



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114222820 A

(43) 申请公布日 2022.03.22

(21) 申请号 202080041338.5

(22) 申请日 2020.06.05

(30) 优先权数据

62/858,059 2019.06.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.12.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/036359 2020.06.05

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/247774 EN 2020.12.10

(71) 申请人 箭头药业股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 B·吉文 D·克里斯蒂安松

J·汉米尔顿 李珍 朱锐

C·伍德尔 裴涛

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 张静 张璐

(51) Int.Cl.

C12N 15/113 (2006.01)

A61K 31/7125 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 31/712 (2006.01)

权利要求书2页 说明书23页

序列列表3页 附图15页

(54) 发明名称

用于治疗 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法

(57) 摘要

描述了使用包含AAT RNAi剂的药物组合物治疗需要治疗的人患者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法。本文所公开的包含AATRNAi剂的药物组合物在施用至有需要的人患者时治疗与AAT缺乏症相关的肝脏疾病,诸如慢性肝炎、肝硬化、肝细胞癌风险增加、转氨酶升高、胆汁淤积、纤维化、暴发性肝衰竭和其他肝脏相关疾病。



1. 一种治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法, 所述方法包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物, 所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间, 其中通过皮下注射每月一次施用所述药物组合物。
2. 一种治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法, 所述方法包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物, 所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间, 其中通过皮下注射每三个月一次施用所述药物组合物。
3. 一种治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法, 所述方法包括:
 - a. 通过皮下施用向所述受试者施用初始剂量的包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物, 所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间,
 - b. 在所述初始剂量后约一个月向所述受试者施用第二剂量的所述药物组合物, 以及
 - c. 在所述第二剂量后约三个月向所述受试者施用第三剂量的所述药物组合物。
4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量在约25mg至约300mg之间。
5. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量在约25mg至约200mg之间。
6. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量在约100mg至约200mg之间。
7. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量为约25mg。
8. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量为约35mg。
9. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量为约100mg。
10. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量为约200mg。
11. 如权利要求1-3中任一项所述的方法, 其中所述AAT RNAi药物物质的所述剂量为约200mg或更小。
12. 如权利要求1-11中任一项所述的方法, 其中由AATD引起的疾患或疾病是肝脏疾病。
13. 如权利要求12所述的方法, 其中所述肝脏疾病是慢性肝炎、肝硬化、肝细胞癌风险增加、转氨酶升高、胆汁淤积、纤维化或暴发性肝衰竭。
14. 如权利要求1-13中任一项所述的方法, 其中向所述受试者进一步施用用于治疗AATD的额外治疗剂。
15. 如权利要求1-14中任一项所述的方法, 其中向所述受试者进一步施用用于治疗由内源性分泌的AAT蛋白质的缺乏引起的肺损害、肺气肿或其他肺部疾病或病症的治疗剂。
16. 如权利要求15所述的方法, 其中所述额外治疗剂包括人AAT蛋白质、纯化的人 α -1蛋白酶抑制剂或重组AAT蛋白质。
17. 如权利要求1-16中任一项所述的方法, 其中所述药物组合物包装在药盒、容器、包装、分配器、预填充注射器或小瓶中。
18. 如权利要求1-17中任一项所述的方法, 其中所述药物组合物包含表3中描述的配制

的AAT RNAi药物物质,由表3中描述的配制的AAT RNAi药物物质组成,或基本上由表3中描述的配制的AAT RNAi药物物质组成。

19.如权利要求3所述的方法,所述方法还包括在所述第三剂量之后施用额外剂量,其中相隔约三个月施用所述额外剂量。

20.如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中由所述受试者进行所述药物组合物的一次或多次剂量的施用。

21.如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中由医疗专业人员进行所述药物组合物的一次或多次剂量的施用。

22.表2中描述的AAT RNAi药物物质用于治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的用途,其中所述用途包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物,所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间,其中通过皮下注射每月一次施用所述药物组合物。

23.表2中描述的AAT RNAi药物物质用于治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的用途,其中所述用途包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物,所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间,其中通过皮下注射每三个月一次施用所述药物组合物。

用于治疗 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含序列表,其已以ASCII格式提交并且以引用方式整体并入本文。ASCII副本名称为30674_W01_SequenceListing.txt且大小为6kb。

发明领域

[0003] 本文公开使用包含抑制 α -1抗胰蛋白酶基因表达的RNA干扰(RNAi)剂的药物组合物治疗人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)(包括治疗由AATD引起的症状和疾病)的方法。

背景技术

[0004] α -1抗胰蛋白酶(AAT, α 1-抗胰蛋白酶或A1AT)是属于人体中由SERPINA1基因编码的丝氨酸蛋白酶抑制蛋白(serpin)超家族的蛋白酶抑制剂。正常AAT蛋白质是主要在肝脏中由肝细胞合成并分泌至血液中的循环糖蛋白蛋白酶抑制剂。AAT的已知生理功能是抑制嗜中性粒细胞蛋白酶,嗜中性粒细胞蛋白酶可用来保护炎症期间宿主组织免于非特异性损伤。

[0005] α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)是导致低循环AAT水平并且引起成年早期肺部疾病以及儿童和成年肝脏疾病的常染色体共显性遗传病症。AAT缺乏症(AATD)的流行范围为每1,500至5,000名个体中有约1名个体并且最通常影响具有欧洲血统的人。

[0006] AATD的临床最显著形式是由Z突变引起的。Z突变等位基因通过单点突变使突变Z形式AAT蛋白质(“Z-AAT蛋白质”)趋于发生异常折叠,导致细胞内滞留在肝细胞的内质网(ER)中。其他更罕见的突变也会导致肝细胞中错误折叠的蛋白质积聚。突变Z-AAT蛋白质单体能够聚集成聚合物聚集体,这些聚合物聚集体有时被称为“小球”。聚合物小球团对ER产生应力并触发连续的肝细胞损伤和愈合的循环,从而导致纤维化、肝硬化和肝癌风险增加。此外,缺乏循环抗蛋白酶活性使肺容易受到嗜中性粒细胞弹性蛋白酶的损伤,特别是在肺炎的情况下,导致呼吸并发症(诸如肺气肿)或其他肺部疾病的发展。

[0007] 具有纯合子PiZZ基因型的个体具有重度功能性AAT缺乏症。每周使用AAT增强疗法(使用纯化的人AAT)有助于防止受侵袭个体的肺损害。此类当前市售产品包括例如

Prolastin®-C、**Prolastin®**、**Glassia™**、**Aralast®NP**和**Zemaira®**。然而,尽管纯化的AAT的施用可改善或帮助防止由于内源性分泌的AAT的缺乏或低水平引起的肺损害,但AATD患者(具有导致聚合物形成的AAT突变)仍易患由于过度异常折叠的AAT蛋白质的沉积和积聚引起的内质网肝脏贮积病。肝细胞中“小球”构形的积聚Z-AAT蛋白质是AATD肝脏疾病的熟知组织学特征并且据信会导致造成诱导患有AATD的个体的肝损伤(包括肝细胞损害和死亡)和慢性肝损伤结果的蛋白毒性效应(参见,例如,D.Lindblad等人,Hepatology 2007, 46:1228-1235)。已报告,不产生AAT的无效/无效患者会发展重度肺部疾病但具有正常肝脏形态,提供突变AAT积聚而非循环AAT缺乏导致肝病的证据(Feldman,G.等人,The Ultrastructure of Hepatocytes in alpha-1antitrypsin deficiency with genotype

Pi_,Gut.1975;16:796-799)。

[0008] AATD使个体易患儿童和成年肝脏疾病且易患成年早发型肺气肿。患有AATD的患者通常会发展肝脏疾病,所述肝脏疾病即使在婴儿期也可能是严重或致命的。虽然有些患有AATD的患者最初避开检测,但最终纤维化会积聚并导致临床上明显的肝脏疾病。肝脏损伤的临床表现包括慢性肝炎、肝硬化、肝细胞癌风险增加、转氨酶升高、胆汁淤积、纤维化和甚至暴发性肝衰竭。

[0009] 肝细胞中Z-AAT蛋白质小球积聚已被明确确定为AATD患者进行性肝脏疾病的原因。消除肝细胞中突变蛋白质的积聚可阻止肝脏疾病的进展。去除突变蛋白质侵害还可使已经存在的纤维化消退。目前尚无临床批准的治疗来预防由AATD引起的肝脏疾病发作,减缓由AATD引起的肝脏疾病进展,或以其他方式治疗由AATD引起的肝脏疾病。

[0010] RNAi剂已成为用于治疗AATD患者的有前景的途径。给药策略是利用RNAi剂治疗AATD的重要考虑因素。患者注重较少频率地给药,导致依从性增加,并且较小给药量可对药物的整体安全性有利。因此,需要用于治疗AATD的低剂量、非频繁方法。

发明内容

[0011] 本文描述治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的方法。在一方面,所述方法包括向人受试者施用药物组合物,所述药物组合物包含表2中描述的组合物(即,AAT RNAi药物物质,本文中也称为ADS-001),所述组合物的剂量为约5mg与约300mg之间的AAT RNAi药物物质,其中经皮下施用所述药物组合物并且两次给药之间相隔至少约一个月(即,至少每月给药)。在一些实施方案中,用于本文所公开的方法中的药物组合物包含如表3中描述的配制的AAT RNAi药物物质(本文中也称为ADS-001-1),由其组成,或基本上由其组成。

[0012] 另外,本文描述治疗有需要的人受试者的AATD的方法,所述方法包括向人受试者施用包含约5mg与约200mg之间的剂量的如表2中描述的AAT RNAi药物物质(即,ADS-001)的药物组合物,其中经皮下施用所述药物组合物并且两次剂量施用之间相隔至少约一个月(即,至少每月给药)。

[0013] 此外,本文描述治疗有需要的人受试者的AATD的方法,所述方法包括向人受试者施用包含约5mg与约300mg之间的剂量的如表2中描述的AAT RNAi药物物质(即,ADS-001)的药物组合物,其中经皮下施用所述药物组合物并且两次剂量施用之间相隔约三个月(即,每季度给药)。

[0014] 另外,本文描述治疗有需要的人受试者的AATD的方法,所述方法包括向人受试者施用包含约5mg与约200mg之间的剂量的如表2中描述的AAT RNAi药物物质(即,ADS-001)的药物组合物,其中经皮下施用所述药物组合物并且两次剂量施用之间相隔约三个月(即,每季度给药)。

[0015] 本文描述治疗有需要的人受试者的AATD的方法,所述方法包括向人受试者施用包含约5mg与约300mg之间的剂量的如表2中描述的AAT RNAi药物物质(即,ADS-001)的药物组合物,其中经皮下施用所述药物组合物,并且其中在初始剂量后约一个月是第二剂量,并且之后是随后剂量,两次剂量施用之间相隔约三个月。

[0016] 本文描述治疗有需要的人受试者的AATD的方法,所述方法包括向人受试者施用包

含约5mg与约200mg之间的剂量的如表2中描述的AAT RNAi药物物质(即,ADS-001)的药物组合物,其中经皮下施用所述药物组合物,并且其中在初始剂量后约一个月是第二剂量,并且之后是随后剂量,两次剂量施用之间相隔约三个月。

[0017] 在一些实施方案中,以各剂量施用的AAT RNAi药物物质的剂量在约25mg与约200mg之间。在一些实施方案中,以各剂量施用的AAT RNAi药物物质的剂量在约100mg与约200mg之间。在一些实施方案中,在以各剂量施用的AAT RNAi药物物质的剂量为约100mg。在一些实施方案中,在以各剂量施用的AAT RNAi药物物质的剂量为约200mg。在一些实施方案中,以各剂量施用的AAT RNAi药物物质的剂量为不大于200mg。

[0018] 本文所公开的治疗方法可减慢或阻止患有AATD的人受试者的肝脏疾病的进展,这可允许纤维化组织修复。在一些实施方案中,本文所公开的方法可治疗AATD肝脏疾病,包括纤维化、肝硬化、肝细胞癌风险增加、慢性肝炎、转氨酶升高、胆汁淤积、爆发性肝衰竭和由AATD引起的其他肝脏相关疾患和疾病。

[0019] 可向人受试者施用本文所公开的包含AAT RNAi剂的药物组合物以抑制所述受试者中 α -1抗胰蛋白酶基因的表达。在一些实施方案中,所述受试者是先前已被诊断为患有AATD的人。

[0020] 本发明的另一方面提供表2中描述的AAT RNAi药物物质用于治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的用途,其中所述用途包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物,所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间,其中通过皮下注射每月一次施用所述药物组合物。

[0021] 本发明的另一方面提供表2中描述的AAT RNAi药物物质用于治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)的用途,其中所述用途包括向患者施用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物,所述AAT RNAi药物物质的剂量在约5mg至约300mg之间,其中通过皮下注射每三个月一次施用所述药物组合物。

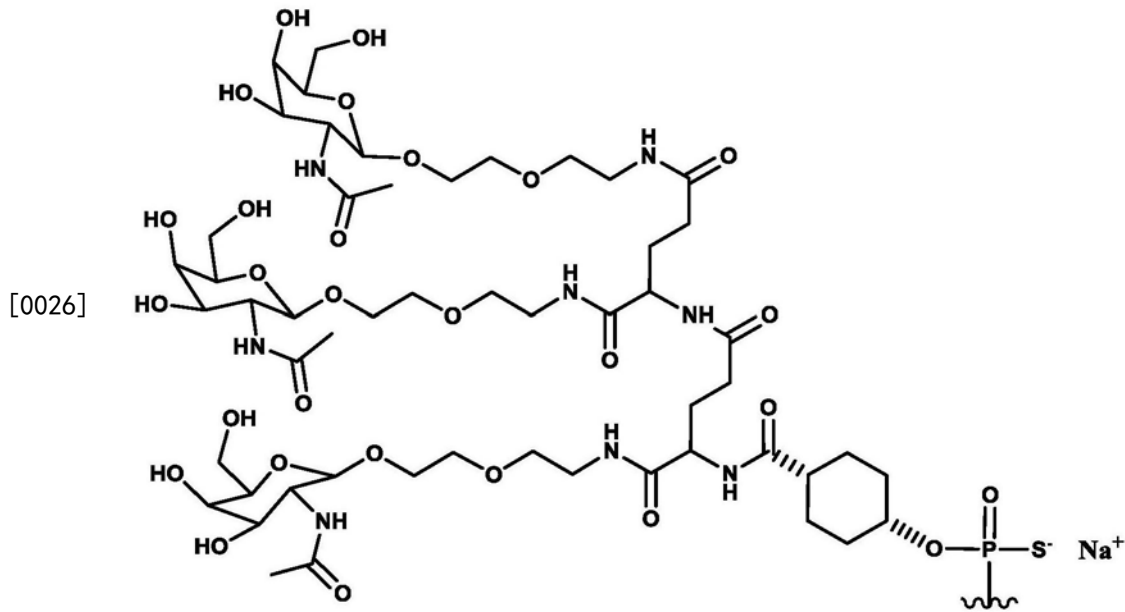
[0022] 根据以下详细描述、附图和权利要求书,本发明的其他目标、特征、方面和优点将变得显而易见。

