由来のサル肝臓RNA試料のノーザンブロット分析。d, 6日目肝臓生検 ((c)におけるのと同じ動物)におけるLNA-anti mi Rのイン・サイチュ検出。e, 肝細胞におけるLNA-anti mi Rの細胞質局在化 (6日目、10mg/kg)。

【図3】 非ヒト霊長類において、LNA-媒介性mi R-122サイレンシングは安全である。a, セーラインまたは $3 \times 10 \text{ mg/kg}$ LNA-anti mi Rでの処理後にアフリカミドリザルで評価されたプロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間(PTT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ(AST)、全ビリルビンおよびクレアチニンレベル。b, 6日目の肝臓生検由来のヘマトキシリンおよびエオシン染色された切片の顕微鏡写真。

【図4】 HCV感染チンパンジーにおけるウイルス力価のAnti mi R-122媒介性ダウンレギュレーション。チンパンジー4x0358、低用量動物は、ウイルス血症のレベルが下がり始めた70日目までウイルス力価の有意な減少を示さず、175日目、最後の投与後12週までベースライン以下のままであった。ウイルス力価における最大減少は、d105で起こり、34倍の減少であった。ウイルス血症は、研究期間の最後、210

日目までに、ベースライン値より1.8倍低い値に戻った。チンパンジー4x0513、高用量動物は、28日目以降にウイルス力価が減少し始めた。該動物は、一貫したウイルス血症の減少を示し、ウイルス血症における395倍の減少を伴って98日目に最大減少が起こった。ウイルス血症は、ベースライン以下のままであり、研究の最後までにベースラインの7.7倍以内の範囲にゆっくりと増加していた。チンパンジー4x0514、高用量動物は、4x0513と類似のプロフィールを示した。ウイルス血症の一貫した減少は28日目に開始し、持続し、ウイルス血症における317倍の減少を伴って92日目に最大減少が起こった。4x0513と同様に、次いで、ウイルス血症は低いままであり、研究の最後までにベースライン値までゆっくりと増加した。

【図5】HCV感染チンパンジーの肝臓におけるmiR-122阻害は、インターフェロン調節遺伝子の発現における改変を導く。図4におけるようなチンパンジー研究由来のデータ。A. 4匹のHCV感染チンパンジーにおけるインターフェロン応答遺伝子の管理した分析は、LNA-anti-miR-122化合物での処理に応答して、ウイルス力価およびインターフェロン応答遺伝子転写産物レベルの両方が影響を受けたことを示した。B. LNA-anti-miR-122化合物での処理の時間経過の測定値としての、4匹のHCV感染チンパンジーの肝臓におけるCXCL10 (IP-10) のレベル。C. LNA-anti-miR-122化合物での処理の時間経過の関数としての、2匹のHCV感染チンパンジーにおけるCXCL10 (IP-10) の血漿レベル。

【発明を実施するための形態】

【0012】

発明の詳細な説明

本発明は、細胞または生物（対象、例えば、霊長類、例えば、ヒト）、例えば、HCVに感染した細胞、または例えば、肝臓移植した対象における細胞の治療のための、有効投与量のmiR-122を標的とするアンチセンスオリゴマーを含む組成物およびかかる組成物を用いる治療方法に関する。

【0013】

いくつかの具体例において、HCV感染対象は、さらに、有効量のインターフェロンで治療される。いくつかの具体例において、インターフェロンは、ペグ化（pegylated）インターフェロン-αである。いくつかの具体例において、HCV感染対象は、さらに、有効量のリバビリンで治療される。いくつかの具体例において、対象は、肝臓移植患者である。いくつかの具体例において、マイクロRNA-122アンタゴニストは、マイクロRNA-122を標的とするアンチセンスオリゴマーであり、ここに、該オリゴマーは、7～25連続ヌクレオチド長を有する。いくつかの具体例において、マイクロRNA-122を標的とするオリゴマーは、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸（ANA）モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマー、2'-MOE-RNA（2'-O-メトキシエチル-RNA）、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択されるアフィニティー増強性ヌクレオチドアナログの混合物を含むミキサー（mixmer）である。いくつかの具体例において、該ヌクレオチドアナログは、2'-MOE-RNA（2'-O-メトキシエチル-RNA）、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から独立して選択される。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、2'-フルオロおよび2'-MOEヌクレオチドを含む。いくつかの具体例において、該マイクロRNA-122を標的とするオリゴマーは、RNAまたはDNAを含まない。請求項6～10のいずれか1項に記載のマイクロRNA-122アンタゴニストは、本質的にRNase Hを動員（recruit）できないオリゴマーである。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、LNAおよびDNA単位を含む。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、8～17ヌクレオチド長である。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、5'-C c A t t G T c a C a C t C C -3'であり、ここに、大文字はLNA、例えば、ベーター-D-オキシ-LNA単位を示し、小文字はDNA単位を示し、LNAシトシンは5-メチルシトシンであってもよく、いくつかの具体

例において、全ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートである。いくつかの具体例において、対象は、該オリゴマーまたは組成物の対象への少なくとも2回の連続的な投与を含む投与計画に付され、ここに、該少なくとも2回の連続的な投与間の投与間隔は、少なくとも2週、所望により、20週以下である。いくつかの具体例において、該対象は霊長類、例えばヒトである。いくつかの具体例において、該対象は、インターフェロン治療に対して乏しい応答者、例えば、インターフェロン非応答者、緩慢な応答者、部分的応答者、または再発者である。いくつかの具体例において、該対象は、臓器、例えば、肝臓移植インターフェロン治療患者である。いくつかの具体例において、本発明は、臓器移植対象の治療法に関し、ここに、該対象は、高発現レベルのIRG、例えば、高発現レベルのIP-10を示す。

10

【0014】

C型肝炎ウイルス(HCV)を有する患者の多数は、インターフェロンでの標準的な治療にあまり応答しない。例えば、非応答者および再発者が米国におけるC型肝炎ウイルス(HCV)感染患者の大集団を構成している。本発明の目的のために、「非応答者」なる語は、いくつかの非限定的な具体例において、インターフェロン治療の結果として有意なウイルス学的応答を示さず、治療期間のいずれの時点においても決してウイルス陰性にならないHCV-感染対象、例えば、HCV-感染霊長類、例えば、HCV-感染ヒトを意味する。「前治療」は、限定するものではないが、下記のC型肝炎抗ウイルス計画、すなわち、標準的なインターフェロン(IFN)単独治療、リバビリン(RBV)との標準的なIFN組み合わせ治療、ペグ化IFNアルファ-2a単独治療、ペグ化IFNアルファ-2b単独治療、RBVとのペグ化IFNアルファ-2a組み合わせ治療、RBVとのペグ化IFNアルファ-2b組み合わせ治療のいずれかを含むことができる。「緩慢な応答者」なる語は、インターフェロン治療での処置開始後約24週までウイルス学的応答を発現しないHCV-感染対象、例えば、HCV-感染霊長類、例えば、HCV-感染ヒトをいう。「部分的応答者」は、インターフェロン治療での処置開始後約24週までウイルス学的応答を発現しないが、ウイルス学的応答が該処置の最後に維持されないHCV-感染対象、例えば、HCV-感染霊長類、例えば、HCV-感染ヒトをいう。「再発者」は、HCV RNA陰性であって、処置の最後までずっと維持されるウイルス学的応答を有するが、処置後6ヶ月より前に再発が起こるHCV-感染対象、例えば、HCV-感染霊長類、例えば、HCV-感染ヒトをいう。「非応答者」、「緩慢な応答者」、「部分的応答者」および「再発者」は、必ずしも相互に両立しないわけではない。

20

30

【0015】

いくつかの具体例において、細胞または生物、例えば、霊長類、例えば、ヒトにおける細胞中のインターフェロン応答遺伝子転写産物の発現を調節するための組成物が製造される。いくつかの態様において、インターフェロン応答遺伝子転写産物は、IP-10(CXCL10)、OAS1およびIFI44のいずれか1つまたはそれ以上である。

【0016】

いくつかの具体例において、インターフェロンでの治療に応答しない、ゆっくりと応答する、部分的に応答する、または該治療後に再発するHCVに感染した細胞、例えば、対象をインターフェロン治療に対して応答性にするために、該細胞または対象の治療のための組成物が製造される。

40

【0017】

一の具体例において、HCVに感染した対象の治療のための組成物であって、併用するとantimiral-122化合物がウイルス力価に対して相加効果を有するであろう第2の化合物と共に投与するための組成物が製造される。

【0018】

一の具体例において、上記具体例の第2の化合物は、インターフェロンである。一の具体例において、1以上の他の化合物、例えば、インターフェロンまたはリバビリンと共に使用するための組成物が製造される。

【0019】

50

一の具体例において、*anti*miR-122化合物ならびに第2または第2および第2の化合物は、同じ処方中にある。一の具体例において、*anti*miR-122化合物ならびに第2または第2および第3、または他の化合物は、別々の処方中にある。

【0020】

一の具体例において、本発明の組成物は、肝臓中のIP-10レベルが上昇した対象の治療のために製造される。

【0021】

一の具体例において、本発明の組成物は、対象におけるHCV感染を治療する方法において使用するために製造される。一の具体例において、本発明の組成物は、肝臓移植患者における移植拒絶を治療する方法において使用するために製造される。一の具体例において、本発明の組成物は、インターフェロンでの治療下にある肝臓移植患者において移植拒絶を治療する方法において使用するために製造される。一の具体例において、本発明の組成物は、臓器移植拒絶を治療する方法において使用するために製造される。一の具体例において、本発明の組成物は、高レベルのIP-10(CXCL10)発現を有する対象において臓器移植拒絶を治療する方法において使用するために製造される。

【0022】

一の具体例において、対象における臓器移植片拒絶のリスクを評価するための手段として、インターフェロン調節遺伝子産物の分泌を測定するキットが提供される。一の具体例において、該キットは、尿中のかかるIRG産物の存在を検出するために製造される。一の具体例において、IRG産物は、表5に挙げられる遺伝子から生産されるものから選択される。一の具体例において、該キットは、IP-10(CXCL10)、OAS1およびIFI44の1以上を検出するために製造される。一の具体例において、該キットは、酵素免疫測定法(ELISA)アッセイを提供する。一の具体例において、該キットは、定量的逆転写(RT)-PCRアッセイを提供する。一の具体例において、該キットは、移植片拒絶のリスクの評価を可能とするために、IRG転写産物またはタンパク質の定量化手段を提供し、さらに、移植片拒絶の予防のための本発明の医薬組成物を提供する。一の具体例において、該キットは、肝臓移植対象における移植片拒絶のリスクの評価を可能とするために、IRG転写産物またはタンパク質の検出のために製造され、さらに、かかる移植片拒絶の予防のための本発明の医薬組成物を提供する。さらに、一の具体例において、対象は、肝臓移植を経験しており、HCV感染に罹患しているかまたは罹患したことがある。

【0023】

いくつかの具体例において、該組成物は、投与によって有効投与量の*anti*miR-122化合物を提供しうる(ここに、治療の維持は、反復投与によって提供され、各維持投与間の間隔が1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、または14日である)。

【0024】

いくつかの具体例において、該組成物は、各投与(すなわち、投与量、例えば、有効投与量)間に長時間の間隔をおいた投与によって治療を維持するために製造される。投与計画は、該オリゴマーまたは組成物の対象への少なくとも2回の連続的な投与を含み、ここに、該少なくとも2回の連続的な投与間の投与間隔は、少なくとも2週、所望により20週以下である。いくつかの具体例において、該組成物は、単位投与形態、例えば、対象への単回投与の全部または一部を形成する各单位投与量である。

【0025】

したがって、いくつかの具体例において、本発明は、対象、例えば、霊長類、例えば、ヒトにおいてイン・ビボでRNA標的の活性を低下させる方法を提供し、ここに、該方法は、該RNA標的に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの少なくとも2回の投与量の投与を含み、ここに、該アンチセンスオリゴヌクレオチドは、本質的にRNAseHを動員できず、少なくとも2回の投与量は、各投与間に少なくとも2週の間隔をおいて該霊長類に投与される。

10

20

30

40

50

【0026】

したがって、いくつかの具体例において、本発明は、対象、例えば、霊長類、例えば、ヒトにおいてイン・ビボでRNA標的の活性を低下させる方法を提供し、ここに、該方法は、該RNA標的に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの少なくとも2回の投与量の投与を含み、ここに、該アンチセンスオリゴヌクレオチドは、トータルマー (totalmer) またはミキシマーであり、少なくとも2回の投与量は、各投与間に少なくとも2週の間隔において該霊長類に投与される。

【0027】

いくつかの態様において、該少なくとも2回の投与は、アンチセンスオリゴマーの維持投与量、例えば、対象、例えば、霊長類、例えば、ヒト、例えば、標的組織において該オリゴマーの有効濃度を維持するのに十分な投与量である。

10

【0028】

投与回数は、2より多く、例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16またはそれ以上の処置であってもよい。本明細書中に記載されるように、実際の投与回数は、例えば、疾患または障害の性質に依存するであろう。治療される疾患は、投与計画に対して明確な終点を提供し、一方、疾患または障害は、延長期間にわたって治療されてもよく、いくつかの具体例において、治癒を提供しなくてもよいが、有効に症状を制御する。かかる例において、治療がもはや望まれないと医者によって決定されるまで、ルーチン／規則的な投与を数ヶ月または数年続けてもよい。注目すべきことには、いくつかの具体例において、投与計画は、治療休止、例えば、125日を超える期間、またはいくつかの具体例において、2、3、5または6ヶ月以上の期間中断されてもよい。

20

【0029】

さらに、いくつかの具体例において、本発明は、本質的にRNAse Hを動員できないアンチセンスオリゴマー、例えば、トータルマーまたはミキシマーを含む組成物であって、患者の治療を維持するために製造され、投与量、例えば維持投与量が各投与間に長期の間隔をあけて提供される組成物に関する。

【0030】

本発明は、いくつかの態様において、霊長類における疾患または障害を治療するための医薬の製造における抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドの使用であって、ここに、該疾患または障害がマイクロRNA-122のダウンレギュレーションに感受性であることによって特徴付けられる使用を提供する。

30

【0031】

本発明は、いくつかの態様において、霊長類におけるマイクロRNA-122の活性を低下するための、例えば、限定するものではないが、インターフェロンでの治療にตอบสนองしないC型肝炎感染対象から選択される疾患、および例えば、臓器移植拒絶、例えな、肝臓移植拒絶の予防のための医薬の製造における抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの使用を提供する。

【0032】

さらに、本発明は、いくつかの具体例において、本明細書中に記載のオリゴマー、例えば、トータルマーまたはミキシマーおよびかかるオリゴマーを含有する組成物を用いる治療法であって、該オリゴマーまたは組成物の少なくとも2回の独立した投与を含み、該オリゴマーまたは組成物の対象への少なくとも2回の連続的な投与間の投与間隔が少なくとも2週、所望により20週以下である治療法に関する。該組成物および方法は、典型的には、霊長類、例えばヒトにおいて使用するためのものである。したがって、該対象は、霊長類、例えばヒトであってもよく、該治療を必要とする患者であってもよい。

40

【0033】

マイクロRNA (miRNAs) は、標的mRNAの3' -非翻訳領域との塩基対合によって、タンパク質コーディング遺伝子の発現を翻訳後に抑制する~22 nt 内在性非コーディングRNAである^{1, 2, 7}。新たな証拠は、動物miRNAが多くの生物学的プ

50

ロセスの調節において重要な役割を果たすことを示唆する^{1-3, 8}。さらに、miRNAは、ウイルス感染、心血管疾患、および神経学的および筋肉障害、ならびに癌の発症および進行に関係している⁹⁻¹⁹。マイクロRNA-122は、コレステロールおよび脂質代謝^{5, 6}、およびC型肝炎ウイルス（HCV）複製^{14, 20}に関係する肝臓発現miRNAであり、高コレステロール血症およびC型肝炎感染の治療のための可能性のある治療標的としてmiR-122を強調する。マイクロRNA-122と疾患との間の既知の相関の例を表1に挙げる。しかしながら、いずれかの特定の理論に限定されるべきではないが、インターフェロン治療に非応答性のHCV患者が上昇レベルのIRG転写産物を示し、したがって、明らかにウイルス複製に対する効果欠如に関連するので、該転写産物の存在が同様にウイルス複製に対する他の化合物の効果を防ぐと推測してもよい。したがって、さらに、インターフェロン非応答性、緩慢な応答性、部分的応答性または再発性対象においてウイルス複製に対して効果的であるために、化合物は、かかる患者においてIRGを正常化に向けて調節することができるべきであると推測できる。本発明は、ウイルスゲノムに対するmiR-122の直接的作用を介して、およびさらに霊長類におけるIRGの発現を修正するためのいまだ未知のメカニズムを介して、HCV複製を阻害することのできるanti-miR-122化合物を提供する。特に、IP-10の発現は、HCV感染チンパンジー（インターフェロン非応答者である）の本発明の組成物での治療によって減少される。さらに、HCV感染チンパンジーの本発明の組成物での治療は、表5におけるIRGのほとんどの発現の減少を導き、インターフェロン非応答性、緩慢な応答性、部分的応答性または再発性対象の治療のための、または対象のインターフェロン治療応答能を変化させるための、または臓器移植対象における移植片拒絶の予防のための本発明の組成物および方法の使用の可能性を示す。

【0034】

まとめると、発明者らの結果は、マウスおよび非ヒト霊長類における非コンジュゲート型高アフィニティーLNA-anti-miR-122オリゴヌクレオチドの投与によるmiR-122の強力な拮抗作用を実証する。miR-122を拮抗する治療的価は、2つの種において推定され、ここに、週2回5mg/kg LNA-anti-miRを注射する高コレステロール血症マウスの治療および3または10mg/kg LNA-anti-miRを3回i.v.注射するアフリカミドリザルの治療は、LNA-関連毒性のいかなる証拠も伴わずに、血漿コレステロールの有効かつ長期持続性減少をもたらした。さらに、発明者らは、miR-122の阻害がチンパンジーにおけるC型肝炎ウイルスレベルの長期持続性ダウンレギュレーションを導くことを示すことに成功した。発明者らの結果から、これらの長期持続性効果は、コレステロールレベルおよびC型肝炎レベルの両方に対する長期持続性効果を有するmiR-122ケースにおいて見られるように、疾患関連ではなく、むしろ、マイクロRNA活性の調節に関連することが明らかである。LNAオリゴマーのよるmRNA調節に対する効果の長さは、通常、本実験において見られる場合の約3分の1のみであるので、マイクロRNAを標的とする場合に見られる効果は、LNAオリゴマーの使用に関連しないようである。さらに、発明者らの結果は、霊長類に投与する場合、RNAseHによって切断されないアンチセンスオリゴヌクレオチドの長期の効果を実証する。

【0035】

本発明のマイクロRNA-122アンタゴニストは、限定するものではないが、下記するように、miR-122を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを包含する化合物である。

【0036】

いくつかの具体例において、anti-miR-122化合物は、マイクロRNA-122を標的とするアンチセンスオリゴマーである。

【0037】

いくつかの具体例において、anti-miR-122オリゴヌクレオチドは、本質的にRNAseHを動員できないミキシマーとして設計される。本質的にRNAseHを動員

できないオリゴヌクレオチドは、文献においてよく知られている（例えば、WO 2007/112754、WO 2007/112753またはWO 2009/043353参照）。ミキシマーは、アフィニティー増強性ヌクレオチドアナログ、例えば、限定するものではないが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸（ANA）モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマー、2'-MOE-RNA（2'-O-メトキシエチル-RNA）、2'フルオロ-DNA、およびLNAの混合物を含むように設計されうる。さらなる具体例において、該オリゴヌクレオチドは、いずれのDNAまたはRNAヌクレオチドも包含せず、アフィニティー増強性ヌクレオチドアナログのみからなり、かかる分子は、トータルマーとも呼ばれる。いくつかの具体例において、該ミキシマーは、単に、1つの型のアフィニティー増強性ヌクレオチドアナログをDNAおよび/またはRNAと共に含むだけである。いくつかの具体例において、該オリゴヌクレオチドは、1以上の型のヌクレオチドアナログ、例えば、限定するものではないが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸（ANA）モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマー、2'-MOE-RNA（2'-O-メトキシエチル-RNA）、2'フルオロ-DNA、およびLNAのみからなる。

10

【0038】

長さ

いくつかの具体例において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、7～25（連続）ヌクレオチド、例えば、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24（連続）ヌクレオチドの長さを有する。いくつかの具体例において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、7～10（連続）ヌクレオチド長を有し、またはいくつかの例において、7～16ヌクレオチド長である。いくつかの具体例において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも8（連続）ヌクレオチド長、10～17または10～16または10～15（連続）ヌクレオチド長、例えば、12～15（連続）ヌクレオチド長である。

20

【0039】

本質的にRNase Hを動員できないオリゴマー

EP 1 222 309は、RNase H活性を決定するためのイン・ビトロ方法を提供し、それは、RNase H動員能を決定するために使用されうる。オリゴマーは、相補性RNA標的と共に提供される場合、 pmol/l ／分で測定して、EP 1 222 309の実施例91～95に提供される方法を用いて、等価のDNAのみのオリゴヌクレオチド（2'置換を有さず、該オリゴヌクレオチド中の全てのヌクレオチド間にホスホロチオエート結合基を有する）の少なくとも1%、例えば少なくとも5%、例えば少なくとも10%または20%未満の初速度を有すれば、RNase Hを動員できると考えられる。

30

【0040】

いくつかの具体例において、オリゴマーは、相補性RNA標的およびRNase Hと共に提供される場合、RNase H初速度が、 pmol/l ／分で測定して、EP 1 222 309の実施例91～95に提供される方法を用いて、等価のDNAのみのオリゴヌクレオチド（2'置換を有さず、該オリゴヌクレオチド中の全てのヌクレオチド間にホスホロチオエート結合基を有する）を用いて決定された初速度の1%未満、例えば5%未満、例えば10%未満または20%未満であれば、本質的にRNase Hを動員できないと考えられる。

40

【0041】

ミキシマーまたはトータルマーであるオリゴヌクレオチドは、通常、本質的にRNase Hを動員できないと考えられるべきであり、ここに、発明者らは、本質的にRNase Hを動員できないという用語を用い、いくつかの具体例において、かかる用語は、いくつかの例において、例えば、DNAミキシマーをアルファール-オキシ-LNAと共に用い

50

た場合、かかるオリゴマーが実際には、RNAseHを動員する有意な能力を有したとしても、本明細書中で定義されるミキシマーまたはトータルマーなる用語で置き換えてもよい。

【0042】

いくつかの具体例において、該オリゴマーまたはその連続したヌクレオチド配列は、ヌクレオチドアナログ、例えば、アフィニティー増強性ヌクレオチドアナログの連続した配列からなる（本明細書中において、「トータルマー」と称する）。

【0043】

トータルマー

トータルマーは、非天然ヌクレオチドのみを含む1本鎖オリゴマーである。

10

【0044】

該オリゴマーは、トータルマーであってもよい。実際に、種々のトータルマー設計は、特にマイクロRNAを標的とする場合（antimiR）、治療的オリゴマーとして、またはスプライススイッチオリゴマー（splice switching oligomer）（SSO）として、大いに効果的である。

【0045】

いくつかの具体例において、トータルマーは、少なくとも1つのXYXまたはYXY配列モチーフ、例えば、反復配列XYXまたはYXYを含むか、または該モチーフからなり、ここに、XはLNAであり、Yは別の（すなわち、非LNA）ヌクレオチドアナログ、例えば、2'-OMeRNA単位および2'-フルオロDNA単位である。上記の配列モチーフは、いくつかの具体例において、例えば、XXY、XYX、YXYまたはYYXであってもよい。

20

【0046】

いくつかの具体例において、トータルマーは、8～16個のヌクレオチド、例えば、9、10、11、12、13、14、または15個のヌクレオチド、例えば、8～12個のヌクレオチドの連続したヌクレオチド配列を含むか、または該配列からなってもよい。

【0047】

いくつかの具体例において、トータルマーの連続したヌクレオチド配列は、少なくとも30%、例えば少なくとも40%、例えば少なくとも50%、例えば少なくとも60%、例えば少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば95%、例えば100%LNA単位を含む。残りの単位は、本明細書中で言及される非-LNAヌクレオチドアナログから選択されてもよく、例えば、2'-O__アルキル-RNA単位、2'-OMe-RNA単位、2'-アミノ-DNA単位、2'-フルオロ-DNA単位、LNA単位、PNA単位、HNA単位、INA単位、および2'-MOE RNA単位からなる群、または2'-OMe RNA単位および2'-フルオロDNA単位からなる群から選択されうる。

30

【0048】

いくつかの具体例において、トータルマーは、LNA単位のみからなる連続したヌクレオチド配列からなるか、または該ヌクレオチド配列を含む。

40

【0049】

いくつかの具体例において、トータルマーは、マイクロRNAに対して標的化されていてもよい（すなわち、antimiRである）—米国仮出願第60/979217号および第61/028062号、およびPCT/DK2008/000344（全て、出典明示により、全体として、本明細書の一部とする）において言及される。

【0050】

ミキシマー

「ミキシマー」なる語は、天然および非天然のヌクレオチドを含むオリゴマーをいい、ここに、ギャップマー（gapmer）、テールマー（tailmer）、ヘッドマー（headmer）およびブロックマー（blockmer）とは対照的に、5個以上の天然ヌクレオチド、例えば、DN

50

A単位からなる連続した配列は存在しない。

【0051】

本発明のオリゴマーは、ミキシマーであってもよい。実際に、種々のミキシマー設計は、特にマイクロRNAを標的とする場合（antimiR）、治療的オリゴマーとして、またはスプライススイッチオリゴマー（splice switching oligomer）（SSO）として、大いに効果的である。

【0052】

いくつかの具体例において、該オリゴマーは、ミキシマーであってもよく、実際に、ミキシマーが有効かつ特異的にその標的に結合する能力のために、治療的オリゴマーとしてのミキシマーの使用は、標的RNAを減少させるのに特に有効であると考えられる。

10

【0053】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、ヌクレオチドアナログおよび天然ヌクレオチド、または1つの型のヌクレオチドアナログおよび第2の型のヌクレオチドアナログからなる反復パターンの連続したヌクレオチド配列を含むか、または該ヌクレオチド配列からなる。反復パターンは、例えば、2番目または3番目のヌクレオチド毎に、ヌクレオチドアナログ、例えばLNAであり、残りのヌクレオチドは、天然ヌクレオチド、例えば、DNAであるか、または2'置換ヌクレオチドアナログ、例えば、本明細書中に記載の2'MOEまたは2'フルオロアナログであるか、またはいくつかの具体例において、本明細書中に記載のヌクレオチドアナログの群から選択される。ヌクレオチドアナログ、例えば、LNA単位の反復パターンは、固定された位置（例えば、5'または3'末端）でヌクレオチドアナログと組み合わせられていてもよい。

20

【0054】

いくつかの具体例において、3'末端から数えてオリゴマーの最初のヌクレオチドは、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAヌクレオチドである。

【0055】

いくつかの具体例において、同一または異なっているが、3'末端から数えてオリゴマーの2番目のヌクレオチドは、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAヌクレオチドである。

【0056】

いくつかの具体例において、同一または異なっているが、3'末端から数えてオリゴマーの7および／または8番目のヌクレオチドは、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAヌクレオチドである。

30

【0057】

いくつかの具体例において、同一または異なっているが、3'末端から数えてオリゴマーの9および／または10番目のヌクレオチドは、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAヌクレオチドである。

【0058】

いくつかの具体例において、同一または異なっているが、オリゴマーの5'末端は、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAヌクレオチドである。

【0059】

上記の設計特徴は、いくつかの具体例において、ミキシマー設計、例えば、antimiRミキシマー中に組み込まれていてもよい。

40

【0060】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、4より多くの連続的DNAヌクレオチド単位または3より多くの連続的DNAヌクレオチド単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、ミキシマーは、2より多くの連続的DNAヌクレオチド単位の領域を含まない。

【0061】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、少なくとも2つの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、少なくとも2つの連続的LNA単位からなる領域を含む。

50

【0062】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、少なくとも3つの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、少なくとも3つの連続的LNA単位からなる領域を含む。

【0063】

いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、7より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、6より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、5より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、4より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、3より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、2より多くの連続的なヌクレオチドアナログ単位、例えば、LNA単位の領域を含まない。

10

【0064】

ミキシマーの具体例において、3'末端から数えて、3～8位におけるヌクレオチドの修飾に言及するが、LNA単位は、他のヌクレオチドアナログ（例えば、本明細書中に記載するもの）と置き換えてもよい。「X」は、したがって、2'-O-アルキル-RNA単位、2'-OMe-RNA単位、2'-アミノ-DNA単位、2'-フルオロ-DNA単位（2'フルオロ）、2'-MOE-RNA（2' MOE）単位、LNA単位、PNA単位、HNA単位、INA単位からなる群から選択されてもよく、「x」は、好ましくはDNAまたはRNAであり、最も好ましくはDNAである。

20

【0065】

いくつかの具体例において、ミキシマー、例えば、antimiRミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位で修飾される、すなわち、3～8位に少なくとも1つのヌクレオチドアナログを含む。該配列の設計は、非LNA単位の存在数によって、またはLNA単位の存在数によって定義されうる。前者のいくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも1つ、例えば1つは、非LNA単位である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも2つ、例えば2つは、非LNA単位である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも3つ、例えば3つは、非LNA単位である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも4つ、例えば4つは、非LNA単位である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも5つ、例えば5つは、非LNA単位である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの少なくとも6つ、例えば6つは、非LNA単位である。

30

【0066】

あるいは、いくつかの具体例において、本発明のミキシマー、例えば、antimiRミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある少なくとも1つのLNA単位を含む。いくつかの具体例において、ミキシマー、例えば、antimiRミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある1つのLNA単位を含む。3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXXおよびXXXXXX（ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）を包含する。

40

【0067】

いくつかの具体例において、ミキシマー、例えば、antimiRミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある少なくとも2つのLNA単位を含む。そのいくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある2つのLNA単位を含む。3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXX、XXXXXX

50

X、x X X x x x、x X x X x x、x X x x X x、x X x x x X、x x X X x x、x x X x X x、x x X x x X、x x x X X x、x x x X x Xおよびx x x x X X（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、X x X x x x、X x x X x x、X x x x X x、X x x x x X、x X x X x x、x X x x X x、x X x x x X、x x X x X x、x x X x x Xおよびx x x X x X（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、x X x X x x、x X x x X x、x X x x x X、x x X x X x、x x X x x Xおよびx x x X x X（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、x X x X x x（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）である。

【0068】

いくつかの具体例において、ミキシマー、例えば、a n t i m i Rミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある少なくとも3個のL N A単位を含む。その具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある3個のL N A単位を含む。3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、X X X x x x、x X X X x x、x x X X X x、x x x X X X、X X x X x x、X X x x X x、X X x x x X、x X X x X x、x X X x x X、x x X X x X、X x X X x x、X x x X X x、X x x x X X、x X x X X x、x X x x X X、x x X x X X、x X x X x XおよびX x X x X x（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、X X x X x x、X X x x X x、X X x x x X、x X X x X x、x X X x x X、x x X X x X、X x X X x x、X x x X X x、X x x x X X、x X x X X x、x X x x X X、x x X x X X、x X x X x XおよびX x X x X x（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、x X X x X x、x X X x x X、x x X X x X、x X x X X x、x X x x X X、x x X x X Xおよびx X x X x X（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、x X x X x XまたはX x X x X x（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、x X x X x X（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）である。

【0069】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある少なくとも4個のL N A単位を含む。そのいくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある4個のL N A単位を含む。3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、x x X X X X、x X x X X X、x X X x X X、x X X X x X、x X X X X x、X x x X X X、X x X x X X、X x X X x X、X x X X X x、X X x x X X、X X x X x X、X X x X X x、X X X x x X、X X X x X xおよびX X X X x x（ここに、「X」はL N A単位を示し、「x」は非-L N A単位を示す）を包含する。

【0070】

いくつかの具体例において、本発明のミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位に

10

20

30

40

50

ある少なくとも5個のLNA単位を含む。そのいくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、3～8位にある5個のLNA単位を含む。3'末端から数えて、3～8位にあるヌクレオチドの置換パターンは、限定するものではないが、 $xXXXXX$ 、 $XXXXXX$ 、 $XXxXXX$ 、 $XXXxXX$ 、 $XXXXxX$ および $XXXXXx$ （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）を包含する。

【0071】

いくつかの具体例において、該非-LNA単位は、別のヌクレオチドアナログ単位である。

【0072】

いくつかの具体例において、非-LNA単位「x」は、別のヌクレオチドアナログ単位である。ある特定の具体例において、別のヌクレオチドアナログ単位は「Y」であることができ、ここに、Yは本明細書中に定義されたとおりである。

【0073】

いくつかのミキシマーの具体例において、3'末端から数えて、11位から5'末端までのヌクレオチドの置換パターンは、ヌクレオチドアナログ単位（例えば、LNA）を含んでいてもよく、または含んでいなくてもよい。いくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、11位から5'末端までに、少なくとも1個のヌクレオチドアナログ単位（例えば、LNA）、例えば1個のヌクレオチドアナログ単位を含む。いくつかの具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、11位から5'末端までに、少なくとも2個のヌクレオチドアナログ単位（例えば、LNA）、例えば2個のヌクレオチドアナログ単位を含む。