附图说明

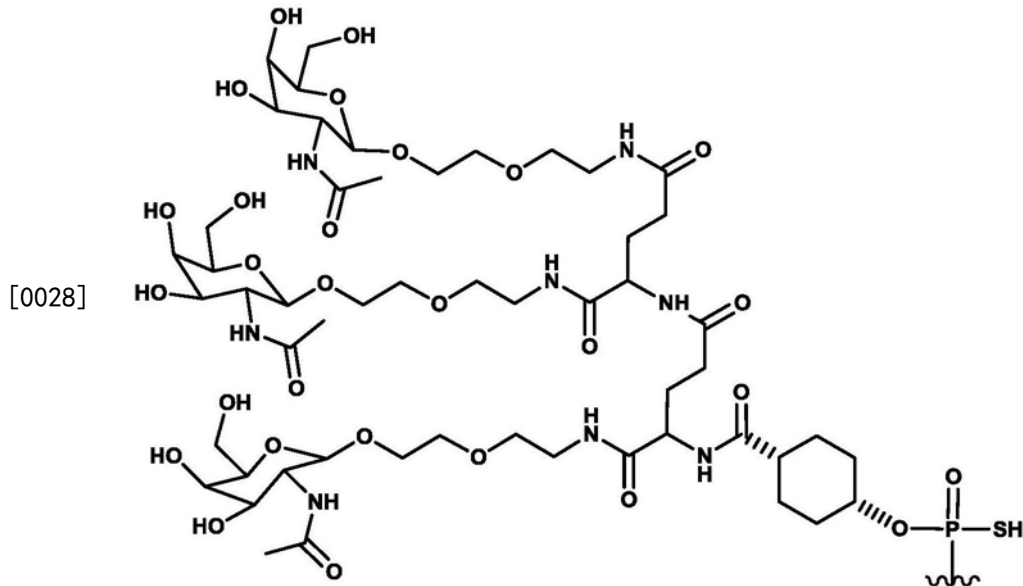
[0023] 图1A至图1E.以钠盐形式显示的表2中描述的AAT RNAi药物物质(本文中称为ADS-001;即,在有义链的5'末端共轭至三齿N-乙酰基-半乳糖胺靶向基团的AAT RNAi剂)的化学结构表示。

[0024] 图2A至图2E.以游离酸形式显示的表2中描述的AAT RNAi药物物质的化学结构表示。

[0025] 图3.表2中描述的AAT RNAi药物物质(本文中称为ADS-001;即在有义链的5'末端共轭至三齿N-乙酰基-半乳糖胺靶向基团的AATRNAi剂)的修饰的有义链和反义链的示意图。图3中使用以下缩写:a、c、g和u是2'-O-甲基修饰的核苷酸;Af、Cf、Gf和Uf是2'-氟(本领域中也称为2'-脱氧-2'-氟)修饰的核苷酸;o是磷酸二酯键联;s是硫代磷酸酯键联;invAb是反向无碱基残基或亚单位;并且(NAG37)s是具有以下化学结构的三齿N-乙酰基-半乳糖胺靶向配体:



[0027] (以钠盐形式显示),



[0029] (以游离酸形式显示)。

[0030] 图4. 实施例2中描述的I期临床研究的最终I期研究设计和剂量递增时间表。

[0031] 图5. 显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或35mg AAT RNAi药物物质(群组1)的正常健康人志愿者(NHV)的血清AAT水平的图。如图5至图11中所显示,“活性物”是指表2中描述的AAT RNAi药物物质(以如表3中描述的配制的AAT RNAi药物物质形式施用)。

[0032] 图6. 显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或单次100mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组2b)的NHV中的血清AAT水平的图。

[0033] 图7. 显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或单次200mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组3b)的NHV中的血清AAT水平的图。

[0034] 图8. 显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或单次300mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组4b)的NHV中的血清AAT水平的图。

[0035] 图9.显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或每月施用的三次100mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组2)的NHV中的血清AAT水平的图。

[0036] 图10.显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或每月施用的三次200mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组3)的NHV中的血清AAT水平的图。

[0037] 图11.显示实施例2中描述的I期临床研究的施用安慰剂(所有群组)或每月施用的三次300mg剂量的AAT RNAi药物物质(群组4)的NHV中的血清AAT水平的图。

具体实施方式

[0038] RNAi剂

[0039] 本文所述的方法包括向人受试者施用药物组合物,其中所述药物组合物包括包含能够抑制AAT基因的表达的RNA干扰(RNAi)剂(在本文和本领域中称为RNAi剂或RNAi触发剂)的组合物。在一些实施方案中,本文所述的方法包括向人受试者施用药物组合物,其中所述药物组合物包含表2中描述的AAT RNAi药物物质(也称为ADS-001)。适用于本文所公开的方法中的组合物包含抑制人受试者中AAT基因的表达的RNAi剂和靶向部分或靶向基团。在一些实施方案中, RNAi剂包含提供于表1A和表1B中的核苷酸序列,并且RNAi剂的有义链进一步连接或共轭至包含三个N-乙酰基-半乳糖胺靶向部分的靶向基团(参见,例如,表B)。抑制人受试者中AAT基因的表达的RNAi剂称为“AAT RNAi剂”。

[0040] 一般来讲, AAT RNAi剂包含经退火以形成双链体的有义链(也称为过客链(passenger strand))和反义链(也称为引导链(guide strand))。本文所公开的AAT RNAi剂包括能够以序列特异性方式降解或抑制AAT mRNA的信使RNA(mRNA)转录物的翻译的RNA或RNA样(例如,化学修饰的RNA)寡核苷酸分子。本文所公开的AAT RNAi剂可通过RNA干扰机制(即,通过与哺乳动物细胞的RNA干扰途径机制(RNA诱导的沉默复合物或RISC)相互作用来诱导RNA干扰),或通过任何替代机制或途径来起作用。尽管据信AAT RNAi剂,如本文所用的该术语,主要通过RNA干扰机制起作用,但所公开的RNAi剂不受任何特定途径或作用机制约束或限制。一般来讲, RNAi剂包含长度各为16至49个核苷酸的有义链和反义链,并且包括但不限于:短或小干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微小RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)和切丁酶(dicer)底物。

[0041] AAT RNAi剂有义链的长度通常为16至49个核苷酸,而AAT RNAi剂反义链的长度通常为18至49个核苷酸。在一些实施方案中,有义链和反义链的长度独立地为17至26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链和反义链的长度独立地为21至26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链和反义链的长度独立地为21至24个核苷酸。在一些实施方案中,有义链和/或反义链的长度独立地为16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些实施方案中,有义链和反义链的长度均为21个核苷酸。有义链和反义链可以是相同长度或不同长度。有义链和反义链还可在AAT RNAi剂的一端或两端形成突出的核苷酸。

[0042] AAT RNAi剂抑制、沉默或敲低AAT基因表达。如本文所用,在提及AAT的表达时,术语“沉默”、“降低”、“抑制”、“下调”或“敲低”意指基因的表达,如通过自基因转录的RNA的水平或自其中基因经转录的细胞、细胞组、组织、器官或受试者中mRNA翻译的多肽、蛋白质或蛋白质亚单位的水平衡量的,在用RNAi剂处理细胞、细胞组、组织、器官或受试者时与未经如此处理的第二细胞、细胞组、组织、器官或受试者相比降低。在一些情况下,通过将施用包

含AAT RNAi剂的组合物之前人受试者中的AAT mRNA或AAT蛋白质的基线水平与施用治疗剂之后AAT mRNA或AAT蛋白质水平进行比较来衡量基因表达的降低。

[0043] AAT基因抑制、沉默或敲低可通过本领域中已知的任何适当的测定或方法来测量。本文陈述的非限制性实例,以及在国际专利申请公布第WO 2018/132432号(专利申请第PCT/US2018/013102号)(所述申请以引用方式整体并入本文)中陈述的实例提供用于测量AAT基因表达抑制的适当测定的某些实例。正常人的参考AAT mRNA基因转录物(SERPINA1)(称为转录物变体1;GenBank NM_000295.4)可参见SEQ ID NO:1。

[0044] 适用于本文所公开的方法的AAT RNAi剂可共价连接或共轭至包含一个或多个N-乙酰基-半乳糖胺部分的靶向基团。在实施方案中,将适用于本文所公开的方法中的AAT RNAi剂共价连接或共轭至包含一个或多个N-乙酰基-半乳糖胺部分的靶向基团从而形成表2中描述的AAT RNAi药物物质。在一些实施方案中,本文所述的方法包括施用表2中描述的AAT RNAi药物物质。表2中描述的AAT RNAi药物物质包含表1A(反义链)和表1B(有义链)中显示的AAT RNAi剂。N-乙酰基-半乳糖胺部分有助于将AAT RNAi剂靶向容易存在于肝细胞的表面上的脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPr),这导致AAT RNAi剂通过内吞作用或其他手段内化。

[0045] 可适用于本文所公开的方法中的AAT RNAi剂包含反义链,所述反义链具有与AAT mRNA的至少一部分互补的区域。适用于所公开的方法中的AAT RNAi剂和AAT RNAi药物物质描述于国际专利申请公布第WO 2018/132432号(专利申请第PCT/US2018/013102号)中,所述专利如前所述以引用方式整体并入本文。

[0046] 如本文所用,术语“序列”和“核苷酸序列”意指核苷碱基或核苷酸的连续或顺序,使用标准命名法用连续字母来描述。如本文所用,术语“核苷碱基”和“核苷酸”具有如本领域中通常所理解的不同含义。

[0047] 如本文所用,术语“互补”在用于描述第一核苷酸序列(例如, RNAi剂反义链)与第二核苷酸序列(例如, RNAi剂有义链或靶向mRNA序列)的关联时意指包含第一核苷酸序列的寡核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸杂交(在哺乳动物生理条件(或其他合适的条件)下形成碱基对氢键以及在某些标准条件下形成双链体或双螺旋结构)的能力。本领域普通技术人员将能够选择最适于杂交测试的条件组。互补序列包含沃森-克里克(Watson-Crick)碱基对或非沃森-克里克碱基对并且至少在满足以上杂交要求的程度上包含天然的或修饰的核苷酸或核苷酸模拟物。序列同一性或互补性与修饰无关。例如,出于确定同一性或互补性的目的,如本文所定义的a和Af与U(或T)互补并且与A相同。

[0048] 如本文所用,“完美互补(perfectly complementary)”或“完全互补(fully complementary)”意指第一寡核苷酸的连续序列中的所有(100%)碱基将与第二寡核苷酸的连续序列中的相同数目的核苷酸杂交。连续序列可包含第一或第二核苷酸序列的全部或部分。

[0049] 如本文所用,“部分互补”意指在核苷酸序列的杂交对中,第一寡核苷酸的连续序列中的至少70%(但非全部)碱基将与第二多核苷酸的连续序列中的相同数目的碱基杂交。

[0050] 如本文所用,“基本上互补”意指在核苷酸序列的杂交对中,第一寡核苷酸的连续序列中的至少85%(但非全部)碱基将与第二多核苷酸的连续序列中的相同数目的碱基杂交。关于RNAi剂的有义链与反义链之间、或RNAi剂的反义链与AAT mRNA的序列之间的核苷

酸匹配,使用本文术语“互补”、“完全互补”、“部分互补”和“基本上互补”。

[0051] 如本文所用,如应用于核酸序列的术语“基本上相同”或“基本上同一性”意指核酸序列包含与参考序列相比具有至少约85%序列同一性或更高(例如,至少90%、至少95%或至少99%)同一性的序列。序列同一性的百分比是通过在比较窗口中比较两个最佳比对的序列来确定的。百分比是通过确定两个序列中出现相同核酸碱基的位置数以产生匹配位置数,将匹配位置数除以比较窗口中的位置总数,然后将结果乘以100以得到序列同一性的百分比来计算的。本文所公开的发明涵盖与本文所公开的那些基本上相同的核苷酸序列。

[0052] 修饰的核苷酸和修饰的核苷间键联

[0053] 本文所公开的AAT RNAi剂可包含修饰的核苷酸,所述修饰的核苷酸可保留RNAi剂的活性,同时增加血清稳定性,并最大限度地降低激活人体内干扰素活性的可能性。如本文所用,“修饰的核苷酸”是除核糖核苷酸(2'-羟基核苷酸)以外的核苷酸。在一些实施方案中,至少50%(例如,至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)的核苷酸是修饰的核苷酸。如本文所用,修饰的核苷酸包括本领域中已知的任何已知的修饰的核苷酸,包括但不限于脱氧核糖核苷酸、核苷酸模拟物、2'-修饰的核苷酸、反向核苷酸、包含修饰的核苷碱基的核苷酸、桥接核苷酸、肽核酸(PNA)、2',3'-闭联核苷酸模拟物(未锁定的核苷碱基类似物)、锁定的核苷酸、3'-O-甲氧基(2'核苷间连接的)核苷酸、2'-F-阿拉伯(arabino)核苷酸、5'-Me、2'-氟核苷酸、吗啉代核苷酸、包含磷酸乙烯酯的核苷酸和包含磷酸环丙酯的核苷酸。在一些实施方案中,AAT RNAi剂的修饰的核苷酸是2'-修饰的核苷酸(即在五元糖环的2'位置具有除羟基以外的基团的核苷酸)。2'-修饰的核苷酸包括但不限于2'-O-甲基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟核苷酸(通常简称为2'-氟核苷酸)、2'-脱氧核苷酸、2'-甲氧基乙基(2'-O-2-甲氧基乙基)核苷酸、2'-氨基核苷酸和2'-烷基核苷酸。另外,2'-修饰的核苷酸是本领域中已知的。给定RNAi剂中的所有核苷酸不必均一地修饰。另外,可在单个AAT RNAi剂中或甚至在其单个核苷酸中并入超过一种修饰。AAT RNAi剂有义链和反义链可通过本领域中已知的方法来合成和/或修饰。一个核苷酸上的修饰独立于另一核苷酸上的修饰。

[0054] 在一些实施方案中,可修饰核苷碱基(通常简称为“碱基”)。如本领域中通常所用,天然核苷碱基包括一级嘌呤碱基腺嘌呤和鸟嘌呤,以及一级嘧啶碱基胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶。核苷碱基可被修饰为包括(但不限于)通用碱基、疏水性碱基、混杂碱基、尺寸扩大的碱基和氟化碱基。(参见,例如,Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. 编Wiley-VCH, 2008)。此类修饰的核苷碱基(包括包含修饰的核苷碱基的亚磷酰胺化合物)的合成是本领域中已知的。

[0055] 修饰的核苷碱基包括(例如)5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶和N-2、N-6和O-6取代的嘌呤(例如,2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶或5-丙炔基胞嘧啶)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟基甲基胞嘧啶、肌苷、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-烷基(例如,6-甲基、6-乙基、6-异丙基或6-正丁基)衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-烷基(例如,2-甲基、2-乙基、2-异丙基或2-正丁基)和其他烷基衍生物、2-硫基尿嘧啶、2-硫基胸腺嘧啶、2-硫基胞嘧啶、5-卤基尿嘧啶、胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫基尿嘧啶、8-卤基、8-氨基、8-硫氢基、8-硫基烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤基(例如5-溴)、5-三氟

甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-氮杂鸟嘌呤、7-氮杂腺嘌呤、3-去氮杂鸟嘌呤和3-去氮杂腺嘌呤。

[0056] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂的所有或基本上所有核苷酸是修饰的核苷酸。如本文所用,基本上所有存在的核苷酸均是修饰的核苷酸的RNAi剂是在为核糖核苷酸(即,未修饰)的有义链和反义链中均具有四个或更少(即,0、1、2、3或4个)核苷酸的RNAi剂。如本文所用,基本上所有存在的核苷酸均是修饰的核苷酸的有义链是在为核糖核苷酸的有义链中具有两个或更少(即,0、1,或2个)核苷酸的有义链。如本文所用,基本上所有存在的核苷酸均是修饰的核苷酸的反义链是在为核糖核苷酸的有义链中具有两个或更少(即,0、1,或2个)核苷酸的反义链。

[0057] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂的一个或多个核苷酸通过非标准键联或主链(即,修饰的核苷间键联或修饰的主链)连接。修饰的核苷间键联或主链包括但不限于硫代磷酸酯基、手性硫代磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基-磷酸三酯、烷基膦酸酯(例如,甲基膦酸酯或3'-亚烷基膦酸酯)、手性膦酸酯、次膦酸酯、磷酰胺酯(例如,3'-氨基磷酰胺酯、氨基烷基磷酰胺酯或硫代磷酰胺酯)、硫基烷基-膦酸酯、硫基烷基磷酸三酸酯、吗啉代键联、具有正常3'-5'键联的硼酸磷酸酯、硼酸磷酸酯的2'-5'键接类似物,或具有相反极性的其中相邻核苷单元对是经3'-5'连接至5'-3'或经2'-5'连接至5'-2'的硼酸磷酸酯。在一些实施方案中,修饰的核苷间键联或主链缺少磷原子。缺少磷原子的修饰的核苷间键联包括但不限于短链烷基或环烷基糖间键联、混合杂原子和烷基或环烷基糖间键联,或一个或多个短链杂原子或杂环糖间键联。在一些实施方案中,修饰的核苷间主链包括但不限于硅氧烷主链、硫化物主链、亚砷主链、砷主链、乙酰基和硫代乙酰基主链、亚甲基乙酰基和硫代乙酰基主链、包含烯烃的主链、氨基磺酸酯主链、亚甲基亚氨基和亚甲基胍基主链、磺酸酯和磺酰胺主链、酰胺主链和具有混合的N、O、S和CH₂组分的其他主链。

[0058] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂的有义链可包含1、2、3、4、5或6个硫代磷酸酯键联,AAT RNAi剂的反义链可包含1、2、3、4、5或6个硫代磷酸酯键联,或者有义链和反义链均可独立地包含1、2、3、4、5或6个硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,AAT RNAi剂的有义链可包含1、2、3或4个硫代磷酸酯键联,AAT RNAi剂的反义链可包含1、2、3或4个硫代磷酸酯键联,或者有义链和反义链均可独立地包含1、2、3或4个硫代磷酸酯键联。

[0059] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂有义链包含至少两个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,所述至少两个硫代磷酸酯核苷间键联在自有义链的3'端起的位置1-3的核苷酸之间。在一些实施方案中,所述至少两个硫代磷酸酯核苷间键联在自有义链的5'端起的位置1-3、2-4、3-5、4-6、4-5或6-8的核苷酸之间。在一些实施方案中,硫代磷酸酯核苷间键联用于将有义链中的末端核苷酸连接至存在于核苷酸序列的5'端、3'端或5'端和3'端两端的封端残基。在一些实施方案中,硫代磷酸酯核苷间键联用于将靶向基团连接至有义链。

[0060] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂反义链包含三个或四个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,AAT RNAi剂反义链包含三个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,所述三个硫代磷酸酯核苷间键联在自反义链的5'端起的位置1-3的核苷酸之间以及在自5'端起的位置19-21、20-22、21-23、22-24、23-25或24-26的核苷酸之间。在一些实施方案中,AAT RNAi剂在有义链中包含至少两个硫代磷酸酯核苷间键联并且在反义链中包含三个

或四个硫代磷酸酯核苷间键联。

[0061] 在一些实施方案中,AAT RNAi剂包含一个或多个修饰的核苷酸和一个或多个修饰的核苷间键联。在一些实施方案中,将2'修饰的核苷与修饰的核苷间键联组合。

[0062] 封端残基或部分

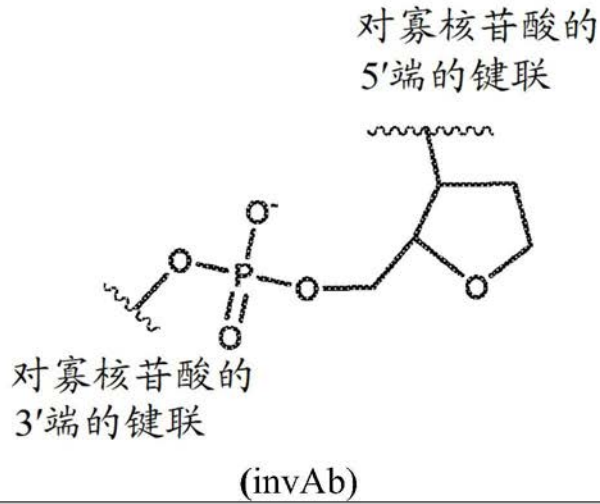
[0063] 在一些实施方案中,有义链可包含一个或多个封端残基或部分,在本领域中有时称为“帽(cap)”、“端帽(terminal cap)”或“封端残基”。如本文所用,“封端残基”是非核苷酸化合物或可并在本文所公开的RNAi剂的核苷酸序列的一个或多个末端的其他部分。在一些情况下,封端残基可为RNAi剂提供某些有益特性,诸如,例如,防止核酸外切酶降解。在一些实施方案中,添加反向无碱基残基(invAb)(在本领域中也称为“反向无碱基位点”)作为封端残基(参见表A)。(参见,例如,F.Czauderna,Nucleic Acids Res.,2003,31(11),2705-16)。封端残基是本领域中公知的,并且包括(例如)反向无碱基残基以及碳链,诸如末端 C_3H_7 (丙基)、 C_6H_{13} (己基)或 $C_{12}H_{25}$ (十二烷基)基团。在一些实施方案中,封端残基是存在于有义链的5'末端、3'末端,或5'末端和3'末端两端。在一些实施方案中,有义链的5'端和/或3'端可包含超过一个反向无碱基脱氧核糖部分作为封端残基。

[0064] 在一些实施方案中,将一个或多个反向无碱基残基(invAb)添加至有义链的3'端。在一些实施方案中,将一个或多个反向无碱基残基(invAb)添加至有义链的5'端。在一些实施方案中,将一个或多个反向无碱基残基或反向无碱基位点插入靶向配体与RNAi剂的有义链的核苷酸序列之间。在一些实施方案中,在RNAi剂的有义链的末端处或附近包含一个或多个反向无碱基残基或反向无碱基位点可增强RNAi剂的活性或其他所需特性。

[0065] 在一些实施方案中,将一个或多个反向无碱基残基(invAb)添加至有义链的5'端。在一些实施方案中,可将一个或多个反向无碱基残基插入靶向配体与RNAi剂的有义链的核苷酸序列之间。反向无碱基残基可经由磷酸酯、硫代磷酸酯(例如,本文中显示为(invAb)s)或其他核苷间键联连接。反向无碱基脱氧核糖残基的化学结构显示于下表A中,以及图1A至图1E和图2A至图2E中所示的化学结构中。

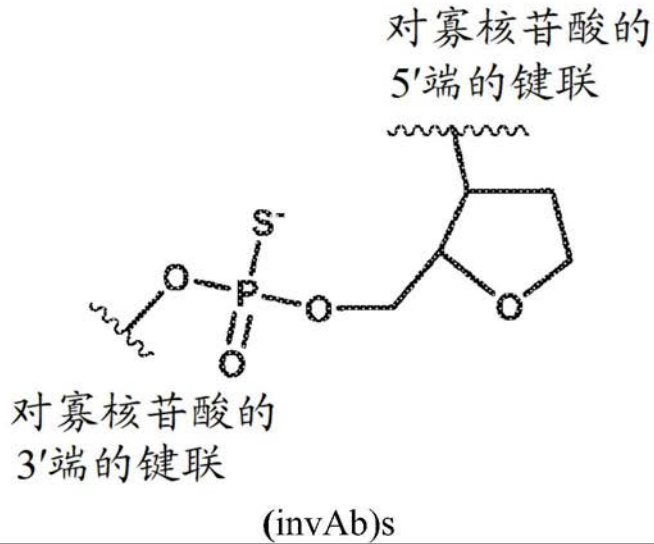
[0066] 表A. 反向无碱基(脱氧核糖)化学结构

当位于寡核苷酸内部时:



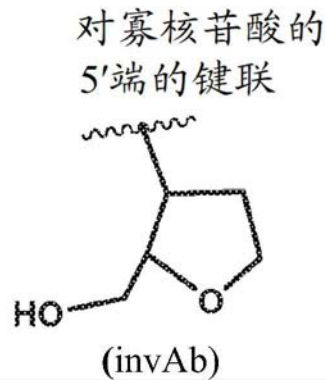
[0067]

当位于寡核苷酸内部时:



当位于寡核苷酸的 3'末端时:

[0068]



[0069] 靶向部分和基团

[0070] AAT RNAi剂可共轭至一个或多个非核苷酸基团,包括但不限于靶向部分或靶向基

团。靶向部分或靶向基团可增强RNAi剂的靶向或递送。靶向部分和靶向基团的实例是本领域中已知的。表B中提供本文表2中描述的用于AAT RNAi药物物质中的(NAG37)s靶向基团的特定实例,该靶向基团包含三个N-乙酰基-半乳糖胺靶向部分。靶向部分或靶向基团可共价连接至有义链和/或反义链的3'端和/或5'端。在一些实施方案中,AAT RNAi剂包含连接至有义链的3'端和/或5'端的靶向基团。在一些实施方案中,靶向基团连接至AAT RNAi剂有义链的5'端。在一些实施方案中,靶向基团包含结构(NAG37)s,基本上由其组成,或由其组成,并且连接至AAT RNAi剂有义链的5'端。靶向基团可经由接头/连接基团直接或间接地连接至RNAi剂。在一些实施方案中,靶向基团经由不稳定的、可裂解的或可逆的键或接头连接至RNAi剂。在一些实施方案中,靶向基团连接至有义链的5'端处的反向无碱基残基。

[0071] 靶向基团或靶向部分可增强所连接的共轭物或RNAi剂的药代动力学或生物分布特性以改善共轭物或RNAi剂的细胞特异性分布和细胞特异性吸收。在一些实施方案中,靶向基团增强RNAi剂的内吞作用。靶向基团可以是单价、二价、三价、四价的,或对于其所针对的靶标具有更高化合价。代表性靶向基团包括但不限于对细胞表面分子具有亲和力的化合物、细胞受体配体、半抗原、抗体、单克隆抗体、抗体片段和对细胞表面分子具有亲和力的抗体模拟物。

[0072] 在一些实施方案中,靶向基团包含脱唾液酸糖蛋白受体配体。在一些实施方案中,脱唾液酸糖蛋白受体配体包含一种或多种半乳糖衍生物或其组成。如本文所用,术语半乳糖衍生物包括半乳糖和对脱唾液酸糖蛋白受体的亲和力等于或大于半乳糖的亲力的半乳糖衍生物。半乳糖衍生物包括但不限于:半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰基半乳糖胺、N-乙酰基-半乳糖胺、N-丙酰基-半乳糖胺、N-正丁酰基-半乳糖胺和N-异丁酰基-半乳糖胺(参见例如:S.T.Iobst和K.Drickamer,J.B.C.,1996,271,6686)。可用于将寡核苷酸和其他分子体内靶向肝脏的半乳糖衍生物和半乳糖衍生物簇是本领域中已知的(参见,例如,Baenziger和Fiete,1980,Cell,22,611-620;Connolly等人,1982,J.Biol.Chem.,257,939-945)。

[0073] 半乳糖衍生物已用于通过结合至在肝细胞表面上表达的脱唾液酸糖蛋白受体将分子体内靶向肝细胞。脱唾液酸糖蛋白受体配体结合至脱唾液酸糖蛋白受体促进对肝细胞的细胞特异性靶向以及将分子内吞至肝细胞中。脱唾液酸糖蛋白受体配体可以是单体的(例如,具有单个半乳糖衍生物)或多聚的(例如,具有多个半乳糖衍生物)。可使用本领域中已知的方法将半乳糖衍生物或半乳糖衍生物“簇”连接至RNAi剂的有义链或反义链的3'端或5'端。

[0074] 在一些实施方案中,靶向基团包含半乳糖衍生物簇。如本文所用,半乳糖衍生物簇包含具有两个至四个末端半乳糖衍生物分子。末端半乳糖衍生物经其C-1碳连接至分子。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇是半乳糖衍生物三聚物(也称为三触角半乳糖衍生物或三价半乳糖衍生物)。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇包含N-乙酰基-半乳糖胺。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇包含三个N-乙酰基-半乳糖胺。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇是半乳糖衍生物四聚物(也称为四触角半乳糖衍生物或四价半乳糖衍生物)。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇包含四个N-乙酰基-半乳糖胺。

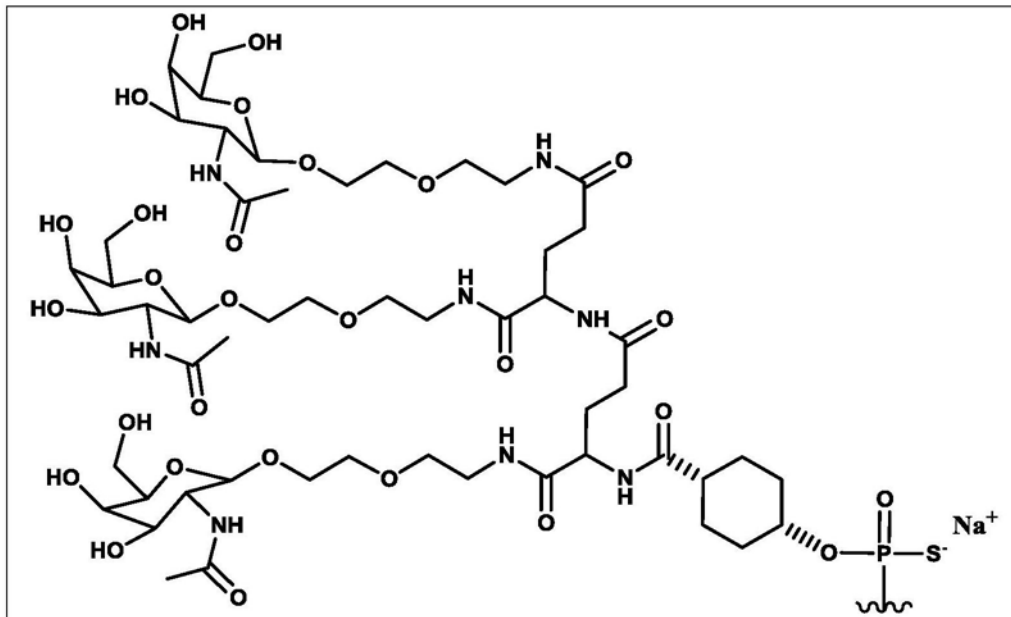
[0075] 如本文所用,半乳糖衍生物三聚物包含三个半乳糖衍生物,每个半乳糖衍生物连接至中心分支点。如本文所用,半乳糖衍生物四聚物包含四个半乳糖衍生物,每个半乳糖衍生物连接至中心分支点。半乳糖衍生物可经糖类的C-1碳连接至中心分支点。在一些实施方

案中,半乳糖衍生物经由接头或间隔子连接至分支点。在一些实施方案中,接头或间隔子是柔性亲水性间隔子,诸如PEG基团(参见,例如,美国专利第5,885,968号;Biessen等人J.Med.Chem.1995第39卷第1538-1546页)。分支点可以是允许连接三个半乳糖衍生物并进一步允许分支点连接至RNAi剂的任何小分子。分支点基团的一个实例是二赖氨酸或二谷氨酸。使分支点连接至RNAi剂可经接头或间隔子发生。在一些实施方案中,接头或间隔子包含柔性亲水性间隔子,诸如但不限于PEG间隔子。在一些实施方案中,接头包含刚性接头,诸如环状基团。在一些实施方案中,半乳糖衍生物包含N-乙酰基-半乳糖胺或由其组成。在一些实施方案中,半乳糖衍生物簇包含半乳糖衍生物四聚物,其可以是(例如)N-乙酰基-半乳糖胺四聚物。