【0074】

オリゴマーの11位から5'末端までのヌクレオチドにおけるヌクレオチド修飾に言及するいくつかの具体例において、LNA単位は、他のヌクレオチドアナログ（例えば、本明細書中で言及されるもの）と置き換えられていてもよい。したがって、「X」は、2'-O-アルキル-RNA単位、2'-OMe-RNA単位、2'-アミノ-DNA単位、2'-フルオロ-DNA単位、LNA単位、PNA単位、HNA単位、INA単位からなる群から選択されうる。「x」は、DNAまたはRNA、例えば、DNAであってもよい。Xは、また、2'-MOE-RNA単位であってもよい。

【0075】

いくつかの非限定的な具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、11位のヌクレオチドから5'末端まで繰り返される下記の置換パターンを有する： $xxXX$ または $XXXX$ （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）。他の非限定的な具体例において、ミキシマーは、3'末端から数えて、11位のヌクレオチドから5'末端まで繰り返される下記の置換パターンを有する： $XXxx$ 、 $XXXX$ または $XXXX$ （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）。別の具体例において、ミキシマーは、ミキシマーは、3'末端から数えて、11位のヌクレオチドから5'末端まで繰り返される下記の置換パターンを有する： $XXXxxxx$ 、 $XXxxXX$ 、 $XXXXxx$ または $XXxxXX$ （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）。

【0076】

3'末端から数えて、11位から5'末端までのヌクレオチドの特異的な置換パターンは、ミキシマー中のヌクレオチド数に依存する。好ましい具体例において、ミキシマーは、12個のヌクレオチドを含有し、3'末端から数えて、11～12位の置換パターンは、限定するものではないが、 xx および XX （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）である。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、11～12位の置換パターンは、 xx （ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）である。別法では、3'末端から数えて11～12位に、LNA単位は存在しない（すなわち、置換パターンは xx ）。また他の具体例において、3'末端から数えて、11～12位の置換パターンは、 XX であり、ここに、「X」はLNA単位

10

20

30

40

50

を示す。

【0077】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、12個のヌクレオチドを含有し、3'末端から数えて、10～12位の置換パターンは、限定するものではないが、Xxx、xXx、xxX、XXx、XxX、xXXおよびXXX（ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）を包含する。そのいくつかの具体例において、3'末端から数えて、10～12位の置換パターンは、限定するものではないが、xXx、xxXおよびxXX（ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）を包含する。いくつかの具体例において、3'末端から数えて、10～12位の置換パターンは、xxX（ここに、「X」はLNA単位を示し、「x」は非-LNA単位を示す）である。別法では、3'末端から数えて、10～12位にLNA単位は存在せず、すなわち、置換パターンはxxxである。

10

【0078】

いくつかの具体例において、オリゴマーは、MOE-RNAおよび2'フルオロ-DNAヌクレオチドのミキシマーである。そのため、ヌクレオチドXおよびxのパターンは、また、2'フルオロおよび2'MOE化学の組み合わせを示してもよい。したがって、いくつかの具体例において、Xは2'MOE-RNA単位であり、xは2'フルオロ-DNA単位である。あるいは、いくつかの具体例において、xは2'MOE-RNA単位であり、Xは2'フルオロ-DNA単位である。いくつかの具体例において、オリゴマーのヌクレオチド単位の全ては、独立して、2'フルオロ-DNAおよび2'MOE-RNAからなる群から選択される。いくつかの具体例において、オリゴマーは、2'MOE-RNAおよび2'フルオロ-DNA単位の両方を含む。かかるオリゴマーは、Davisら、NAR 2009 Vol 37, No 1, pp 70-77（出典明示により本明細書の一部とされる）に記載されている。さらに、2'MOE/2'フルオロ設計は、本明細書中に説明される。

20

【0079】

いくつかの具体例において、ミキシマーは、5'末端にLNA単位を含有する。いくつかの具体例において、ミキシマーは、5'末端から数えて、最初の2つの位置にLNA単位を含有する。ミキシマーは、また、本明細書中でantimiRと関連して（あるいは、ミキシマーが類似のパターンおよび数のヌクレオチド/ヌクレオチドアナログ（例えば、XおよびxまたはXおよびY）を含有するという関係において）特定される1以上の構造的特徴を含有していてもよい。

30

【0080】

表1. 特異的マイクロRNAが示されたいくつかの疾患の例

【表1】

マイクロRNA	可能性のある医学的適応
miR-122	高コレステロール血症、C型肝炎感染、ヘモクロマトーシス

【0081】

いくつかの具体例において、オリゴマーは、i) RNA標的中に存在する連続ヌクレオチドのサブ配列に完全に相補的であってもよく、またはii) 該RNA標的中に存在する連続ヌクレオチドのサブ配列の相補体とたった1つのミスマッチを含む。したがって、該オリゴヌクレオチドは、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、ここに、それは、標的配列の対応する領域に完全に相補的であるか、または標的配列の対応する領域とたった1つのミスマッチを含む。RNA標的は、典型的に、医学的状态または疾患と関連し、いくつかの具体例において、例えば、マイクロRNAまたはmRNAであってもよい。該オリゴマーは、したがって、例えば、antimiR、マイクロRNA模倣物、マイクロRNA blockmiR、またはアンチセンスオリゴマーであってもよい。

40

【0082】

50

したがって、該オリゴマーは、マイクロRNA-122を標的とする（すなわち、マイクロRNA-122（の対応する領域）に対して完全に相補的な連続ヌクレオチド配列を含む、または該ヌクレオチド配列からなる、またはそのたった1つのミスマッチを含む）antimирであってよい。かかるオリゴヌクレオチドは、抗-マイクロRNAオリゴヌクレオチドと称することもある。

【0083】

本発明において有用なマイクロRNA-122のモジュレーターの例

本発明において使用するために特に好ましい化合物は、マイクロRNA-122を標的とするものである。miR-122の配列は、マイクロRNAデータベース「mirbase」(<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>)に見出すことができる。マイクロRNA-122の阻害剤は、多くの特許および文献に記載されており、当業者に周知である。いくつかの具体例において、有用なマイクロRNA-122モジュレーターを記載しているかかる文献の例は、WO2007/112754、WO2007/112753、またはWO2009/043353（全て、出典明示により本明細書の一部とされる）である。いくつかの具体例において、かかるマイクロRNA-122モジュレーターは、WO2009/20771、WO2008/91703、WO2008/046911、WO2008/074328、WO2007/90073、WO2007/27775、WO2007/27894、WO2007/21896、WO2006/93526、WO2006/112872、WO2005/23986、またはWO2005/13901（全て、出典明示により本明細書の一部とされる）に記載のものである。

【0084】

いくつかの具体例において、マイクロRNA-122アンタゴニストは、miR-122に相補的なオリゴマーまたはその（対応する）連続ヌクレオベース配列である。したがって、miR-122に相補的なオリゴマーは、ヒトmiR-122配列の一部または全長に対して相補的な少なくとも7個の連続ヌクレオチドの配列を含むか、または該配列からなる。これに関連して、一部は、マイクロRNA-122配列、例えば、成熟has-miR-122配列内に見出される配列と100%相補的な少なくとも6個、例えば少なくとも7個または少なくとも8個の連続ヌクレオチドである。ある特定の具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、has-miR-122シード配列に対して相補的な連続ヌクレオチドの配列を含むか、または該配列からなり、すなわち、連続ヌクレオチド配列5'-CACTCC-3'（本明細書中において、「シードマッチ領域」という）を含むか、または該配列からなる。

【0085】

いくつかの具体例において、配列5'-CACTCC-3'は、3'末端から数えて、オリゴマーの1-6、2-7または3-8位に位置する。いくつかの具体例において、配列5'-CACTCCA-3'は、3'末端から数えて、オリゴマーの1-7または2-8位に位置する。連続ヌクレオチド配列からなるオリゴマーは、さらに、非ヌクレオチド成分、例えば、5'または3'非ヌクレオチドコンジュゲーション基を含んでいてもよい。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、連続ヌクレオチド配列のみからなる、または該ヌクレオチド配列のみを含み、例えば、コンジュゲーション基を含まない。miR-122に相補的なオリゴマーは、has-miR-122配列の一部または全体に対して相補的な7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22個のヌクレオチドの連続配列を含んでいてもよく、または該配列からなっていないてもよい。全miR-122に相補的な相補的オリゴマーは、少なくとも22ヌクレオチド長、すなわち、has-miR-122配列の長さであり、いくつかの例において、さらなる配列-フランキング配列（成熟has-miR-122配列に隣接するpre-has-miR-122の領域に相補的であってもよい）を含んでいてもよい。全成熟has-miR-122に相補的な相補的オリゴマーは、したがって、22nヌクレオチド長よりも長くてもよく、例えば、23、24、25、26、27、28、29、

または30ヌクレオチド長であってもよい。has-miR-122配列の一部にのみ相補的なオリゴマーは、22ヌクレオチド長未満であってもよく、miR-has-miR-122配列の一部の相補体からなる連続ヌクレオチド配列（すなわち、has-miR-122の対応するサブ領域に相補的な連続ヌクレオチド配列）からなってもよく、または該配列を含んでいてもよい。

【0086】

いくつかの具体例において、has-miR-122配列の一部にのみ相補的なオリゴマーは、例えば、成熟has-miR-122配列に隣接するpre-has-miR-122の領域に相補的であってもよいフランキング配列を含んでいてもよい。成熟has-miR-122の一部に相補的な相補的オリゴマーは、したがって、22ヌクレオチド長より長くてもよく、例えば、23、24、25、26、27、28、29または30ヌクレオチド長であってもよい。しかしながら、いくつかの具体例において、has-miR-122の一部に相補的なオリゴマーは、22ヌクレオチド長未満である。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、has-miR-122に相補的な連続ヌクレオチド配列からなってもよい。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。

【0087】

いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-GTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ATTGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CATTGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CCATTGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。

【0088】

いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ACACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-AACACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-AAACACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CAAAACACCATGTCACACTCC-3'からなるか、または該配列を含む。

【0089】

上記で挙げた具体例において、3'シトシンヌクレオチドは、いくつかの具体例において、3'末端ヌクレオチドであってもよい。いくつかの具体例において、上記配列におい

10

20

30

40

50

て、3' シトシンに対して3' にアデノシンヌクレオチドなどの単一のさらなるヌクレオチドが存在していてもよい。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-(C)(A)(A)(A)(C)(A)(C)(C)(A)(T)(T)(G)(T)(C)ACACTCC-3' かなるか、または該配列を含み、ここに、括弧中のヌクレオチドは任意である。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-(C)(A)(A)(A)(C)(A)(C)(C)(A)(T)(T)(G)(T)(C)ACACTCCCA-3' かなるか、または該配列を含み、ここに、括弧中のヌクレオチドは任意である。

【0090】

miR-122に相補的なオリゴマーはシードマッチ領域を含むことが好ましいが、いくつかの具体例において、シードマッチ領域は、3' 末端から2個程度のヌクレオチドが切断されていてもよいと考えられる。すなわち、いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-(C)(A)(A)(A)(C)(A)(C)(C)(A)(T)(T)(G)(T)CACACTC-3' かなるか、または該配列を含み、ここに、括弧中のヌクレオチドは任意である。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-(C)(A)(A)(A)(C)(A)(C)(C)(A)(T)(T)(G)TCACACCT-3' かなるか、または該配列を含み、ここに、括弧中のヌクレオチドは任意である。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。

【0091】

いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-GTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-GTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。

【0092】

いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-TGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-ATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CCATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。

【0093】

いくつかの具体例において、miR-122に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列5'-CCATTGTCACACTC-3' かなるか、または該配列を含む。いく

10

20

30

40

50

つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-ACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつか
 つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-ACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつか
 つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-CACCATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつか
 つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-CACCATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつか
 つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-ACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつか
 つかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-AACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。

10

【0094】

いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオチ
 ド配列
 $5'-AACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続ヌクレオ
 チド配列
 $5'-AAACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または該配
 列を含む。いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連続
 スクレオチド配列
 $5'-AAACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか、または
 該配列を含む。いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマーは、連
 続ヌクレオチド配列
 $5'-CAAAACACCAATTGTCACACTC-3'$ からなるか
 、または該配列を含む。いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリゴマ
 ーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-CAAAACACCAATTGTCACACTC-3'$ から
 なるか、または該配列を含む。いくつかの具体例において、 $m i R-122$ に相補的なオリ
 ゴマーは、連続ヌクレオチド配列
 $5'-CAAAACACCAATTGTCACACTCC$
 $A-3'$ からなるか、または該配列を含む。

20

【0095】

いくつかの具体例において、該オリゴマーは、2'置換ヌクレオシド、例えば、2'M
 OE、2'OMeおよび／または2'フルオロを含んでいてもよく、または該2'置換ヌ
 クレオチドからなってもよい。例として、Davisら、NAR 2008 Vol 3
 7, No 1は、劇的に改善されたイン・ビボ効力を有する2'-フルオロ／2'-メ
 トキシエチル(2'MOE)修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO) [N
 iels/Mark, これがASOが示すものであることを確認のこと]モチーフを開示
 する。Davisらは、出典明示により本明細書の一部とする。2'MOE／2'フルオ
 ロミキシマーは、いくつかの具体例において、12、13、14、15、17、18、1
 9、20、21または22ヌクレオチド長であってもよい。下記の表は、2'MOEおよ
 び2'フルオロ糖修飾をどのように22ヌクレオチド長までのオリゴマー、例えば、その
 配列を上記したオリゴマー中に組み込むことができるかを示す。

30

【0096】

【化1】

5'																						3'
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	

40

【0097】

上記具体例は、「X」が2'MOEであり、「x」が2'フルオロである場合、あるい
 は、「X」が2'フルオロであり、「x」が2'MOEである場合、上記教示と組み合わ
 せてもよい。2'MOE／2'フルオロミキシマーは、完全にホスホロチオエートであっ

50

てもよい。

【0098】

Mは、2' -メトキシエチル (2' MOE) を示し、Fは、2' フルオロヌクレオシド単位を示す。配列 1-22 は、5' -3' に提供される。すなわち、ヌクレオシド間結合は、本明細書中に記載されるとおりであってもよく、例えば、完全なホスホロチオエート骨格を用いてもよい。上記配列は、例えば、成熟ヒト *has-miR-122* 配列の逆相補体 (reverse complement) またはその一部であってもよい (抗-*miR-122* オリゴヌクレオチド配列の上記リスト参照)。該オリゴヌクレオチドは、所望により、例えば、3' コレステロールコンジュゲートによって、コンジュゲートされていてもよい。シトシンは、5-メチルシトシンであってもよい。いくつかの具体例において、1 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、1 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、2 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、2 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、3 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、3 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、4 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、4 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、5 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、5 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、6 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、6 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、7 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、7 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、8 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、8 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、9 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、9 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、10 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、10 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、11 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、11 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、12 番目のヌクレオチドは、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、12 番目のヌクレオチドは、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、13 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、13 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、14 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、14 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、15 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、15 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、16 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、16 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、17 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、17 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、18 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において、18 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' フルオロヌクレオチドである。いくつかの具体例において、19 番目のヌクレオチドは、存在する場合、2' MOEヌクレオチドである。いくつかの具体例において

10

20

30

40

50

20

30

40

40

50

50

表2 本発明の方法において使用されうる以下の特定の化合物。該化合物は、好ましくは完全にホスホロチオエートであり、各ヌクレオチドは、LNAヌクレオチド、例えば、ベータ-D-オキシLNAである。LNAシトシンは、5'メチルシトシンであってもよ

い。該化合物は、その標的マイクロRNAのシード領域に向けられる（すなわち、シードマー（seedmer）である）。該化合物は、限定するものではないが、PCT/DK2008/000344（miRbaseにおいて公表されるようなマイクロRNAを標的とするanti-miRを開示し、特に、本発明の方法に使用されうるオリゴマーを提供するために、出典明示により本明細書の一部とされる）の表1に開示されるようなオリゴヌクレオチドを包含する。等価のanti-miRは、成熟マイクロRNA-122の-2ないし-8/-9または-10位（7、8または9merの場合）（該マイクロRNAの5'末端ヌクレオチド（すなわち、-1位）から数える）を対合することによって設計することができる。

【0102】

10

【表2】

マイクロRNA	9-mer	配列番号	8-mer	配列番号	7-mer	配列番号
hsa-miR-122	TCACACTCC	18	CACACTCC	68	ACACTCC	118

【0103】

表3 マイクロRNA-122を標的とするさらなるLNA化合物。PCT/DK2008/000344に開示されるような、本発明の方法において使用されうる以下の特定の化合物。

20

【0104】

【表3】

配列番号	化合物配列	標的マイクロRNA
166	CcAttGTcaCaCtCC	miR-122
167	CACACTCC	miR-122

【0105】

表4 使用されうるmiR-122を標的とするさらなる特定の化合物（WO2007/112754の表1およびWO2007/112753に開示され、出典明示により本明細書の一部とされる）

30

オリゴヌクレオチドを阻害するmiR-122の具体例は、限定するものではないが、下記の表4に示すものを包含する。

【0106】

【表 4】

配列番号	配列
7 5	t g C a t G g a T t t G c a C a
7 6	t g C a t G g a T t t G c a C
7 7	C a t G g a T t t G c a C
7 8	t G c A t G g A t T t G c A c
7 9	c A t G g A t T t G c A c
8 0	C a t G G a t T t G c A C
8 1	T g C a t G G a t T t G c A C
8 2	T g C a T g G a T T t G c A C a
8 3	c C a t T g t C a c A c t C c a
8 4	c C a t T g t A a c T c t C c a
8 5	c c A t t G t c A c a C t c C a
8 6	c C a t T g t C a c A c t C c
8 7	a t T g t C a c A c t C c
8 8	c c A t t G t c A c a C t c C
8 9	A t t G t c A c a C t c C
9 0	a T t G t C a C a C t C c
9 1	A t t G T c a C a C t C C
9 2	C c A t t G T c a C a C t C C
9 3	C c a T t g T c a c A c t c C a
9 4	C C A t t g t c a c a c T C C a
9 5	t C a c G a t T a g C a t T a a
9 6	a T c a C g a T t a G c a T t a
9 7	T c A c G a T t A g C a T t A a
9 8	A t c A c G a T t A g C a T t a
9 9	g A g c C g a A c g A a c A a
1 0 0	g c C g a A c g A a c A a
1 0 1	G a G c C g A a C g A a C a A
1 0 2	G c C g A a C g A a C a A

10

20

30

ここに、小文字は、DNA単位のス素を含む塩基を示し、大文字は、LNA単位のス素を含む塩基を示し、大文字のCは^Me Cを示す。

【0107】

上記具体例におけるLNA/DNAヌクレオベースの設計は、本発明にしたがう他のオリゴヌクレオチドに応用されうることが理解されるであろう。

【0108】

医薬組成物および治療方法

アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはそのコンジュゲートもしくは医薬組成物は、典型的に、有効量（例えば、標的RNAまたはその活性を、連続的投与間の期間にわたって有意なレベル、例えば、対象に治療的利益があるレベルにダウンレギュレートするのに十分な投与量によって決定されう）において対象に投与される。いくつかの具体例において、標的RNAまたはその活性は、連続的投与間の期間中、少なくとも10%、例えば、少なくとも20%、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%または少なくとも80%または少なくとも90%ダウンレギュレートされる。本発明の医薬組成物は、いくつかの具体例において、疾患病状に依存して、疾患の治療において効果的であろう対象、例えば、対象の標的組織における化合物濃

40

50

度を維持する目的で、維持投与量スキームによって追従されうる初期投与量蓄積期 (initial dosage build up phase) を提供するための投与のために製造されうる。投与量の効力は、例えば、病状を示す疾患パラメーターの観察によって測定されうるか、または標的組織に依存して、種々の組織パラメーター、例えば、標的 RNA の活性またはウイルスゲノムの量、あるいは例えば、血漿中の測定可能な病状依存性パラメーターの観察によって測定可能である。しかしながら、いくつかの非限定的な例において、かかる疾患はウイルス性疾患であることができ、増量期後、維持投与量を一定期間与えることができ、ここに、該目的は、標的組織における化合物の比較的高い活性または濃度を維持することであり、一方、例えば、ウイルス力価が減少するか、または他の疾患パラメーターが改善され、その後、各投与間の間隔を増加することができるか、または各投与で与えられる投与量を減少することができ、またはその両方可能であり、それにより、最小限必要とされる有効投与量を用いることで最低レベルで該疾患を維持し、同時に、投与間にぎりぎりの時間間隔 (high time interval) をおくことによって、最小限の副作用および患者にとって最低限の不都合しかもたらさないようにする。本明細書に記載の投与最適化は、ルーチンな調整のみを用いて、当業者によって実施されうる。

10

【0109】

いくつかの具体例において、増量期後、重要な疾患パラメーターに対する所望の効果を得るために、標的組織における有効濃度を維持する目的で、維持投与量が投与され、ここに、患者にとっての投与の不都合を回避するために、各投与間の時間間隔は大きく、副作用を回避するために、投与量は最小限に維持され、一方、選択された疾患パラメーターに対する効果は今だ維持されている。

20

【0110】

いくつかの具体例において、少なくとも2回の投与、例えば維持投与間の時間間隔は、例えば、少なくとも1日、例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、または少なくとも14日のいずれかから選択される。

【0111】

いくつかの具体例において、少なくとも2回の投与、例えば維持投与間の時間間隔は、例えば、少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124または少なくとも125日のいずれかから選択される。いくつかの具体例において、少なくとも2回の投与、例えば維持投与間の時間間隔は、少なくとも2週、例えば、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17または少なくとも18週のいずれかから選択される。いくつかの具体例において、少なくとも2回の投与、例えば維持投与間の時間間隔は、例えば、少なくとも1/2月、例えば、少なくとも1、1と1/2、2、2と1/2、3、3と1/2、4または少なくとも4と1/2月のいずれかから選択される。

30

40

【0112】

いくつかの具体例において、患者が活性な疾患の症状を有する限り、治療が維持されるであろう。いくつかの具体例において、ある期間、治療を休止してもよく、次いで、高投与または頻繁な投与の初期期間によって再開して、化合物の有効組織濃度を再構築してもよく、次いで、記載にしたがって維持療法を施してもよい。

【0113】

いくつかの具体例において、少なくとも2回の投与、例えば維持投与間の時間間隔は、

50

少なくとも14日である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも21日である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも4週である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも5週である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも6週である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも7週である。いくつかの具体例において、投与間の時間間隔は、少なくとも8週である。かかる投与量は、維持投与量であってもよい。

【0114】

いくつかの具体例において、患者の循環中、例えば血漿中のオリゴマー濃度は、0.04~25nM、例えば、0.8~20nMのレベルで維持される。

【0115】

いくつかの具体例において、各投与、例えば単位投与量にて投与される化合物の投与量は、0.01mg/kg~25mg/kgである。いくつかの具体例において、各投与、例えば単位投与量にて投与される化合物の投与量は、0.05mg/kg~20mg/kgである。いくつかの具体例において、各投与にて投与される化合物の投与量（例えば、単位投与量）は、0.1mg/kg~15mg/kgである。いくつかの具体例において、各投与にて投与される化合物の投与量（例えば、単位投与量）は、1mg/kg~15mg/kgである。いくつかの具体例において、各投与、例えば単位投与量にて投与される化合物の投与量は、1mg/kg~10mg/kgである。いくつかの具体例において、各投与にて投与される化合物の投与量（例えば、単位投与量）は、0.01mg/kg~25mg/kg、例えば、約0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.25、1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75、4、4.25、4.5、4.75、5、5.25、5.5、5.75、6、6.25、6.5、6.75、7、7.25、7.5、7.75、8、8.25、8.5、8.75、9、9.25、9.5、9.75、10、10.25、10.5、10.75、11、11.25、11.5、11.75、12、12.25、12.5、12.75、13、13.25、13.5、13.75、14、14.25、14.5、14.75、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または例えば約25mg/kg（その各々が個々の具体例である）である。

【0116】

いくつかの具体例において、本発明の組成物（例えば、単位投与量）は、非経口投与方法、例えば、限定するものではないが、静脈内、皮下、腹腔内、脳血管内、鼻腔内投与のために製造される。いくつかの具体例において、投与は経口である。

【0117】

本発明のオリゴマーは、医薬処方および組成物において使用されうる。適当には、かかる組成物は、医薬上許容される希釈剤、担体、塩またはアジュバントを含む。PCT/DK2006/000512は、適当な医薬上許容される希釈剤、担体およびアジュバントを提供する（出典明示により、本明細書の一部とする）。適当な投与量、処方、投与経路、組成物、投与形態、他の治療剤との組み合わせ、プロドラッグ処方もまた、PCT/DK2006/000512に提供される（出典明示により、本明細書の一部とする）。いくつかの具体例において、本発明の医薬組成物は、さらに、医薬上許容される担体を含む。

【0118】

本発明の化合物は、いくつかの具体例において、例えば、医薬上許容される担体または希釈剤中、処置した患者に深刻な副作用を引き起こすことなく、治療上有効量を患者にデリバリーするのに十分な量において、単位処方（すなわち、単位投与量）中に含まれうる。しかしながら、処置のいくつかの形態において、深刻な副作用は、治療的処置に対して正の結果を保証する観点から、許容されうる。

【0119】

医薬組成物の投与量は、治療されるべき病態の重篤度および応答性に依存し、数日から

10

20

30

40

50

数ヶ月または治癒するまで持続する治療コースがもたらされるか、または病状の減少が達成される。最適な投与計画は、患者の体内における薬物蓄積の測定値から算出することができる。最適な投与量は、個々のオリゴヌクレオチドの相対的効力に依存して変化する。一般に、イン・ビトロおよびイン・ビボ動物モデルにおいて有効であることが見出されたEC₅₀に基づいて概算することができる。一般に、投与量は、体重1kgあたり0.01μg~1gであり、1日に1回以上、週に1回以上、月に1回以上または年に1回以上、または2~10年毎に1回、または数時間から数ヶ月までの間の連続的な注入によって、与えられる。投与の反復率は、体液または組織中の測定された滞留時間および濃度に基づいて概算することができる。成功した処置後、病状の再発を防ぐために、患者は維持療法を受けることが望ましい。

10

【0120】

処方された薬物は、医薬上許容される結合剤およびアジュバントを含んでもよい。カプセル、錠剤および丸薬などは、例えば、下記の化合物を含有していてもよい。結合剤として、微結晶セルロース、ガムまたはゼラチン；賦形剤として、デンプンまたはラクトース；滑沢剤として、ステアリン酸塩；種々の甘味料またはフレーバー剤。カプセルの場合、投与単位は、油脂などの液体担体を含有していてもよい。同様に、糖類または腸溶性剤のコーティングを投与単位の一部としてもよい。オリゴヌクレオチド処方は、また、活性な医薬成分およびミセル性エマルジョンを形成する脂質のエマルジョンであってもよい。

【0121】

20

本発明の医薬組成物は、局所的または全身的処置が望ましいかどうか、および治療されるべき領域に依存して、いくつかの方法で投与される。投与は、(a)経口、(b)肺、例えば、ネブライザーによるものを包含する粉末またはエアロゾルの吸入または吹き込みによる、気管内、鼻腔内、(c)表皮、経皮、眼および膺および直腸デリバリーを包含する粘膜を包含する局所的、または(d)静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉注射または注入を包含する非経口、または頭蓋内、例えば、クモ膜下または脳室内投与であってもよい。いくつかの具体例において、活性なオリゴは、IV、IP、経口、局所、またはボーラス注射として投与され、または標的器官に直接投与される。具体例において、各投与量は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉注射または注入を包含する非経口注射または注入；または頭蓋内、例えば、クモ膜下または脳室内投与によって投与される。

30

【0122】

局所投与のための医薬組成物および処方は、経皮パッチ、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、滴、スプレー、座剤、液体および粉末を包含する。通常の医薬担体、水性、粉末または油性基剤、増粘剤などは、必要であるか、または望ましいことがある。いくつかの非限定的な例示的局所処方、本発明のオリゴヌクレオチドが液体、リポソーム、脂肪酸、脂肪酸エステル、ステロイド、キレート剤および界面活性剤などの局所的デリバリー剤と混合されているものを包含する。経口投与のための組成物および処方、限定するものではないが、粉末または顆粒、微粒子、ナノ粒子、水中または非水性媒体中における懸濁液または溶液、カプセル、ゲルカプセル、サッシェ、錠剤またはミニ錠剤を包含する。非経口、クモ膜下または脳室内投与のための組成物および処方、バッファー、希釈剤および他の適当な添加剤、例えば、限定するものではないが、浸透増加剤、担体化合物および他の医薬上許容される担体または賦形剤を含有していてもよい滅菌水性溶液を包含する。

40

【0123】

本発明の医薬組成物は、限定するものではないが、溶液、エマルジョン、およびリポソーム含有処方を包含する。これらの組成物は、限定するものではないが、予め形成された液体、自己乳化性固体および自己乳化性半固体を包含する種々の成分から生成される。腫瘍組織への薬物のデリバリーは、限定するものではないが、カチオン性リポソーム、シクロデキストリン、ポルフィリン誘導体、側鎖デンドリマー、ポリエチレンイミンポリマー、ナノ粒子およびミクロスフェアを包含する担体媒介性デリバリーによって増強されう

50

る (Dass CR. J Pharm Pharmacol 2002; 54 (1) : 3-27)。本発明の医薬処方は、好都合には単位投与形態で提供されうるが、製薬業界においてよく知られた通常の技術にしたがって調製されうる。かかる技術は、活性成分と医薬担体または賦形剤との会合をもたらす工程を包含する。一般に、該処方は、活性成分と液体担体または微粉化固形担体またはその両方との会合を均一かつ密接にもたらし、次いで、所望により成形することによって調製される。

【0124】

本発明の組成物は、多くの可能な投与形態、例えば、限定するものではないが、錠剤、カプセル、ゲルカプセル、液体シロップ、ソフトゲルおよび座剤のいずれかに処方されうる。本発明の組成物は、また、水性、非水性または混合媒体中の懸濁液として処方されうる。水性懸濁液は、さらに、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールおよび／またはデキストランを包含する、該懸濁液の粘性を増加させる物質を含有しうる。懸濁液は、また、安定化剤を含有しうる。

10

【0125】

非経口、皮下、経皮または局所投与の場合、処方は、滅菌希釈剤、バッファー、等張性調節剤および抗菌剤を含んでもよい。活性化合物は、放出制御性を有するインプラントまたはマイクロカプセルを包含する、分解または体内からの即時排除から保護する担体と共に調製されうる。静脈内投与の場合、担体は、例えば、生理学的セーラインまたはリン酸緩衝化セーラインであってもよい。

【0126】

20

本発明のオリゴヌクレオチドは、所望の作用を害さないいずれかの物質、または所望の作用を補助する物質と混合してもよい。これらは、他のヌクレオシド化合物を包含する他の薬剤を包含することができる。

【0127】

所望により、本発明の医薬は、治療剤、例えば、さらなるアンチセンス化合物、化学治療化合物、抗炎症性化合物、抗ウイルス性化合物および／または免疫調節化合物を含む。限定するものではないが、非ステロイド性抗炎症薬およびコルチコステロイドを包含する抗炎症薬、抗ウイルス薬、および免疫調節薬もまた、本発明の組成物中に配合されうる。

【0128】

2以上の合わせた化合物を一緒にまたは連続的に用いてもよく、すなわち、本発明の化合物は、本明細書中に言及される1以上の他の治療剤の投与前、投与中または投与後に用いてもよい。

30

【0129】

本発明のオリゴヌクレオチドは、また、活性な薬剤物質、例えば、アスピリン、イブプロフェン、サルファ薬、抗糖尿病薬、抗菌薬または抗生物質にコンジュゲートされていてもよい。いくつかの具体例において、本発明の医薬組成物は、さらに、少なくとも1つの化学治療剤を含む。該化学治療剤は、例えば、アドレノコルチコステロイド、例えば、プレドニソン (prednisone)、デキサメタゾン (dexamethasone) またはデカドロン (decadron) ; アルトレタミン (altretamine) (ヘキサレン (hexalen)、ヘキサメチルメラミン (HMM)) ; アミフォスチン (amifostine) (エチオール (ethyol)) ; アミノグルテチミド (aminogluthetamide) (シタドレン (cytadren)) ; アムサクリン (amsacrine) (M-AMSA) ; アナストロゾール (anastrozole) (アリミデックス (arimidex)) ; アンドロゲン、例えば、テストステロン ; アスパラギナーゼ (エルスパ (elspar)) ; バチルス・カルメット・グリン (bacillus calmette-gurin) ; ビカルタミド (bicalutamide) (カソデックス (casodex)) ; プレオマイシン (プレノキサン (blenoxane)) ; ブスルファン (busulfan) (ミレラン (myleran)) ; カルボプラチン (パラプラチン (paraplatin)) ; カルムスチン (carmustine) (BCNU, BiCNU) ; クロラムブシル (chlorambucil)