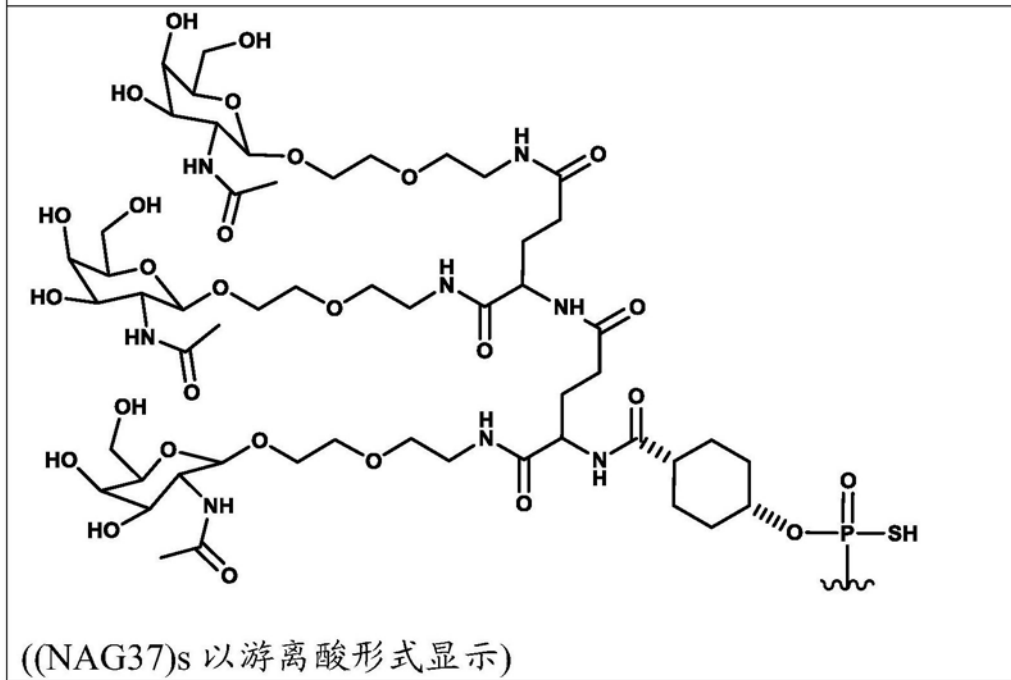
[0076] 靶向基团(诸如包含N-乙酰基-半乳糖胺的半乳糖衍生物簇)的制备描述于例如国际专利申请公布第W0 2018/044350号(专利申请第PCT/US2017/021147号)和国际专利申请公布第W0 2017/156012号(专利申请第PCT/US2017/021175号),所述申请以引用方式整体并入本文。

[0077] 例如,共轭至表1A和表1B中所述的AAT RNAi剂的靶向配体具有如下表B中所示的(NAG37)_s的化学结构。

[0078] 表B. (NAG37)_s的化学结构.

((NAG37)_s 以钠盐形式显示)

[0079]

((NAG37)_s 以游离酸形式显示)

[0080] AAT RNAi剂和AAT RNAi药物物质(ADS-001)

[0081] 在一些实施方案中,用于本文所公开的方法中的AAT RNAi剂具有表2中所示的AAT RNAi药物物质(ADS-001)的核苷酸序列。存在于AAT RNAi药物物质中的AAT RNAi剂的核苷酸序列包含如下表1A中陈述的反义链核苷酸序列和如下表1B中陈述的有义链核苷酸序列。

[0082] 表1A.AAT RNAi剂反义链序列

SEQ ID NO.	反义序列(修饰的) (5' → 3')	SEQ ID NO.	基础碱基序列 (5' → 3')
[0083] 2	usGfsuUfaAfacaugCf cUfaAfaCfgCfsu	3	UGUUAAACAUGC CUAAACGCU

[0084] 表1B.AAT RNAi剂有义链核苷酸序列(显示为AAT RNAi药物物质中不存在反向无碱基残基或NAG靶向基团的修饰形式)

SEQ ID NO.	有义序列(修饰的) (5' → 3')	SEQ ID NO.	基础碱基序列 (5' → 3')
[0085] 4	agcguuuuGfGfCfauguuu aaca	5	AGCGUUUAGGCAU GUUUAACA

[0086] 如本文表1A、表1B和表2中所用,以下符号用于指示修饰的核苷酸、靶向基团和连接基团:A、G、C和U表示腺苷、胞苷、鸟苷或尿苷;a、c、g和u分别表示2'-O-甲基腺苷、胞苷、鸟苷或尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别表示2'-氟腺苷、胞苷、鸟苷或尿苷;s表示硫代磷酸酯键联;(invAb)表示反向无碱基脱氧核糖残基(参见表A);并且(NAG37)s表示以上表B中所示的结构。

[0087] 如本领域普通技术人员将容易理解,除非以序列(诸如,例如,硫代磷酸酯键联“s”)另作指示,否则当存在于链中时,单体经5'-3'-磷酸二酯键相互连接。如本领域普通技术人员将清楚地理解,包含如本文所公开的修饰的核苷酸序列中所示的硫代磷酸酯键联来替代通常存在于寡核苷酸中的磷酸二酯键。另外,本领域普通技术人员将容易理解,给定寡核苷酸序列的3'端的末端核苷酸将通常在给定单体的相应3'位置具有羟基(-OH)而不是离体磷酸酯部分。另外,对于本文所公开的实施方案,当观察相应的链5'→3'时,插入反向无碱基残基,使得脱氧核糖的3'位置在相应链上的先前单体的3'端连接。此外,如本领域普通技术人员将容易理解并知晓,尽管本文所描绘的硫代磷酸酯化学结构通常显示硫原子上的阴离子,但本文所公开的发明涵盖所有硫代磷酸酯互变异构体(例如,其中硫原子具有双键并且阴离子是在氧原子上)。除非本文另外明确指出,否则当描述AAT RNAi剂和包含本文所公开的AAT RNAi剂的组合物时,使用本领域普通技术人员的此类理解。

[0088] 每个有义链和/或反义链可具有以上所列出的任何靶向基团或连接基团,以及共轭至序列的5'端和/或3'端的其他靶向或连接基团。

[0089] AAT RNAi剂反义链序列经设计以靶向来自正常AAT基因和突变AAT基因两者的mRNA转录物,从而对于患有AATD的人受试者使用RNA干扰机制来沉默突变Z-AAT蛋白质的翻译。

[0090] 在一些实施方案中,本文所公开的方法使用下表2中陈述的AAT RNAi药物物质:

[0091] 表2.AAT RNAi药物物质(ADS-001)

有义链和反义链(有义链和反义链经退火以形成双链体):		
[0092]	有义链(修饰的序列) (5' → 3'): 反义链(修饰的序列) (5' → 3'):	(SEQ ID NO:6) (SEQ ID NO:2)
	(NAG37)s(invAb)sagcguuuuGfGfCfauguuuuacac(invAb) usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfgCfsu	
化学式:	C ₄₉₃ H ₆₁₀ F ₁₁ N ₁₆₃ Na ₄₃ O ₃₁₂ P ₄₃ S ₆ (Na+形式) C ₄₉₃ H ₆₅₃ F ₁₁ N ₁₆₃ O ₃₁₂ P ₄₃ S ₆ (H+形式)	
分子量:	16532.9 Da (Na+形式) 15587.6 Da (H+形式)	
物理外观:	白色至灰白色粉末	

[0093] AAT RNAi 药物物质 (ADS-001) 的示意图显示于图3中, 并且完整化学结构表示显示于图1A至图1E (钠盐形式) 和图2A至图2E (游离酸形式) 中。在一些实施方案中, 将AAT RNAi 药物物质制备或提供为盐、混合盐或游离酸。在优选实施方案中, 所述形式为钠盐。

[0094] 药物组合物和配制物

[0095] 适用于本文所公开的方法中的AAT RNAi 剂可制备为用于施用至人受试者的药物组合物或配制物。所述药物组合物可用于治疗患有将受益于AAT mRNA的表达的抑制或AAT 蛋白质水平的降低的疾病或病症的受试者, 诸如患有AATD的人受试者。在一些实施方案中, 所述方法包括向需要治疗的受试者施用连接至如本文所述的靶向基团或靶向配体的AAT RNAi 剂。在一些实施方案中, 将一种或多种药学上可接受的赋形剂 (包括媒介物、载体、稀释剂和/或递送聚合物) 添加至包含AAT RNAi 剂的药物组合物, 从而形成适于体内递送至人受试者的药物组合物。

[0096] 当使用本文所公开的方法施用至人受试者时, 包含AAT RNAi 剂的药物组合物降低受试者中AAT mRNA的水平。

[0097] 在一些实施方案中, 所描述的包含AAT RNAi 剂的药物组合物用于治疗或管理患有AATD的受试者的临床表现, 诸如慢性肝炎、肝硬化、肝细胞癌风险增加、转氨酶升高、胆汁淤积、纤维化及甚至暴发性肝衰竭。在一些实施方案中, 将治疗或预防有效量的一种或多种药物组合物施用至需要这种治疗的受试者。在一些实施方案中, 任何所公开的AAT RNAi 剂的施用可用于减少受试者中疾病的症状的数量、严重程度和/或频率。

[0098] 所描述的包含AAT RNAi 剂的药物组合物可用于治疗患有将受益于AAT mRNA的表达的降低或抑制的疾病或病症的受试者的至少一种症状。在一些实施方案中, 将治疗有效量的一种或多种包含AAT RNAi 剂的药物组合物施用至受试者从而治疗症状。在其他实施方案中, 将预防有效量的一种或多种AAT RNAi 剂施用至受试者从而预防至少一种症状。

[0099] 本文所公开的AAT RNAi 剂可以适当地针对特定途径定制的制剂经由任何合适的途径施用。因此, 本文所述的药物组合物可通过注射 (例如, 静脉内或皮下) 来施用。在一些实施方案中, 本文所述的药物组合物是经由皮下注射施用。

[0100] 如本文所用, 药物组合物或药剂包含药理学有效量的至少一种AAT RNAi 剂和一种或多种药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂是有意包含在药物递送系统中的除活性药物成分 (API, 治疗性产品, 例如AAT RNAi 剂) 以外的物质。赋形剂不以预期剂量发挥

治疗效应或不意欲以预期剂量发挥治疗效应。赋形剂可用于：a) 在制造期间有助于药物输送系统的处理；b) 保护，支持或增强API的稳定性、生物可利用性或患者可接受性；c) 帮助产品识别；和/或d) 增强储存或使用期间的API的整体安全性、有效性或递送的任何其他属性。药学上可接受的赋形剂可以是或可以不是惰性物质。

[0101] 赋形剂可包括但不限于：吸收增强剂、抗粘附剂、消泡剂、抗氧化剂、粘合剂、缓冲剂、载体、包衣剂、色素、递送增强剂、递送聚合物、葡聚糖、右旋糖、稀释剂、崩解剂、乳化剂、增量剂、填充剂、风味剂、助流剂、保湿剂、润滑剂、油、聚合物、防腐剂、盐水、盐、溶剂、糖、悬浮剂、持续释放型基质、甜味剂、增稠剂、张度剂、媒介物、憎水剂和润湿剂。

[0102] 适于注射用途的药物组合物包括无菌水溶液（在水溶性的情况下）。对于皮下或静脉内施用，合适的载体可包括生理盐水、抑菌水、**Cremophor® ELTM** (BASF, Parsippany, NJ) 或磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。其在制造和储存条件下应是稳定的并且应经保存以防微生物（诸如细菌和真菌）的污染作用。载体可以是包含（例如）水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液体聚乙二醇）以及它们的合适的混合物的溶剂或分散介质。

[0103] 无菌注射溶液可通过将活性化合物以所需量与根据需要的一种上面所列举的成分或成分的组合并入合适的溶剂中，然后通过过滤灭菌来制备。一般来讲，分散液是通过将活性化合物并入无菌媒介物中来制备，所述无菌媒介物包含基础分散介质和来自以上所列举的那些的所需其他成分。

[0104] 在一些实施方案中，适用于本文所公开的方法中的药物组合物包含以下表3中提供的配制的AAT RNAi药物物质识别的组分。

[0105] 可将AAT RNAi剂配制成剂量单位形式的组合物以便于施用和剂量均匀。剂量单位形式是指适合用作待治疗的受试者的单位剂量的物理上离散单位；每个单位包含经计算以产生所需治疗效应的预定量的活性化合物和所需药用载体。在一些实施方案中，所述剂量单位为约5mg与约300mg之间的AAT RNAi药物物质。在一些实施方案中，所述剂量单位为约25mg与约200mg之间的AAT RNAi药物物质。在一些实施方案中，所述剂量单位为约100mg与约200mg之间的AAT RNAi药物物质。在一些实施方案中，所述剂量单位为约100mg的AAT RNAi药物物质。在一些实施方案中，所述剂量单位为约200mg的AAT RNAi药物物质。

[0106] 药物组合物可包含在药物组合物中常见的其他额外组分。此类额外组分包括但不限于：止痒药、收敛剂、局部麻醉药或抗炎剂（例如，抗组胺剂、苯海拉明等）。

[0107] 如本文所用，“药理学有效量”、“治疗有效量”或简单“有效量”是指产生药理学、治疗性或预防性结果的RNAi剂的量。

[0108] 所描述的药学上可接受的配制物可被包装成药盒、容器、包装或分配器。本文所述的药物组合物可被包装在预填充的注射器或小瓶中。

[0109] 配制的AAT RNAi药物物质

[0110] 在一些实施方案中，将如表2中所提供的AAT RNAi药物物质 (ADS-001) 与一种或多种药学上可接受的赋形剂配制以形成适于施用至人受试者的药物组合物。在一些实施方案中，将表2中描述的AAT RNAi药物物质在水性磷酸钠缓冲液（0.5mM磷酸二氢钠，0.5mM磷酸氢二钠）中以230mg/mL配制，形成表3中显示的配制的AAT RNAi药物物质 (ADS-001-1)：

[0111] 表3. 配制的AAT RNAi药物物质的组合物/1.0mL

[0112]	组分	功能	质量/等级	浓度
	ADS-001	活性成分	内部	230mg
	磷酸二氢钠,一水合物	悬浮剂	USP, Ph. Eur	0.061mg
	磷酸氢二钠,无水	悬浮剂	USP, Ph. Eur	0.062mg
	注射用水 (WFI)	媒介物	USP, Ph. Eur	879.2mg

[0113] 根据表3配制的AAT RNAi药物物质被制备为无菌配制物。在一些实施方案中,配制的AAT RNAi药物物质包装在容器(诸如玻璃小瓶)中。在一些实施方案中,配制的AAT RNAi药物物质包装在具有约1.1mL的填充体积的玻璃小瓶中,并且可基于意欲施用的所需剂量来计算所需施用体积。

[0114] 在一些实施方案中,使用本文所公开的方法将表3中陈述的配制的AAT RNAi药物物质施用至人受试者。

[0115] 患有AATD以及具有AATD诊断的人受试者

[0116] 本文所公开的方法包括使用包含表2中描述的AAT RNAi药物物质的药物组合物治疗有需要的人受试者的 α -1抗胰蛋白酶缺乏症(AATD),包括治疗人受试者的由AATD引起的症状和疾病。在一些实施方案中,在施用之前,人受试者被诊断为患有AATD。如本文所述,AATD是由导致AAT蛋白质的突变形式的翻译的基因转录物中的突变引起的遗传性病症,对于所述突变形式,趋于异常折叠的一些突变形式导致细胞内滞留在肝细胞中。虽然已识别SERPINA1基因的各种突变,但AATD的最常见且最严重的形式PiZZ基因型是由单个碱基对取代引起的。在具有PiZZ基因型的受试者中,经常报告循环AAT水平低于正常人水平的15%。在许多情况下,患者最初被诊断为患有COPD、哮喘或其他肺病,而没有识别根本原因。随着时间的推移,由于错误折叠的("Z-AAT")蛋白质的细胞内滞留以及无法从肝细胞正确分泌蛋白质,肝脏疾病(诸如纤维化和肝硬化)会显现出来。儿童患者通常表现肝脏疾病的临床症状,这些症状可包括无症状慢性肝炎、发育停滞、进食不良、或肝肿大和脾肿大。可通过来自受试者的血液样品的标准基因分型来诊断和确认AATD。

[0117] 给药和AAT基因表达的抑制

[0118] 一般来讲,AAT RNAi剂的有效量将在约0.1至约10mg/kg体重/天,例如,约0.25至约5mg/kg体重/天的范围内。在一些实施方案中,AAT RNAi剂的有效量将在每一剂量约0.5至约4mg/kg体重的范围内。在一些实施方案中,所述有效量是固定剂量。在一些实施方案中,5mg至300mg之间的AAT RNAi药物物质的固定剂量是有效剂量。在一些实施方案中,25mg至200mg之间的AAT RNAi药物物质的固定剂量是有效剂量。所施用的量将极有可能取决于诸如以下的变量:患者的总体年龄和健康状况,所递送的化合物的相对生物学功效,药物的配制物,配制物中赋形剂的存在和类型,和施用途径。在一些实施方案中,约10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、120、140、160、180、200、220、240、260或280mg至约15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280或300mg的固定剂量是有效剂量。在一些实施方案中,约25mg、约100mg或约200mg的固定剂量是有效剂量。

[0119] 此外,应当理解,所施用的初始剂量可在一些情况下增加超过以上上限水平以迅速实现所需血液水平或组织水平,或初始剂量可在一些情况下小于最佳值。例如,在一些实施方案中,施用约25mg至约200mg的AAT RNAi药物物质的初始剂量,随后在约1个月后施用

约25至200mg的AAT RNAi药物物质的第二剂量,之后每三个月一次(即,每季度一次)施用额外剂量(类似于“维持剂量”的概念)。

[0120] 为治疗疾病或为形成用于治疗疾病的药剂或组合物,本文所述的包含AAT RNAi剂的药物组合物可与赋形剂或与第二治疗剂或治疗(包括但不限于:第二或其他RNAi剂、小分子药物、抗体、抗体片段、肽和/或适体)组合。

[0121] 在一些实施方案中,在施用所描述的AAT RNAi剂的受试者中,相对于施用AAT RNAi剂之前的受试者或未接受AAT RNAi剂的受试者,AAT基因的基因表达水平和/或mRNA水平降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、95%、96%、97%、98%、99%,或大于99%。在受试者的细胞、细胞组和/或组织中,受试者中的基因表达水平和/或mRNA水平降低。

[0122] 在一些实施方案中,在已施用所描述的AAT RNAi剂的受试者中,相对于施用AAT RNAi剂之前的受试者或未接受AAT RNAi剂的受试者,AAT的蛋白质水平降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%,或大于99%。在受试者的细胞、细胞组、组织、血液和/或其他流体中,受试者的蛋白质水平降低。

[0123] 在一些实施方案中,在已施用所描述的AAT RNAi剂的患有AATD的受试者中,相对于施用AAT RNAi剂之前的受试者或未接受AAT RNAi剂的受试者,Z-AAT的蛋白质水平降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%,或大于99%。在一些实施方案中,在已施用所描述的AAT RNAi剂的受试者中,相对于施用AAT RNAi剂之前的受试者或未接受AAT RNAi剂的受试者,Z-AAT聚合物蛋白质水平降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%,或大于99%。

[0124] AAT基因表达、AAT mRNA或AAT蛋白质水平的降低可通过本领域中已知的一般方法来评估和定量。本文所公开的实例描述用于评估AAT基因表达的抑制和AAT蛋白质水平的降低的一般已知方法。AAT mRNA水平和/或蛋白质水平(包括Z-AAT聚合物和/或单体)的降低或减少在本文中统称为AAT的降低或减少或AAT表达的抑制或降低。

[0125] 如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”等意指为提供受试者的疾病的一种或多种症状的数量、严重程度和/或频率的缓解或减轻所采取的方法或步骤。如本文所用,“治疗(treat)”和“治疗(treatment)”可包括预防,管理,预防性治疗和/或抑制受试者的疾病的一种或多种症状的数量、严重程度和/或频率。

[0126] 如本文所用,“每月给药”或“每月施用”意指每28天。如本文所用,“每季给药”或“每季施用”意指每84天。术语“约”在与每月给药结合使用时意指每月给药 \pm 3天。术语“约”在与每季给药结合使用时意指每季给药 \pm 9天。

[0127] 如本文所用,当提及RNAi剂时,短语“引入至细胞中”意指功能性地将RNAi剂递送至细胞中。短语“功能性递送”意指以使RNAi剂具有预期生物学活性(例如,基因表达的序列特异性抑制)的方式将RNAi剂递送至细胞。

[0128] 除非另有说明,否则使用如本文所用的符号意指根据本文所述的发明的范围,

可将任何一个或多个基团连接至其。

[0129] 如本文所用,除非在结构中被特异性识别为具有特定构形,否则对于其中存在不对称中心并且因此产生对映异构体、非对映异构体或其他立体异构构型的每个结构,本文所公开的每个结构意欲表示所有此类可能异构体,包括其光学上纯和外消旋的形式。例如,本文所公开的结构意欲涵盖非对映异构体以及单一立体异构体的混合物。

[0130] 如本文权利要求中所使用,短语“由…组成”排除权利要求中未指定的任何要素、步骤或成分。当在本文权利要求中使用,短语“基本上由…组成”将权利要求的范围限制为指定材料或步骤和那些实质上不影响所要求保护的发明的基本和新颖特征的材料或步骤。

[0131] 本领域普通技术人员将容易理解并知晓,取决于化合物或组合物所处的环境,本文所公开的化合物和组合物可具有处在质子化或去质子化状态中的某些原子(例如,N、O或S原子)。因此,如本文所用,本文所公开的结构设想某些官能团(诸如(例如)OH、SH或NH)可以是质子化的或去质子化的。如本领域普通技术人员将容易理解,本文公开内容意欲涵盖所公开的化合物和组合物,而不考虑其基于环境(诸如pH)的质子化状态。

[0132] 除非另有定义,否则本文所使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解相同的含义。尽管类似或等效于那些本文所述的方法和材料的方法和材料可用于本发明的实践或测试,但以下描述合适的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献均以引用方式整体并入。在发生冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。另外,材料、方法和实例仅是例示性的而非意欲具有限制性。

[0133] 现利用以下非限制性实例来说明以上提供的实施方案和项目。

[0134] 实施例

[0135] 实施例1.AAT RNAi药物物质(ADS-001)的合成和配制

[0136] 适用于本文所公开的方法中的AAT RNAi药物物质可如本领域中已知使用基于固相寡核苷酸合成的标准亚磷酰胺技术来合成。可使用市售寡核苷酸合成仪(例如,MerMade96E®(Bioautomation)或MerMade12®(Bioautomation))。可在由受控孔玻璃(CPG, 500 Å或600Å,获自Prime Synthesis,Aston,PA,USA)制成的固体支持体上进行合成。可将位于相应链的3'端的单体连接至固体支持体作为合成的起点。所有RNA、2'-修饰的RNA亚磷酰胺和反向无碱基亚磷酰胺均可商购。可合成适于添加至有义链的5'端的含靶向基团的亚磷酰胺。如本领域中已知,可利用标准裂解、脱保护、纯化和退火步骤。与AAT RNAi剂的合成有关的其他描述可参见例如国际专利申请公布第W0 2018/132432号(申请第PCT/US2018/013102号)和W02018/044350(PCT/US2017/021147),所述申请各自以引用方式整体并入本文。接着可通过将AAT RNAi药物物质溶解在本领域中公知的药学上可接受的标准赋形剂中来配制AAT RNAi药物物质。例如,表3显示适用于本文所公开的方法中的配制的AAT RNAi药物物质。

[0137] 实施例2.AAT RNAi药物物质(ADS-001)在正常健康人志愿者(NHV)中的I期临床试验。

[0138] 实施1期单次和多次剂量递增剂量研究以评估健康志愿者(NHV)中AAT RNAi药物物质(ADS-001)在血清AAT水平上的安全性、耐受性、药代动力学和效应。研究受试者群体包

括BMI在19.0kg/m²与35.0kg/m²之间的18-52岁的健康成年男性和女性。

[0139] NHV受试者分为总共七个群组。将群组1至4随机分配以便接受以皮下注射液形式施用的单次递增剂量35mg (群组1) 和多次递增剂量100mg (群组2)、200mg (群组3) 和300mg (群组4) 的AAT RNAi 药物物质或安慰剂 (4组活性剂:4组安慰剂)。群组1至4是双盲的。群组2b、3b和4b是由接受单次剂量100、200和300mg AAT RNAi 药物物质的4名受试者组成的开放标签。总共44名受试者完成该研究。图4显示I期临床试验的最终研究设计。研究参数概述于下表4中。

[0140] 表4. I期临床研究参数

开发阶段	阶段 1: 首次人体
研究目标	主要目标: <ul style="list-style-type: none"> • 使用递增单次剂量和递增多次剂量确定在正常健康人志愿者(NHV)中可能或极有可能与治疗相关

[0142]

	<p>的不良事件的发生率和频率作为 AAT RNAi 药物物质(ADS-001)的安全性和耐受性的量度。</p> <p>次要目标:</p> <ul style="list-style-type: none"> 评估 AAT RNAi 药物物质在 NHV 中的单次剂量和多次剂量药代动力学。 确定响应于 AAT RNAi 药物物质的血清 AAT 减少作为药物活性的量度。 <p>探索目标:</p> <ul style="list-style-type: none"> 评估单次剂量的 AAT RNAi 药物物质对 NHV 中细胞因子(细胞因子小组 A: 白介素 6 [IL-6]、单核细胞化学引诱物蛋白质 1 [MCP-1]、肿瘤坏死因子 α [TNF-α]、白介素 8 [IL-8]、白介素 1β [IL-1β]、干扰素 α [IFNα]、IL-10、IL-12 [p40]、IL-12 [p70]、巨噬细胞炎性蛋白质 1α [Mip-1α])的效应。 评估单次递增剂量的 AAT RNAi 药物物质对 NHV 中补体因子 Bb、CH50、C5a、C4a 和 C3a 的效应。 收集 NHV 中的血浆样品以用于随后的代谢物识别(报告于该研究之外的另一单独报告中)。 收集 NHV 中的尿液样品以用于随后确定尿液排泄和代谢物识别(报告于该研究之外的另一单独报告中)。
研究设计	<p>群组 1 至 4: 随机化, 双盲, 安慰剂对照</p> <p>群组 2b、3b 和 4b: 开放标签</p>
研究群体	该研究在年龄 18-52 岁且 BMI 在 19.0 kg/m ² 与 35.0 kg/m ² 之间的 NHV 成年男性和女性中实施。
研究产品	AAT RNAi 药物物质(ADS-001) (参见表 2), 以配制的 AAT RNAi 药物物质(参见表 3)形式施用
剂量和频率	<p>群组 1: 随机分配以便接受以单次皮下注射液形式施用的单次剂量 35 mg 的 AAT RNAi 药物物质(ADS-001)或安慰剂(4 组活性剂:4 组安慰剂)。</p> <p>群组 2 至 4: 随机分配以便经由皮下注射接受每月三次(即, 第 1 天、第 29 天和第 57 天)剂量的 100 mg (群组 2)、200 mg (群组 3)或 300 mg (群组 4) AAT RNAi 药物物质或安慰剂(4 组活性剂:4 组安慰剂)。</p> <p>群组 2b、3b 和 4b: 入选接受以单次皮下注射液形式施用的单次剂量 100 mg (群组 2b)、200 mg (群组 3b)或 300 mg (群组 4b) AAT RNAi 药物物质(4 组活性剂)。</p>
参考配制物	安慰剂(PBO): 生理盐水(0.9%), 以匹配体积皮下施用。
安全性评	<ul style="list-style-type: none"> 通过不良事件、严重不良事件、身体检查、生命

估标准	体征测量(血压、心率、体温和呼吸率)、静息 ECG 测量、临床实验室测试、并用药物/疗法、注射部位反应(ISR)、治疗中断原因和第 29 天后 90 天(第 1 组)和第 113 天后 90 天(所有其他群组)的妊娠随访来评估安全性。
药代动力学评估	在第 1 剂量(群组 1)后和在第 1 剂量和第 3 剂量(群组 2、3 和 4)后, 将从每名受试者采集血液样品以进行药代动力学分析。
[0143] 数据分析	<p>筛选、依从性、耐受性和安全性数据: 将进行安全性分析, 并且按群组概述结果。不良事件(AE)、严重不良事件(SAE)、相关 AE、相关 SAE 和导致中断的 AE 的发生率和频率将通过群组按 SOC、PT 和严重程度进行概述。其他安全性参数将在每个预定时间进行概述。</p> <p>药代动力学(仅 NHV 受试者): AAT RNAi 药物物质成分的血浆浓度将用于计算以下 PK 参数: 最大观测血浆浓度(C_{max})、时间 0 至 24 小时的血浆浓度时间曲线下面积(AUC) (AUC₀₋₂₄)、自时间 0 外推至无穷大的 AUC (AUC_{inf})和终末消除半衰期(t_{1/2})。药代动力学参数将使用非房室方法来确定。PK 参数的描述性统计将包括平均值、标准偏差(SD)、变异系数、中位数、最小值和最大值。将分析 PK 结果的剂量比例和性别差异。</p>

[0144] 该研究的血清AAT降低结果显示与安慰剂相比,以35至300mg的剂量施用AAT RNAi 药物物质导致血清AAT大大降低。最初,提出一个群组作为每剂量400mg AAT RNAi 药物物质的临床试验方案的一部分。然而,鉴于在35、100、200和300mg剂量下的出乎意料的效力,因此从研究方案去除400mg群组。在I期研究中,在多次给药后,35mg、100mg和200mg的剂量得到实质性的血清AAT降低,而100mg和200mg均实现约90%平均血清AAT降低。图5至图11报告I期研究中各个群组的血清AAT降低。

[0145] 在所有剂量上均无明确剂量依赖性反应,因为,令人惊讶且出乎意料地,100mg和200mg的剂量水平产生实质性(实现约90%)的且与较高300mg剂量相似的敲低。尽管35mg的最低剂量仍然很具活性,但其活性不如以单次剂量施用的100mg,指示剂量反应的程度。

[0146] 35mg的单次剂量的血清AAT降低(>58%)的持续时间比最初所预期时间长,直至剂量施用后16周,随后恢复至基线。例如,在35mg单次剂量后的第三十四周,一名受试者的血清AAT水平已恢复至超过90mg/dL,而第二名受试者的血清AAT水平保持在40mg/dL(与基线相比降低60.4%)。100mg至300mg AAT RNAi 药物物质的单次剂量的反应的持续时间没有显著差异,在单次剂量后第8周与第16周之间开始恢复至基线。

[0147] 一般来讲,多次剂量的AAT RNAi 药物物质维持血清AAT大大降低的持续时间长于单次剂量。这些数据表明在第29天(即,自初始剂量起一个月后)接受第二剂量可进一步降低血清AAT水平或维持降低,并且可每12周(即,每季)施用随后的剂量以维持最大血清AAT降低。

[0148] 在I期研究中,没有死亡,没有严重不良事件(SAE),并且没有等级为重度强度的不

良事件(AE)。在接受AAT RNAi药物物质的受试者中,两名受试者报告了三种强度中等的AE(上呼吸道感染、鼻漏、一般胸痛)。在接受安慰剂的受试者中,三名受试者报告了三种强度中等的AE(2位胃肠炎、肌肉骨骼性胸痛-左侧)。已报告所有其他AE为轻度。大多数受试者报告与研究治疗无关的AE。在接受AAT的受试者中发生一种AE,会导致疗法的提前中断,但基于研究继续对受试者进行随访。在接受至少单次剂量的配制的AAT RNAi药物物质的28名受试者中报告了九十四种AE。在接受安慰剂的17名受试者中报告了四十六种AE。随着剂量递增,尚无明显的AE的频率或强度增加的形态。

[0149] 在所有配制的AAT RNAi药物物质群组中,有6名受试者在注射部位发生六种AE,这些AE均发生在接受药物的受试者中。在安慰剂受试者中,没有注射部位AE。报告的注射部位反应包括注射部位瘀伤、红斑和疼痛。接受配制的AAT RNAi药物物质的受试者的21.4%报告注射部位的这些合并的AE。配制的AAT RNAi药物物质的50次注射中有6次导致注射部位AE或为12%。单个受试者中没有超过一次地报告注射部位AE。所有注射部位AE均被视作轻度强度。

[0150] 其他实施方案

[0151] 应当理解,尽管已结合本发明的详细描述描述了本发明,但是前述描述意欲说明而不是限制本发明的范围,本发明的范围由所附权利要求书的范围限定。其他方面、优点和修改均在所附权利要求书的范围之内。

序列表

<110> 爱罗海德制药公司 (ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC.)