40

50

(ロイケラン (leukeran)) ; クロデオキシアデノシン (2-CDA, クラドリビン (cladribine)、ロイスタチン (leustatin)) ; シスプラチン (プラチノール (platinol)) ; シトシンアラビノシド (シタラビン (cytarabine)) ; デカルバジン (dacarbazine) (DTIC) ; ダクチノマイシン (dactinomycin) (アクチノマイシン-D (actinomycin-D)、コスメゲン (cosmegen)) ; ダウノルビシン (daunorubicin) (セルビジン (cerubidine)) ; ドセタキセル (docetaxel) (タキソテレ (taxotere)) ; ドクソルビシン (doxorubicin) (アドリノマイシン (adriomycin)) ; エピルビシン (epirubicin) ; エストラムスチン (estramustine) (エムシト (emcyt)) ; エストロゲン、例えば、ジエチルスチルベストロール (DES) ; エトプシド (etoposide) (VP-16、VePesid、エトポホス (etopophos)) ; フルダラビン (fludarabine) (フルダラ (fludara)) ; フルタミド (flutamide) (エウレキシシン (eulexin)) ; 5-FUDR (フロクスウリジン (flouxuridine)) ; 5-フルオロウラシル (5-FU) ; ゲムシタビン (gemcitabine) (ゲムザル (gemzar)) ; ゴセレリン (goserelin) (ゾダレックス (zodalex)) ; ヘルセプチン (herceptin) (トラストズマブ (trastuzumab)) ; ヒドロキシウリア (ヒドレア (hydrea)) ; イダルビシン (idarubicin) (イダマイシン (idamycin)) ; イホスファミド (ifosfamide) ; IL-2 (プロレウキン (proleukin)) ; アルデスレウキン (aldesleukin)) ; インターフェロンアルファ (イントロンA (intron A)、ロフェロンA (roferon A)) ; イリノテカン (irinotecan) (カムプトサル (camptosar)) ; ロイプロリド (leuprolide) (ルプロン (lupron)) ; レバミソール (levamisole) (エルガミソール (ergamisole)) ; ロムスチン (lomustine) (CCNU) ; メクロラタミン (mechlorethamine) (ムスタルゲン (mustargen)、ニトロゲンマスタード) ; メルファラン (melfalan) (アルケラン (alkeran)) ; メルカプトプリン (プリネトール (purinethol)、6-MP) ; メトトレキサート (methotrexate) (メキサート (mexate)) ; マイトマイシン-C (mitomycin-C) (ムタムシン (mutamucin)) ; ミトキサントロン (mitoxantrone) (ノバントロン (novantrone)) ; オクトレオチド (octreotide) (サンドスタチン (sandoستatin)) ; ペントスタチン (pentostatin) (2-デオキシコホルミシン (2-deoxycoformycin)、ニペント (nipent)) ; プリカマイシン (plicamycin) (ミトラマイシン (mithramycin)、ミトラシン (mithracin)) ; プロロカルバジン (procarbazine) (マツラン (matulane)) ; ストレプトゾシン (streptozocin) ; タモキシフィン (tamoxifen) (ノルバデックス (nolvadex)) ; タキソール (taxol) (パクリタキセル (paclitaxel)) ; テニポシド (teniposide) (ブモン (vumon)、VM-26) ; チオテパ (thiotepa) ; トポテカン (topotecan) (ヒカムチン (hycamtin)) ; トレチノイン (tretinoin) (ベサノイド (vesanoid)、全トランスレチノイン酸) ; ビンブラスチン (vinblastine) (バルバン (valban)) ; ビンクリスチン (vincristine) (オンコビン (oncovin)) およびビンオレルビン (vinorelbine) (ナベルビン (navelbine)) からなる群から選択されうる。

【0130】

ある特定の具体例において、本発明は、(a) 1 以上のアンチセンス化合物および (b) 非アンチセンスメカニズムによって機能する 1 以上の他の化学治療剤を含有する医薬組成物を提供する。本発明の化合物と共に使用される場合、かかる化学治療剤は、個々に (

10

20

30

40

50

例えば、ミトラマイシンおよびオリゴヌクレオチド)、連続的に(例えば、一定期間、ミトラマイシンおよびオリゴヌクレオチド、次いで、他の薬剤およびオリゴヌクレオチド)、または1以上の他のかかる化学治療剤と組み合わせて、または放射能療法と組み合わせて用いてもよい。当業者に既知の全ての化学治療剤は、本発明の化合物との組み合わせ治療として本明細書中に組み込まれる。

【0131】

別の具体例において、本発明の組成物は、第1の核酸を標的とした1以上のアンチセンス化合物、特にオリゴヌクレオチド、および第2の核酸標的を標的とした1以上のさらなるアンチセンス化合物を含有しうる。2以上の組み合わせた化合物と一緒にまたは連続的に用いてもよい。すなわち、本発明の化合物は、本明細書中に言及される1以上の他の治療剤の投与前、投与中または投与後に使用してもよい。

10

【0132】

本発明の医薬組成物は、プロドラッグを構成していてもよい。したがって、本発明のいくつかの具体例において、本発明の化合物は、プロドラッグの形態であってもよい。オリゴヌクレオチドは、負に荷電されたイオンに基づいていてもよい。細胞膜の脂肪親和性のために、オリゴヌクレオチドの細胞取り込みは、中性または脂肪親和性等価物と比べて減少する。該極性「障害」は、プロドラッグアプローチを用いることによって回避することができる(例えば、Crooke, R. M. (1998) in Crooke, S. T. Antisense research and Application. Springer-Verlag, Berlin, Germany, vol. 131, pp. 103-140参照)。該アプローチにおいて、オリゴヌクレオチドは、該オリゴが投与時に中性であるように保護された方法で調製される。これらの保護基は、除去でき、その後オリゴが細胞に取り込まれるように、設計される。かかる保護基の例は、S-アセチルチオエチル(SATE)またはS-ピバロイルチオエチル(トープチル-SATE)である。これらの保護基は、ヌクレアーゼ耐性であり、選択的に細胞内除去される。

20

【0133】

本発明の医薬組成物は、いくつかの具体例において、さらに、抗炎症性化合物および/または抗ウイルス性化合物を含む。

【0134】

いくつかの具体例において、本発明で使用されるLNAアンチセンス抗マイクロRNA化合物は、セーライン中で処方される。

30

【0135】

ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログ

「ヌクレオチド」なる語は、本明細書中で使用される場合、糖部分、塩基部分および共有結合したリン酸基を含むグリコシドを示し、天然ヌクレオチド、例えば、DNAまたはRNA、例えばDNA、および修飾された糖および/または塩基部分を含む非天然ヌクレオチド(本明細書中において「ヌクレオチドアナログ」ともいう)の両方を包含する。

【0136】

非天然ヌクレオチドは、修飾された糖部分を有するヌクレオチド、例えば、二環式ヌクレオチドまたは2'修飾ヌクレオチド、例えば、2'置換ヌクレオチドを包含する。

40

【0137】

「対応する」なる語は、オリゴマーまたは連続ヌクレオチド配列のヌクレオチド配列(第1の配列)および標的RNAの逆相補体の全またはサブ配列の等価の連続ヌクレオチド配列間の比較をいう(RNA標的に対応するオリゴマー配列またはその連続ヌクレオチド配列は、標的RNAの全またはサブ配列の逆相補体とアラインした場合に、典型的にミスマッチを含まない、またはたった1個しかミスマッチを含まない)。

【0138】

「対応するヌクレオチドアナログ」および「対応するヌクレオチド」なる語は、ヌクレオチドアナログにおけるヌクレオチドおよび天然ヌクレオチドが同一であることを示すこ

50

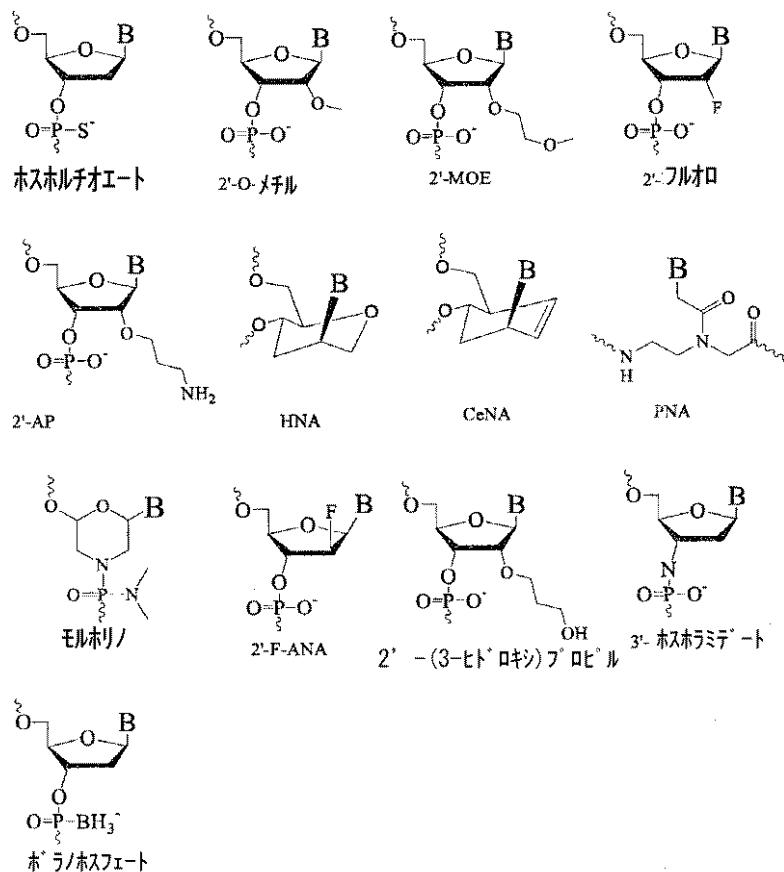
とを意図する。例えば、ヌクレオチドの2'-デオキシリボース単位がアデニンに結合している場合、「対応するヌクレオチドアナログ」は、アデニンに結合したペントース単位（2'-デオキシリボースとは異なる）を含有する。

【0139】

「ヌクレオチドアナログ」は、糖および／または塩基部分における修飾による天然ヌクレオチド、例えば、DNAまたはRNAヌクレオチドの変種である。アナログは、原則として、オリゴマーに関連して、天然ヌクレオチドに対し、単に「サイレント」であるか「等価」であることができ、すなわち、オリゴマーが標的遺伝子発現を阻害するように働く方法に対して機能的な影響を有さない。にもかかわらず、かかる「等価」アナログは、例えば、それらの製造が容易または安価であるか、または貯蔵もしくは製造条件に対してより安定であるか、またはタグもしくはラベルを示す場合、有用でありうる。しかしながら、好ましくは、アナログは、例えば、標的に対する増加した結合アフィニティーおよび／または細胞内ヌクレアーゼに対する増加した耐性および／または細胞中への輸送の増加した容易性を生じることによって、オリゴマーが発現阻害するように働く方法に対して機能的影響を有さないであろう。ヌクレオチドアナログの具体例は、例えば、FreierおよびAltmann; *Nucl. Acid Res.*, 1997, 25, 4429-4443およびUhlmann; *Curr. Opinion in Drug Development*, 2000, 3(2), 293-213、およびスキーム1によって記載される。

【0140】

【化2】



スキーム1

【0141】

かくして、オリゴマーは、天然ヌクレオチド、例えば、2'-デオキシヌクレオチド（本明細書中において、一般に、「DNA」という）、おそらくリボヌクレオチド（本明細書中において、一般に、「RNA」という）、またはかかる天然ヌクレオチドの組み合わせ

、および1以上の非天然ヌクレオチド、すなわち、ヌクレオチドアナログの単純な配列を含むか、または該配列からなってもよい。かかるヌクレオチドアナログは、適当には、標的配列のオリゴマーのアフィニティーを増加しうる。

【0142】

適当なヌクレオチドアナログの例は、PCT/DK2006/000512によって提供されるか、または該文献中に言及される。

【0143】

オリゴマーにおけるアフィニティー増強性ヌクレオチドアナログ、例えば、LNAまたは2'-置換糖類の組み込みは、特異的結合性オリゴマーのサイズを減少させることを可能にし、また、非特異的または異常な結合が起こる前に、その上限を該オリゴマーのサイズに減少させる。

10

【0144】

いくつかの具体例において、該オリゴマーは、少なくとも2つのヌクレオチドアナログを含む。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、3-8個のヌクレオチドアナログ、例えば、6または7個のヌクレオチドアナログを含む。なによりも好ましい具体例において、第1のオリゴマーにも言及するが、特に第2のオリゴマーに関連して、ヌクレオチドアナログの少なくとも1つは、ロックド (locked) 核酸 (LNA) であり、例えば、ヌクレオチドアナログの少なくとも3または少なくとも4、または少なくとも5、または少なくとも6、または少なくとも7、または8個は、LNAであってもよい。いくつかの具体例において、ヌクレオチドアナログの全てがLNAであってもよい。

20

【0145】

ヌクレオチドのかかる修飾の例は、また、2'-置換基を提供するように、または結合アフィニティーを増強し、増加したヌクレアーゼ耐性をも提供しうる架橋 (ロックド核酸) 構造を提供するように、糖部分を修飾することを包含する。

【0146】

好ましいヌクレオチドアナログは、LNA、例えば、オキシ-LNA (例えば、ベーター-D-オキシ-LNA、およびアルファー-L-オキシ-LNA)、および/またはアミノ-LNA (例えば、ベーター-D-アミノ-LNAおよびアルファー-L-アミノ-LNA) および/またはチオ-LNA (例えば、ベーター-D-チオ-LNAおよびアルファー-L-チオ-LNA) および/またはENA (例えば、ベーター-D-ENAおよびアルファー-L-ENA) である。最も好ましくは、ベーター-D-オキシ-LNAである。

30

【0147】

いくつかの具体例において、オリゴマー内に存在するヌクレオチドアナログは、例えば、2'-O-アルキル-RNA単位、2'-アミノ-DNA単位、2'-フルオロ-DNA単位、LNA単位、アラビノ核酸 (ANA) 単位、2'-フルオロ-ANA単位、HNA単位、INA (挿入核酸 (intercalating nucleic acid) -Christensen, 2002. Nucl. Acids. Res. 2002 30: 4918-4925 (出典明示により、本明細書の一部とされる)) 単位、および2'-MOE単位から独立して選択される。いくつかの具体例において、本発明のオリゴマーまたはその連続ヌクレオチド配列中に存在するヌクレオチドアナログの上記の型のうちの1つだけが存在する。

40

【0148】

いくつかの具体例において、ヌクレオチドアナログは、2'-O-メトキシエチル-RNA (2'-MOE)、2'-フルオロ-DNAモノマーまたはLNAヌクレオチドアナログであり、該オリゴマーとして、これらの3つの型のアナログから独立して選択されるヌクレオチドアナログを含んでいてもよく、または該3つの型から選択されるアナログのうちの1つの型だけを含んでいてもよい。いくつかの具体例において、該ヌクレオチドアナログの少なくとも1つは、2'-MOE-RNA、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9または10個の2'-MOE-RNAヌクレオチド単位である。いくつかの具体例において、該ヌクレオチドアナログの少なくとも1つは、2'-フルオロDNA、例えば、

50

2、3、4、5、6、7、8、9または10個の2'-フルオロ-DNAヌクレオチド単位である。

【0149】

いくつかの具体例において、第2のオリゴマーは、LNAおよび2'-MOE-RNAの両方または2'-フルオロヌクレオチドを含み、いくつかの具体例において、LNAおよび2'-MOE、またはLNAおよび2'-フルオロヌクレオチドからなってもよい。

【0150】

いくつかの具体例において、該オリゴマーは、少なくとも1つのロックド核酸(LNA)単位、例えば、1、2、3、4、5、6、7、または8個のLNA単位、例えば、3〜7または4〜8個のLNA単位、または3、4、5、6または7個のLNA単位を含む。いくつかの具体例において、全てのヌクレオチドアナログはLNAである。いくつかの具体例において、該オリゴマーは、ベーターD-オキシ-LNA、および下記LNA単位の1以上の両方を含んでもよい：ベーターDまたはアルファ-L配置のいずれか、またはその組み合わせにおけるチオ-LNA、アミノ-LNA、オキシ-LNA、および/またはENA。いくつかの具体例において、全LNAシトシン単位は、5'-メチルシトシンである。本発明のいくつかの具体例において、オリゴマーは、LNAおよびDNA単位の両方を含みうる。いくつかの具体例において、LNAおよびDNA単位の合わせた数は、10-25、または10-20、例えば、12-16である。いくつかの具体例において、オリゴマー、例えば、連続ヌクレオチド配列のヌクレオチド配列は、少なくとも1つのLNAからなり、残りのヌクレオチド単位は、DNA単位である。いくつかの具体例において、オリゴマーは、所望により修飾されたヌクレオチド間結合、例えば、ホスホロチオエートを有する、LNAヌクレオチドアナログおよび天然ヌクレオチド(例えば、RNAまたはDNA、最も好ましくはDNAヌクレオチド)のみを含む。

【0151】

「ヌクレオベース」なる語は、ヌクレオチドの塩基部分を示し、天然ならびに非天然変種を包含する。かくして、「ヌクレオベース」は、既知のプリンおよびピリミジン複素環だけでなく、その複素環式アナログおよび互変体も包含する。

【0152】

ヌクレオベースの例は、限定するものではないが、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、ヒポキサンチン、5-メチルシトシン、イソシトシン、シュードイソシトシン、5-ブロモウラシル、5-プロピニルウラシル、6-アミノプリン、2-アミノプリン、イノシン、ジアミノプリン、および2-クロロ-6-アミノプリンを包含する。

【0153】

いくつかの具体例において、オリゴマー中に存在するヌクレオベースの少なくとも1つは、5-メチルシトシン、イソシトシン、シュードイソシトシン、5-ブロモウラシル、5-プロピニルウラシル、6-アミノプリン、2-アミノプリン、イノシン、ジアミノプリン、および2-クロロ-6-アミノプリンからなる群から選択される修飾されたヌクレオベースである。

【0154】

LNA

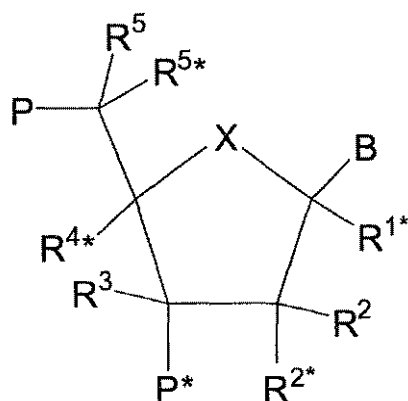
「LNA」なる語は、「ロックド核酸」として知られる二環式ヌクレオチドアナログをいう。それは、LNAモノマーを示しうるが、「LNAオリゴヌクレオチド」の関連で使用される場合、LNAは、1以上のかかる二環式ヌクレオチドアナログを含有するオリゴヌクレオチドをいう。LNAヌクレオチドは、例えば、下記のようなビラジカル R^4 *- R^2 *として示されるように、リボース糖環のC2'およびC4'間のビラジカル「架橋」の存在によって特徴付けられる。

【0155】

本発明のオリゴヌクレオチド化合物において使用されるLNAは、好ましくは、式Iの構造を有する。

【0156】

【化3】



式 1

式中、全てのキラル中心に関し、RまたはS配置のいずれかにおいて、不斉基が見出されてもよく、

ここに、Xは、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^N*)-$ 、 $-C(R^6R^6*)-$ から選択され、例えば、いくつかの具体例において、 $-O-$ であり、

Bは、水素、置換されていてもよい C_{1-4} -アルコキシ、置換されていてもよい C_{1-4} -アルキル、置換されていてもよい C_{1-4} -アシルオキシ、天然およびヌクレオベースアナログを包含するヌクレオベース、DNAインターカレーター、光化学的に活性な基、熱化学的に活性な基、キレート基、レポーター基、およびリガンドから選択され、

Pは、隣接モノマーに対するヌクレオチド間結合または5'末端基、例えば、置換基 R^5 または等しく適用可能な置換基 R^{5*} を包含していてもよいヌクレオチド間結合または5'末端基を示し、

P^* は、隣接モノマーに対するヌクレオチド間結合、または3'末端基を示し、

R^{4*} および R^{2*} は、一緒になって、 $-C(R^aR^b)-$ 、 $-C(R^a)=C(R^b)-$ 、 $-C(R^a)=N-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R^a)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-N(R^a)-$ 、および $>C=Z$ から選択される1-4個の基/原子からなるビラジカルを示し、ここに、Zは、 $-O-$ 、 $-S-$ 、および $-N(R^a)-$ から選択され、 R^a および R^b は、各々、独立して、水素、置換されていてもよい C_{1-12} -アルキル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルケニル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルキニル、ヒドロキシ、 C_{1-12} -アルコキシ、 C_{2-12} -アルコシアルキル、 C_{2-12} -アルケニルオキシ、カルボキシ、 C_{1-12} -アルコシカルボニル、 C_{1-12} -アルキルカルボニル、ホルミル、アリール、アリールオキシカルボニル、アリールオキシ、アリールカルボニル、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシカルボニル、ヘテロアリールオキシ、ヘテロアリールカルボニル、アミノ、モノーおよびジ(C_{1-6} -アルキル)アミノ、カルバモイル、モノーおよびジ(C_{1-6} -アルキル)-アミノカルボニル、アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、モノーおよびジ(C_{1-6} -アルキル)アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、 C_{1-6} -アルキル-カルボニルアミノ、カルバミド、 C_{1-6} -アルカノイルオキシ、スルホノ、 C_{1-6} -アルキルスルホニルオキシ、ニトロ、アジド、スルファニル、 C_{1-6} -アルキルチオ、ハロゲン、DNAインターカレーター、光化学的に活性な基、熱化学的に活性な基、キレート基、レポーター基、およびリガンドから選択され、ここに、アリールおよびヘテロアリールは、置換されていてもよく、ここに、2つのジェミナル(geminal)置換基 R^a および R^b は、一緒になって、置換されていてもよいメチレン($=CH_2$)を示していてもよく、ここに、全キラル中心について、不斉基はRまたはS配置のいずれかで見出されてもよく、

存在する置換基 R^{1*} 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} 、 R^6 および R^{6*} の各々は、水素、置換されていてもよい C_{1-12} -アルキル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルケニル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルキニル、ヒドロキシ、 C_{1-12} -アル

10

20

30

40

50

コキシ、 C_{2-12} -アルコキシアルキル、 C_{2-12} -アルケニルオキシ、カルボキシ、 C_{1-12} -アルコキシカルボニル、 C_{1-12} -アルキルカルボニル、ホルミル、アリール、アリールオキシカルボニル、アリールオキシ、アリールカルボニル、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシカルボニル、ヘテロアリールオキシ、ヘテロアリールカルボニル、アミノ、モノーおよびジ (C_{1-6} -アルキル) アミノ、カルバモイル、モノーおよびジ (C_{1-6} -アルキル) -アミノカルボニル、アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、モノーおよびジ (C_{1-6} -アルキル) アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、 C_{1-6} -アルキル-カルボニルアミノ、カルバミド、 C_{1-6} -アルカノイルオキシ、スルホノ、 C_{1-6} -アルキルスルホニルオキシ、ニトロ、アジド、スルファニル、 C_{1-6} -アルキルチオ、ハロゲン、DNA インターカレーター、光化学的に活性な基、熱化学的に活性な基、キレート基、レポーター基、およびリガンドから独立して選択され、ここに、アリールおよびヘテロアリールは、置換されていてもよく、2つのジェミナル置換基は一緒になって、オキシ、チオキシ、イミノ、または置換されていてもよいメチレンを示してもよく、ここに、 R^N は、水素および C_{1-4} -アルキルから選択され、ここに2つの隣接する (非ジェミナル) 置換基は、二重結合を生じる付加的な結合を示してもよく、 R^{N*} は、存在し、かつ、ビラジカルに関与しない場合、水素および C_{1-4} -アルキルならびに塩基性塩およびその酸付加塩から選択される。全キラル中心に関し、不斉基は、 R または S 配置のいずれで見出されてもよい。

10

【0157】

いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は一緒になって、 $C(R^a R^b)-C(R^a R^b)-$ 、 $C(R^a R^b)-O-$ 、 $C(R^a R^b)-NR^a-$ 、 $C(R^a R^b)-S-$ 、および $C(R^a R^b)-C(R^a R^b)-O-$ からなる群から選択される基からなるビラジカルを示し、ここに、各 R^a および R^b は、独立して選択されうる。いくつかの具体例において、 R^a および R^b は、水素および C_{1-6} アルキル、例えば、メチル、例えば、水素からなる群から独立して選択されてもよい。

20

【0158】

いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は、一緒になって、ビラジカル- $O-CH(CH_2 OCH_3)-(2' O-$ メトキシエチル二環式核酸- $Set h$ ら、2010, J. Org. Chem) ($R-$ または $S-$ 配置のいずれかにおける) を示す。

【0159】

いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は一緒になって、ビラジカル- $O-CH(CH_2 CH_3)-(2' O-$ エチル二環式核酸- $Set h$ ら、2010, J. Org. Chem) ($R-$ または $S-$ 配置のいずれかにおける) を示す。

30

【0160】

いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は一緒になって、ビラジカル- $O-CH(CH_3)-(R-$ または $S-$ 配置のいずれかにおける) を示す。いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は一緒になって、ビラジカル- $O-CH_2-O-CH_2-(Set h$ ら、2010, J. Org. Chem) を示す。

【0161】

いくつかの具体例において、 R^{4*} および R^{2*} は一緒になって、ビラジカル- $O-NR-CH_3-(Set h$ ら、2010, J. Org. Chem) を示す。

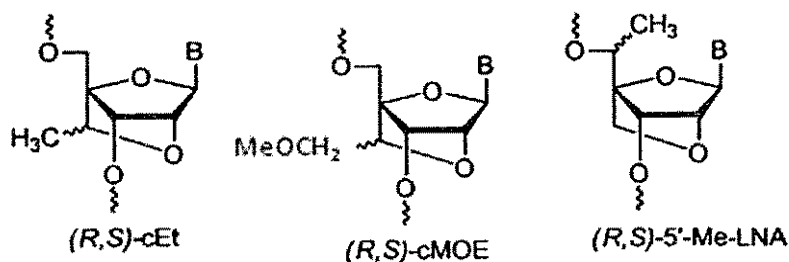
40

【0162】

いくつかの具体例において、LNA 単位は、下記の群から選択される構造を有する。

【0163】

【化 4】



【0164】

10

いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は、独立して、水素、ハロゲン、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニルまたは置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アルコキシル、置換された C_1-6 -アルコキシル、アシル、置換されたアシル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは置換された C_1-6 -アミノアルキルからなる群から選択される。全キラル中心に関し、不斉基は、RまたはS配置において見出されうる。

【0165】

いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は、水素である。

【0166】

20

いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 は、独立して、水素、ハロゲン、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニルまたは置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アルコキシル、置換された C_1-6 -アルコキシル、アシル、置換されたアシル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは置換された C_1-6 -アミノアルキルからなる群から選択される。全キラル中心に関し、不斉基は、RまたはS配置において見出されうる。

【0167】

いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 は、水素である。

【0168】

いくつかの具体例において、 R^5 および R^{5*} は各々、独立して、H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-O-CH_3$ 、および $-CH=CH_2$ からなる群から選択される。適当には、いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは水素であり、ここに、他の基（各々、 R^5 または R^{5*} ）は、 C_1-5 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニル、置換された C_1-6 -アルキル、置換された C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルキニルまたは置換されたアシル（ $-C(=O)-$ ）からなる群から選択され、ここに、各置換された基は、独立して、ハロゲン、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニル、置換された C_2-6 -アルキニル、 OJ_1 、 SJ_1 、 NJ_1J_2 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、 CN 、 $O-C(=O)NJ_1J_2$ 、 $N(H)C(=NH)NR$ 、 R_2 または $N(H)C(=X)N(H)J_2$ から選択される置換基でモノまたはポリ置換されており、ここに、XはOまたはSであり、各 J_1 および J_2 は、独立して、H、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニル、置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アミノアルキル、置換された C_1-6 -アミノアルキルまたは保護基である。いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、置換された C_1-6 -アルキルである。いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、置換されたメチレンであり、ここに、好ましい置換基は、F、 NJ_1J_2 、 N_3 、 CN 、 OJ_1 、 SJ_1 、 $O-C(=O)NJ_1J_2$ 、 $N(H)C(=NH)NJ$ 、 J_2 または $N(H)C(O)N(H)J_2$ から独立して選択される1以上の基を包含する。いくつかの具体例において、各 J_1 および J_2 は、独立して、Hまたは C_1-6 -アルキルである。いくつか

30

40

50

の具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、メチル、エチルまたはメトキシメチルである。いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、メチルである。さらなる具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、エチレニルである。いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、置換されたアシルである。いくつかの具体例において、 R^5 または R^{5*} のいずれかは、 $C(=O)NJ_1J_2$ である。全キラル中心に関し、不斉基は、 R または S 配置において見出されうる。かかる 5' 修飾二環式ヌクレオチドは、WO 2007/134181 (出典明示により、その全体として本明細書の一部とされる) に開示される。

【0169】

いくつかの具体例において、 B はヌクレオベースであり、ヌクレオベースアナログおよび天然ヌクレオベース、例えば、プリンまたはピリミジン、または置換されたプリンまたは置換されたピリミジン、例えば、本明細書に言及されるヌクレオベース、例えば、アデニン、シトシン、チミン、アデニン、ウラシル、および/または修飾もしくは置換されたヌクレオベース、例えば、5-チアゾローウラシル、2-チオーウラシル、5-プロピニル-ウラシル、2'-チオーチミン、5-メチルシトシン、5-チオゾローシトシン、5-プロピニル-シトシン、および 2, 6-ジアミノプリンからなる群から選択されるヌクレオベースを包含する。

【0170】

いくつかの具体例において、 R^4 * および R^2 * は一緒になって、 $-C(R^aR^b)-O-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-O-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-O-$ 、 $-C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-$ 、 $-C(R^aR^b)-O-C(R^cR^d)-O-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-C(R^eR^f)-$ 、 $-C(R^a)=C(R^b)-C(R^cR^d)-$ 、 $-C(R^aR^b)-N(R^c)-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-N(R^e)-$ 、 $-C(R^aR^b)-N(R^c)-O-$ 、および $-C(R^aR^b)-S-$ 、 $-C(R^aR^b)-C(R^cR^d)-S-$ から選択されるビラジカルを示し、ここに、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e および R^f は各々、独立して、水素、置換されていてもよい C_{1-12} -アルキル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルケニル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルキニル、ヒドロキシ、 C_{1-12} -アルコキシ、 C_{2-12} -アルコキシアルキル、 C_{2-12} -アルケニルオキシ、カルボキシ、 C_{1-12} -アルコキシカルボニル、 C_{1-12} -アルキルカルボニル、ホルミル、アリアル、アリアルオキシ-カルボニル、アリアルオキシ、アリアルカルボニル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルオキシ-カルボニル、ヘテロアリアルオキシ、ヘテロアリアルカルボニル、アミノ、モノ-およびジ(C_{1-6} -アルキル)アミノ、カルバモイル、モノ-およびジ(C_{1-6} -アルキル)-アミノ-カルボニル、アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、モノ-およびジ(C_{1-6} -アルキル)アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、 C_{1-6} -アルキル-カルボニルアミノ、カルバミド、 C_{1-6} -アルカノイルオキシ、スルホノ、 C_{1-6} -アルキルスルホニルオキシ、ニトロ、アジド、スルファニル、 C_{1-6} -アルキルチオ、ハロゲン、DNA インターカレーター、光化学的に活性な基、熱化学的に活性な基、キレート基、レポーター基、およびリガンドから選択され、ここに、アリアルおよびヘテロアリアルは、置換されていてもよく、2つのジェミナル置換基 R^a および R^b は一緒になって、置換されていてもよいメチレン($=CH_2$)を示していてもよい。全キラル中心に関し、不斉基は、 R または S 配置において見出されうる。

【0171】

さらなる具体例において、 R^4 * および R^2 * は一緒になって、 $-CH_2-O-$ 、 $-CH_2-S-$ 、 $-CH_2-NH-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-$ 、 $-CH_2-CH_2-O-$ 、 $-CH_2-CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2-CH_2-S-$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-O-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$ 、 $-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH_2-O-CH_2-O-$ 、 $-CH_2-NH-O-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-O-$ 、 $-CH_2-O-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$

10

20

30

40

50

Oー、およびーCH(CH₂ーOーCH₃)ーOー、および／またはーCH₂ーCH₂ー、およびーCH=CHーから選択されるビラジカル(二価の基)を示す。全キラル中心に関し、不斉基は、RまたはS配置において見出されうる。

【0172】

いくつかの具体例において、R⁴*およびR²*は一緒になって、ビラジカルC(R^aR^b)ーN(R^c)ーOーを示し、ここに、R^aおよびR^bは、独立して、水素、ハロゲン、C₁ー₆ーアルキル、置換されたC₁ー₆ーアルキル、C₂ー₆ーアルケニル、置換されたC₂ー₆ーアルケニル、C₂ー₆ーアルキニルまたは置換されたC₂ー₆ーアルキニル、C₁ー₆ーアルコキシル、置換されたC₁ー₆ーアルコキシル、アシル、置換されたアシル、C₁ー₆ーアミノアルキルまたは置換されたC₁ー₆ーアミノアルキル、例えば、水素からなる群から選択され、ここに、R^cは、水素、ハロゲン、C₁ー₆ーアルキル、置換されたC₁ー₆ーアルキル、C₂ー₆ーアルケニル、置換されたC₂ー₆ーアルケニル、C₂ー₆ーアルキニルまたは置換されたC₂ー₆ーアルキニル、C₁ー₆ーアルコキシル、置換されたC₁ー₆ーアルコキシル、アシル、置換されたアシル、C₁ー₆ーアミノアルキルまたは置換されたC₁ー₆ーアミノアルキル、例えば、水素からなる群から選択される。

10

【0173】

いくつかの具体例において、R⁴*およびR²*は一緒になって、ビラジカルC(R^aR^b)ーOーC(R^cR^d)ーOーを示し、ここに、R^a、R^b、R^cおよびR^dは、独立して、水素、ハロゲン、C₁ー₆ーアルキル、置換されたC₁ー₆ーアルキル、C₂ー₆ーアルケニル、置換されたC₂ー₆ーアルケニル、C₂ー₆ーアルキニルまたは置換されたC₂ー₆ーアルキニル、C₁ー₆ーアルコキシル、置換されたC₁ー₆ーアルコキシル、アシル、置換されたアシル、C₁ー₆ーアミノアルキルまたは置換されたC₁ー₆ーアミノアルキル、例えば、水素からなる群から選択される。

20

【0174】

いくつかの具体例において、R⁴*およびR²*は、ビラジカルーCH(Z)ーOーを形成し、ここに、Zは、C₁ー₆ーアルキル、C₂ー₆ーアルケニル、C₂ー₆ーアルキニル、置換されたC₁ー₆ーアルキル、置換されたC₂ー₆ーアルケニル、置換されたC₂ー₆ーアルキニル、アシル、置換されたアシル、置換されたアミド、チオールまたは置換されたチオールからなる群から選択され、ここに、置換された基の各々は、独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、OC(=X)J₁、OC(=X)NJ₁J₂、NJ₃C(=X)NJ₁J₂およびCNからなる群から選択される保護されていてもよい置換基で独立して、モノまたはポリ置換され、ここに、各J₁、J₂およびJ₃は、独立して、HまたはC₁ー₆ーアルキルであり、XはO、SまたはNJ₁である。いくつかの具体例において、Zは、C₁ー₆ーアルキルまたは置換されたC₁ー₆ーアルキルである。いくつかの具体例において、Zはメチルである。いくつかの具体例において、Zは置換されたC₁ー₆ーアルキルである。いくつかの具体例において、該置換基は、C₁ー₆ーアルコキシである。いくつかの具体例において、ZはCH₃OCH₂ーである。全キラル中心に関し、不斉基は、RまたはS配置において見出されうる。かかる二環式ヌクレオチドは、US 7,399,845(出典明示により、全体として本明細書の一部とされる)に開示される。いくつかの具体例において、R¹*、R²、R³、R⁵、R⁵*は、水素である。いくつかの具体例において、R¹*、R²、R³*は水素であり、R⁵、R⁵*の1つまたは両方は、上記およびWO 2007/134181に記載のように、水素以外であってもよい。

30

40

【0175】

いくつかの具体例において、R⁴*およびR²*は一緒になって、架橋において置換されたアミノ基を含む、例えば、ビラジカルーCH₂ーN(R^c)ーからなるか、または該ビラジカルを含むビラジカルを示し、ここに、R^cはC₁ー₁₂ーアルキルオキシである。いくつかの具体例において、R⁴*およびR²*は一緒になって、ビラジカルーCq₃q₄ーNORーを示し、ここに、q₃およびq₄は、独立して、水素、ハロゲン、C₁ー

50

C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニルまたは置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アルコキシル、置換された C_1-6 -アルコキシル、アシル、置換されたアシル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは置換された C_1-6 -アミノアルキルからなる群から選択され、ここに、各置換された基は、独立して、ハロゲン、 OJ_1 、 SJ_1 、 NJ_1J_2 、 $COOJ_1$ 、 CN 、 $O-C(=O)NJ_1J_2$ 、 $N(H)C(=NH)NJ_1J_2$ または $N(H)C(=X=N(H)J_2)$ から独立して選択された置換基でモノまたはポリ置換されており、ここに、 X は O または S であり、 J_1 および J_2 の各々は、独立して、 H 、 C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは保護基である。全キラル中心に関し、不斉基は、 R または S 配置において見出されうる。かかる二環式ヌクレオチドは、WO 2008/150729（出典明示により、全体として本明細書の一部とされる）に開示される。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は、独立して、水素、ハロゲン、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニルまたは置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アルコキシル、置換された C_1-6 -アルコキシル、アシル、置換されたアシル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは置換された C_1-6 -アミノアルキルからなる群から選択される。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は、水素である。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 は水素であり、 R^5 、 R^{5*} の1つまたは両方は、上記およびWO 2007/134181に記載のように、水素以外であってもよい。

10

20

【0176】

いくつかの具体例において、 R^4* および R^2* は、ビラジカル-Q-を形成し、ここに、 Q は、 $C(q_1)(q_2)C(q_3)(q_4)$ 、 $C(q_1)=C(q_3)$ 、 $C[=C(q_1)(q_2)]-C(q_3)(q_4)$ または $C(q_1)(q_2)-C[=C(q_3)(q_4)]$ であり、 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 は各々、独立して、 H 、ハロゲン、 C_1-12 -アルキル、置換された C_1-12 -アルキル、 C_2-12 -アルケニル、置換された C_1-12 -アルコキシ、 OJ_1 、 SJ_1 、 SOJ_1 、 SO_2J_1 、 NJ_1J_2 、 N_3 、 CN 、 $C(=O)OJ_1$ 、 $C(=O)-NJ_1J_2$ 、 $C(=O)J_1$ 、 $-C(=O)NJ_1J_2$ 、 $N(H)C(=NH)NJ_1J_2$ 、 $N(H)C(=O)NJ_1J_2$ または $N(H)C(=S)NJ_1J_2$ であり、各 J_1 および J_2 は、独立して、 H 、 C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは保護基であり、ここに、所望により、 Q が $C(q_1)(q_2)(q_3)(q_4)$ であり、 q_3 または q_4 の1つが CH_3 である場合、 q_3 または q_4 の他方あるいは q_1 および q_2 の1つのうちの少なくとも1つは H 以外である。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は水素である。全キラル中心に関し、不斉基は、 R または S 配置において見出されうる。かかる二環式ヌクレオチドはWO 2008/154401（出典明示により、全体として本明細書の一部とされる）に開示される。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は、独立して、水素、ハロゲン、 C_1-6 -アルキル、置換された C_1-6 -アルキル、 C_2-6 -アルケニル、置換された C_2-6 -アルケニル、 C_2-6 -アルキニルまたは置換された C_2-6 -アルキニル、 C_1-6 -アルコキシル、置換された C_1-6 -アルコキシル、アシル、置換されたアシル、 C_1-6 -アミノアルキルまたは置換された C_1-6 -アミノアルキルからなる群から選択される。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^{5*} は水素である。いくつかの具体例において、 R^1* 、 R^2 、 R^3 は水素であり、 R^5 、 R^{5*} の1つまたは両方は、上記およびWO 2007/134181に記載されるように、水素以外であってもよい。

30

40

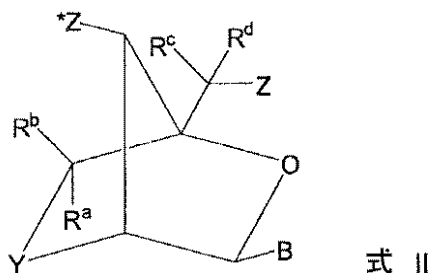
【0177】

いくつかの具体例において、本発明のオリゴヌクレオチド化合物において用いられるLNAは、好ましくは、一般式II：

【0178】

50

【化 5】



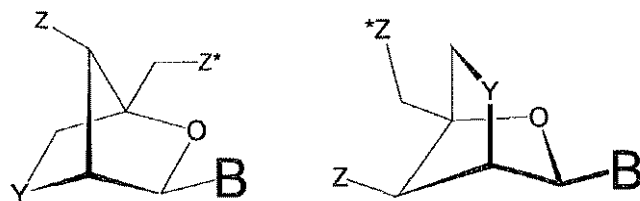
【0179】

[式中、Yは、 $-O-$ 、 $-CH_2O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $N(R^e)$ および／または $-CH_2-$ からなる群から選択され、ZおよびZ*は、独立して、ヌクレオチド間結合、 R^H 、末端基または保護基から選択され、Bは、天然または非天然ヌクレオチド塩基部分（ヌクレオベース）を構成し、 R^H は、水素および C_{1-4} -アルキルから選択され、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d および R^e は、所望により独立して、水素、置換されていてもよい C_{1-12} -アルキル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルケニル、置換されていてもよい C_{2-12} -アルキニル、ヒドロキシ、 C_{1-12} -アルコキシ、 C_{2-12} -アルコキシアルキル、 C_{2-12} -アルケニルオキシ、カルボキシ、 C_{1-12} -アルコキシカルボニル、 C_{1-12} -アルキルカルボニル、ホルミル、アリール、アリールオキシカルボニル、アリールオキシ、アリールカルボニル、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシカルボニル、ヘテロアリールオキシ、ヘテロアリールカルボニル、アミノ、モノおよびジ（ C_{1-6} -アルキル）アミノ、カルバモイル、モノおよびジ（ C_{1-6} -アルキル）-アミノカルボニル、アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、モノおよびジ（ C_{1-6} -アルキル）アミノ- C_{1-6} -アルキル-アミノカルボニル、 C_{1-6} -アルキル-カルボニルアミノ、カルバミド、 C_{1-6} -アルカノイルオキシ、スルホノ、 C_{1-6} -アルキルスルホニルオキシ、ニトロ、アジド、スルファニル、 C_{1-6} -アルキルチオ、ハロゲン、DNAインターカレーター、光化学的に活性な基、熱化学的に活性な基、キレート基、レポーター基、およびリガンドからなる群から選択され、ここに、アリールおよびヘテロアリールは、置換されていてもよく、2つのジェミナル置換基 R^a および R^b は一緒になって、置換されていてもよいメチレン（ $=CH_2$ ）を示していてもよく、 R^H は水素および C_{1-4} -アルキルから選択される]

で示される構造を有する。いくつかの具体例において、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d および R^e は、所望により独立して、水素および C_{1-6} -アルキル、例えば、メチルからなる群から選択される。全キラル中心に関し、不斉基は、RまたはS配置において見出されてもよく、例えば、2つの例示的な立体化学異性体は、下記に示されうるベーターDおよびアルファLイソ型を包含する。

【0180】

【化 6】



【0181】

特定の例示的LNA単位は、下記に示される。

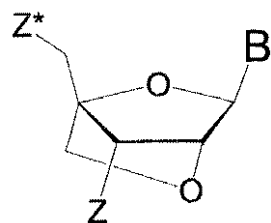
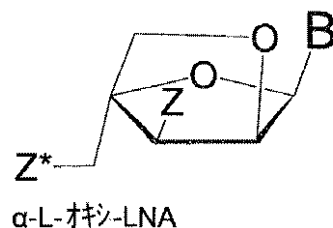
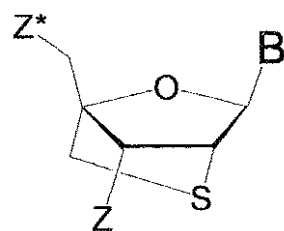
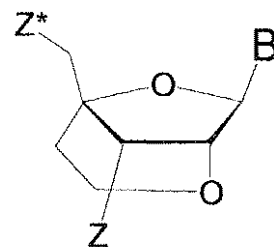
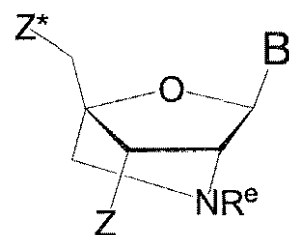
10

20

30

40

【化 7】

 β -D-チオ-LNA α -L-チオ-LNA β -D-チオ-LNA β -D-ENA

【0182】

「チオ-LNA」なる語は、ロックドヌクレオチドを含み、ここに、上記式中のYは、Sまたは $-\text{CH}_2-\text{S}-$ から選択される。チオ-LNAは、ベータ-Dおよびアルファ-L配置の両方にあることができる。

【0183】

「アミノ-LNA」なる語は、ロックドヌクレオチドを含み、ここに、上記式中のYは、 $-\text{N}(\text{H})-$ 、 $\text{N}(\text{R})-$ 、 $\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-$ 、および $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-$ から選択され、ここに、Rは、水素および C_1-4 -アルキルから選択される。アミノ-LNAは、ベータ-Dおよびアルファ-L配置の両方であることができる。

【0184】

「オキシ-LNA」なる語は、ロックドヌクレオチドを含み、ここに、上記式中のYは $-\text{O}-$ を示す。オキシ-LNAは、ベータ-Dおよびアルファ-L配置の両方であることができる。

【0185】

「ENA」なる語は、ロックドヌクレオチドを含み、ここに、上記式中のYは、 $-\text{CH}_2-\text{O}-$ （式中、 $-\text{CH}_2-\text{O}-$ の酸素原子は、塩基Bに対して2'-位置に結合している）である。R^eは、水素またはメチルである。

【0186】

いくつかの具体例において、LNAは、ベータ-D-オキシ-LNA、アルファ-L-オキシ-LNA、ベータ-D-アミノ-LNAおよびベータ-D-チオ-LNA、特に、ベータ-D-オキシ-LNAから選択される。

【0187】

ヌクレオチド間結合

「結合基」または「ヌクレオチド間結合」なる語は、2つのヌクレオチド。2つのヌクレオチドアナログ、およびヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログなどを一緒に共有結合することができる基を意味することが意図される。特定かつ好ましい例は、ホスフェー

10

20

30

40

50

ト基およびホスホロチオエート基を包含する。

【0188】

本発明のオリゴマーまたはその連続ヌクレオチド配列のヌクレオチドは、結合基を介して一緒に結合されている。適当には、各ヌクレオチドは、結合基を介して3'隣接ヌクレオチドに連結されている。

【0189】

適当なヌクレオチド間結合は、PCT/DK2006/000512内に列挙されるもの、例えば、PCT/DK2006/000512（出典明示により、本明細書の一部とされる）の第34頁の第1段落に列挙されるヌクレオチド間結合を包含する。

【0190】

いくつかの具体例において、ヌクレオチド間結合をその通常ホスホジエステルからヌクレアーゼ攻撃により耐性なもの、例えば、ホスホロチオエートまたはボラノホスフェート（これら2つは、RNase Hによって切断可能であり、また、標的遺伝子の発現を減少させることにおいて、アンチセンス阻害の経路を可能にする）に修飾することが好ましい。

【0191】

本明細書中に提供されるようなヌクレオチド間結合を含有する適当な硫黄（S）が好ましい場合がある。ホスホロチオエートヌクレオチド間結合もまた、好ましい。

【0192】

オリゴマー中のヌクレオチド間結合は、ホスホジエステル、ホスホロチオエートまたはボラノホスフェートであってもよい。ホスホロチオエートは、改善されたヌクレアーゼ耐性、および製造容易などの他の理由で、好ましい。

【0193】

本発明のオリゴマーの一の態様において、ヌクレオチドおよび／またはヌクレオチドアナログは、ホスホロチオエート基によって、互いに連結されている。

【0194】

ホスホジエステル結合、例えば、1または2個の結合の、特に、ヌクレオチドアナログ単位中またはヌクレオチドアナログ単位に隣接した、別のホスホロチオエートオリゴマー中への包接は、オリゴマーのバイオアベイラビリティおよび／または生物分解を修飾することができる（WO2008/053314（出典明示により、本明細書の一部とされる）参照）。

【0195】

適当であるが、特異的に示されないいくつかの具体例において、例えば、上記の具体例において、全ての残りの結合基は、ホスホジエステルまたはホスホロチオエート、またはその混合物である。

【0196】

いくつかの具体例において、ヌクレオチドアナログ間結合基の全てがホスホロチオエートである。

【0197】

特定のギャップマーオリゴヌクレオチド配列、例えば、本明細書に提供されるものに言及する場合、種々の具体例において、結合がホスホロチオエート結合であるとき、別の結合、例えば、本明細書に開示されるものを用いてもよく、例えば、ホスフェート（ホスホジエステル）結合を、特に、ヌクレオチドアナログ、例えば、LNA単位間の結合に用いてもよい。

【0198】

コンジュゲート

該関連において、「コンジュゲート」なる語は、本明細書中に記載されるようなオリゴマーの、1以上の非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分への共有結合（「コンジュゲーション」）によって形成される異種分子を示すことが意図される。非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分の例は、巨大分子、例えば、タンパク質、脂肪酸鎖、糖残

10

20

30

40

50

基、糖タンパク質、ポリマー、またはその組み合わせを包含する。典型的には、タンパク質は、標的タンパク質の抗体であってもよい。典型的なポリマーは、ポリエチレングリコールであってもよい。

【0199】

したがって、種々の具体例において、本発明のオリゴマーは、典型的にはヌクレオチドの連続配列からなるポリヌクレオチド領域、およびさらなる非ヌクレオチド領域の両方を含んでいてもよい。連続ヌクレオチド配列からなる本発明のオリゴマーに言及する場合、該化合物は、非ヌクレオチド成分、例えば、コンジュゲート成分を含んでいてもよい。

【0200】

本発明の種々の具体例において、オリゴマー化合物は、例えば、オリゴマー化合物の細胞内取り込みを増加させるために使用されうるリガンド／コンジュゲートに結合される。WO 2007/031091（出典明示により、本明細書の一部とされる）は、適当なリガンドおよびコンジュゲートを提供する。

【0201】

本発明は、また、本明細書中に記載されるような本発明の化合物、および該化合物に共有結合した少なくとも1つの非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分を含むコンジュゲートを提供する。したがって、本明細書中に開示されるように、本発明の化合物が特定の核酸またはヌクレオチド配列を含むか、または特定の核酸またはヌクレオチド配列からなる種々の具体例において、該化合物は、また、該化合物に共有結合した少なくとも1つの非ヌクレオチドまたは非ポリヌクレオチド部分（例えば、1以上のヌクレオチドまたはヌクレオチドアナログを含まない）を含んでいてもよい。

【0202】

（コンジュゲート部分に対する）コンジュゲーションは、本発明のオリゴマーの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強しうる。かかる部分は、限定するものではないが、抗体、ポリペプチド、脂質部分、例えば、コレステロール部分、コール酸、チオエーテル、例えば、ヘキシル-スートリチルチオール、チオコレステロール、脂肪族鎖、例えば、ドデカジオールまたはウンデシル残基、ホスホリピド、例えば、ジ-ヘキサデシル-ラセグリセロールまたはトリエチルアンモニウム1, 2-ジ-オ-ヘキサデシル-ラセグリセロール-3-ホスホネート、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖、アダマンタン酢酸、パルミチル部分、オクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分を包含する。

【0203】

本発明のオリゴマーは、また、活性な薬物物質、例えば、アスピリン、イブプロフェン、サルファ薬、抗糖尿病剤、抗菌剤または抗生物質にコンジュゲートされていてもよい。

【0204】

ある特定の具体例において、コンジュゲートされた部分は、ステロール、例えば、コレステロールである。

【0205】

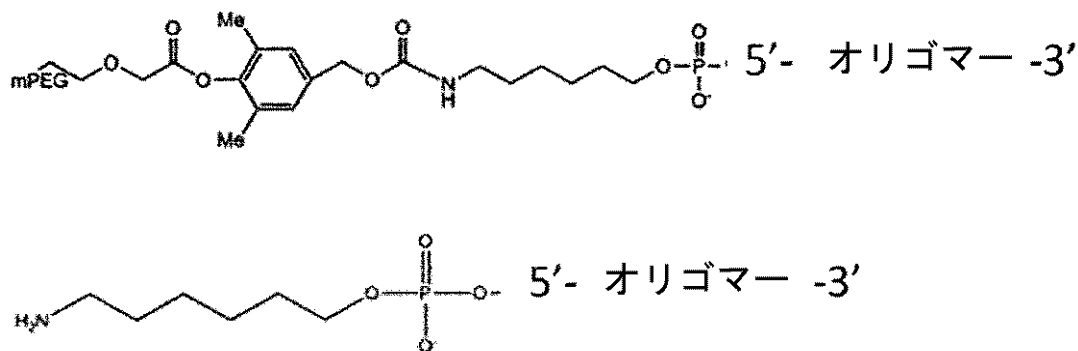
種々の具体例において、コンジュゲートされた部分は、正荷電されたポリマー、例えば、1～50個、例えば、2～20個、例えば、3～10個の長さのアミン酸残基からなる正荷電ペプチド、および／またはポリアルキレンオキシド、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）またはポリプロピレングリコールを含む、またはそれらからなる（WO 2008/034123（出典明示により、本明細書の一部とされる）参照）。適当には、正荷電ポリマー、例えば、ポリアルキレンオキシドは、リンカー、例えば、WO 2008/034123に記載の遊離可能なリンカーを介して、本発明のオリゴマーに結合していてもよい。

【0206】

例示として、下記のコンジュゲート部分を本発明のコンジュゲートにおいて用いてもよい。

【0207】

【化 8】



10

【0208】

活性化されたオリゴマー

「活性化されたオリゴマー」なる語は、本明細書中で使用される場合、1以上のコンジュゲートされた部分、すなわち、それ自体が核酸またはモノマーではない部分に対するオリゴマーの共有結合を可能にして本明細書中に記載のコンジュゲートを形成する、少なくとも1つの機能的部分に共有結合した（すなわち、官能化した）本発明のオリゴマーをいう。典型的には、機能的部分は、例えば、3'-ヒドロキシ基またはアデニン塩基の環外NH₂基、好ましくは親水性であるスパーサーおよびコンジュゲートされる部分に結合可能な末端基（例えば、アミノ、スルフヒドリルまたはヒドロキシル基）を介して、オリゴマーに共有結合できる化学基を含むであろう。いくつかの具体例において、該末端基は、保護されておらず、例えば、NH₂基である。他の具体例において、該末端基は、例えば、いずれか適当な保護基、例えば、Theodora W. GreeneおよびPeter G M Wutsによる”Protective Groups in Organic Synthesis”、第3版（John Wiley & Sons, 1999）に記載のものによって、保護される。適当なヒドロキシル保護基の例は、エステル、例えば、酢酸エステル、アラキル基、例えば、ベンジル、ジフェニルメチル、またはトリフェニルメチル、およびテトラヒドロピラニルを包含する。適当なアミノ保護基の例は、ベンジル、アルファ-メチルベンジル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、ベンジルオキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、およびアシル基、例えば、トリクロロアセチルまたはトリフルオロアセチルを包含する。いくつかの具体例において、機能的部分は、自己切断する。他の具体例において、機能的部分は、生物分解性である。例えば、米国特許第7,087,229号（出典明示により、全体として本明細書の一部とされる）参照。

20

30

【0209】

いくつかの具体例において、本発明のオリゴマーは、オリゴマーの5'末端にコンジュゲート部分を供給結合可能なように、5'末端で官能化されている。他の具体例において、本発明のオリゴマーは、3'末端で官能化されることができる。また他の具体例において、本発明のオリゴマーは、骨格に沿って、または複素環塩基部分上で官能化されることができる。また他の具体例において、本発明のオリゴマーは、5'末端、3'末端、骨格および塩基から独立して選択される2以上の位置で官能化されることができる。

40

【0210】

いくつかの具体例において、本発明の活性化されたオリゴマーは、合成の間に、機能的部分に共有結合した1以上のモノマーを組み込むことによって合成される。他の具体例において、本発明の活性化されたオリゴマーは、官能化されていないモノマーを用いて合成され、該オリゴマーは、合成の完了時に官能化される。いくつかの具体例において、オリゴマーは、アミノアルキルリンカーを含有するヒンダード（hindered）エステルで官能化されており、ここに、該アルキル部分は、式(CH₂)_wを有し、式中、wは1~10の整数、好ましくは約6であり、ここに、該アルキルアミノ基のアルキル部分は、直鎖また

50

は分枝鎖であることができ、該官能基は、エステル基（ $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{N}$ H）を介してオリゴマーに結合している。

【0211】

他の具体例において、オリゴマーは、 $(\text{CH}_2)_w$ —スルフヒドリル（SH）リンカーを含有するヒンダードエステルを用いて官能化されており、ここに、 w は1～10の整数、好ましくは約6であり、ここに、該アルキルアミノ基のアルキル部分は、直鎖または分枝鎖であることができ、該官能基は、エステル基（ $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{SH}$ ）を介してオリゴマーに結合している。

【0212】

いくつかの具体例において、スルフヒドリル活性化オリゴヌクレオチドは、ポリマー部分、例えば、ポリエチレングリコールまたはペプチドとコンジュゲートされている（ジスルフィド結合の形成を介して）。

10

【0213】

上記のようなヒンダードエステルを含有する活性化オリゴマーは、当該分野で既知のいずれかの方法によって、特に、PCT公開WO 2008/034122（出典明示により、全体として本明細書の一部とされる）に開示される方法およびその例示によって合成することができる。

【0214】

また他の具体例において、本発明のオリゴマーは、実質的に米国特許第4,962,029号および第4,914,210号に記載されるような官能化試薬、すなわち、親水性スパーサー鎖を介して一方の末端のホスホラミダイトが保護または非保護スルフヒドリル、アミノまたはヒドロキシル基を含む反対の末端に結合した実質的に直鎖の試薬によって、スルフヒドリル、アミノまたはヒドロキシル基をオリゴマー中に導入することによって官能化される。かかる試薬は、主として、オリゴマーのヒドロキシル基と反応する。いくつかの具体例において、かかる活性化されたオリゴマーは、該オリゴマーの5'-ヒドロキシル基に結合した官能化試薬を有する。他の具体例において、活性化されたオリゴマーは、3'-ヒドロキシル基に結合した官能化試薬を有する。また他の具体例において、本発明の活性化されたオリゴマーは、該オリゴマーの骨格上のヒドロキシル基に結合した官能化試薬を有する。またさらなる具体例において、本発明のオリゴマーは、米国特許第4,962,029号および第4,914,210号（出典明示により、全体として本明細書の一部とされる）に記載のような官能化試薬の2以上を用いて官能化される。かかる官能化試薬を合成し、それらをモノマーまたはオリゴマー中に組み込む方法は、米国特許第4,962,029号および第4,914,210号に開示されている。

20

30

【0215】

いくつかの具体例において、固相結合オリゴマーの5'末端は、ジエニルホスホラミダイト誘導体を用いて官能化され、次いで、該脱保護されたオリゴマーと、例えば、アミノ酸またはペプチドがDieckmann環付加反応によってコンジュゲーションする。

【0216】

種々の具体例において、2'-糖修飾、例えば、2'-カルバメート置換糖または2'-($-\text{O}-$ ペンチル- $\text{N}-$ フタルイミド)-デオキシリボース糖を含有するモノマーの該オリゴマー中への組み込みは、コンジュゲート部分、該オリゴマーの糖への共有結合を容易にする。他の具体例において、アミノ含有リンカーを1以上のモノマーの2'位置に有するオリゴマーは、試薬、例えば、5'-ジメトキシトリチル-2'- $-\text{O}-$ ($-\text{e}-$ フラルイミジルアミノペンチル)-2'-デオキシアデノシン-3'- $-\text{N}, \text{N}-$ ジイソプロピル-シアノエトキシホスホラミダイトを用いて調製される。例えば、Manoharanら、Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171参照のこと。

40

【0217】

またさらなる具体例において、本発明のオリゴマーは、アミンを含有する機能的部分を

50

、N6プリンアミノ基上、グアニンの環外N2上またはシトシンのN4もしくは5位置上を包含するヌクレオベース上に有していてもよい。種々の具体例において、かかる官能化は、オリゴマー合成においてすでに官能化されている市販の試薬を用いることによって達成されうる。

【0218】

いくつかの機能的部分は、商業上入手可能であり、例えば、ヘテロ二官能性およびホモ二官能性結合部分は、Pierce Co. (Rockford, Ill.) から入手可能である。他の市販の結合基は、5'-Amino-Modifier C6および3'-Amino-Modifier試薬であり、どちらも、Glen Research Corporation (Sterling, Va.) から入手可能である。5'-Amino-Modifier C6はまた、ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) から、Aminolink-2として入手可能であり、3'-Amino-Modifierはまた、Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.) から入手可能である。

10

【0219】

インターフェロン調節遺伝子

HCV感染の間に活性を改変した遺伝子の多くは、インターフェロン刺激遺伝子 (ISG) (インターフェロン調節遺伝子 (IRG) ともいう) である。下記の表5において、インターフェロン処理によって調節されることが知られている遺伝子のリストを示す。Ensembl Gene IDは、webアドレス: ensembl.orgにて、Ensemblデータベースにおいて見出されるものを示す。

20

【0220】

【表 5 - 1】

表 5

Ensembl.Gene.ID	記号	説明
ENSPTRG00000000137	MASP2	マンナン結合レクチンセリン°ロアーゼ° 2 前駆体(EC 3.4.21.104)(マンノース結合タンパ°ク質関連セリン°ロアーゼ° 2)(MASP-2)(MBL-関連セリン°ロアーゼ° 2) [マンナン結合レクチンセリン°ロアーゼ° 2A 鎖;マンナン結合レクチンセリン°ロアーゼ° 2B 鎖を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O00187]
ENSPTRG00000000264	AKR7A3	アフラトキシン B1 アルテ°ヒト°レタ°クターゼ°メンバ°ー 3(EC 1.-.-.-)(AFB1-AR 2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O95154]
ENSPTRG00000000265	AKR7A2	アフラトキシン B1 アルテ°ヒト°レタ°クターゼ°メンバ°ー 2(EC 1.-.-.-)(AFB1-AR 1)(アルト°ケトレタ°クターゼ° 7) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O43488]
ENSPTRG00000000379	SH3BGL3	SH3 ト°メイン結合性グ°ルタミン酸リッチ様タンパ°ク質 3(SH3 ト°メイン結合性タンパ°ク質 1)(SH3BP-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9H299]
ENSPTRG00000000381	CD52	CAMPATH-1 抗原前駆体 (Cambridge pathology 1 抗原) (精巣上体分泌タンパ°ク質 E5)(CDw52)(CD52 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P31358]
ENSPTRG00000000413	IFI6	インターフェロンアルファ-誘導性タンパ°ク質 6 前駆体(インターフェロン誘導タンパ°ク質 6-16) (Ifi-6-16). [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q28808]
ENSPTRG00000000787	PPAP2B	脂質リン酸ホスホト°ロラーゼ° 3(EC 3.1.3.4)(ホスファチジン酸ホスファターゼ° 2b) (PAP2-ベ°ータ) (PAP-2b) (PAP2b) (ホスファチデ°ートホスホト°ロラーゼ° 型 2b) (血管内皮成長因子および I 型コラーゲン誘導性タンパ°ク質) (VCIP) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O14495]
ENSPTRG00000000892	IFI44L	インターフェロン誘導タンパ°ク質 44 様 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q53G44]

10

20

30

40

【 0 2 2 1】

【表 5 - 2】

ENSPTRG00000000893	IFI44	インターフェロン誘導タンパク質 44(抗原 p44) (非 A 型 非 B 型肝炎関連微小管凝集タンパク質). [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P27473]
ENSPTRG00000000935	GBP1	インターフェロン誘導 G 蛋白結合タンパク質 1(G 蛋白 結合タンパク質 1)(GTP-結合タンパク質 1)(HuGBP-1)(GBP-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P32455]
ENSPTRG00000001264	CTSS	カテプシン S 前駆体(EC 3.4.22.27) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P25774]
ENSPTRG00000001518	IFI16	ガンマ-インターフェロン誘導性タンパク質 Ifi-16 (インターフェロ ン誘導性骨髄分化転写アクチベーター)(IFI 16) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q16666]
ENSPTRG00000001527	CRP	C-反応性タンパク質前駆体 [C-反応性タンパク質 (1-205)を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P02741]
ENSPTRG00000001659	F5	凝固因子 V 前駆体(活性化タンパク質 C 補因子) (プロアケリリン, 不安定因子) [凝固因子 V 重鎖; 凝固因子 V 軽鎖を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P12259]
ENSPTRG00000001799	CFH	補体因子 H 前駆体 (H 因子 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P08603]
ENSPTRG00000001800	CFHR3	補体因子 H 関連タンパク質 3 前駆体 (FHR-3)(H 因子様タンパク質 3)(DOWN16) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q02985]
ENSPTRG00000001801	CFHR4	補体因子 H 関連タンパク質 4 前駆体(FHR-4) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q92496]
ENSPTRG00000001842	TIMM17A	ミトコンドリア輸送内膜トランスロケースサブユニット Tim17-A (内膜プロテインタンパク質トランスロケース Tim17a) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q99595]
ENSPTRG00000001870	CHIT1	キトリオリダーゼ -1 前駆体 (EC 3.2.1.14)(キナーゼ -1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13231]