<120> 用于治疗 α -1抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 的方法

<130> 30674-W01

<160> 6

<210> 1

<211> 3220

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> 智人丝氨酸蛋白酶抑制蛋白家族A成员1 (SERPINA1),
基因转录物变体1 (NM_000295.4)

<400> 1

```

acaatgactc ctttcggtaa gtgcagtgga agctgtacac tgcccaggca aagcgtccgg 60
gcagcgtagg cgggcgactc agatcccagc cagtggactt agcccctggt tgctcctccg 120
ataactgggg tgaccttggg taatattcac cagcagcctc ccccgttgcc cctctggatc 180
cactgcttaa atacggacga ggacagggcc ctgtctctc agcttcaggc accaccactg 240
acctgggaca gtgaatcgac aatgccgtct tctgtctcgt ggggcacctc cctgctggca 300
ggcctgtgct gcctgggcc tgtctccctg gctgaggatc cccagggaga tgctgcccag 360
aagacagata catcccacca tgatcaggat cacccaacct tcaacaagat ccccccaac 420
ctggctgagt tcgccttcag cctataccgc cagctggcac accagtcca cagcaccaat 480
atcttcttct ccccagtgag catcgtaca gcctttgcaa tgctctccct ggggaccaag 540
gctgacactc acgatgaaat cctggagggc ctgaatttca acctcacgga gattccggag 600
gctcagatcc atgaaggctt ccaggaactc ctccgtacce tcaaccagcc agacagccag 660
ctccagctga ccaccggcaa tggcctgttc ctacagcagg gcctgaagct agtgataag 720
tttttgagg atgttaaaaa gttgtaccac tcagaagcct tactgtcaa cttcggggac 780
accgaagagg ccaagaaaca gatcaacgat tacgtggaga aggtactca agggaaaatt 840
gtggatttgg tcaaggagct tgacagagac acagttttg ctctggtgaa ttacatcttc 900
tttaaaggca aatgggagag accctttgaa gtcaaggaca ccgaggaaga ggacttccac 960
gtggaccagg tgaccaccgt gaaggtgcct atgatgaagc gtttaggcat gtttaacatc 1020
cagcactgta agaagctgtc cagctgggtg ctgctgatga aatacctggg caatgccacc 1080
gccatcttct tcctgcctga tgaggggaaa ctacagcacc tggaaaatga actcaccacc 1140
gatatcatca ccaagttcct ggaaaatgaa gacagaaggt ctgccagctt acatttacc 1200
aaactgtcca ttactggaac ctatgatctg aagagcgtcc tgggtcaact gggcatcact 1260
aaggtcttca gcaatggggc tgacctctcc ggggtcacag aggaggcacc cctgaagctc 1320
tccaaggccg tgcataaggc tgtgctgacc atcgacgaga aaggactga agctgctggg 1380
gccatgtttt tagaggccat acccatgtct atccccccg aggtcaagtt caacaaacc 1440
tttgtcttct taatgattga acaaaaatacc aagtctcccc tcttcatggg aaaagtgggt 1500

```

aatcccaccc aaaataact gcctctcgt cctcaacccc tcccctccat ccctggcccc 1560
ctccctggat gacattaaag aagggttgag ctggtcctg cctgcatgtg actgtaaate 1620
cctcccatgt tttctctgag tctcccttg cctgctgagg ctgtatgtgg gctccaggta 1680
acagtgtgt cttcgggccc cctgaactgt gttcatggag catctggctg gtaggcaca 1740
tgctgggctt gaatccagg gggactgaat cctcagctta cggacctggg cccatctgtt 1800
tctggagggc tccagtctt cttgtcctgt cttggagtcc ccaagaagga atcacagggg 1860
aggaaccaga taccagccat gaccccaggc tccaccaagc atcttcatgt ccccctgctc 1920
atccccact cccccacc cagagttgct catcctgcca gggctggctg tgccccccc 1980
aagctgccc tctgggggc ccagaactg cctgatcgtg ccgtggcca gttttgtggc 2040
atctgcagca acacaagaga gaggacaatg tctctctt gaccgctgt cacctaacca 2100
gactcgggcc ctgcacctt caggcactt tggaaatga ctgaggcaga ttcttctga 2160
agccattct ccatggggca acaaggacac ctattctgtc cttgtcttc catcgtgctc 2220
ccgaaaagcc tcacatatc cgttttaga tcaggtcct tctcccaga tgaagaggag 2280
ggctctgtt ttgtttctc tatctctcc tcagactga ccaggcccag caggcccag 2340
aagaccatta ccctatatc cttctctcc ctatgcat ggccataggc ctgctgatgg 2400
ctcaggaagg ccattgcaag gactcctcag ctatgggaga ggaagccat caccattga 2460
ccccgcaac cctccctt cctctctga gtcccactg gggccacatg cagcctgact 2520
tctttgtgcc tgttctgtc cctgcagtct tcagagggcc accgcagctc cagtgccacg 2580
gcaggaggct gttcctgaat agcccctgtg gtaaggcca ggagagtct tccatctcc 2640
aaggccctgc taaaggacac agcagccagg aagtcccctg ggcccctagc tgaaggacag 2700
cctgctccct cgtctctac caggaatggc cttgtctat ggaaggcact gcccattccc 2760
aaactaatct aggaatcact gtctaaccac tcaactgcat gaatgtgtac ttaaaggatg 2820
aggttgagtc ataccataa gtgatttca tagttcaaaa tggatgaaatt agcaattcta 2880
catgattcag tctaatcaat ggataccgac tgttcccac acaagtctcc tgttctctta 2940
agcttactca ctgacagcct ttcactctc acaatacat taaagatat gccatcacca 3000
agccccctag gatgacacca gacctgagag tctgaagacc tggatccaag ttctgacttt 3060
tccccctgac agctgtgtga cttcgtgaa gtcgccaac ctctctgagc cccagtcatt 3120
gctagtaaga cctgccttg agttggtat atgttcaagt tagataacaa aatgtttata 3180
cccattagaa cagagaataa atagaactac atttcttga 3220

<210> 2

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列 (Artificial sequence)

<220>

<223> AAT RNAi 剂反义链修饰序列

<400> 2

uguuaaacau gccuaaacgc u 21

<210> 3

<211> 21

<212> RNA
<213> 人工序列 (Artificial sequence)
<220>
<223> AAT RNAi剂反义链基础碱基序列
<400> 3
uguuaaacau gccuaaacgc u 21
<210> 4
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列 (Artificial sequence)
<220>
<223> AAT RNAi剂有义链修饰序列
<400> 4
agcguuuagg cauguuaac a 21
<210> 5
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列 (Artificial sequence)
<220>
<223> AAT RNAi剂有义链基础碱基序列
<400> 5
agaugcugcc cagaagacac a 21
<210> 6
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列 (Artificial sequence)
<220>
<223> AAT RNAi剂有义链修饰序列
<400> 6
agcguuuagg cauguuaac a 21