10

20

30

40

【表 5 - 3】

ENSPTRG00000001885	GOLT1A	小胞輸送タンパク質 GOT1A (ゴルジ輸送 1 耗ロ グ A) (hGOT1b) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q6ZVE7]
ENSPTRG00000001922	FCAMR	高アフィニティー免疫グロブリンアルファおよび免疫グロ ブリンミューFc受容体前駆体 (Fc アルファ/ミュー受容 体) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8WWV6]
ENSPTRG00000001969	VASH2	ハトリビン(Vasohibin)-2 (ハトリビン様タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q86V25]
ENSPTRG00000002016	CAPN2	カルパイン(Calpain)-2 触媒サブユニット前駆体(EC 3.4.22.53) (カルパイン-2 巨大サブユニット) (カルシウム活 性化中性プロテイナーゼ 2)(CANP 2) (カルパインM型) (M-カルパイン) (ミミルカルパイン) (カルパイン巨大ホリペ プチド L2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P17655]
ENSPTRG00000002039	EPHX1	予測:チンパンジー(Pan troglodytes)仮定 LOC457777 (EPHX1), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_022976]
ENSPTRG00000002160	GREM2	グレmlin(Gremlin)-2 前駆体 (システイン・ノット・スパー ーファミリー 1, BMP アンタゴニスト 2) (DAN およびケル ベロス(cerberus)に関連するタンパク質) (DAN ド メインファミリーメンバー 3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9H772]
ENSPTRG00000002245	KLF6	Krueppel-様因子 6 (コアプロモーターエレメント結合性タ ンパク質) (B 細胞誘導タンパク質 1) (プロトオンコジ ン BCD1) (転写因子 Zf9) (GC-リッチ部位結合性 因子 GBF) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q99612]
ENSPTRG00000002298	OPTN	オプティネurin(Optineurin) (視神経症誘導タンパク 質) (E3-14.7K-相互作用タンパク質) (FIP-2) (ハンチ ン(Huntingtin)-相互作用タンパク質 L) (ハンチン酵 母パートナー L) (NEMO-関連タンパク質) (転写因子 IIIA-相互作用タンパク質) (TFIIIA-IntP) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96CV9]

10

20

30

40

【表 5 - 4】

ENSPTRG00000002356	ARMC3	アルマジロ(Armadillo)リポド含有タンパク質 3(ペーサー チニン様タンパク質) (KU-CT-1) (癌/睾丸抗原 81) (CT81) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q5W041]
ENSPTRG00000002585	PPA1	予測: PP タンパク質(LOC470765), mRNA に類似 のチパンジー(Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_024742]
ENSPTRG00000002733	IFIT2	テトラリコペプチド リポド 2 を有するインターフェロン誘 導タンパク質 (IFIT-2) (インターフェロン誘導 54 kDa タ ンパク質) (IFI-54K) (ISG-54 K) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P09913]
ENSPTRG00000002735	IFIT1	テトラリコペプチド リポド 1 を有するインターフェロン誘 導タンパク質 (IFIT-1) (インターフェロン誘導 56 kDa タ ンパク質) (IFI-56K) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P09914]
ENSPTRG00000002736	IFIT5	テトラリコペプチド リポド 5 を有するインターフェロン誘 導タンパク質(IFIT-5) (レノイン酸およびインターフェロン 誘導 58 kDa タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13325]
ENSPTRG00000002798	PIK3AP1	ホスホイノシトール 3-キナーゼ アダプタータンパク質 1(B 細胞 ホスホイノシトール 3-キナーゼ アダプタータンパク質 1) (ホスホイ ノシトール 3-キナーゼ のための B 細胞アダプター) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q6ZUJ8]
ENSPTRG00000002847	SCD	予測: ステアロイル-CoA デサチュラーゼ (LOC746798), mRNA に類似のチパンジー(Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_022202]
ENSPTRG00000002900	CYP17A1	シクロム P450 17A1 (EC 1.14.99.9) (CYPXVII) (P450-C17) (P450c17) (ステロイド 17-アルファ-モノオキシ ゲナーゼ) (ステロイド 17-アルファ-ヒドロキシラーゼ /17,20 リアーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P05093]
ENSPTRG00000003028	OAT	予測: チパンジー(Pan troglodytes)仮定タンパク 質 LOC737325 (LOC737325), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_019970]

10

20

30

40

【表 5 - 5】

ENSPTRG00000003111	IFITM1	インターフェロン誘導膜貫通タンパク質 1 (インターフェロン誘導タンパク質 9-27) (インターフェロン誘導タンパク質 17) (Leu-13 抗原) (CD225 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P13164]
ENSPTRG00000003112	IFITM3	予測: チパンゾー(Pan troglodytes)仮定 LOC466688 (LOC466688), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_025294]
ENSPTRG00000003126	IRF7	IRF7 (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:A2T7F0]
ENSPTRG00000003259	TRIM22	TRIM22. [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:BOF4N0]
ENSPTRG00000003502	SLC1A2	溶質担体ファミリー 1 (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q6UIL8]
ENSPTRG00000003661	UBE2L6	ユビクチン/ISG15-コンjugate酵素 E2 L6 (EC 6.3.2.19) (ユビクチンタンパク質リガーゼ L6) (ユビクチン担体タンパク質 L6) (UbcH8) (レチノイン酸誘導遺伝子 B タンパク質) (RIG-B) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O14933]
ENSPTRG00000003727	SLC15A3	溶質担体ファミリー 15 メンバー 3 (ペプトトランスポーター 3) (ペプトトランスポーター/ヒスジントランスポーター 2) (破骨細胞トランスポーター) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IY34]
ENSPTRG00000003804	RARRES3	レチノイン酸受容体応答タンパク質 3 (タザロテン (Tazarotene)-誘導遺伝子 3 タンパク質) (RAR-応答性タンパク質 TIG3) (レチノイド誘導性遺伝子 1 タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UL19]
ENSPTRG00000003864	TM7SF2	予測: 推定ステロイドリクターゼ SR-1 (LOC451314), mRNA に類似のチパンゾー [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_023793]
ENSPTRG00000003995	CCND1	G1/S-特異的サイクリン-D1 (PRAD1 オンコジーン) (BCL-1 オンコジーン) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P24385]

10

20

30

40

【表 5 - 6】

ENSPTRG00000004231	CASP1	カスパーゼ 1 前駆体 (CASP-1) (EC 3.4.22.36) (インターロイキン-1 ベータ転換酵素) (IL-1BC) (インターロイキン-1 ベータ転換酵素) (IL-1 ベータ転換酵素) (ICE) (p45) [カスパーゼ -1 サブユニット p20;カスパーゼ -1 サブユニット p10 を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P29466]	10
ENSPTRG00000004567	CD9	CD9 抗原 (p24)(白血球抗原 MIC3) (運動性関連タンパク質) (MRP-1) (テトラスパン-29) (Tspan-29) (5H9 抗原) (細胞成長阻害遺伝子 2 タンパク質) (CD9 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P21926]	
ENSPTRG00000004577	GAPDH	予測: グリセルアルデヒド-3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ (GAPDH) (LOC739038), mRNA に類似のチパンジー (Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_019963]	20
ENSPTRG00000004995	KRT8	予測: KRT8 タンパク質 (LOC457411), mRNA に類似のチパンジー (Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_023725]	
ENSPTRG00000005044	PPP1R1A	タンパク質ホスファターゼ 1 調節サブユニット 1A(タンパク質ホスファターゼ 阻害剤 1) (IPP-1) (I-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13522]	
ENSPTRG00000005095	STAT2	転写 2 のシグナルトランスドューサーおよびアクチベーター (p113) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P52630]	30
ENSPTRG00000005096	APOF	アポリポタンパク質 F 前駆体 (Apo-F) (脂質転移阻害剤タンパク質) (LTIP) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13790]	
ENSPTRG00000005222	TSPAN8	テトラスパン-8 (Tspan-8) (膜貫通 4 スーパーファミリーメンバー 3) (腫瘍関連抗原 CO-029) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P19075]	40

【表 5 - 7】

ENSPTRG00000005378	TXNRD1	チオレドキシンドクターゼ 1, 細胞質 (TR) (EC 1.8.1.9) (チオレドキシンドクターゼ TR1) (KM-102-誘導レクターゼ様因子) (レチノイド-IFN-誘導運動性 12 タンパク質に関連した遺伝子)(GRIM-12) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q16881]
ENSPTRG00000005477	OAS1	予測: チンパンジー (Pan troglodytes) 2',5'-オリゴアデニレートシターゼ 1(OAS1), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_021144]
ENSPTRG00000005479	OAS2	2'-5'-オリゴアデニレートシターゼ 2((2-5')オリゴ(A) シンターゼ 2) (2-5A シンターゼ 2) (EC 2.7.7.-) (p69 OAS / p71 OAS) (p69OAS / p71OAS) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P29728]
ENSPTRG00000005545	MLEC	マレクチン(Malectin)前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q14165]
ENSPTRG00000005553	OASL	59 kDa 2'-5'-オリゴアデニレートシターゼ様タンパク質 (p59 OASL) (p59OASL) (甲状腺受容体相互作用タンパク質 14) (TRIP-14) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q15646]
ENSPTRG00000005830	EPSTI1	上皮-間質相互作用タンパク質 1 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96J88]
ENSPTRG00000006104	RNASE6	リボヌクレアーゼ K6 前駆体 (EC 3.1.27.-) (RNase K6). [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O46525]
ENSPTRG00000006194	PSME1	プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット 1(プロテアソームアクチベーター 28 サブユニットアルファ) (PA28 アルファ) (PA28a) (多触媒性プロテアーゼ サブユニット 1 のアクチベーター) (11S レギュレーター複合体サブユニットアルファ) (REG-アルファ) (インターフェロンガンマアップレギュレート I-5111 タンパク質) (IGUP I-5111) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q06323]

10

20

30

40

【表 5 - 8】

ENSPTRG00000006196	PSME2	プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット 2 (プロテアソームアクチベーター 28 サブユニットベータ) (PA28 ベータ) (PA28b) (多触媒性プロテアーゼ サブユニット 2 のアクチベーター) (11S レギュレーター複合体サブユニットベータ) (REG-ベータ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UL46]	10
ENSPTRG00000006370	LGALS3	ガレクチン(Galectin)-3 (ガラクトース特異的レクチン 3) (Mac-2 抗原) (IgE-結合タンパク質) (35 kDa レクチン) (炭水化物結合タンパク質 35) (CBP 35) (ラミニン結合タンパク質) (レクチン L-29) (L-31) (ガラクトシド結合タンパク質) (GALBP) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P17931]	
ENSPTRG00000006406	DHRS7	デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ SDR ファミリーメンバー 7 前駆体 (EC 1.1.-.-) (レチナル短鎖デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ 4) (retSDR4) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9Y394]	20
ENSPTRG00000006602	GALC	ガラクトセレブロンダーゼ 前駆体 (GALCERase) (EC 3.2.1.46) (ガラクトシルセラミダーゼ) (ガラクトシルセラミドベータガラクトシダーゼ) (ガラクトセレブロンドベータガラクトシダーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P54803]	
ENSPTRG00000006675	IFI27	インターフェロナルファ誘導性タンパク質 27 (p27) (インターフェロナルファ誘導 11.5 kDa タンパク質) (インターフェロン刺激遺伝子 12a タンパク質) (ISG12(a)) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P40305]	30
ENSPTRG00000006743	ANKRD9	アンキリン(Ankyrin)リポートメイン含有タンパク質 9 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96BM1]	
ENSPTRG00000006831	GABRB3	ガンマ-アミノ酪酸受容体サブユニットベータ-3 前駆体 (GABA(A) 受容体サブユニットベータ-3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P28472]	40
ENSPTRG00000007144	RPS27L	40S リボソームタンパク質 S27-様タンパク質 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q71UM5]	
ENSPTRG00000007281	CYP1A2	シトクロム P450 (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q9N256]	

【表 5 - 9】

ENSPTRG00000007423	ISG20	インターフェロン刺激遺伝子 20 kDa タンパク質 (EC 3.1.13.1) (前骨髄球性白血病核小体関連タンパク質 ISG20) (エストロゲン調節転写産物 45 タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96AZ6]
ENSPTRG00000007662	SRRM2	セリン/アルギニン反復マトリックスタンパク質 2 (300 kDa のセリン/アルギニンリッチスプライシング因子関連核マトリックスタンパク質) (Ser/Arg-関連核マトリックスタンパク質) (300 kDa の SR-関連核マトリックスタンパク質) (スプライシングコア複合体サブユニット SRm300) (300 kDa 核マトリックス抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UQ35]
ENSPTRG00000007683	IL32	予測: 推定(LOC750189), mRNA に類似のチンパンジー(Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_022437]
ENSPTRG00000007780	GSPT2	真核生物ゲップト鎖遊離因子 GTP-結合サブユニット ERF3B (真核生物ゲップト鎖遊離因子サブユニット 3b)(eRF3b) (G1 ないし S 期遷移タンパク質 2 群) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IYD1]
ENSPTRG00000007839	GPRC5B	G-タンパク質結合型受容体ファミリー C 群 5 メンバー B 前駆体 (レチニン酸誘導遺伝子 2 タンパク質) (RAIG-2) (A-69G12.1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9NZH0]
ENSPTRG00000007983	ALDOA	フルクトース-6-スホスフェートアルドラーゼ A (EC 4.1.2.13) (筋肉-型アルドラーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:A5A6I5]
ENSPTRG00000008254	LCAT	ホスファチジルコリン-ステロールアシルトランスフェラーゼ 前駆体 (EC 2.3.1.43) (レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ) (ホスホリポイド-コレステロールアシルトランスフェラーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P04180]

10

20

30

40

【表 5 - 1 0】

ENSPTRG00000008270	CDH1	上皮カドヘリン前駆体 (E-カドヘリン) (カドヘリン-1) (ウボモルリン(Uvomorulin)) (CAM 120/80) (CD324 抗原) [E-Cad/CTF1;E-Cad/CTF2;E-Cad/CTF3 を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P12830]	
ENSPTRG00000008568	ASPA	アスパルトアミナーゼ (EC 3.5.1.15) (アミノアミナーゼ -2) (ACY-2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P45381]	10
ENSPTRG00000008606	TM4SF5	膜貫通 4 L6 ファミリーメンバー 5 (テトラスポン膜貫通タンパク質 L6H) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O14894]	
ENSPTRG00000008617	ENO3	ペーターエノラーゼ (EC 4.2.1.11) (2-ホスホ-D-グリセレートヒドロラーゼ) (筋肉特異的エノラーゼ) (MSE) (骨格筋エノラーゼ) (エノラーゼ 3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P13929]	20
ENSPTRG00000008649	XAF1	XIAP-関連因子 1 (BIRC4-結合タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q6GPH4]	
ENSPTRG00000008909	TMEM97	予測: チンパンジー (Pan troglodytes) 仮定 LOC473481 (LOC473481), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_022978]	
ENSPTRG00000009033	CCL16	C-C モチフケモイン 16 前駆体 (小型-誘導性サイトカイン A16) (IL-10-誘導性ケモイン) (ケモイン LEC) (肝臓発現ケモイン) (モノタクチン(Monotactin)-1) (MTN-1) (ケモイン CC-4) (HCC-4) (NCC-4) (リンパ球および単球化学誘引物質) (LMC) (LCC-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O15467]	30
ENSPTRG00000009037	CCL18	C-C モチフケモイン 18 前駆体 (小型-誘導性サイトカイン A18) (マクロファージ 炎症性タンパク質 4) (MIP-4) (肺および活性化調節ケモイン) (CC ケモイン PARC) (別のマクロファージ 活性化関連 CC ケモイン 1) (AMAC-1) (樹状細胞ケモイン 1) (DC-CK1) [CCL18(1-68);CCL18(3-69);CCL18(4-69)を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P55774]	40

【表 5 - 1 1】

ENSPTRG00000009187	CNP	2',3'-環状ヌクレオチド 3'-ホスホジ エステラーゼ (CNPase) (CNP) (EC 3.1.4.37) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P09543]
ENSPTRG00000009233	IFI35	インターフェロン誘導 35 kDa タンパク質 (IFP 35) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P80217]
ENSPTRG00000009273	GRN	グ ラヌリン(Granulins)前駆体 (プロエピテルン (Proepithelin)) (PEPI) [アクログ ラニン(Acrogranin); ハ ラグ ラヌリン;グ ラヌリン-1 (グ ラヌリン G); グ ラヌリン-2 (グ ラヌリン F); グ ラヌリン-3 (グ ラヌリン B); グ ラヌリン-4 (グ ラヌリン A); グ ラヌリン-5 (グ ラヌリン C); グ ラヌリン-6 (グ ラヌリン D); グ ラヌリン-7 (グ ラヌリン E)を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P28799]
ENSPTRG00000009374	ZNF652	亜鉛フィンガータンパク質 652 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9Y2D9]
ENSPTRG00000009620	FDXR	NADPH: アト レノト キシンオキシド レダ クターゼ, ミトコンド リア前駆体 (アト レノト キシンレダ クターゼ) (AR) (EC 1.18.1.2) (フェレド キシン--NADP(+) レダ クターゼ) (フェレド キシンレダ クターゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P22570]
ENSPTRG00000009654	GALK1	ガラクトキナーゼ (EC 2.7.1.6) (ガラクトースキナーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P51570]
ENSPTRG00000009722	LGALS3BP	ガレクチン-3-結合タンパク質前駆体 (レクチンガラクトシド-結合性可溶性 3-結合性タンパク質) (Mac-2-結合性タンパク質) (Mac-2 BP) (MAC2BP) (腫瘍関連抗原 90K) (基底膜自己抗原 p105) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q08380]
ENSPTRG00000009744	RNF213	RING フィンガータンパク質 213 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q63HN8]
ENSPTRG00000010115	CNDP1	ベータ-Ala-His ジペプチダーゼ 前駆体 (EC 3.4.13.20) (カルノシン(Carnosine)ジペプチダーゼ 1) (CNDP ジペプチダーゼ 1) (血清カルノシナーゼ) (グルタメートカルボキシペプチダーゼ 様タンパク質 2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96KN2]

10

20

30

40

【表 5 - 1 2】

ENSPTRG00000010490	LDLR	低密度リポタンパク質受容体前駆体(LDL 受容体) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P01130]
ENSPTRG00000010619	BRD4	ブロードメイン含有タンパク質 4 (HUNK1 タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O60885]
ENSPTRG00000010672	BST2	骨髄間質抗原 2 前駆体 (BST-2) (HM1.24 抗原) (CD317 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q10589]
ENSPTRG00000010707	GDF15	成長/分化因子 15 前駆体 (GDF-15) (胎盤骨形成タンパク質) (胎盤 TGF-β-タ) (マクロファージ阻害性サイトカイン 1) (MIC-1) (前立腺分化因子) (NSAID-活性化遺伝子 1 タンパク質) (NAG-1) (NSAID-調節遺伝子 1 タンパク質) (NRG-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q99988]
ENSPTRG00000010816	GPI	グルコース-6-ホスフェートイソメラーゼ (GPI) (EC 5.3.1.9) (ホホグルコースイソメラーゼ) (PGI) (ホホヘキソースイソメラーゼ) (PHI) (ニューロロイキン(Neuroleukin)) (NLK) (精子抗原 36) (SA-36) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P06744]
ENSPTRG00000010832	FXD1	ホホレマン(Phospholemmann)前駆体(FXD1 トメイン含有イオン輸送レギュレーター 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O00168]
ENSPTRG00000011216	SEPW1	セレンオプテイン(Selenoprotein) W (SeIW) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P63302]
ENSPTRG00000011259	HSD17B14	17-β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 14 (EC 1.1.1.-) (デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ SDR ファミリーメンバー 10) (17-β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ DHRS10) (レチナル単鎖デヒドロゲナーゼ/レダクターゼ retSDR3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9BPX1]

10

20

30

40

【表 5 - 1 3】

ENSPTRG00000011596	SLC27A5	胆汁アシル-CoA シンターゼ (BACS)(EC 6.2.1.7) (胆汁酸-CoA リガゼ) (BA-CoA リガゼ) (BAL) (コル酸塩--CoA リガゼ) (非常に長い鎖のアシル-CoA シンターゼ ホモログ 2) (VLCS-H2) (VLCSH2) (非常に長鎖のアシル-CoA シンターゼ 関連タンパク質) (VLACS-関連) (VLACSR) (脂肪酸補酵素 A リガゼ, 非常に長鎖 3) (脂肪酸輸送タンパク質 5) (FATP-5) (溶質担体ファミリー 27 メンバー 5) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9Y2P5]	10
ENSPTRG00000011627	CMPK2	UMP-CMP キナーゼ 2, ミトコンドリア前駆体 (EC 2.7.4.14) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q5EBM0]	
ENSPTRG00000011629	RSAD2	ラジカル S-アデノシルメチオニドメイン含有タンパク質 2 (ウイルス阻害タンパク質, 小胞体関連, インターフェロン誘導性) (ビペリン(Viperin)) (サイトメガウイルス誘導遺伝子 5 タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8WXG1]	20
ENSPTRG00000011834	EIF2AK2	インターフェロン誘導二本鎖RNA-活性化タンパク質キナーゼ (EC 2.7.11.1) (インターフェロン誘導性 RNA-依存性タンパク質キナーゼ) (真核生物翻訳開始因子 2-アルファキナーゼ 2) (eIF-2A タンパク質キナーゼ 2) (タンパク質キナーゼ RNA-活性化) (PKR) (p68 キナーゼ) (P1/eIF-2A タンパク質キナーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P19525]	30
ENSPTRG00000012064	NAT8	推定 N-アセチルトランスフェラーゼ 8 (EC 2.3.1.-) (Camello-様タンパク質 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UHE5]	
ENSPTRG00000012297	IL1R2	インターロイキン-1 受容体 II 型前駆体 (IL-1R-2) (IL-1R-ペプチド) (CD121 抗原様ファミリーメンバー B) (CDw121b) (CD121b 抗原) (CD121 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P27930]	40
ENSPTRG00000012318	UXS1	UDP-グルクロン酸デヒドロキシラーゼ 1 (EC 4.1.1.35) (UDP-グルクロネートデヒドロキシラーゼ 1) (UXS-1)(UGD) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8NBZ7]	

【表 5 - 1 4】

ENSPTRG00000012496	UBXN4	UBX ドメイン含有タンパク質 4 (UBX ドメイン含有タンパク質 2)(エラシン(Erasin)) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q92575]
ENSPTRG00000012501	CXCR4	C-X-C ケモカイン受容体 4 型 (CXC-R4) (CXCR-4) (間質細胞由来因子 1 受容体) (SDF-1 受容体) (フュージン(Fusin)) (CD184 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P61072]
ENSPTRG00000012531	NMI	N-myc-インタラクター (Nmi) (N-myc および STAT インタラクター) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13287]
ENSPTRG00000012582	IFIH1	インターフェロン誘導ヘリカーゼ C ドメイン含有タンパク質 1 (EC 3.6.1.-) (ヘリカーゼ C ドメインタンパク質 1 でのインターフェロン誘導) (2 CARD ドメインを有するヘリカーゼ) (ヘリカード (Helicard)) (メラノーマ分化関連タンパク質 5) (MDA-5) (RNA ヘリカーゼ-DEAD ホックスタンパク質 116) (ムラブチド (Murabutide)ダウンレギュレートタンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9BYX4]
ENSPTRG00000012687	OSBPL6	ホキシステロール結合タンパク質関連タンパク質 6 (OSBP-関連タンパク質 6) (ORP-6) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9BZF3]
ENSPTRG00000012749	STAT1	転写 1-アルファ/ベータのシグナルトランスデューサーおよびアクチベーター(転写因子 ISGF-3 成分 p91/p84) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P42224]
ENSPTRG00000012830	ABI2	Abl インタラクター 2 (アベルソン(Abelson)インタラクター 2) (Abi-2) (Abl-結合タンパク質 3) (AbIBP3) (Arg-結合タンパク質 1) (ArgBP1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9NYB9]
ENSPTRG00000012901	IGFBP2	インスリン様成長因子結合タンパク質 2 前駆体 (IGF-結合タンパク質 2) (IGFBP-2)(IBP-2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P18065]

10

20

30

40

【表 5 - 1 5】

ENSPTRG00000013009	SP110	Sp110 核小体タンパク質 (転写コアクチベーター Sp110) (斑点(Speckled) 110 kDa) (インターフェロン誘導タンパク質 41/75) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9HB58]	
ENSPTRG00000013012	SP100	核自己抗原 Sp-100 (斑点 100 kDa) (核ドット関連 Sp100 タンパク質) (フラグメント) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9N1Q7]	10
ENSPTRG00000013155	PSMF1	プロテアソーム阻害剤 PI31 サブユニット (hPI31) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q92530]	
ENSPTRG00000013417	MAP1LC3A	微小管関連タンパク質 1A/1B 軽鎖 3A 前駆体 (微小管関連タンパク質 1 軽鎖 3 アルファ) (MAP1A/1B 軽鎖 3 A) (MAP1A/MAP1B LC3 A) (MAP1 軽鎖 3-様タンパク質 1) (オートファジー関連タンパク質 LC3 A) (オートファジー関連ユビキチン様修飾物質 LC3 A) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9H492]	20
ENSPTRG00000013603	ZNFX1	NFX1-型フィンガー含有タンパク質 1 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9P2E3]	
ENSPTRG00000013751	SLC2A4RG	SLC2A4 レギュレーター (GLUT4 エンハンサー因子) (GEF) (ハンチントン疾患遺伝子調節領域結合性タンパク質 1) (HDBP-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9NR83]	
ENSPTRG00000013811	APP	アミロイドペーサー A4 タンパク質前駆体 (APP) (ABPP) (アルツハイマー病アミロイドタンパク質ホモログ) [可溶性 APP-アルファ (S-APP-アルファ); 可溶性 APP-ペーサー(S-APP-ペーサー); C99; ペーサー-アミロイドタンパク質 42 (ペーサー-APP42); ペーサー-アミロイドタンパク質 40 (Beta-APP40); C83; P3 を含む][ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q5IS80]	30
ENSPTRG00000013927	MX1	インターフェロン誘導 GTP-結合性タンパク質 Mx1 (ミクソウイルス耐性タンパク質 1) (インターフェロン調節耐性 GTP-結合性タンパク質 MxA) (インターフェロン誘導タンパク質 p78) (IFI-78K) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P20591]	40

【表 5 - 1 6】

ENSPTRG00000013953	CRYAA	アルファ A-クリスタリン (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q28790]	
ENSPTRG00000014048	USP18	Ubl カルボキシル末端ヒドローラーゼ 18 (EC 3.1.2.-) (Ubl チオエステラーゼ 18) (ISG15-特異的プロセッシングプロテ アーゼ) (43 kDa ISG15-特異的プロテアーゼ) (hUBP43) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UMW8]	10
ENSPTRG00000014252	TCN2	トランスコブラミン-2 前駆体(トランスコブラミン II) (TC II) (TCII) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P20062]	
ENSPTRG00000014258			
ENSPTRG00000014306	APOL3	アポリポタンパク質 L3 (アポリポタンパク質 L-III) (ApoL-III) (TNF-誘導性タンパク質 CG12-1) (CG12_1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O95236]	20
ENSPTRG00000014547	TYMP	チミジンホスホリラーゼ 前駆体 (EC 2.4.2.4) (TdRPase) (TP) (血小板由来内皮細胞成長因子) (PD-ECGF) (グリオスタチン(Gliostatin)) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P19971]	
ENSPTRG00000014888	SHISA5	タンパク質 シサ(shisa)-5 前駆体 (スコチン(Scotin)) (推定 NF-カッパ-B-活性化タンパク質 120) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8N114]	
ENSPTRG00000014936	UBA7	ユビクチン様修飾物質活性化酵素 7 (ユビクチン活性 化酵素 7) (ユビクチン活性化酵素 E1 核ログ) (D8) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P41226]	30
ENSPTRG00000015163	TMEM45A	膜貫通タンパク質 45A (DNA ポリメラーゼ-転写活 性化タンパク質 4) (皮膚乳頭由来タンパク質 7) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9NWC5]	
ENSPTRG00000015258	PLA1A	ホスホリラーゼ A1 膜 A 前駆体 (EC 3.1.1.-) (ホス ファジリルリン-特異的ホスホリラーゼ 1) (PS-PLA1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q53H76]	40
ENSPTRG00000015294	PARP9	ポリ [ADP-リボース] ポリメラーゼ 9 (PARP-9) (EC 2.4.2.30) (B 侵襲性リンパ腫タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IXQ6]	

【表 5 - 1 7】

ENSPTRG00000015297	PARP14	ポリ [ADP-リボース] ポリメラーゼ 14 (PARP-14) (EC 2.4.2.30) (B 侵攻性リンパ腫タンパク質 2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q460N5]
ENSPTRG00000015499	PLSCR1	ホスホリト スクランプ ラーゼ 1 (PL スクランプ ラーゼ 1) (Ca(2+)-依存性ホスホリト スクランプ ラーゼ 1) (赤血球ホスホリト スクランプ ラーゼ) (MmTRA1b) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O15162]
ENSPTRG00000015550	MME	ネプリリシン(Neprilysin) (EC 3.4.24.11) (中性エンドペプチダーゼ 24.11) (中性エンドペプチダーゼ) (NEP) (エンケファリナーゼ (Enkephalinase)) (アトリオペプチダーゼ (Atriopeptidase)) (一般的な急性リンパ性白血病抗原) (CALLA) (CD10 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P08473]
ENSPTRG00000015572	RARRES1	レチノイン酸受容体応答タンパク質 1 (RAR-応答性タンパク質 TIG1) (タザロテン誘導遺伝子 1 タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P49788]
ENSPTRG00000015593	BCHE	コリンエステラーゼ 前駆体 (EC 3.1.1.8) (アシルコリンアシルヒドローラーゼ) (コリンエステラーゼ II) (ブチリルコリンエステラーゼ) (シュート コリンエステラーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P06276]
ENSPTRG00000015726	RTP4	予測: チンパンジー (Pan troglodytes) 28kD インターフェロン応答性タンパク質 (RTP4), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_021630]
ENSPTRG00000015857	HGFAC	肝細胞成長因子アクチベーター前駆体 (HGF アクチベーター) (HGFA) (EC 3.4.21.-) [肝細胞成長因子アクチベーター短鎖;肝細胞成長因子アクチベーター長鎖を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q04756]
ENSPTRG00000015930	CD38	ADP-リボシルシラーゼ 1 (EC 3.2.2.5)(環状 ADP-リボースヒドローラーゼ 1) (cADPr ヒドローラーゼ 1) (T10) (CD38 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P28907]

10

20

30

40

【表 5 - 1 8】

ENSPTRG00000015938	LAP3	予測: シトルアミノ酸 (ロイシノアミノ酸) (LAP) (ロイシノアミノ酸) (プロリンアミノ酸) (プロリンアミノ酸) (ペプチド) (S) (LOC462650), mRNA に類似のチンパノジ (Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_025266]	10
ENSPTRG00000015949	GPR125	推定 G-タンパク質結合受容体 125 前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IWK6]	
ENSPTRG00000016167	AREGB		
ENSPTRG00000016182	CXCL10	C-X-C モチフケモイン 10 前駆体 (小型-誘導性サ イトカイン B10) (10 kDa インターフェロン誘導タンパク 質) (ガンマ-IP10) (IP-10) [CXCL10(1-73)を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P02778]	20
ENSPTRG00000016183	CXCL11	C-X-C モチフケモイン 11 前駆体 (小型-誘導性サ イトカイン B11) (インターフェロン誘導性 T-細胞アルファ化 学誘引物質) (I-TAC) (インターフェロン誘導性タン パク質 9) (IP-9) (H174) (ペータ-R1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O14625]	
ENSPTRG00000016186	SCARB2	リソソーム膜タンパク質 2 (リソソーム膜タンパク質 II) (LIMP II) (スカベンジャー受容体クラス B 膜 2) (85 kDa リソ ソーム膜シロ糖タンパク質) (LGP85) (CD36 抗原様 2) (CD36 抗原) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q14108]	30
ENSPTRG00000016272	HERC6	推定 E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ HERC6 (EC 6.3.2.-) (HECT ドメインおよび RCC1-様ドメイン含 有タンパク質 6) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IVU3]	
ENSPTRG00000016273	HERC5	予測: チンパノジ (Pan troglodytes) hect ドメイン および RLD 5 (HERC5), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_025606]	40
ENSPTRG00000016555	FNIP2	フォリクリン(Folliculin)-相互作用タンパク質 2 (FNIP1- 様タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9P278]	

【表 5 - 1 9】

ENSPTRG00000016575	CPE	カルボキシペプチダーゼ E 前駆体 (EC 3.4.17.10) (CPE) (カルボキシペプチダーゼ H) (CPH) (エンケファリン (Enkephalin)コペルターゼ) (プロホリモンプロセッシングカルボキシペプチダーゼ).	
ENSPTRG00000016581	DDX60	推定 ATP-依存性 RNA ヘリカーゼ DDX60 (EC 3.6.1.-) (DEAD ボックスタンパク質 60)	10
ENSPTRG00000016582	DDX60L	推定 ATP-依存性 RNA ヘリカーゼ DDX60-様 (EC 3.6.1.-) (DEAD ボックスタンパク質 60-様)	
ENSPTRG00000017070	GPR98	G-タンパク質結合型受容体 98 前駆体(単一遺伝子聴覚原性発作感受性タンパク質 1 非同) (非常に大きい G-タンパク質結合型受容体 1) (アッシャー(Usher)症候群型-2C タンパク質)	20
ENSPTRG00000017131	C5orf13	ニューロンタンパク質 3.1 (タンパク質 p311)	
ENSPTRG00000017227	LEAP2	肝臓発現抗菌性ペプチド 2 前駆体(LEAP-2)	
ENSPTRG00000017417	CD74	HLA クラス II 組織適合性抗原がマ鎖 (HLA-DR 抗原関連不変鎖) (Ia 抗原関連不変鎖) (II) (p33) (CD74 抗原)	30
ENSPTRG00000017780	C6orf62	特徴付けられていないタンパク質 C6orf62 (HBV X-転写活性遺伝子 12 タンパク質)	
ENSPTRG00000017795	TRIM38	三部分からなるフィンガーを含有するタンパク質 38 (RING フィンガー-タンパク質 15) (亜鉛フィンガー-タンパク質 RoRet)	40
ENSPTRG00000017809	HIST1H2AC	ヒストン H2A 型 1-C (H2A/I)	