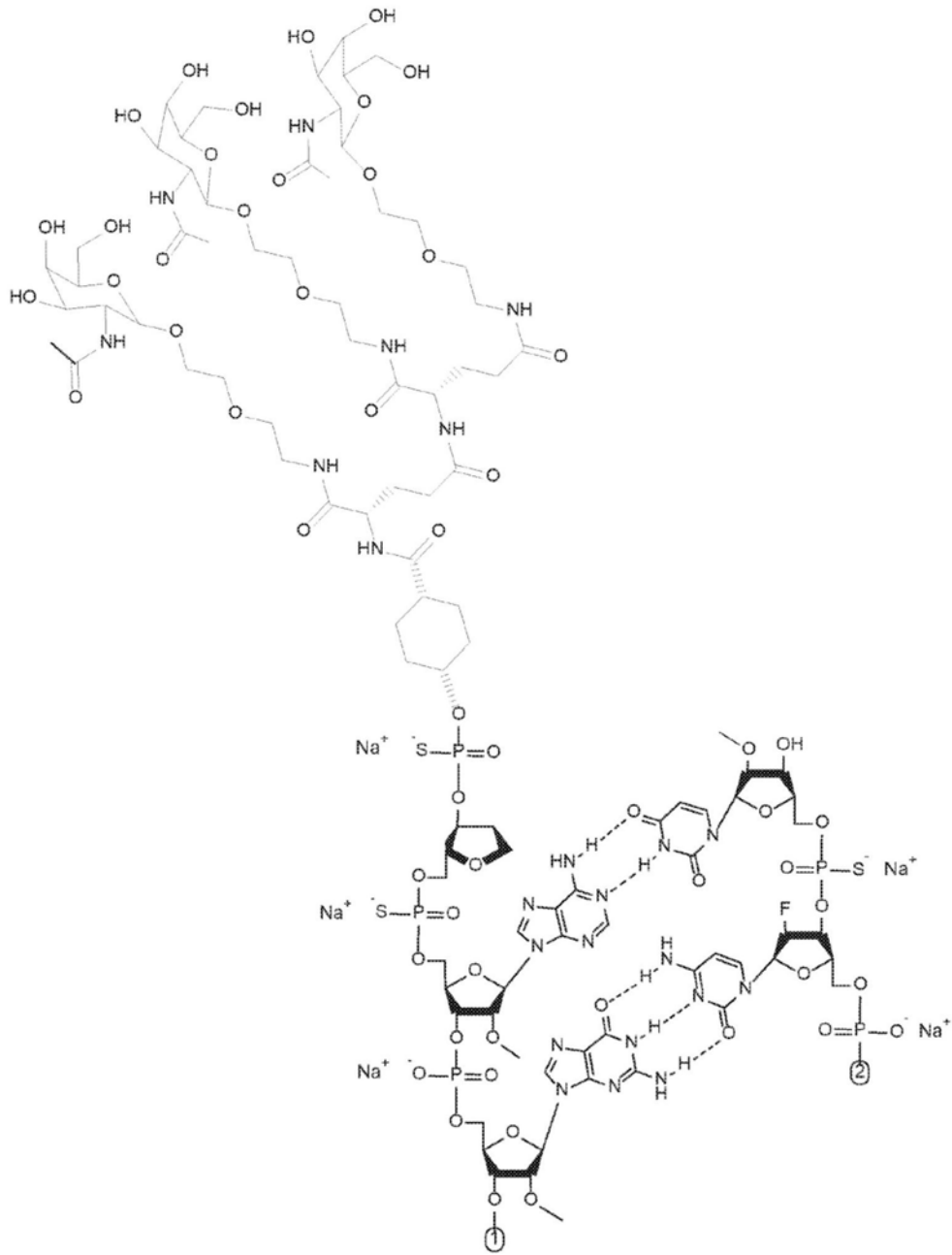


图1A

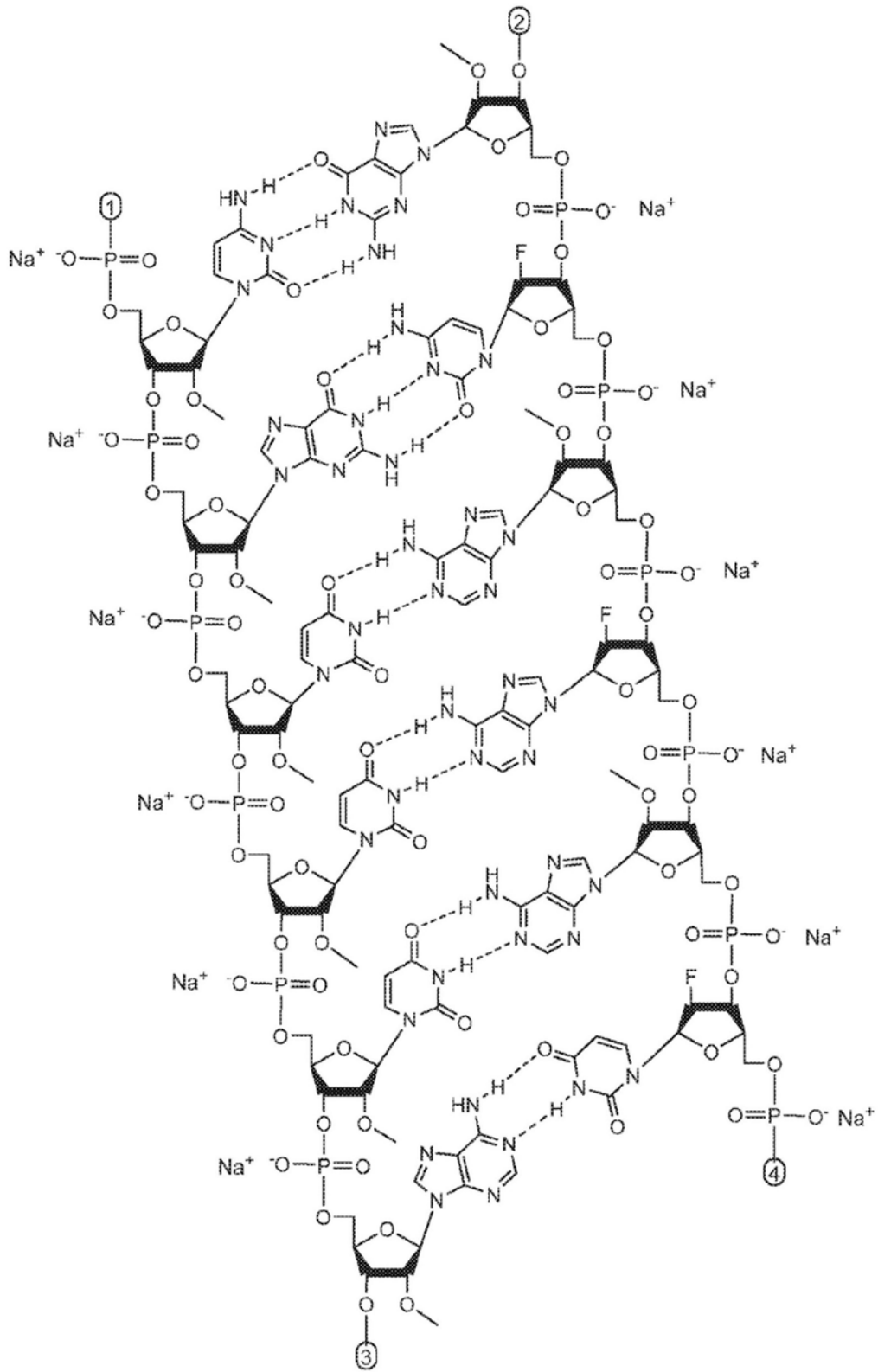


图1B

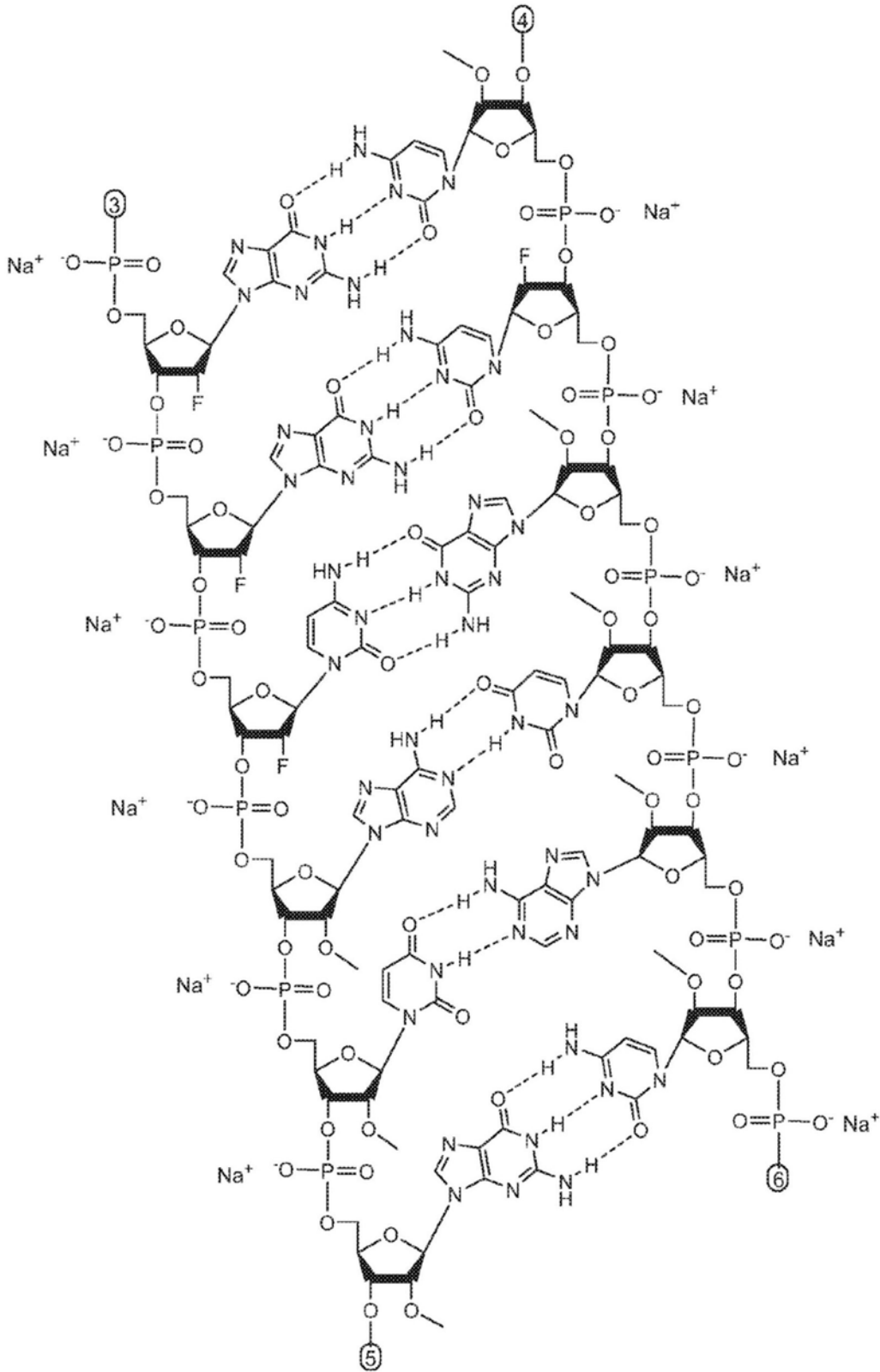


图1C

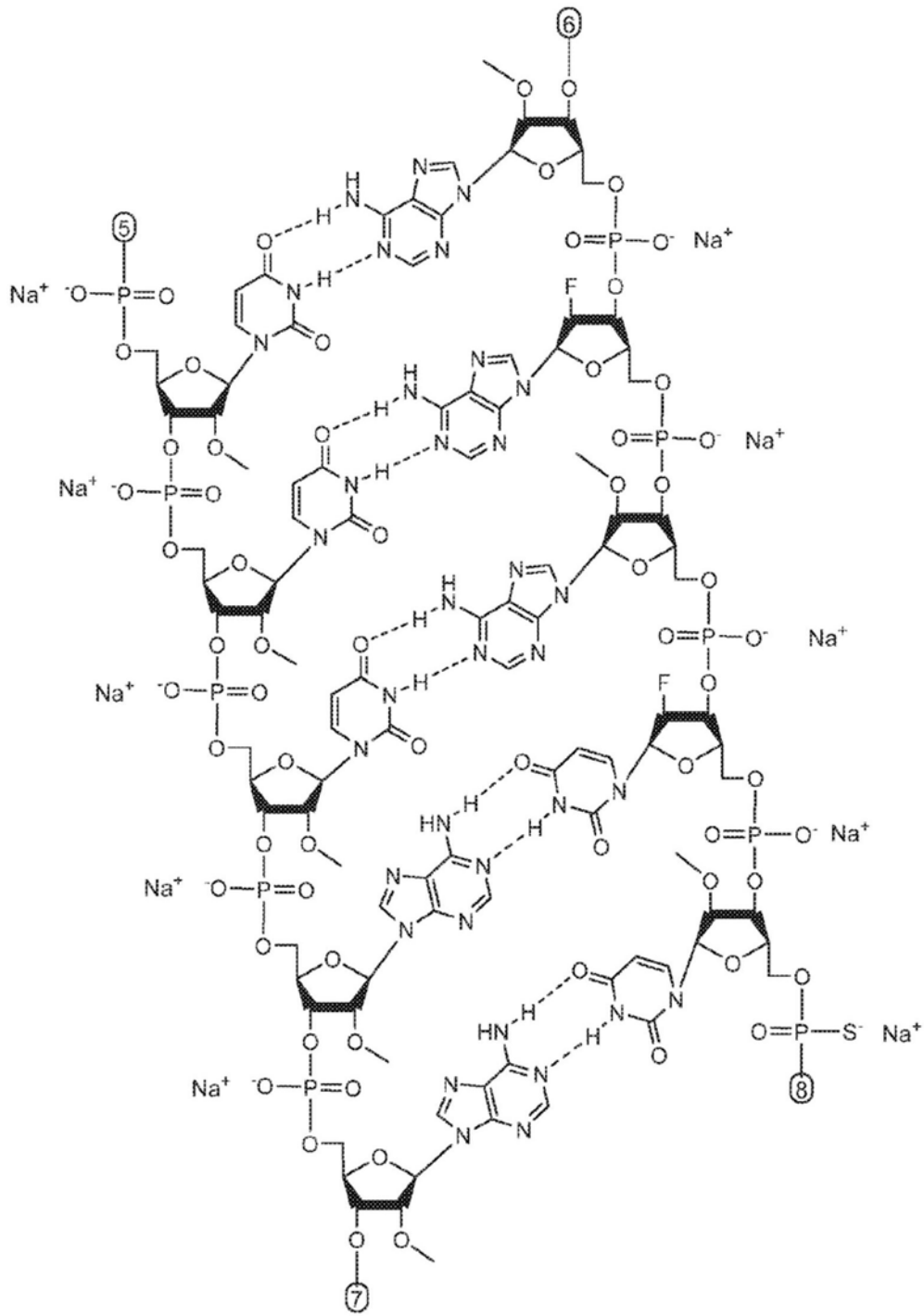


图1D

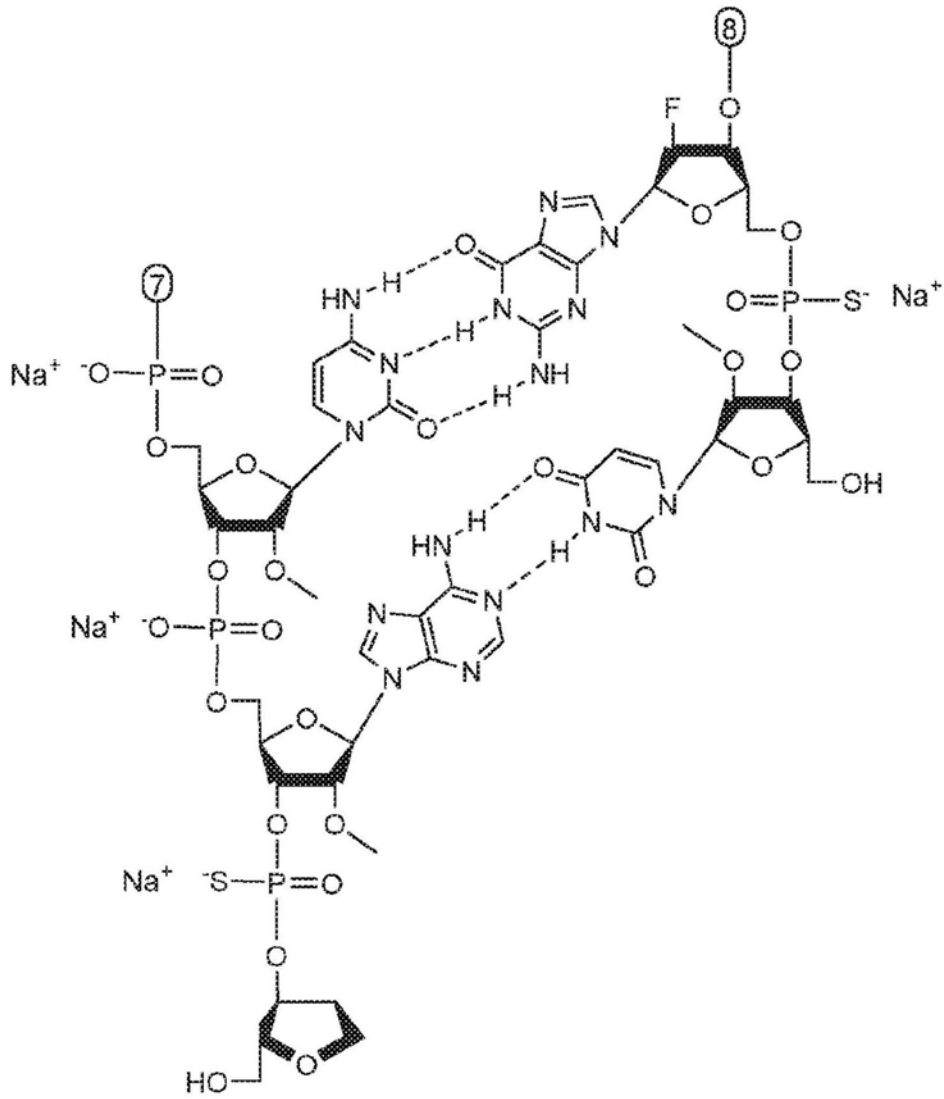


图1E

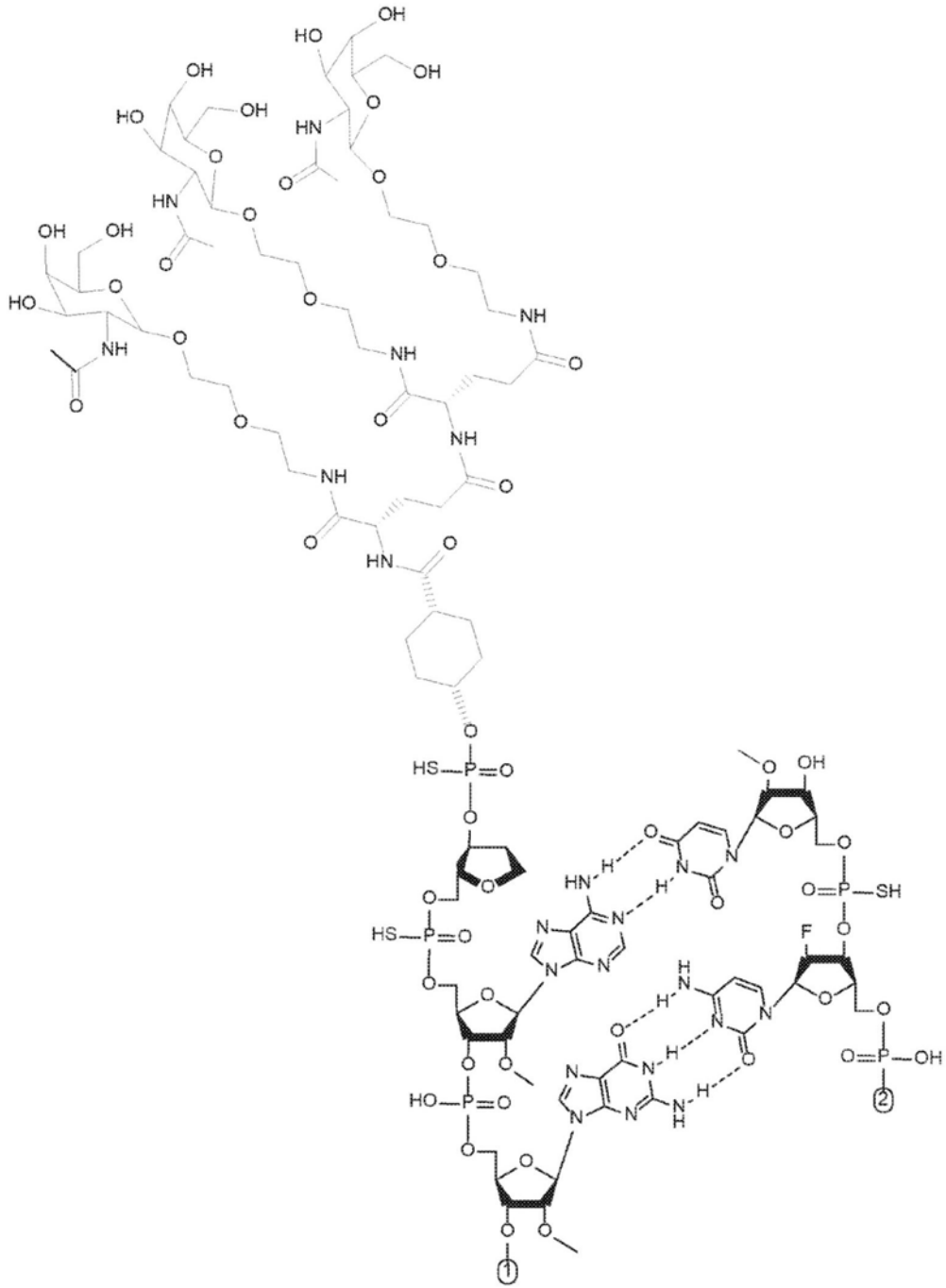


图2A