【表 5 - 2 0】

ENSPTRG00000017828	BTN3A2	ブチロフィリン(Butyrophilin)サブファミリー 3 メンバー A2 前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P78410]
ENSPTRG00000017832	BTN3A3	ブチロフィリンサブファミリー 3 メンバー A3 前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O00478]
ENSPTRG00000017901	UBD	ユビキチン D [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:BOU2T6]
ENSPTRG00000017905		CHLA クラス I 組織適合性抗原, CH28 アルファ鎖前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P16215]
ENSPTRG00000017906		HLA クラス I 組織適合性抗原, アルファ鎖 G 前駆体 (HLA G 抗原). [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q95IT1]
ENSPTRG00000017955	HLA-C	CHLA クラス I 組織適合性抗原, A-5 アルファ鎖前駆体 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P16210]
ENSPTRG00000018001	HLA-DRB4	MHC クラス II DR-ペプチド-1*0204 (フラグメント) [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q30939]
ENSPTRG00000018016	HLA-DRA	主要組織適合性複合体, クラス II, DR アルファ前駆体 [ソース:RefSeq peptide;Acc:NP_061984]
ENSPTRG00000018022		大型多機能性プロテアーゼ 7 (フラグメント) [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q9TSY6]
ENSPTRG00000018023		抗原ペプチドトランスポーター 1 (APT1) (ペプチドトランスポーター TAP1) (ATP-結合性カセットサブファミリー B メンバー 2) (ペプチドサプライ因子 1) (ペプチドトランスポーター PSF1) (PSF-1) (抗原プロセッシング 1 に関与するペプチドトランスポーター) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q03518]

【表 5 - 2 1】

ENSPTRG00000018024		プロテアソームサブユニット9型前駆体(EC 3.4.25.1) (プロテアソームサブユニット-1i) (プロテアソーム鎖 7) (マクロパイン(Macropain)鎖 7) (多触媒性エンドペプチダーゼ複合体鎖 7) (RING12 タンパク質) (低分子量タンパク質 2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P28065]	10
ENSPTRG00000018107	CDKN1A	サイクリン依存性キナーゼ阻害剤 1 (p21) (CDK-相互作用タンパク質 1) (メラノマ分化関連タンパク質 6) (MDA-6) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P38936]	
ENSPTRG00000018122	FTSJD2	FtsJ メチルトランスフェラーゼドメイン含有タンパク質 2 (EC 2.1.1.-) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8N1G2]	20
ENSPTRG00000018575	NCOA7	核受容体コアアクチベーター 7 (140 kDa エストロゲン受容体関連タンパク質) (エストロゲン核受容体コアアクチベーター 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8N1O8]	
ENSPTRG00000018613	VNN1	パントテインナーゼ (Pantetheinase)前駆体(EC 3.5.1.92) (パントテインナーゼヒドロラーゼ) (血管非炎症性分子 1) (バニン(Vanin)-1) (Tiff66) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O95497]	
ENSPTRG00000018642	IFNGR1	インターフェロガンマ受容体 1 (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:A1Z2N0]	30
ENSPTRG00000018675	PLAGL1	亜鉛フィンガータンパク質 PLAGL1 (プレイオモルフィック(Pleiomorphic)アデノーマ様タンパク質 1) (腫瘍抑制因子 ZAC) (形質転換 1 での喪失) (LOT-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UM63]	40
ENSPTRG00000018746	DYNLT1	ダイネイン(Dynein)軽鎖 Tctex-型 1 (T-複合体精巣特異的タンパク質 1 細胞) (タンパク質 CW-1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P63172]	
ENSPTRG00000018757	SOD2	スーパーオキシドジスムターゼ [Mn], ミトコンドリア(EC 1.15.1.1). [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8HXP7]	

【表 5 - 2 2】

ENSPTRG00000018984	GPNMB	膜貫通糖タンパク質 NMB 前駆体(膜貫通糖タンパク質 HGFIN) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q14956]
ENSPTRG00000019067	NT5C3	予測: チンパンジー(Pan troglodytes) 假定タンパク質 LOC739661 (LOC739661), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_020853]
ENSPTRG00000019306	POM121C	POM121 (フラグメント). [ソース:UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q3T496]
ENSPTRG00000019401	SAMD9L	滅菌(Sterile)アルファモチーフドメイン含有タンパク質 9-様 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8IVG5]
ENSPTRG00000019465	AZGP1	予測: ZN-アルファ-2-糖タンパク質 (LOC472458), mRNA に類似のチンパンジー(Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_023516]
ENSPTRG00000019718	AKR1B10	予測: アルドースレクターゼ様ペプチド (LOC466086), mRNA に類似のチンパンジー(Pan troglodytes) [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_024984]
ENSPTRG00000019740	AKR1D1	3-オキシ-5-ペーケステロイド 4-デヒドロゲナーゼ (EC 1.3.1.3) (デルタ (4)-3-ケトステロイド 5-ペーケタレクターゼ) (デルタ(4)-3-オキシステロイド 5-ペーケタレクターゼ) (アルド-ケトレクターゼファミリー 1 メンバー D1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P51857]
ENSPTRG00000019761	PARP12	ポリ [ADP-リボース]ポリメラーゼ 12 (PARP-12) (EC 2.4.2.30) (亜鉛フィンガー-CCCH ドメイン含有タンパク質 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9H0J9]
ENSPTRG00000019863	TMEM176B	膜貫通タンパク質 176B (タンパク質 LR8) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q3YBM2]
ENSPTRG00000020085	ADAMDEC1	ADAM DEC1 前駆体 (EC 3.4.24.-) (A ジンテグリンおよびメカロプロテインセドメイン様タンパク質デサイシン(decysin) 1) (ADAM-様タンパク質デサイシン 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O15204]

10

20

30

40

【表 5 - 2 3】

ENSPTRG00000020204	DKK4	Dickkopf-関連タンパク質 4 前駆体 (Dickkopf-4) (Dkk-4) (hDkk-4) [Dickkopf-関連タンパク質 4 短形態を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UBT3]
ENSPTRG00000020275	CYP7A1	シクロム P450 7A1 (EC 1.14.13.17) (CYPVII) (コレステロール 7-アルファ-モノオキシゲナーゼ) (コレステロール 7-アルファ-ヒドロキシラーゼ) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P22680]
ENSPTRG00000020534	ENPP2	エキトヌクレオチド (Ectonucleotide) ヒドロホスファターゼ / ホスホエステラーゼ ファミリーメンバー 2 前駆体 (E-NPP 2) (EC 3.1.4.39) (細胞外リゾホスホリパーゼ D) (LysoPLD) (オートタキシン (Autotaxin)) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q13822]
ENSPTRG00000020645	LY6E	リン脂質抗原 6E 前駆体 (Ly-6E) (レチノイン酸誘導遺伝子 E タンパク質) (RIG-E) (胸腺 (Thymic) 共有抗原 1) (TSA-1) (幹細胞抗原 2) (SCA-2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q16553]
ENSPTRG00000020844	DDX58	推定 ATP-依存性 RNA ヘリカーゼ DDX58 (EC 3.6.1.-) (DEAD-ボックスタンパク質 58) (レチノイン酸誘導性遺伝子 1 タンパク質) (RIG-1) (RIG-I) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:O95786]
ENSPTRG00000020868	PRSS3	トリプシン-3 前駆体 (EC 3.4.21.4) (トリプシン III) (脳トリプシノーゲン) (メトリプシノーゲン) (トリプシン IV) (セリンプロテアーゼ 3) (セリンプロテアーゼ 4) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P35030]
ENSPTRG00000021093	CKS2	サイクリン依存性キナーゼ調節サブユニット 2 (CKS-2) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P33552]
ENSPTRG00000021122	SUSD3	スシ (Sushi) ドメイン含有タンパク質 3 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q96L08]
ENSPTRG00000021138	FBP1	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ 1 (FBPase 1) (EC 3.1.3.11) (D-フルクトース-1,6-ビスホスフェート 1-ホスホヒドロラーゼ 1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P09467]

10

20

30

40

【表 5 - 2 4】

ENSPTRG00000021155	CDC14B	予測: チンパンジー(Pan troglodytes)仮定タンパク質 LOC743528 (LOC743528), mRNA. [ソース:RefSeq_dna;Acc:XR_020872]	
ENSPTRG00000021174	TRIM14	三部分からなるモチーフ含有タンパク質 14 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q14142]	
ENSPTRG00000021412	LCN2	好中球ケモカイン関連リポカリン(lipocalin)前駆体 (NGAL) (p25) (MMP-9 の 25 kDa アルファ-2-微小管関連サブユニット) (リポカリン-2) (オンコジーン 24p3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P80188]	10
ENSPTRG00000021690	TMEM27	コレクトリン(Collectrin)前駆体 (膜貫通タンパク質 27) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9HBJ8]	
ENSPTRG00000022145	SERPINA7	チロキシン(Thyroxine)結合性グロブリン前駆体(T4-結合性グロブリン) (セリン(Serpin) A7) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P61640]	20
ENSPTRG00000022227	sep-06	セプチン(Septin)-6 [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q14141]	
ENSPTRG00000022349	FMR1	脆弱 X 精神遅滞 1 タンパク質 (Protein FMR-1)(FMRP) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q06787]	
ENSPTRG00000022833	ADAR	二本鎖 RNA-特異的アデノシンデアミナーゼ (DRADA) (EC 3.5.4.-) (136 kDa 二本鎖 RNA-結合性タンパク質) (P136) (K88DSRBP) (インターフェロン誘導性タンパク質 4)(IFI-4) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P55265]	30
ENSPTRG00000022912	TDRD7	チューダー(Tudor)ドメイン含有タンパク質 7 (PCTAIRE 2 とのチューダードメインアソシエーター) (Trap) (PCTAIRE2-結合性タンパク質) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q8NHU6]	
ENSPTRG00000023135	ISG15	インターフェロン誘導 17 kDa タンパク質前駆体[ヒトキリン交差反応性タンパク質 (hUCRP) (インターフェロン誘導 15 kDa タンパク質)を含む] [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P05161]	40

【表 5 - 2 5】

ENSPTRG00000023584	E2F3	予測: E2F-3 転写因子 (LOC747171), mRNA. に類似のチパンゾー (Pan troglodytes) [ソース: RefSeq_dna; Acc: XR_021509]	
ENSPTRG00000023735	HLA-DRB5	MHC クラス II DR-ペプター-5*0102 (フラグメント) [ソース: UniProtKB/TrEMBL; Acc: Q30966]	
ENSPTRG00000024289	MDK	ミドカイン (Midkine) 前駆体 (MK) (神経突起伸長促進タンパク質) (妊娠中期および腎臓タンパク質) (アンプレグリン (Amphiregulin) 関連タンパク質) (ARAP) (神経突起伸長促進因子 2) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: P21741]	10
ENSPTRG00000028412	CARD16	カパーゼ-1 阻害剤 COP (CARD のみのドメイン含有タンパク質 1) (偽性インターロイキン-1 ペプター転換酵素) (偽性-ICE) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: Q5EG05]	20
ENSPTRG00000028504	SAMD9	ステイル (sterile) アルファモチーフドメイン含有タンパク質 9 [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: Q5K651]	
ENSPTRG00000029654	LYZ	リゾチーム C 前駆体 (EC 3.2.1.17) (1,4-ペプター-N-アセチルムラミダーゼ C). [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: P61628]	
ENSPTRG00000029819	HIST1H2BC	ヒストン H2B 型 1-C/E/F/G/I (H2B.a/g/h/k/l) (H2B.1 A) (H2B/a) (H2B/g) (H2B/h) (H2B/k) (H2B/l) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: P62807]	30
ENSPTRG00000029834	IFIT3	トリトリコペプチリト 3 を有するインターフェロン誘導タンパク質 (IFIT-3) (IFIT-4) (インターフェロン誘導 60 kDa タンパク質) (IFI-60K) (ISG-60) (CIG49) (レチノン酸誘導遺伝子 G タンパク質) (RIG-G) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: O14879]	
ENSPTRG00000030411	HIST2H2AC	ヒストン H2A type 2-C (H2A-GL101) (H2A/q) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: Q16777]	40
ENSPTRG00000030440	TMSB10	チモシン (Thymosin) ペプター-10 [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot; Acc: P63313]	
ENSPTRG00000030451			

【表 5 - 2 6】

ENSPTRG00000032526	AR	アンドロゲン受容体 (フラグメント). [ソース: UniProtKB/TrEMBL;Acc:Q95J36]
ENSPTRG00000033674	WDR44	WD リピート含有タンパク質 44 (ラバフィリン (Rabphilin)-11) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q5JSH3]
ENSPTRG00000033800	CYP2A7	シクロム P450 2A7 (EC 1.14.14.1) (CYP11A7) (P450-11A4) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P20853]
ENSPTRG00000033929	PLN	心臓ホスホランポン (PLB) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P26678]
ENSPTRG00000034011	HLA-J	推定の特徴付けられていないタンパク質 HLA-J フラグメント [ソース: UniProtKB/TrEMBL;Acc:A6NJG7]
ENSPTRG00000034203	IGF2	インスリン様生長因子 II 前駆体(IGF-II) (ソマトメジン (Somatomedin)-A) [インスリン様生長因子 II Ala-25 Del を含む] [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P01344]
ENSPTRG00000034314	LEPR	レプチン受容体前駆体 (LEP-R) (OB 受容体) (OB-R) (HuB219) (CD295 抗原) [ソース: UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P48357]
ENSPTRG00000034356	ODF3B	外側密集線維タンパク質(Outer dense fiber protein) 3B (外側密集線維タンパク質 3-様タンパク 質 3) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:A8MYP8]
ENSPTRG00000034437		ガンマアミノ酪酸 B 型受容体サブユニット 1 前駆体 (GABA-B 受容体 1) (GABA-B-R1) (Gb1) [ソース:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:Q9UBS5]

【0 2 4 6】

投与間隔に係る具体例

1. 有効投与量の抗マイクロRNAオリゴヌクレオチド、またはmRNA、非コーディングRNAもしくはウイルスゲノムを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物であって、各投与間の時間間隔が少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日で霊長類に投与するために製造された組成物。
2. 有効投与量が0.01mg/kg～25mg/kg、例えば、約0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.25、1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75、4、4.25、4.5、4.75、5、5.25、5.5、5.75、6、6.25、6.5、6.75、7、7.25、7.5、7.75、8、8.25、8.5、

10

20

30

40

50

8. 75、9、9.25、9.5、9.75、10、10.25、10.5、10.75、11、11.25、11.5、11.75、12、12.25、12.5、12.75、13、13.25、13.5、13.75、14、14.25、14.5、14.75、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または例えば、約25 mg/kgである、具体例1に記載の医薬組成物。

3. オリゴヌクレオチドがヌクレオチドアナログを含む、具体例1～2のいずれか1つに記載の医薬組成物。

4. ヌクレオチドアナログの少なくとも1つが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸(ANA)モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマー、および該アナログの2以上の組み合わせからなる群から選択される、具体例3に記載の医薬組成物。

10

5. ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA(2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、具体例4に記載の医薬組成物。

6. ヌクレオチドアナログがロックド核酸(LNA)である、具体例5に記載の医薬組成物。

7. オリゴヌクレオチドがRNase Hによって切断されないミキシマーとして設計される、具体例1～6のいずれか1つに記載の医薬組成物。

8. 化合物が配列番号162-199として示されるオリゴヌクレオチドのいずれか1つである、具体例1～7のいずれか1つに記載の医薬組成物。

20

9. 化合物がmiR-122のモジュレーターである、上記具体例のいずれか1つに記載の医薬組成物。

10. 特定のマイクロRNAの活性低下が利益をもたらす疾患、例えば、限定するものではないが、心不整脈、心臓肥大、癌、高コレステロール血症、代謝障害、乾癬、糖尿病、急性免疫障害、ヘモクロマトーシス、臓器移植拒絶、C型肝炎感染、または他のウイルス感染から選択される疾患に罹患している個体に投与される、具体例1～9のいずれか1つに記載の医薬組成物。

11. 一連の組成物投与による有効投与量の初期蓄積(initial build up)があり、次いで、少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日という各投与間の長い時間間隔での維持投与がある投与スケジュールのために製造される、上記具体例のいずれか1つに記載の医薬組成物。

30

12. 有効投与量の初期蓄積が1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日以内あるいは3、4、5または6週以内で起こる、具体例1～11のいずれか1つに記載の医薬組成物。

13. 対象、例えば霊長類、例えばヒトに対する投与のためのアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、マイクロRNA、mRNA、非コーディングRNAまたはウイルスゲノムの配列に相補的であり、標的組織において有効濃度の該オリゴヌクレオチドを提供する投与量での投与のために製造され、各投与間の時間間隔が少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日で投与されうるオリゴヌクレオチド。

40

14. 有効投与量が0.01 mg/kg～25 mg/kg、例えば、約0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.25、1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75、4、4.25、4.5、4.75、5、5.25、5.5、5.75、6、6.25、6.5、6.75、7、7.25、7.5、7.75、8、8.25、8.5、8.75、9、9.25、9.5、9.75、10、10.25、10.5、10.7

50

5、11、11.25、11.5、11.75、12、12.25、12.5、12.75、13、13.25、13.5、13.75、14、14.25、14.5、14.75、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または例えば、約25mg/kgである、具体例13記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

15. ヌクレオチドアナログを含む、具体例13～14のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

16. ヌクレオチドアナログの少なくとも1つが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸(ANA)モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマーからなる群から選択される、具体例15に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

10

17. ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA(2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、具体例16に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

18. ヌクレオチドアナログがロックド核酸(LNA)である、具体例17に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

19. RNase Hによって切断されないミキサーとして設計される、具体例13～18のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

20. 配列番号162-199のいずれか1つである、具体例13～19のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

20

21. miR-122のモジュレーターである、上記具体例のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

22. 特定のマイクロRNAの活性低下が利益をもたらす疾患、例えば、限定するものではないが、臓器移植拒絶、心不整脈、心臓肥大、癌、高コレステロール血症、代謝障害、乾癬、糖尿病、急性免疫障害、ヘモクロマトーシス、C型肝炎感染、または他のウイルス感染から選択される疾患に罹患している個体に投与される、具体例13～21のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

23. 具体例13～22のいずれかに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドであって、該オリゴヌクレオチドの一連の1以上の投与による、標的組織における有効投与量の初期蓄積があり、次いで、少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日という各投与間に長い時間間隔をおいた維持投与があり、該維持投与が標的組織における該オリゴヌクレオチドの有効投与量を維持する投与スケジュールのために製造される、アンチセンスオリゴヌクレオチド。

30

24. 有効投与量の初期蓄積が1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日以内あるいは3、4、5または6週以内で起こる、具体例13～23のいずれか1つに記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

25. 具体例1～12のいずれか1つに記載の医薬組成物の投与によって、対象におけるマイクロRNA、mRNA、非コーディングRNA、またはウイルスゲノムの活性を阻害する方法。

40

26. 対象における疾患または障害を治療する方法であって、該疾患または障害が、マイクロRNA、mRNA、非コーディングRNA、またはウイルスゲノムのダウンレギュレーションに対して感受性であることにより特徴付けられ、かつ、該方法が少なくとも2工程を含み、第1工程が、上記マイクロRNA、mRNA、非コーディングRNA、またはウイルスゲノムに対してアンチセンスであるオリゴヌクレオチドをの頻回投与(少なくとも1回)が標的組織における該アンチセンスオリゴヌクレオチドの有効投与量を蓄積する、投与量蓄積工程(dosage building step)であり、第2工程において、霊長類に対する該オリゴヌクレオチドのあまり頻繁ではない投与によって、該有効投与量が標的組織において維持され、ここに、維持工程の各投与間の時間間隔が少なくとも14日、例えば少な

50

くとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日である、方法。

27. オリゴヌクレオチドがヌクレオチドアナログを含む、具体例26に記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

28. ヌクレオチドアナログの少なくとも1つが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸(ANA)モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマーからなる群から選択される、具体例27に記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

10

29. ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA(2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、具体例28に記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

30. ヌクレオチドアナログがロックド核酸(LNA)である、具体例29に記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

31. オリゴヌクレオチドが本質的にRNAseHを動員できない、具体例26~30のいずれか1つに記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

32. オリゴヌクレオチドが配列番号162-199のいずれか1つである、具体例26~31のいずれか1つに記載の方法。

33. マイクロRNAがmiR-122である、具体例26~32のいずれか1つに記載の霊長類において疾患または障害を治療する方法。

20

34. 具体例1~12のいずれか1つの組成物が、特定のマイクログRNAの活性低下が利益をもたらす疾患、例えば、限定するものではないが、臓器移植拒絶、心不整脈、心臓肥大、癌、高コレステロール血症、代謝障害、乾癬、糖尿病、急性免疫障害、ヘモクロマトーシス、C型肝炎感染、または他のウイルス感染から選択される疾患に罹患している個体に投与される、具体例33に記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

35. 一連の投与による有効投与量の初期蓄積があり、次いで、少なくとも14日、例えば、少なくとも15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、または少なくとも125日という各投与間に長い時間間隔をおいた維持投与がある、具体例26~34のいずれか1つに記載の対象において疾患または障害を治療する方法。

30

36. 有効投与量の初期蓄積が1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日以内あるいは3、4、5または6週以内で起こる、具体例26~35のいずれか1つに記載の疾患を治療する方法。

37. 初期投与量蓄積が連続的な注入、または徐放性処方注射、または吸入によるものである、具体例1~36のいずれか1つに記載の疾患を治療する方法。

38. 維持投与量が静脈内注射、皮下、腹腔内、吸入、脳室内、筋内、眼窩内、嚢内、髄腔内、胸骨内(intrasternal)、静脈内または鼻腔内によって投与される、具体例1~37のいずれか1つに記載の疾患を治療する方法。

40

【0247】

いくつかの具体例において、本発明において提供される治療方法および組成物は、上記具体例に記載の方法および投与計画にしたがって使用してもよい。

【0248】

インターフェロン非応答性HCV患者の治療、および臓器移植拒絶の治療に関する具体例

1. 抗マイクログRNA-122オリゴヌクレオチドの有効投与量を含む医薬組成物であって、細胞への投与のために製造される組成物。

2. 細胞が霊長類、例えばヒトにおけるものである、具体例1に記載の医薬組成物。

3. 細胞が肝臓細胞である、具体例1および2のいずれか1つに記載の医薬組成物。

50

4. 細胞がHCVに感染しており、かつ、HCV感染の治療のために製造される、具体例1～3のいずれか1つに記載の医薬組成物。
5. HCV感染によって引き起こされる肝線維症または肝臓癌の発症を防ぐために、HCV感染の治療または予防のために製造される、具体例4に記載の医薬組成物。
6. 細胞が、増加したレベルのインターフェロン刺激遺伝子転写産物を発現していることによって特徴付けられる、具体例1～5のいずれか1つに記載の医薬組成物。
7. インターフェロン刺激遺伝子転写産物が表5に挙げられたもののいずれか1つである、具体例6に記載の医薬組成物。
8. インターフェロン刺激遺伝子転写産物がIP-10 (CXCL10)、OAS1およびIFI44のうちのいずれか1つである、具体例7に記載の医薬組成物。
9. 細胞が臓器移植した対象におけるものであり、移植拒絶の予防のために製造される、具体例1～8のいずれか1つに記載の医薬組成物。
10. 臓器が肝臓である、具体例9に記載の医薬組成物。
11. miR-122を標的とする抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドが配列番号2-11、18、68、118、166、167、または75-102から選択される、具体例1～10のいずれか1つに記載の医薬組成物。
12. 抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドが配列番号2-11、18、68、118、166、167、または75-102のいずれか1つの配列を含むか、または該配列からなる、具体例11に記載の医薬組成物。
13. 抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドがヌクレオチドアナログを含む、具体例1～12のいずれか1つに記載の医薬組成物。
14. ヌクレオチドアナログの少なくとも1つが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸 (ANA) モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマーからなる群から選択される、具体例13に記載の医薬組成物。
15. ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA (2'-O-メトキシエチル-RNA)、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、具体例14に記載の医薬組成物。
16. ヌクレオチドアナログがロックド核酸 (LNA) である、具体例15に記載の医薬組成物。
17. 霊長類の肝臓におけるマイクロRNA-122の活性を阻害するために製造される、具体例1～16のいずれか1つに記載の医薬組成物。
18. 臓器移植を受け、移植拒絶の危険性がある患者の診断のために製造されるキットであって、表5における遺伝子転写産物のいずれか1つを検出するために製造されるキット。
19. IP-10 (CXCL10)、OAS1およびIFI44を検出するために製造される、具体例18に記載のキット。
20. 患者由来の尿試料中のIP-10レベルを検出するために製造される、具体例19に記載のキット。
21. 具体例1～17のいずれか1つに記載の組成物が、インターフェロン非応答者、または緩慢な応答者、部分的応答者、または再発者であるHCV感染対象の治療に使用される、治療方法。
22. 具体例1～17のいずれか1つに記載の組成物が臓器移植拒絶の予防のために使用される、治療方法。
23. 臓器が肝臓である、具体例22に記載の治療方法。

【0249】

さらなる具体例：

いくつかの態様において、本発明は、本明細書および具体例において記載された本発明の具体例と組み合わせてもよい本発明の下記の具体例によって説明されうる。下記の方法のほかに、本発明は、該マイクロRNAアンタゴニスト、例えば、マイクロRNA-

10

20

30

40

50

122アンタゴニスト（例えば、hsa-miR-122）の該方法のための使用、ならびに該方法において使用するためのマイクロRNAアンタゴニストを含むコンジュゲートおよび医薬組成物を包含する。さらに、本発明は、該治療方法のための医薬の製造におけるマイクロRNAアンタゴニストの使用を含む。対象は、典型的に、治療を必要とする霊長類（患者ともいう）、例えばヒトである。対象または細胞は、HCVに感染していてもよく、インターフェロンおよび／またはリバビリン治療に対して非応答性、または緩慢な応答性、部分的応答性、または再発としての病歴を有していてもよい。対象は、別の治療、例えば、インターフェロンおよび／またはリバビリン治療と組み合わせて、マイクロRNAアンタゴニストで治療されていてもよい。組み合わせ治療は、有効量の各組み合わせ治療剤を含む合わせた、または別々の医薬組成物の対象への投与をいう。組み合わせ剤は、必ずしも同じ時点で対象に提供される必要はないことが理解されるべきである。10
実際、第2および／または第3の治療剤をマイクロRNAアンタゴニストの投与の前、投与と同時にまたは投与の後に投与してもよい。いくつかの具体例において、マイクロRNAアンタゴニストは、第2または第3の剤（例えば、インターフェロンおよび／またはリバビリン）の前に投与してもよく、第2および／または第3の治療剤は後で適当な時点で、例えば、マイクロRNA阻害剤の投与の少なくとも1週間後、例えば、少なくとも2週間、例えば、少なくとも3週間後に投与される。適当には、第2および／または第3の治療剤は、マイクロRNA阻害剤の投与後、4ヶ月以内（いくつかの態様において、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10週以内）、例えば、マイクロRNA阻害剤の投与後、3ヶ月（いくつかの態様において、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10週）よりも後に投与される。いくつかの態様において、第2および／または第3の治療剤は、マイクロRNAアンタゴニストが患者／細胞中のHCV力価を減少させたらずぐに、またはインターフェロン刺激遺伝子転写産物の増加レベルに影響を及ぼしたとき（すなわち、インターフェロン刺激遺伝子転写産物のレベルの減少）、投与される。HCV力価の減少および／またはインターフェロン刺激遺伝子転写産物のレベルの減少は、いくつかの具体例において、少なくとも10%、例えば少なくとも20%、例えば少なくとも30%、例えば少なくとも40%、例えば少なくとも50%、例えば少なくとも60%、例えば少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも96%、例えば少なくとも97%、例えば少なくとも98%、例えば少なくとも99%であってもよい。20
30

【0250】

1. HCV感染対象を治療する方法であって、有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを該対象に投与することを含み、該対象がインターフェロン非応答者、または緩慢な応答者、部分的応答者、または再発者である、方法。
 2. HCV感染対象がさらに有効量のインターフェロンで治療される、具体例1に記載の方法。
 3. インターフェロンがペグ化されたインターフェロンアルファである、具体例2に記載の方法。
 4. HCV感染対象が有効量のレバビリンでさらに治療される、具体例1～3のいずれか1つに記載の方法。
 5. 有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを対象に投与することを含む患者において臓器移植拒絶を予防する方法であって、該対象が臓器移植患者である、方法。
 6. 患者がさらに有効量のインターフェロンで治療される、具体例5に記載の方法。
 7. 患者がさらにペグ化されたインターフェロンアルファで治療される、具体例5または6に記載の方法。
 8. 患者がHCV感染している、具体例5～7のいずれか1つに記載の方法。
 9. 移植された臓器が肝臓である、具体例5～8のいずれかに記載の方法。
 10. HCV感染細胞中のHCV力価を減少させる方法であって、有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを該細胞に投与することを含み、該細胞がインターフェロン治療に非応答性である、方法。
- 40
50

11. 細胞が肝臓細胞である、具体例11に記載の方法。
12. 細胞がインターフェロン刺激遺伝子転写産物の増加レベルを発現することによって特徴付けられる、具体例11に記載の方法。
13. インターフェロン刺激遺伝子転写産物が表5に挙げられるもののいずれか1つである、具体例12に記載の方法。
14. インターフェロン刺激遺伝子転写産物がIP-10 (CXCL10)、OAS1およびIFI44のいずれか1つである、具体例13に記載の方法。
15. 細胞が臓器移植された対象におけるものであり、組成物が移植拒絶の予防のために製造される、具体例10～14のいずれか1つに記載の方法。
16. 具体例5～9の方法を含む、具体例1～4のいずれか1つに記載の方法。
17. 具体例10～15の方法を含む、具体例1～4のいずれか1つに記載の方法。
18. 具体例10～15の方法を含む、具体例5～9のいずれか1つに記載の方法。
19. 対象が霊長類、例えばヒト、例えば治療を必要とするヒトである、具体例1～18のいずれか1つに記載の方法。

【0251】

治療方法に関係する本発明のさらなる具体例：

1. C型肝炎ウイルス(HCV)に感染した、インターフェロン療法にあまり応答しない対象を治療する方法であって、有効量のマイクロRNA-122(miR-122)アンタゴニストを該対象に投与することを含む方法。
2. HCVに感染した対象がインターフェロン非応答者、インターフェロンに緩慢な応答者、インターフェロン部分的応答者、または再発者である、具体例1に記載の方法。
3. HCVに感染した対象がインターフェロン非応答性である、具体例1または具体例2に記載の方法。
4. 治療の不在下で、該HCVに感染した対象が、インターフェロン治療に効果的に応答する非治療HCV患者と比べて増加した転写レベルの少なくとも1つのインターフェロン調節遺伝子(IRG)を示す、具体例1～3のいずれか1つに記載の方法。
5. 該少なくとも1つのIRGが表5に挙げられるIRGである、具体例4に記載の方法。
6. 該少なくとも1つのIRGがIP-10(CXCL10)、OAS1、IFI44、またはその組み合わせである、具体例4または具体例5に記載の方法。
7. 該miR-122アンタゴニスト投与が対象におけるIRG転写レベルを減少させる、具体例1～6のいずれか1つに記載の方法。
8. さらにインターフェロンを投与することを含む具体例1～7のいずれか1つに記載の方法であって、対象が該インターフェロン投与に対して改善された応答性を示すところの、方法。
9. 効力が必要とされるインターフェロン投与量が、インターフェロン単独でのHCV感染対象の治療と比べて減少される、具体例8に記載の方法。
10. インターフェロンがペグ化されたインターフェロンアルファである、具体例8または具体例9に記載の方法。
11. さらに有効量のリバビリンを投与することを含む、具体例1～10のいずれか1つに記載の方法。
12. インターフェロン治療にあまり応答しないHCV感染細胞中のHCV力価を減少させる方法であって、有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを該細胞に投与することを含む方法。
13. 細胞が肝臓細胞である、具体例12に記載の方法。
14. インターフェロンの不在下で、該HCV感染細胞が、インターフェロン治療に応答するHCV感染細胞と比べて増加した転写レベルの少なくとも1つのIRGを示す、具体例12または具体例13に記載の方法。
15. miR-122アンタゴニストが抗-miR-122オリゴヌクレオチドである、具体例1～14のいずれか1つに記載の方法。

10

20

30

40

50

16. 抗-miR-122オリゴヌクレオチドが、

- (i) ATTGTCACACTCC (2) (配列番号10)
- (ii) CCATTGTCACACTCC (3) (配列番号12)
- ATTGTCACACTCC (4) (配列番号10)
- (iii) CCATTGTCACACTCCA (5) (配列番号76)
- (iv) CCATTGTCACCCCTCC (6) (配列番号77)
- CCATTGTCACACTCC (7) (配列番号12)
- ATTGTCACACTCC (8) (配列番号10)
- ATTGTCACACTCC (9) (配列番号10)
- CCATTGTCACACTCCA (10) (配列番号76)
- CCATTGTCACACTCC (11--3649) (配列番号12)
- (v) TCACACTCC (18) (配列番号7)
- (vi) CACACTCC (68) (配列番号6)
- (vii) ACACTCC (118) (配列番号5)
- CCATTGTCACACTCC (166) (配列番号12)
- CACACTCC (167) (配列番号6)
- (viii) (75) TGCATGGATTGTGCACA (配列番号78)
- (ix) (76) TGCATGGATTGTGCAC (配列番号79)
- (x) (77) CATGGATTGTGCAC (配列番号80)
- (xi) (78) TGCATGGATTGTGCAC (配列番号81)
- (79) CATGGATTGTGCAC (配列番号80)
- (80) CATGGATTGTGCAC (配列番号80)
- (81) TGCATGGATTGTGCAC (配列番号79)
- (82) TGCATGGATTGTGCACA (配列番号78)
- (83) CCATTGTCACACTCCA (配列番号76)
- (xii) (84) CCATTGTAACTCTCCA (配列番号82)
- (85) CCATTGTCACACTCCA (配列番号76)
- (86) CCATTGTCACACTCC (配列番号12)
- (87) ATTGTCACACTCC (配列番号10)
- (88) CCATTGTCACACTCC (配列番号12)
- (89) ATTGTCACACTCC (配列番号10)
- (90) ATTGTCACACTCC (配列番号10)
- (91) ATTGTCACACTCC (配列番号10)
- (92) CCATTGTCACACTCC (配列番号12)
- (93) CCATTGTCACACTCCA (配列番号76)
- (94) CCATTGTCACACTCCA (配列番号76)
- (xiii) (95) TCACGATTAGCATTA (配列番号83)
- (xiv) (96) ATCACGATTAGCATTA (配列番号84)
- (xv) (97) TCACGATTAGCATTA (配列番号85)
- (xvi) (98) ATCACGATTAGCATTA (配列番号86)
- (xvii) (99) GAGCCGAACGAACAA (配列番号87)
- (xviii) (100) GCCGAACGAACAA (配列番号88)
- (xix) (101) GAGCCGAACGAACAA (配列番号89)
- (xx) (102) GCCGAACGAACAA (配列番号90)

および該抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの組み合わせ（括弧内に仮に配列番号が示される）（ここに、Cはシトシンまたは^MeCである）からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、具体例15に記載の方法。

17. 抗-miR-122オリゴヌクレオチドが、

- (i) ATTGTCACACTCC (2) (配列番号10)
- (ii) CCATTGTCACACTCC (3) (配列番号12)

A T T G T C A C A C T C C (4) (配列番号10)
 (i i i) C C A T T G T C A C A C T C C A (5) (配列番号76)
 (i v) C C A T T G T C A C C C T C C (6) (配列番号77)
 C C A T T G T C A C A C T C C (7) (配列番号12)
 A T T G T C A C A C T C C (8) (配列番号10)
 A T T G T C A C A C T C C (9) (配列番号10)
 C C A T T G T C A C A C T C C A (10) (配列番号76)
 C C A T T G T C A C A C T C C (11—3649)) (配列番号12)
 (v) T C A C A C T C C (18) (配列番号7)
 (v i) C A C A C T C C (68) (配列番号6) 10
 (v i i) A C A C T C C (118) (配列番号5)
 C C A T T G T C A C A C T C C (166) (配列番号12)
 C A C A C T C C (167) (配列番号6)
 (v i i i) (75) T G C A T G G A T T T G C A C A (配列番号78)
 (i x) (76) T G C A T G G A T T T G C A C (配列番号79)
 (x) (77) C A T G G A T T T G C A C (配列番号80)
 (x i) (78) T G C A T G G A T T T G C A C (配列番号81)
 (79) C A T G G A T T T G C A C (配列番号80)
 (80) C A T G G A T T T G C A C (配列番号80)
 (81) T G C A T G G A T T T G C A C (配列番号79) 20
 (82) T G C A T G G A T T T G C A C A (配列番号78)
 (83) C C A T T G T C A C A C T C C A (配列番号76)
 (x i i) (84) C C A T T G T A A C T C T C C A (配列番号82)
 (85) C C A T T G T C A C A C T C C A (配列番号76)
 (86) C C A T T G T C A C A C T C C (配列番号12)
 (87) A T T G T C A C A C T C C (配列番号10)
 (88) C C A T T G T C A C A C T C C (配列番号12)
 (89) A T T G T C A C A C T C C (配列番号10)
 (90) A T T G T C A C A C T C C (配列番号10)
 (91) A T T G T C A C A C T C C (配列番号10) 30
 (92) C C A T T G T C A C A C T C C (配列番号12)
 (93) C C A T T G T C A C A C T C C A (配列番号76)
 (94) C C A T T G T C A C A C T C C A (配列番号76)
 (x i i i) (95) T C A C G A T T A G C A T T A A (配列番号83)
 (x i v) (96) A T C A C G A T T A G C A T T A (配列番号84)
 (x v) (97) T C A C G A T T A G C A T T A A (配列番号85)
 (x v i) (98) A T C A C G A T T A G C A T T A (配列番号86)
 (x v i i) (99) G A G C C G A A C G A A C A A (配列番号87)
 (x v i i i) (100) G C C G A A C G A A C A A (配列番号88)
 (x i x) (101) G A G C C G A A C G A A C A A (配列番号89) 40
 (x x) (102) G C C G A A C G A A C A A (配列番号90)

および該抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの組み合わせ（括弧内に仮に配列番号が示される）（ここに、Cはシトシンまたは^Me Cである）からなる群から選択されるヌクレオチド配列からなる、具体例15に記載の方法。

18. 抗miR-122オリゴヌクレオチドが少なくとも1つのアナログを含む、具体例15～17のいずれか1つに記載の方法。

19. 該少なくとも1つのヌクレオチドアナログが、2'-O-メトキシエチル-RNA（2'-MOE-RNA）モノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、ロックド核酸（LNA）モノマー、cEtモノマー、cMOEモノマー、5'-Me-LNAモノマー、2'-（3-ヒ

10

20

30

40

50

ドロキシ) プロピル-RNAモノマー、アラビノ核酸 (ANA) モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、アンヒドロヘキシトール核酸 (HNA) モノマー、インターカレーティング核酸 (INA) モノマー、および該ヌクレオチドアナログの2以上の組み合わせからなる群から選択される、具体例18に記載の方法。

20. 該少なくとも1つのヌクレオチドアナログがLNAである、具体例18または具体例19に記載の方法。

21. 抗-miR-122オリゴヌクレオチドが、

(i) AttGtcAcaCtcC (2) (配列番号60)

(ii) ccAttGtcAcaCtcC (3) (配列番号59)

(iii) atTgtCacActCc (4) (配列番号58)

(iv) ccAttGtcAcaCtcCa (5) (配列番号56)

(v) cCaTtGtCaCcCtCc (6) (配列番号75)

(vi) cCatTgtCacActCc (7) (配列番号57)

(vii) AttGTcaCaCtCC (8) (配列番号62)

(viii) aTtGtCaCaCtCc (9) (配列番号61)

(ix) cCatTgtCacActCca (10) (配列番号54)

(x) CcAttGTcaCaCtCC (11-3649) (配列番号45)

(xi) TCACACTCC (18) (配列番号7)

(xii) CACACTCC (68) (配列番号6)

(xiii) ACACACTCC (118) (配列番号5)

CcAttGTcaCaCtCC (166) (配列番号45)

CACACTCC (167) (配列番号6)

(xiv) (75) tGcatGgaTttGcaCa (配列番号46)

(xv) (76) tGcatGgaTttGcaC (配列番号47)

(xvi) (77) CatGgaTttGcaC (配列番号48)

(xvii) (78) tGcatGgaTttGcaC (配列番号49)

(xviii) (79) cAtGgaTttGcaC (配列番号50)

(xix) (80) CatGgaTttGcaC (配列番号51)

(xx) (81) TgcatGgaTttGcaC (配列番号52)

(xxi) (82) TgcatGgaTttGcaCa (配列番号53)

(xxii) (83) cCatTgtCacActCca (配列番号54)

(xxiii) (84) cCatTgtAacTctCca (配列番号55)

(85) ccAttGtcAcaCtcCa (配列番号56)

(86) cCatTgtCacActCc (配列番号57)

(87) atTgtCacActCc (配列番号58)

(88) ccAttGtcAcaCtcC (配列番号59)

(89) AttGtcAcaCtcC (配列番号60)

(90) aTtGtCaCaCtCc (配列番号61)

(91) AttGTcaCaCtCC (配列番号62)

(92) CcAttGTcaCaCtCC (配列番号45)

(xxiv) (93) CcaTtgTcacActcCa (配列番号63)

(xxv) (94) CcAttgtcacacTCCa (配列番号64)

(xxvi) (95) tCacGatTagCatTaa (配列番号65)

(xxvii) (96) aTcaCgaTtaGcaTta (配列番号66)

(xxviii) (97) TcAcGatTAgCaTta (配列番号67)

(xxix) (98) AtcAcGatTAgCaTta (配列番号68)

(xxx) (99) gAgcCgaAcgAacAa (配列番号69)

(xxxi) (100) gcCgaAcgAacAa (配列番号70)

(xxxii) (101) GaGcCgaAcgAacAa (配列番号71)

(xxxiii) (102) GcCgaAcgAacAa (配列番号72)

10

20

30

40

50

および該抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの組み合わせ（括弧内に仮に配列番号が示される）（ここに、小文字はDNA単位の窒素含有塩基を示し、大文字は、RNA単位の窒素含有塩基を示し、Cおよびcは各々、独立して、シトシンまたは^MeCである）からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、具体例15～20のいずれか1つに記載の方法。

22. 抗-miR-122オリゴヌクレオチドが、

(i) AttGtcAcaCtcC (2) (配列番号60)

(ii) ccAttGtcAcaCtcC (3) (配列番号59)

(iii) atTgtCacActCc (4) (配列番号58)

(iv) ccAttGtcAcaCtcCa (5) (配列番号56)

10

(v) cCaTtGtCaCcCtCc (6) (配列番号75)

(vi) cCatTgtCacActCc (7) (配列番号57)

(vii) AttGTcaCaCtCC (8) (配列番号62)

(viii) aTtGtCaCaCtCc (9) (配列番号61)

(ix) cCatTgtCacActCca (10) (配列番号54)

(x) CcAttGTcaCaCtCC (11—3649) (配列番号45)

(xi) TCACACTCC (18) (配列番号7)

(xii) CACACTCC (68) (配列番号6)

(xiii) ACACACTCC (118) (配列番号5)

CcAttGTcaCaCtCC (166) (配列番号45)

20

CACACTCC (167) (配列番号6)

(xiv) (75) tGcatGgaTttGcaCa (配列番号46)

(xv) (76) tGcatGgaTttGcaC (配列番号47)

(xvi) (77) CatGgaTttGcaC (配列番号48)

(xvii) (78) tGcAtGgAtTtGcAc (配列番号49)

(xviii) (79) cAtGgAtTtGcAc (配列番号50)

(xix) (80) CatGGatTtGcAC (配列番号51)

(xx) (81) TgCatGGatTtGcAC (配列番号52)

(xxi) (82) TgCaTgGaTtTtGcACa (配列番号53)

(xxii) (83) cCatTgtCacActCca (配列番号54)

30

(xxiii) (84) cCatTgtAacTctCca (配列番号55)

(85) ccAttGtcAcaCtcCa (配列番号56)

(86) cCatTgtCacActCc (配列番号57)

(87) atTgtCacActCc (配列番号58)

(88) ccAttGtcAcaCtcC (配列番号59)

(89) AttGtcAcaCtcC (配列番号60)

(90) aTtGtCaCaCtCc (配列番号61)

(91) AttGTcaCaCtCC (配列番号62)

(92) CcAttGTcaCaCtCC (配列番号45)

(xxiv) (93) CcaTtgTcaCacActcCa (配列番号63)

40

(xxv) (94) CCAttgtcacacTCCa (配列番号64)

(xxvi) (95) tCacGatTagCatTaa (配列番号65)

(xxvii) (96) aTcaCgaTtaGcaTta (配列番号66)

(xxviii) (97) TcAcGatTAgCaTta (配列番号67)

(xxix) (98) AtcAcGatTAgCaTta (配列番号68)

(xxx) (99) gAgcCgaAcgAacAa (配列番号69)

(xxxi) (100) gcCgaAcgAacAa (配列番号70)

(xxxii) (101) GaGcCgAaCgAaCaA (配列番号71)

(xxxiii) (102) GcCgAaCgAaCaA (配列番号72)

および該抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドの組み合わせ（括弧内に仮に配列番号が示

50

される) (ここに、小文字はDNA単位の窒素含有塩基を示し、大文字は、LNA単位の窒素含有塩基を示し、Cおよびcは各々、独立して、シトシンまたは^M Cである) かなる群から選択されるヌクレオチド配列からなる、具体例15~20のいずれか1つに記載の方法。

23. 大文字のシトシンが^M Cである、具体例21または具体例22に記載の方法。

24. 抗-マイクロRNAオリゴヌクレオチドがホスホジエステルヌクレオチド間結合、ホスホロチオエートヌクレオチド間結合、またはその組み合わせを含む、具体例15~23のいずれか1つに記載の方法。

25. 抗-マイクロRNAオリゴヌクレオチドが少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオチド間結合を含む、具体例24に記載の方法。

26. 抗-マイクロRNAオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間結合の全てがホスホロチオエートヌクレオチド間結合である、具体例24または具体例25に記載の方法。

27. 対象が霊長類である、具体例1~11または15~26のいずれか1つに記載の方法。

28. miR-122アンタゴニストが霊長類の肝臓においてマイクロRNA-122の活性を阻害する、具体例27に記載の方法。

29. 霊長類がヒトである、具体例27または具体例28に記載の方法。

30. 対象が臓器移植患者である、具体例1~11または15~29のいずれか1つに記載の方法。

31. 移植された臓器が肝臓である、具体例30に記載の方法。

【0252】

方法の概要

実施例で使用されるLNA-修飾オリゴヌクレオチドは、完全ホスホロチオエート骨格を有する非コンジュゲートLNA/DNAミキシマーとして合成された。HCV複製アッセイのための2'-OMeオリゴヌクレオチドおよびantagomir-122は、記載のとおり合成された^{1,4,6}。セーライン処方(formulated)の化合物は、正常および高コレステロール血症C57BL/6Jマウスに、腹腔内注射によって投与され、コレステロールおよび血清トランスアミナーゼ測定のために、血液試料が収集された。肝臓試料は、RNA抽出、miRNA定量化および肝臓組織病理学のために調製された。マウス肝臓RNAのマイクロアレイ発現プロファイリングは、標準的なAffymetrixプロトコールにしたがって実施され、データはArray Expressデータベースに提出された。データ分析のために、標準的なBioconductor^{2,4}パッケージを用いた。社内のPerlスクリプトを用いて、転写産物3'UTRをmiR-122シードマッチ^{2,5}の存在について検索した。mRNA定量化は、標準的なTaqManアッセイ(Applied Biosystems)を用いて実施した。30匹の雌の薬物を投与していない若い成体アフリカミドリザルを6群(1群あたりn=5)に割り当て、1日1回、1、3、および5日目に、~10分かけて24ml/kg/hの速度で静脈内注射した。4つの処理群がリン酸緩衝化セーライン(PBS)または1、3もしくは10mg/kg PBS-処方LNA-antimimicRを投与され、その全てが肝臓生検を受け、一方、2つの群が肝臓生検なしにPBSまたは10mg/kg PBS-処方LNA-antimimicRを受けた。臨床化学および血液学測定のために、血液試料が収集された。全コレステロールは、マイクロタイタープレートにおいて酵素測定された。リポタンパク質コレステロール分布は、FPLCによって決定され、アポリポタンパク質レベルはELISAによって決定された。LNA-antimimicRのイン・サイチュ(in situ)検出は、FAM-標識LNAプローブおよびシアニン3-プラス・チラミド(Cyanine 3-Plus tyramide)(Perkin-Elmer)と組み合わせたHRP-コンジュゲートポリクローナルウサギ抗-FITC抗体(DAKO)を用いて、LNA-antimimicR処理したサルおよび対照サルの凍結肝臓切片上で実施された。肝臓RNAのノーザンブロット分析は、5' FAM-標識したLNA-修飾miR-122プローブおよび検出用ECLアドバンスドキット(GE Healthcare Life Sciences)と組

10

20

30

40

50

み合わせた抗フルオレセイン-HRP抗体（PerkinElmer, NEF710）を用いて実施された。

【0253】

具体例

1. 有効投与量の抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物であって、細胞へ投与するために製造される組成物。
2. 細胞が霊長類、例えばヒトにおけるものである、具体例1に記載の医薬組成物。
3. 細胞が肝臓細胞である、具体例1および2のいずれか1つに記載の医薬組成物。
4. 細胞がHCVに感染しており、HCV感染の治療のために製造される、具体例1～3のいずれか1つに記載の医薬組成物。 10
5. HCV感染によって引き起こされる肝線維症または肝臓癌の発症を予防するために、HCV感染の治療または予防のために製造される、具体例4に記載の医薬組成物。
6. 細胞が、増加したレベルのインターフェロン刺激遺伝子転写産物を発現することによって特徴付けられる、具体例1～5のいずれか1つに記載の医薬組成物。
7. インターフェロン刺激遺伝子転写産物が表5に挙げられたもののいずれか1つである、具体例6に記載の医薬組成物。
8. インターフェロン刺激遺伝子転写産物がIP-10（CXCL10）、OAS1およびIFI44のいずれか1つである、具体例7に記載の医薬組成物。
9. 細胞が臓器移植された対象におけるものであり、組成物が移植拒絶の予防のために製造される、具体例1～8のいずれか1つに記載の医薬組成物。 20
10. 臓器が肝臓である、具体例9に記載の医薬組成物。
11. miR-122を標的とする抗マイクロRNAオリゴヌクレオチドが配列番号2-11、18、68、118、166、167または75-102から選択される、具体例1～10のいずれか1つに記載の医薬組成物。
12. 抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドが配列番号2-11、18、68、118、166、167、または75-102のいずれか1つの配列を含むか、または該配列からなる、具体例11に記載の医薬組成物。
13. 抗マイクロRNA-122オリゴヌクレオチドがヌクレオチドアナログを含む、具体例1～12のいずれか1つに記載の医薬組成物。
14. ヌクレオチドアナログの少なくとも1つが、2'-O-アルキル-RNAモノマー、2'-アミノ-DNAモノマー、2'-フルオロ-DNAモノマー、LNAモノマー、アラビノ核酸（ANA）モノマー、2'-フルオロ-ANAモノマー、HNAモノマー、INAモノマーからなる群から選択される、具体例13に記載の医薬組成物。 30
15. ヌクレオチドアナログが独立して、2'-MOE-RNA（2'-O-メトキシエチル-RNA）、2'-フルオロ-DNA、およびLNAからなる群から選択される、具体例14に記載の医薬組成物。
16. ヌクレオチドアナログがロックド核酸（LNA）である、具体例15に記載の医薬組成物。
17. 霊長類の肝臓におけるマイクロRNA-122の活性を阻害するために製造される、具体例1～16のいずれか1つに記載の医薬組成物。 40
18. 臓器移植を受けており、移植拒絶の危険性がある患者の診断のために製造されるキットであって、表5における遺伝子転写産物のいずれか1つを検出するために製造されるキット。
19. IP-10（CXCL10）、OAS1およびIFI44を検出するために製造される、具体例8に記載のキット。
20. 患者由来の尿試料中のIP-10レベルを検出するために製造される、具体例9に記載のキット。
21. 具体例1～17のいずれか1つに記載の組成物がインターフェロン非応答性であるHCV感染対象の治療のために使用される、治療方法。
22. 具体例1～17のいずれか1つに記載の組成物が臓器移植拒絶の予防のために使用 50

される、治療方法。

23. 臓器が肝臓である、具体例22に記載の治療方法。

24. 有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストをHCV感染対象に投与することを含み、該対象がインターフェロン非応答性である、HCV感染対象を治療する方法。

25. HCV感染対象がさらに、有効量のインターフェロンで治療される、具体例24に記載の方法。

26. インターフェロンがペグ化されたインターフェロンアルファである、具体例25に記載の方法。

27. HCV感染対象がさらに、有効量のリバビリンで治療される、具体例24～26のいずれか1つに記載の方法。

28. 有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを対象に投与することを含み、該対象が臓器移植患者である、患者において臓器移植拒絶を予防する方法。

29. 患者がさらに、有効量のインターフェロンで治療される、具体例28に記載の方法。

30. 患者がさらに、ペグ化されたインターフェロンアルファで治療される、具体例28または29に記載の方法。

31. 患者がHCV感染している、具体例28～30のいずれか1つに記載の方法。

32. 移植された臓器が肝臓である、具体例28～31のいずれか1つに記載の方法。

33. HCV感染細胞中のHCV力価を減少させる方法であって、有効量のマイクロRNA-122アンタゴニストを該細胞に投与することを含み、該細胞がインターフェロン治療に対して非応答性である、方法。

34. 細胞が肝臓細胞である、具体例33に記載の方法。

35. 細胞が、増加したレベルのインターフェロン刺激遺伝子転写産物を発現することによって特徴付けられる、具体例33に記載の方法。

36. インターフェロン刺激遺伝子転写産物が表5に挙げられるもののいずれか1つである、具体例35に記載の方法。

37. インターフェロン刺激遺伝子転写産物がIP-10(CXCL10)、OAS1およびIFI44のいずれか1つである、具体例36に記載の方法。

38. 細胞が臓器移植を受けた対象におけるものであり、組成物が移植拒絶の予防のために製造される、具体例33～37のいずれか1つに記載の方法。

39. 具体例28～32の方法を含む、具体例24～27のいずれか1つに記載の方法。

40. 具体例33～38の方法を含む、具体例24～27のいずれか1つに記載の方法。

41. 具体例33～38の方法を含む、具体例28～32のいずれか1つに記載の方法。

42. 対象が霊長類、例えば、ヒト、例えば、治療を必要とするヒトである、具体例24～41のいずれか1つに記載の方法。

【0254】

参考文献リスト

1. Ambros, V. The functions of animal microRNAs. Nature 431, 350-355 (2004).

2. Bartel, D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 116, 281-297 (2004).

3. Kloosterman, W.P. & Plasterk, R.H. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. Dev. Cell 11, 441-450 (2006).

4. Soifer, H.S., Rossi, J.J. & Saetrom, P. MicroRNAs in Disease and Potential Therapeutic Applications. Mol Ther (2007).

5. Esau, C. et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. Cell Metab 3, 87-98 (2006).

6. Krutzfeldt, J. et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. Nature 438, 685-689 (2005).

10

20

30

40

50

7. Grimson, A. et al. MicroRNA targeting specificity in mammals : determinants beyond seed pairing. *Mol Cell* 27, 91-105 (2007).
8. Alvarez-Garcia, I. & Miska, E.A. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development* 132, 4653-4662 (2005).
9. Abelson, J.F. et al. Sequence variants in SLITRK1 are associated with Tourette's syndrome. *Science* 310, 317-320 (2005).
10. Calin, G.A. & Croce, C.M. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat. Rev. Cancer* 6, 857-866 (2006).
11. Eisenberg, I. et al. Distinctive patterns of microRNA expression in primary muscular disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 17016-17021 (2007). 10
12. Esquela-Kerscher, A. & Slack, F.J. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 6, 259-269 (2006).
13. He, L. et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 435, 828-833 (2005).
14. Jopling, C.L., Yi, M., Lancaster, A.M., Lemon, S.M. & Sarnow, P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 309, 1577-1581 (2005).
15. Lu, J. et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 435, 834-838 (2005). 20
16. Pedersen, I.M. et al. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature* 449, 919-922 (2007).
17. Triboulet, R. et al. Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science* 315, 1579-1582 (2007).
18. van Rooij, E. et al. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science* 316, 575-579 (2007).
19. Yang, B. et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nat. Med.* 13, 486-491 (2007).
20. Randall, G. et al. Cellular cofactors affecting hepatitis C virus infection and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 12884-12889 (2007). 30
21. Krutzfeldt, J. et al. Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs. *Nucleic Acids Res* 35, 2885-2892 (2007).
22. Elmen, J. et al. Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA-antimiR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. *Nucleic Acids Res* (2007).
23. Lim, L.P. et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 433, 769-773 (2005).
24. Gentleman, R.C. et al. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biol* 5, R80 (2004). 40
25. Lewis, B.P., Burge, C.B. & Bartel, D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 120, 15-20 (2005).
26. Feld, J.J., Lutchman, G.A., Heller, T., Hara, K., Pfeiffer, J.K., Leff, R.D., Meek, C., Rivera, M., Ko, M., Koh, C., Rotman, Y., Ghany, M.G., Haynes-Williams, V., Neumann, A.U., Liang, T.J., and Hoofnagle, J.H.. Ribavirin improves early responses to peginterferon through enhanced interferon signaling. *Gastroenterology*, 2010 in press.

【0255】

実施例1

本実施例において使用したオリゴヌクレオチド。非コンジュゲート型LNA-改変 anti mi R-122 DNAオリゴヌクレオチドは、完全なホスホロチオエート骨格を用いて合成したが、ただし、取り込み研究については50%のホスホロチオエートまたはホスホジエステル骨格を有するさらなるLNAオリゴヌクレオチドを用いた。高アフィニティーLNA-anti mi R-122の配列は：5'-CcAttGTcaCaCtCC-3'（配列番号11）であり、マウス研究において用いたLNAミスマッチオリゴヌクレオチドは：5'-CcAttCTcaCaCtGC-3'（配列番号200）であり、C型肝炎ウイルス（HCV）複製アッセイに用いたLNA対照は：5'-CcAttCTgaCcCtAC-3'（配列番号201）であった（LNAは大文字、DNAは小文字）。HCV複製アッセイのための2'-OMeオリゴヌクレオチドおよび anti agomir-122は記載されているようにして合成した^{14, 6}。

【0256】

表4

【表6】

配列番号	Tm(°C)	配列 5'-3' (! 大文字は LNA, 小文字は DNA)	
1		uguuugugguaacagugugaggu	miR-122 3'-5'
2	62	AttGtcAcaCtcC	
3	65	ccAttGtcAcaCtcC	
4	66	atTgtCacActCc	
5	70	ccAttGtcAcaCtcCa	
6	72	cCaTtGtCaCcCtCc	
7	73	cCatTgtCacActCc	
8	74	AttGTcaCaCtCC	
9	75	aTtGtCaCaCtCc	
10	76	cCatTgtCacActCca	
11	80	CcAttGTcaCaCtCC	選択された LNA- antimiR,
200		CcAttCTcaCaCtGC	LNA ミスマッチ マウス
201		CcAttCTgaCcCtAC	LNA 対照

表4：相補的成熟miR-122 RNAに対するオリゴのTm、オリゴの配列。すべてのオリゴヌクレオチドは、s10以外完全にチオール化されており（thiolated）、s10は部分的にチオール化されている（antagomir、Kreutzfeldt et al., 2005参照）。成熟miR-122は3'から5'方向にて示されており、切断部位は太字で示されており、シード（seed）には下線が付されている。

【0257】

実施例2

インビボ実験。C57BL/6J雌性マウスに、二日に一回、五日間にわたって、セーラインまたはセーライン処方LNA-anti mi R、antagomir-122またはLNAミスマッチ対照を投与し、マウスが10ml/kgの注入量を受けることを可能とし、一日腹腔内用量は1から25mg/kgの範囲とした。マウスを処置の48時間後に屠殺した。屠殺に先だって、後眼窩洞血液をEDTAにより被覆したチューブ中に採取した後、血漿画分を単離し、総コレステロールを、ABX Pentra Cholesterol CP（Horiba ABX Diagnostics）を用いて測定した。マウス用量応答研究において、1から200mg/kgの範囲のLNA-anti mi Rの単回腹腔内注射を投与し、血漿コレステロールを処置の6日後に測定した。高脂肪給

餌による肥満マウスモデルを、高脂肪食（D12492、Research Diets）を13週間C57BL/6J雌性マウスに給餌することによって作成した。高コレステロール血症マウスを週に2回の5mg/kgのLNA-anti mi RまたはLNA対照の腹腔内用量により6週間処置した。血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）レベルを酵素アッセイ（Horiba ABX Diagnostics、France）を用いて測定した。

【0258】

30頭の薬剤の影響を受けていない（drug-naive）雌の若い成体アフリカミドリザルを6つの処置群（n=5/群）に分け、1、3、および5日目に、伏在静脈に挿入したカテーテルを介して24ml/kg/hの速度で~10分かけて静脈内注入によって1日1回投薬した。すべて肝生検を受けさせた4群を、リン酸緩衝セーライン（PBS）または1、3もしくは10mg/kgのPBS-製剤化LNA-anti mi Rで処置し、2群には肝生検を受けさせずにPBSまたは10mg/kgのPBS-製剤化LNA-anti mi Rを与えた。動物を投薬の前および最中ならびに生検および瀉血時点においてケタミン（7.5mg/kg）およびキシラジン（1.5mg/kg）で鎮静させた。右および左の葉から2つのコア生検を得るために処置後1日目および90日目に経皮肝生検を行った。それぞれの生検の半分は直ちにRNA later（Qiagen）中に浸し、残りの生検は、ヘマトキシリン・エオシン染色のためのパラホルムアルデヒド中での固定およびインサイチュ分析のための冷凍保存に分けた。血液サンプルを表面静脈穿刺を介して処置の前および24時間後に生検を受けた動物について得、一方さらなる血液サンプルを研究にわたってすべての処置群について採取した。サンプル採取は餌を与えない12時間の期間の後かつ給餌の前に行うことにより、コレステロール測定に対する食餌効果を最小にした。

【0259】

実施例3

霊長類血液学、臨床化学および血漿脂質測定およびリポタンパク質分析。血液学測定は、光学的および機械的方法および自動細胞計数器によって実施し、一方、臨床化学は、Antech Diagnosticsによる、Hitachi 747分析システムを用いて測定した。総血漿コレステロールは、マイクロタイタープレート中で酵素的に測定した。リポタンパク質およびコレステロール分布は、高速タンパク質液体クロマトグラフィー（FPLC）により測定し、アポリポタンパク質は、Wake Forest UniversityにてDr. Martha WilsonによってELISAを用いて測定した。

【0260】

実施例4

インサイチュハイブリダイゼーション。LNA-anti mi Rの検出は、10μmの霊長類肝臓低温切開片に対して行った。スライドを解凍し、4%パラホルムアルデヒド中で10分間室温で固定し、無水酢酸/トリエタノールアミン中で処理し、次いでPBSですすいだ。スライドを、50%ホルムアミド、5xSSC、500ug/mL酵母tRNA、1xデンハルト溶液中で48℃で30分間プレハイブリダイズさせた。LNA-anti mi Rの検出は、肝臓切片に48℃で30分間ハイブリダイズさせた相補的FAM-標識化LNAプローブを用いて行い、次いで3x10分間の0.1xSSC中でのハイブリダイゼーション後洗浄を52℃で行った。3%H₂O₂に10分間曝した後、スライドをブロッキングバッファー（0.1M Tris、0.15mM NaCl）および1%ブロッキング試薬（TNB、Perkin Elmer TSA kit）とともに15分間、次いで、セイヨウワサビペルオキシダーゼに結合させたポリクローナルウサギ抗-FITC抗体（DAKO、TNB中1:500）とともに30分間ブレインキュベートした。スライドを0.3%Triton-X100を含むTNバッファーによりすすぎ、Cyanine 3-Plus tyramide（Perkin-Elmer、増幅バッファー中1:100）とともにインキュベートした。スライドをすすぎ、DAPIを含むV

ectashield (Vector Laboratories) に載せ、CCDカメラ (Leica Microsystems) を備えた Leica 落射蛍光顕微鏡およびNIS-Elementsソフトウェアを用いて分析した。

【0261】

実施例5

マイクロアレイ発現プロファイリングおよびmiR-122 標的部分析。高コレステロール血症マウスからの肝臓RNAを標識し、製造業者の指示に従ってAffymetrix Mouse Genome 430 2.0アレイにハイブリダイズさせた。affyパッケージからの発現機能 (expresso function) を、rmaに基づくバックグラウンド補正、変位値正規化およびLi and Wong 要約法のBioconductor's²⁴ 実行による要約 (summarizing) プロブセットを用いる低レベルデータ分析のために使用した。発現プロファイルを、ユークリッド距離尺度およびWard's アグロメレーション法を用いる階層クラスタリングに供した。アレイデータをArray Express データベースに入れた。Affymetrix プロブセットを、Ensembl 遺伝子および転写産物に対してEnsembl-Biomartを用いてマッピングした。転写産物の3' UTRは、研究室内の (in-house) Perl スクリプトを用いてmiR-122 シードマッチ²⁵ についてサーチした。遺伝子を選択的 (alternative) 3' UTRを有していた場合は、最も長い配列のみを用いた。

【0262】

実施例6

ノーザンブロット分析およびリアルタイムRT-PCR。Trizolで抽出された肝臓RNA (10-15 µg/サンプル) を、15%変性Novex TBE-Ureaポリアクリルアミドゲル (Invitrogen) にて電気泳動し、Zeta Probe plusメンブレン (Biorad) にトランスファーし、Ultraspeed (Ambion) 中にて45℃で一晩5' FAM-標識化LNA-改変miR-122 プロブとハイブリダイズさせた。メンブレンを低ストリンジェンシー洗浄溶液 #1 (Ambion) 中で45℃で2x30分間洗浄し、PBSTで2回すすぎ、ECLアドバンスドブロッキング溶液 (GE Healthcare Life Sciences) 中で1時間室温でブロッキングし、次いでPBSTで2回すすいだ。抗フルオレセイン-HRP抗体 (PerkinElmer, NEF710) (ブロッキング溶液中1:1000) をメンブレンとともに室温で1時間インキュベートし、次いでPBSTで2回すすぎ、PBSTで25℃で15分間、次いで3x5分間洗浄した。ECLアドバンスドキットを検出のために用い (GE Healthcare Life Sciences)、VersaDoc イメージングシステム (Biorad) で可視化した。mRNA定量は、TaqManアッセイおよび7500リアルタイムPCR装置 (Applied Biosystems) を用いて行った。

【0263】

実施例7

miR-122のインビボ標的化。インビボでのmiR-122 標的化のための効率的なアプローチを開発するために、本発明者らはまず、miR-122 についてのルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて培養HuH-7細胞における様々なLNA-改変DNAオリゴヌクレオチド (LNA-antimiR) の強度を評価した。本発明者らのスクリーニングは、miR-122 機能の障害がアフィニティー依存的であることを示し、高アフィニティーLNA-antimiR (>50% LNA、 $T_m = 80^\circ\text{C}$) を同定し、これは、5 nMの濃度でルシフェラーゼレポーターの有効な抑制解除を媒介した。このオリゴヌクレオチドは、HCV-NレプリコンNeo/C-5Bを有するHuH-7細胞におけるHCV複製の障害においてより低いアフィニティーを示す2'-O-メチルオリゴヌクレオチドおよび2つのLNA-antimiRと比較して改善された強度を示した。さらに、HeLa細胞における3つのさらなるmiRNAのサイレンシングのために適用

した場合、本発明者らの LNA-anti-miR 設計はすべての標的化された miRNA について高い強度を示した。

【0264】

次に、本発明者らは、高アフィニティー LNA-anti-miR とホスホロチオエート (PS) 改変とを組み合わせることにより、さらなる接合 (conjugation) 化学を用いずに miR-122 のインビボ送達およびサイレンシングが可能となりうるかどうかを調べた。図 1a に示すように、マウス肝臓における非接合型 LNA-anti-miR の取り込みが、完全な PS 骨格を有するセーライン-製剤化 LNA-anti-miR の 3 回の腹腔内 (i.p.) 注入により達成された。これはノーザンブロットにおけるシフトしたバンドの検出と一致し (図 1a)、成熟 miR-122 が LNA-anti-miR とのヘテロ二重鎖中に隔離されていることを示す。

10

【0265】

miR-122 機能の LNA-媒介拮抗作用は、直接の miR-122 標的であるアルドラーゼ A⁶ (Aldoa) の 3 倍の抑制解除を導いた (図 1b)。注目すべきことに、1mg/kg ~ 200mg/kg の範囲の用量での LNA-anti-miR の単回腹腔内注射の結果、10mg/kg の有効用量 (ED₅₀) にての総血漿コレステロールの強力な用量依存的かつ持続的な低下が導かれた (図 1c)。さらに、1 ~ 25mg/kg の 3 回の注入の範囲の用量の腹腔内送達された LNA-anti-miR は、同じ投与計画を用いてコレステロール-接合型 antagomir-122^{6, 21} または 30% のみの LNA およびより低いアフィニティー²² を有する (T_m = 70°C) ホスホロチオール化 LNA-anti-miR のいずれかで処置されたマウスと比較して、miR-122 の拮抗において顕著に改善された効率を示した。これは antagomir-122 による効率的な miR-122 のサイレンシングは 3x40mg/kg ~ 3x80mg/kg というより高い用量を必要としたというマウスにおける以前の報告²¹ と一致しているが、一方、本発明者らの知見は、LNA が顕著により低用量にてインビボで強力な miR-122 拮抗作用を媒介することができる高度に置換された LNA-anti-miR オリゴヌクレオチドの設計を可能とすることを示す。

20

【0266】

実施例 8

食事性肥満マウスにおける miR-122 の拮抗。実施例 7 における結論を確認するために、本発明者らは、5mg/kg の LNA-anti-miR の週に 2 回の 6 週間の腹腔内用量を用いて高脂肪給餌による肥満マウスモデルにおいて miR-122 を拮抗させたところ、成熟 miR-122 の効率的な隔離が起こり、血清中の肝毒性マーカーまたは肝臓脂質蓄積の上昇を示さずに、総コレステロールの 30% の持続した低下が起こった (図 1d および 1e)。一方、セーラインまたは LNA ミスマッチ対照のいずれかによる処置はコレステロールレベルに影響を及ぼさず、両方の群におけるノーザンブロットによる成熟 miR-122 の検出と一致した (図 1d および 1e)。LNA-anti-miR 処置によって起こったが、LNA ミスマッチ処置マウスにおいては起こらなかった miR-122 標的遺伝子である、Aldoa (図 1f) および Bckdk²² (データ示さず) の顕著な抑制解除は、LNA-anti-miR による miR-122 のインビボでの拮抗作用が特異的であることを示す。この知見と一致して、肝臓遺伝子発現データのクラスタリングにより、すべての LNA-anti-miR-処置動物 (n = 5/群) が、系統樹の同じ主な枝上の均一なクラスターによって示されるように、高度に類似した発現プロファイルを有することが明らかになり、この主な枝はセーラインおよび LNA ミスマッチ対照群からは分枝したものであった (図 1g)。miRNA の拮抗作用または異所性発現は、mRNA の上昇または低下を導くことが以前に示されており、それは miRNA シードマッチの 3' UTR における豊富化を示す^{6, 7, 22, 23}。実際、miR-122 シードマッチの存在と発現変化との相関関係は、miR-122 に対するシードマッチを有するメッセージは、LNA-anti-miR-処置動物において対照マウスにおけるものと比較して抑制解除される傾向にあることを確認した (図 1h、Kolmogorod-Sm

30

40

50

i r n o v 検定、シード + t l A + m 8 について $p = 2.4 \times 10^{-14}$)。これは L N A - a n t i m i R 処置マウスにおける肝臓 m R N A 変化が主に m i R - 1 2 2 のサイレンシングに起因することを示す。

【0267】

実施例 9

霊長類研究。本発明者らの L N A - a n t i m i R アプローチが、非ヒト霊長類における m i R - 1 2 2 拮抗作用のために用いることが可能かを調べるために、本発明者らは、アフリカミドリザル (C h l o r o c e b u s a e t h i o p s) において有効性研究を行った。薬物による影響を受けていない雌のアフリカミドリザルにおける、1 ~ 1 0 m g / k g (n = 5 / 群) の範囲の用量の 3 回の静脈内注入でのリン酸緩衝セーライン (P B S) - 製剤化 L N A - a n t i m i R の全身投与の結果、霊長類において総血漿コレステロールの用量依存かつ持続的な低下が起こり (図 2 a)、これは、m i R - 1 2 2 が拮抗されたマウスにおいて観察されたコレステロール低下と一致する。3 x 1 0 m g / k g の高用量の L N A - a n t i m i R を投与された霊長類は、処置の 2 3 日後に 4 0 % の最大コレステロール低下を示したが ($p = 0.001$)、一方、中程度の用量の群 (3 x 3 m g / k g の L N A - a n t i m i R) は同じ時点において 2 0 % のコレステロール低下を示した ($p = 0.02$) (図 2 a)。経時的に観察された総コレステロールレベルにおける変動にもかかわらず、コレステロール低下に対する効果は、対照サルに対して正規化された各処置群のコレステロール傾向プロットにより示されるように明らかに用量依存的であった (図 2 b)。L N A - a n t i m i R で処置されたサルの最後の投薬の 2 4 時間後に行われた肝生検から抽出された R N A サンプルのノーザンプロット分析は、シフトした L N A - a n t i m i R : m i R - 1 2 2 ヘテロ二重鎖の用量依存的蓄積および成熟 m i R - 1 2 2 のセーライン - 処置対照サルサンプルと比較した枯渇によって示されるように、m i R - 1 2 2 のサイレンシングを確認した (図 2 c)。さらに、凍結サル肝生検におけるインサイチュハイブリダイゼーション (I S H) は、処置したサルの肝臓切片においては L N A - a n t i m i R の蓄積を示したが、セーライン対照のものにおいては示さず (図 2 d)、一方、高分解能 I S H は、L N A - a n t i m i R は霊長類肝細胞の細胞質に主に局在していることを示した (図 2 e)。

【0268】

興味深いことに、霊長類における m i R - 1 2 2 の L N A - 媒介拮抗作用は、総血漿コレステロールの低下によって測定されるように、高用量 L N A - a n t i m i R 群において 7 週間 ($p < 0.05$ 、両側 t - 検定)、中程度の用量群において 5 週間 ($p < 0.05$) (図 2 b) にわたり、効果的かつ長期持続性であった。コレステロールレベルは、L N A - a n t i m i R 処置後 3 ヶ月の期間かけてベースラインにむかって徐々に回復し、これは、L N A - a n t i m i R 処置の開始の 9 6 日後に行った第二のセットのサル肝生検においてそれぞれノーザンプロットおよび I S H によって検出される、成熟 m i R - 1 2 2 レベルの正常化および L N A - a n t i m i R 化合物の肝臓からのクリアランスと一致する (図 2 c およびデータ示さず)。高密度リポタンパク質 (H D L) およびその主要なアポリポタンパク質、A p o A - I ならびに低密度リポタンパク質 (L D L)、およびその主要なアポリポタンパク質、A p o B の両方における低下が L N A - a n t i m i R - 処置サルにおいて検出され、これは m i R - 1 2 2 を拮抗されたマウスにおける以前の知見⁵と一致する。高用量およびセーライン動物の間の A p o A - I / A p o B 比の相違は統計的に有意ではなかったが ($p > 0.05$ 、各日において両側 t - 検定)、その比は高用量群においてわずかに低いようであり、A p o A - I および H D L に対するより顕著な効果を示唆している。

【0269】

実施例 10

霊長類実験における毒性研究。本発明者らは、臨床化学によって示されるように、L N A - a n t i m i R 処置霊長類において急性または亜慢性毒性を観察しなかった。臨床化学では処置群の研究にわたってすべての測定値について正常限界の範囲内であったが、例

外としてクレアチニンホスホキナーゼ（CPK）、AST、ALT、およびビリルビンにおいて一過性の肝臓生検に関連する急上昇がみられた。注目すべきことに、LNA-antimiR処置と関連した血液凝固プロファイルにおける変化はなかった（図3a）。さらに、肝生検の組織病理調査は、LNA-antimiR処置霊長類において処置に関連する異常はないことを明らかにした（図3b）。LNA-antimiR処置の安全性評価における肝臓生検に関連する毒性を解離するために、高用量の $3 \times 10 \text{ mg/kg}$ のLNA-antimiRまたはセーラインでそれぞれ処置された2つのさらなる非生検群（ $n=5$ ）を霊長類研究に含めた。本発明者らは、セーライン対照と比較しての $3 \times 10 \text{ mg/kg}$ のLNA-antimiR処置後の血漿トランスアミナーゼであるALTおよびAST、ビリルビン、CPKおよびクレアチニンにおける上昇の非存在によって示されるように、これらの動物において肝毒性または腎毒性をまったく観察しなかった（図3a）。すべての研究動物が、LNA-antimiR化合物およびサンプル収集手順の両方に良好な耐容性を示したこと、および、すべての動物が、LNA-antimiR処置後少なくとも10ヶ月間は良好な健康状態であったことは注目に値する。

【0270】

実施例11

antimiR-122オリゴヌクレオチドの使用によるHCV感染チンパンジーにおけるウイルス力価の長期ダウンレギュレーション。原理の証明を示し、抗ウイルス強度を判定するために研究を設計した。各動物をそれ自体の対照として用い、即ち、2プラセボ用量（セーライン）を活性の処置の前のベースラインの間に投与した。チンパンジーを選択したのは、チンパンジーはHCVにより感染されることができ（ヒト以外の）唯一の種であり、したがってヒトにおける使用の前の薬物の有効性試験に好適な唯一の動物モデルであるからである。また、チンパンジーにおける薬剤標的の配列（sequence）相同性はヒトに対しておそらく100%であるからである。動物に15分間かけて週に1回、12週間静脈内注入として12用量を投与した。低用量動物（ 4×0358 ）には 1 mg/kg 体重を投与し、高用量動物（ 4×0513 および 4×0514 ）には 5 mg/kg 体重を投与した。ウイルス血症を血清ウイルス負荷として週に1回評価し、フォローアップの最後の週には2週間毎に評価した。それは1mLの血清当たりのウイルスRNAのゲノム当量[GE]にて報告する。チンパンジーにおける処置のために用いたオリゴヌクレオチドは、配列：5'-CcAttGTcCaCaCtCC-3'を有するセーライン製剤化LNAオリゴヌクレオチドであった。ウイルス力価を、TaqManプローブを用いる定量的リアルタイムPCRによって測定した。サンプルを（Lanford, R. E., Guerra, B., Lee, H., Averett, D. R., Pfeiffer, B., Chavez, D., Notvall, L., and Bigger, C. (2003) アルファインターフェロン、ガンマインターフェロン、ポリ(I)-ポリ(C)、腫瘍壊死因子アルファ、およびC型肝炎ウイルスサブゲノムレプリコンにおけるリパジンに反応する抗ウイルス効果およびウイルス-宿主相互作用, *Journal of Virology* 77, 1092-1104)に記載されているようにABI 7500配列検出器を用いるTaqManアッセイに供した。

【0271】

実験動物における力価測定からのデータを図4に示す。

【0272】

低用量動物であるチンパンジー 4×0358 は、ウイルス血症のレベルが低下し始めた70日目までウイルス力価の有意な低下を示さず、最後の投薬の12週間後の175日目まではベースラインを下まわって維持された。ウイルス力価の最大の低下は105日目に起こり、34-倍の低下を示した。ウイルス血症は研究期間の最後である210日目までにベースライン値を下回る1.8-倍まで戻った。

【0273】

高用量動物であるチンパンジー 4×0513 は、28日の後にウイルス力価が低下し始めた。この動物はウイルス血症の一貫した低下を示し、最大の低下は98日目に起こり、

ウイルス血症が395倍低下した。ウイルス血症は研究の最後までベースラインを下回って維持され、ベースラインの7.7倍の範囲まででゆっくりと上昇したのみであった。

【0274】

高用量動物であるチンパンジー4x0514は、4x0513と類似のプロファイルを示した。ウイルス血症の一貫した低下が28日目に開始し、92日目にウイルス血症の317倍の最大低下が起こり、低下は継続した。4x0513と同様に、ウイルス血症は次いで低く維持され、研究の最後までにベースライン値にゆっくりと上昇した。

【0275】

結論として、処置動物はすべて活性の処置の結果としてウイルス血症の低下を示した。効果の開始は、用量に依存して研究の28日目と70日目の間に明白になった。ウイルス血症は活性の処置の最後まで良好に低下したままであり、効果は最低8週間持続した。

【0276】

実施例12

遺伝子発現分析によって評価したHCV感染チンパンジーのantimiR-122処置の有効性

HCV遺伝子型1a（雌B、雄C、雌D）または1b（雌A）に慢性に（8～10年間）感染した4頭の成体チンパンジーを1mg/kg（動物AおよびB）または5mg/kg（動物CおよびD）の静脈内用量により毎週12週間処置した。動物はそれら自身の対照とし、媒体（セーライン）の2回の注入を活性の処置の期間の前の週に投与した。動物を最後の注入の後少なくとも12週間追跡した。ウイルス負荷（ウイルス血症）を血清サンプルについて定期的に判定した。ウイルス血症、肝臓ウイルス負荷およびコレステロールおよびIP-10などのバイオマーカーの低下は用量および時間依存的であった。ウイルス血症は5mg/kgの用量レベルにて2.6log低下し、処置の最後の後10週間まで長期持続効果が経験された。

【0277】

全RNAを動物（4x0267=A；4x0358=B；4x0513=C；4x0514=D）の肝臓生検組織の画分から抽出し、Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0アレイで標準の手順にしたがって分析した。低レベル分析を注文作成のChip Definition Fileを用いて行い、ここで、アレイ上のすべてのプローブは最新のPan Troglodytes UniGene Buildおよびゲノム配列に対してBLASTに供され、その結果、プローブは真のチンパンジープローブセットへと再マッピングされた。アレイ上に表されたすべての遺伝子についての3'UTR配列情報を分析し、推定miR-122標的を見いだした。標的を8-merマッチ（miR-122 8-merシードに対する少なくとも1つの相補的マッチ、および可能性のある付加的な7-merまたは6-merマッチを有する遺伝子）、7-merマッチ（8-merマッチを有さないが、1以上の7mer-A1または7mer-m8、および可能性のある付加的な6-mer部位を有する遺伝子）、6-merマッチ（1以上の6-merシードマッチ部位のみを有する遺伝子）、およびシードマッチ無しに分けた。miR-122のSPC3649との拮抗作用の結果、miR-122標的の抑制解除が導かれると期待される。各動物について、処置前から処置の最後まで発現のlog2倍変化を計算し、Kolmogorov-Smirnov検定を用いて、8-mer、7-merまたは6-merシードマッチを有する遺伝子のlog2倍比が、シードマッチのない遺伝子からのlog2倍比よりも一般的に高いかどうかを分析した。応答者である動物においては一般的により高いlog2倍比を有するmiR-122標的の明らかな傾向があったが（各標的タイプの累積画分のプロットにおける右への曲線のシフト）、一方、非応答者／弱い応答者は有意差を示さなかった。さらに、インターフェロン応答性遺伝子（IRG）の管理分析（Lanford et al., 2007, Hepatology, vol. 46, 999-1008）は、antimiR-122オリゴヌクレオチドによる処置の開始により、ウイルス力価の低下に、ほとんど

10

20

30

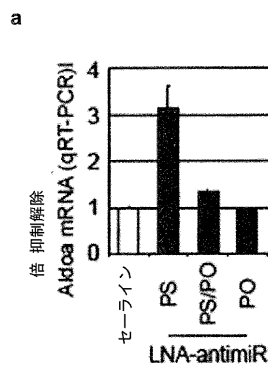
40

50

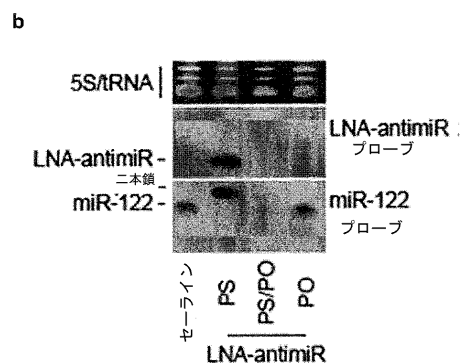
の I R G の協調的なダウンレギュレーションが伴ったことを示した (図 5 a および b) 。ケモカイン I P - 1 0 の血清レベルにより、I R G 発現プロファイルが確認された (図 5 c) 。興味深いことに、動物 A は、m i R - 1 2 2 標的の発現変化ならびに研究の過程にわたっての変化しない I R G 応答に関して非常に弱く応答するようであったが、肝臓ウイルス負荷およびコレステロールは、弱いながらも一定の応答を示唆した。この個体における全体の異なる応答の原因は不明であるが、この動物は低用量群 (1 m g / k g) に含まれていたことに注目すべきである。

【図 1 - a】

Figure 1

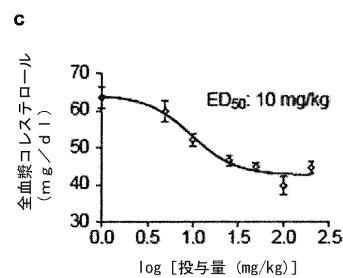


【図 1 - b】

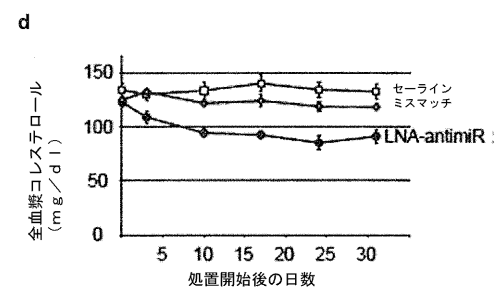


【図 1 - c】

Figure 1



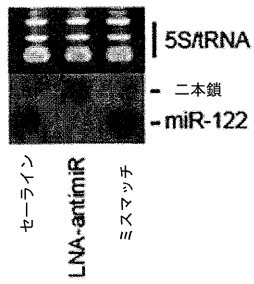
【図 1 - d】



【図 1 - e】

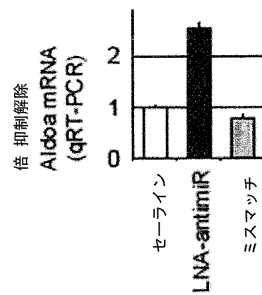
Figure 1

e



【図 1 - f】

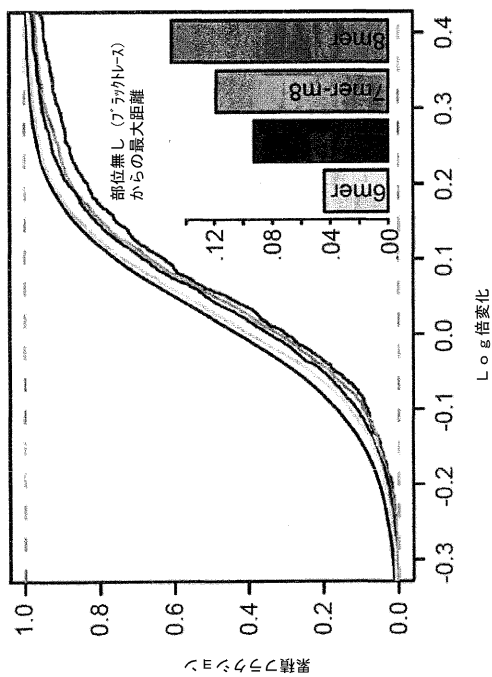
f



【図 1 - h】

Figure 1

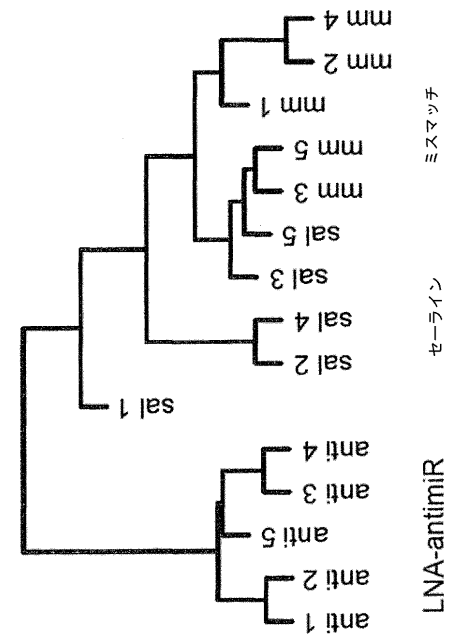
h



【図 1 - g】

Figure 1

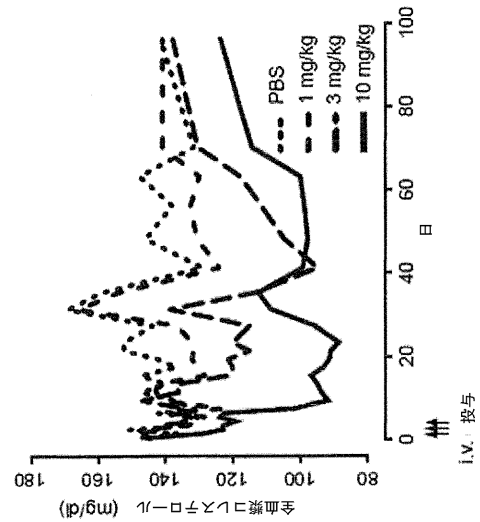
g



【図 2 - a】

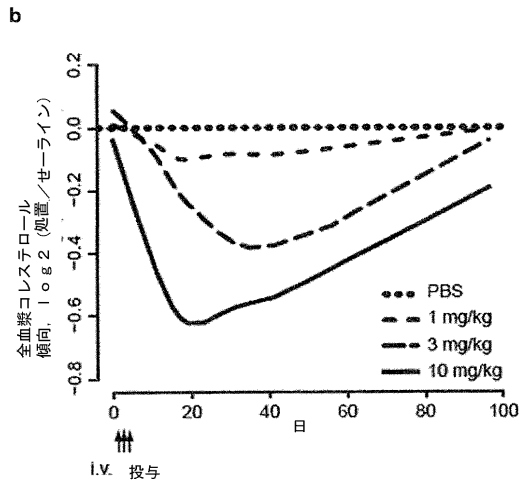
Figure 2

a



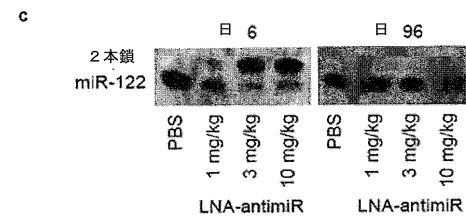
【図 2 - b】

Figure 2



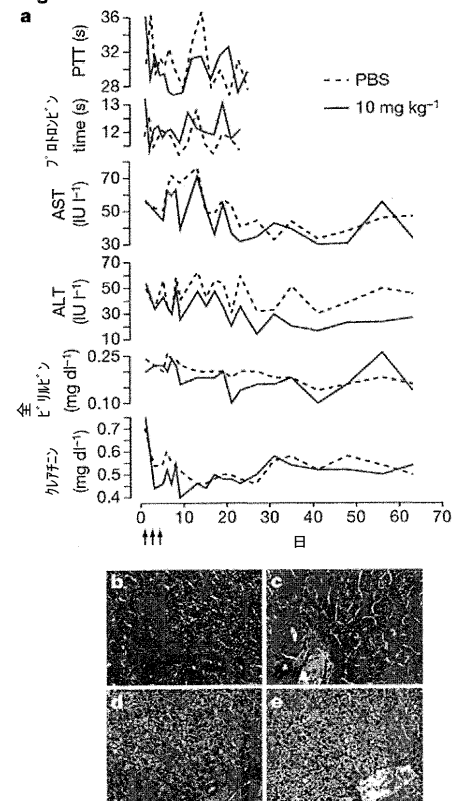
【図 2 - c】

Figure 2



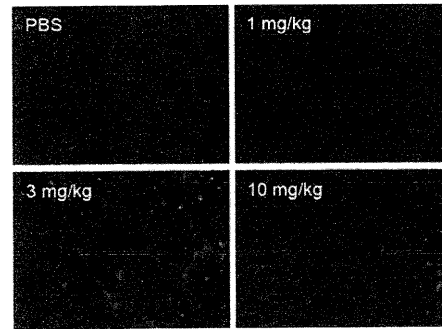
【図 3】

Figure 3



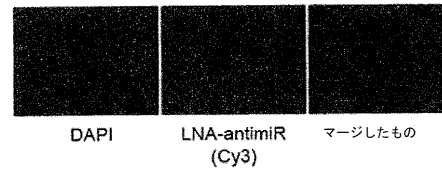
【図 2 - d】

d



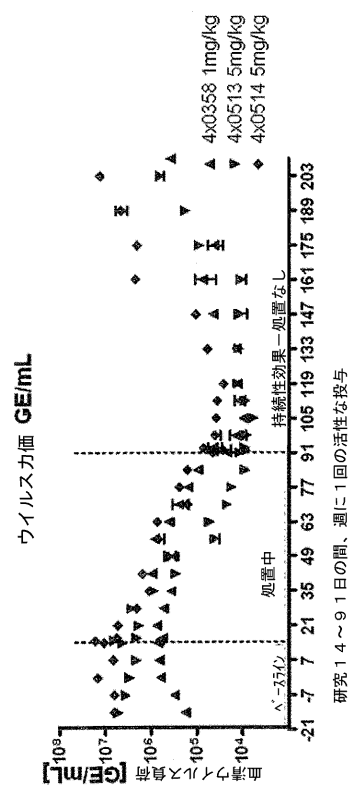
【図 2 - e】

e



【図 4】

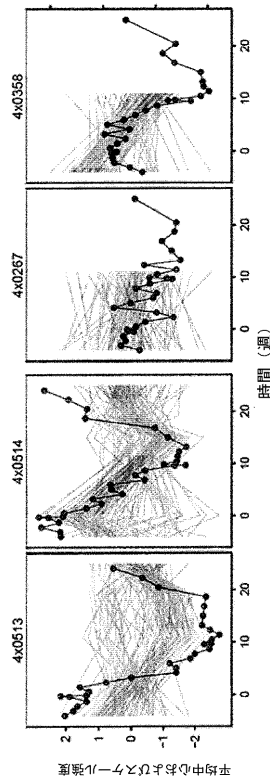
Figure 4



【図 5 - a】

Figure 5

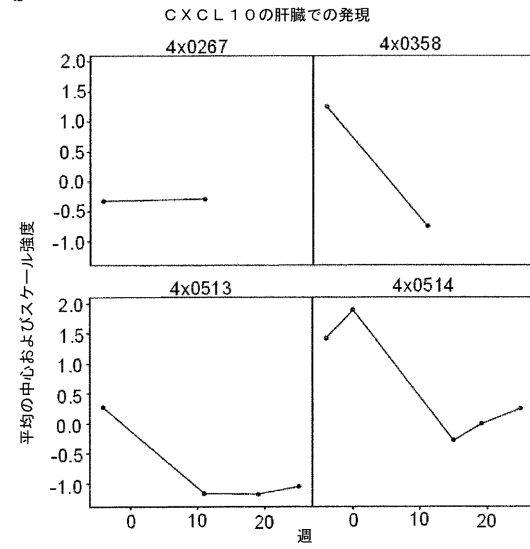
a



【図 5 - b】

Figure 5

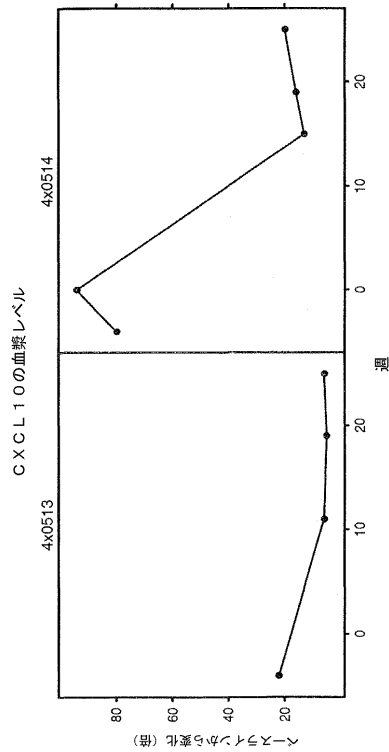
b



【図 5 - c】

Figure 5

c



【配列表】

0005773535000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K	31/7056 (2006.01)	A 6 1 K	37/66 F
A 6 1 K	31/7088 (2006.01)	A 6 1 K	31/7056
A 6 1 K	31/7105 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088
A 6 1 K	31/711 (2006.01)	A 6 1 K	31/7105
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/711
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	A 6 1 K	45/00
		C 1 2 N	15/00 Z N A G

(74)代理人 100170520

弁理士 笹倉 真奈美

(72)発明者 エリーザベト・ヒルデブランドト・エリクセン

デンマーク、デーコー 4 0 5 0 スキッピー、スクルデレヴヴァイ 4 4 番

(72)発明者 アンドレアス・ペトリ

デンマーク、デーコー 2 2 0 0 コペンハーゲン・エン、タゲンスヴァイ 8 1 番、3 チル・ヘイレ

(72)発明者 サカリ・カウッピネン

デンマーク、デーコー 2 7 6 5 スメルム、ノルスケクロゲン 1 2 番

(72)発明者 ニルス・アブラハムセン

デンマーク、デーコー 2 7 2 0 ヴァンレーゼ、デンネルブヴァイ 6 番

(72)発明者 ロバート・ランフォード

アメリカ合衆国 7 8 0 0 6 テキサス州ベルネ、グレイストーン・ポイント 1 2 5 番

審査官 菅原 洋平

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 7 / 1 1 2 7 5 3 (WO, A 2)

国際公開第 2 0 0 7 / 1 1 2 7 5 4 (WO, A 2)

国際公開第 2 0 0 8 / 0 9 5 9 0 7 (WO, A 1)

特開平 0 6 - 2 7 9 3 0 9 (JP, A)

特表 2 0 0 7 - 5 3 6 2 4 2 (JP, A)

特表 2 0 0 5 - 5 1 7 4 2 7 (JP, A)

特開 2 0 0 8 - 2 4 7 8 1 8 (JP, A)

ELMEN JOACIM, LNA-MEDIATED MICRORNA SILENCING IN NON-HUMAN PRIMATES, NATURE, 2 0 0 8 年 4 月, V452 N7189, P896

Sarasin-filipowicz M. et al., nature medicine, 2 0 0 9 年 1 月, Vol.15, No.1, pp.31-33

Tai A.W. et al., Journal of hepatology, 2 0 0 9 年 2 月, Vol.50, pp.412-420

LANFORD ROBERT E, THERAPEUTIC SILENCING OF MICRORNA-122 IN PRIMATES WITH CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION, SCIENCE, 2 0 1 0 年 1 月 8 日, V327 N5962, P198-201

JOPLING CATHERINE L, MODULATION OF HEPATITIS C VIRUS RNA ABUNDANCE BY A LIVER-SPECIFIC MICRORNA, SCIENCE, 米国, AMERICAN ASSOCIATION FOR ADVANCEMENT OF SCIENCE, 2 0 0 5 年 9 月 1 日, V309 N5740, P1577-1581

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

A 6 1 K

A 6 1 P

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)