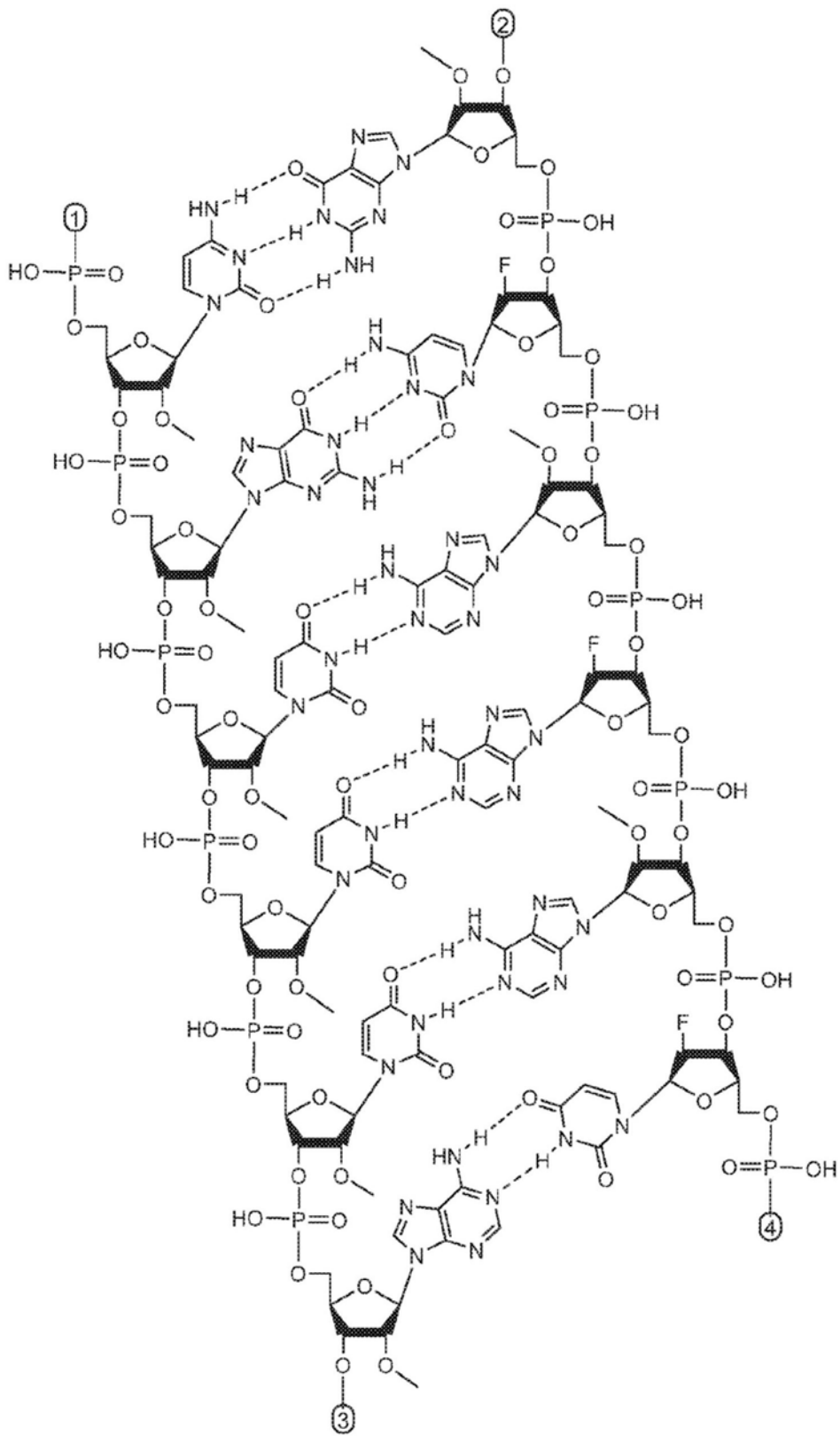


图2B

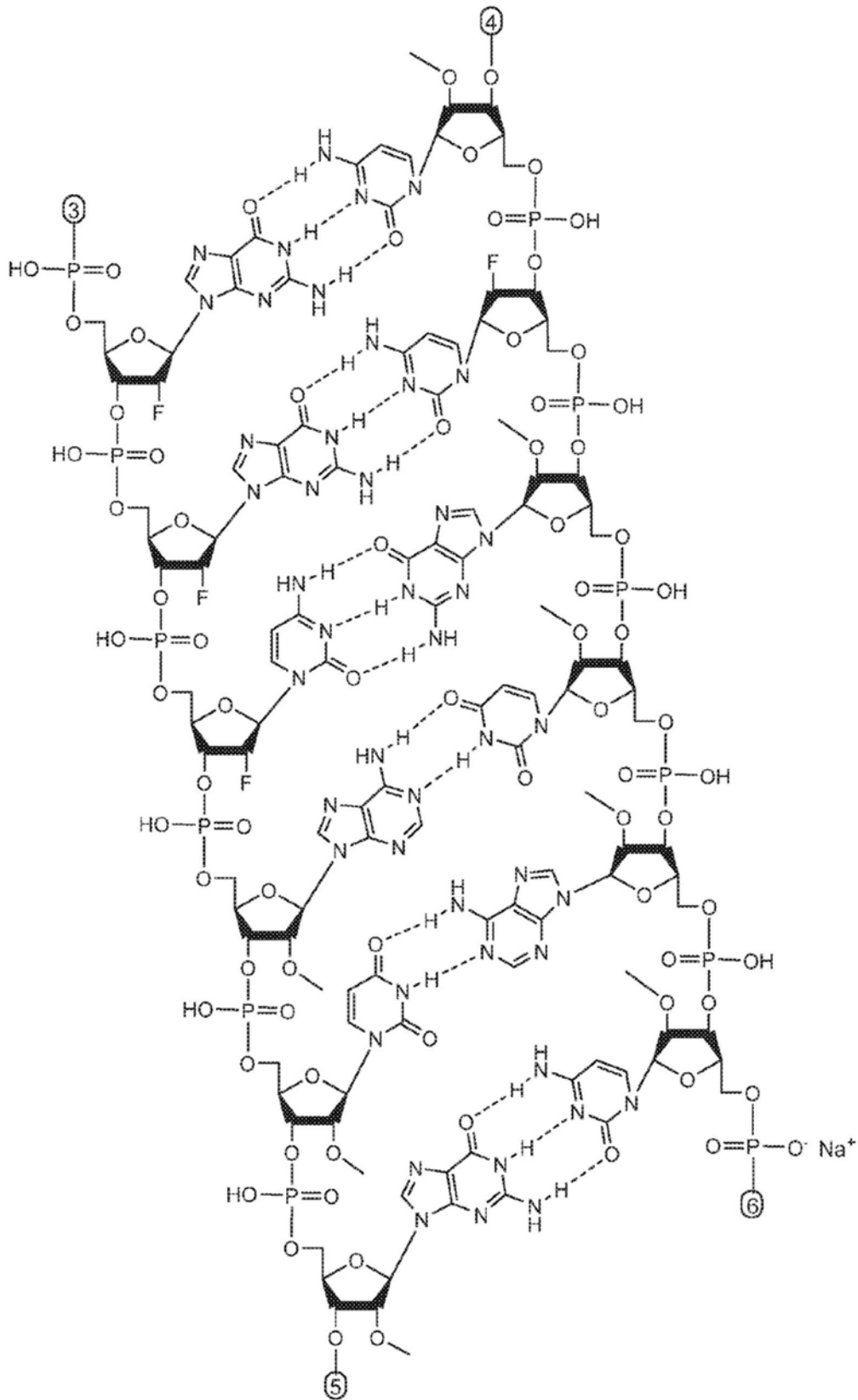


图2C

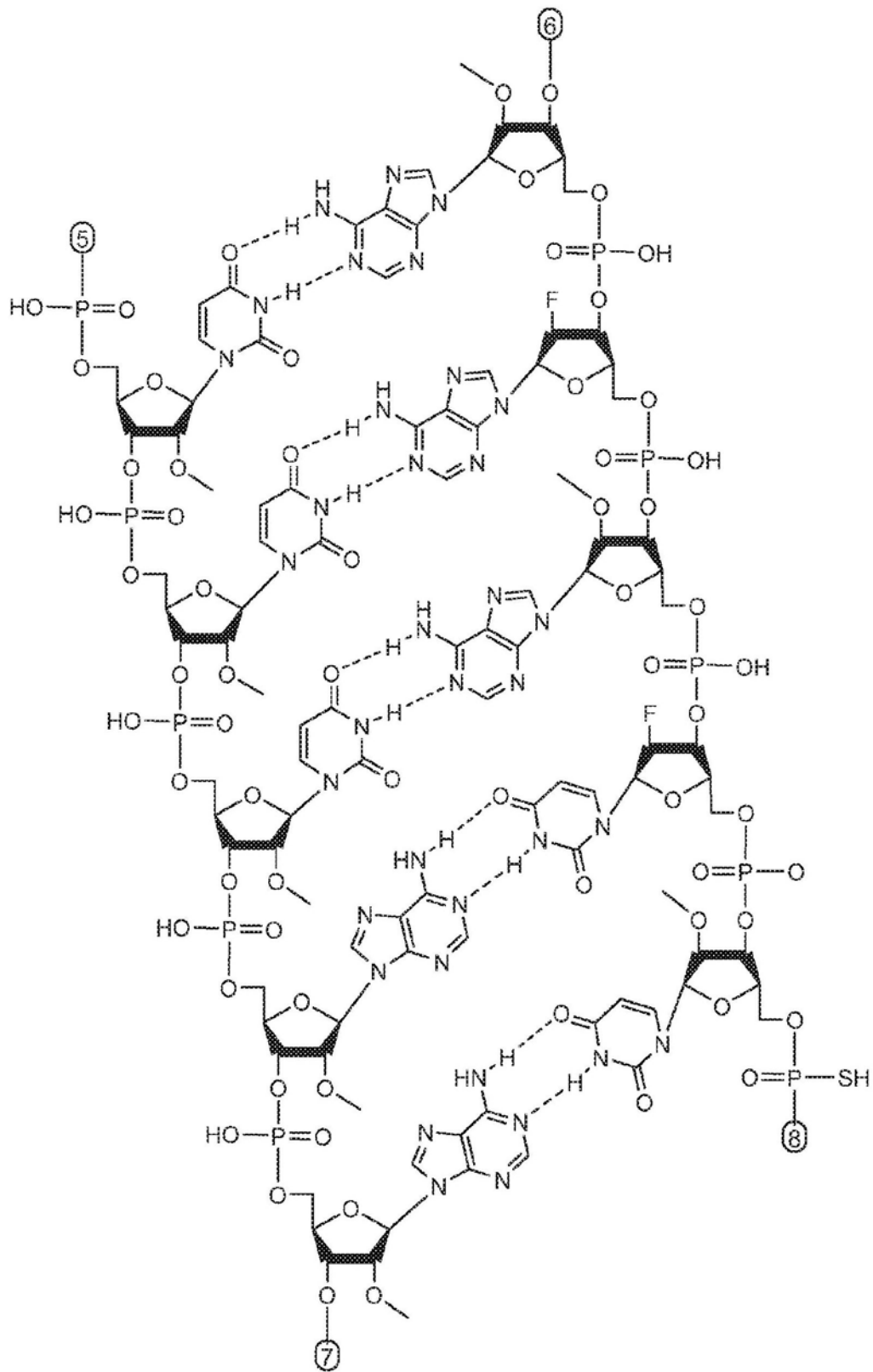


图2D

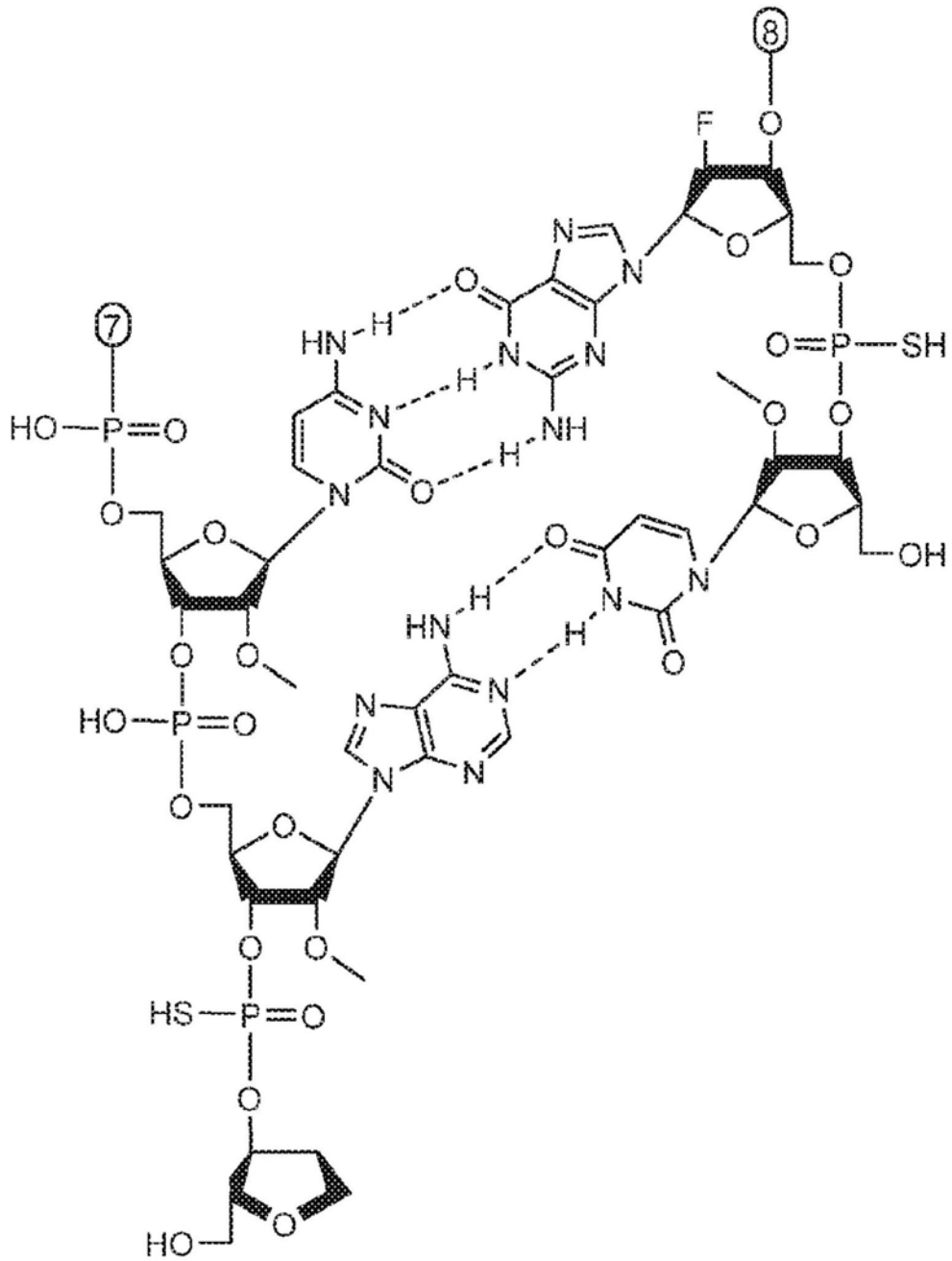


图2E

单次剂量正常健康志愿者 (群组1、2、3、4是双盲的; 群组2b、3b、4b是开放标签)			多次剂量正常健康志愿者(双盲)
群组	剂量(第1天)	第15天 安全性评估	剂量方案
群组1	35 mg		N/A
群组2/2b	100 mg		100 mg, 第29天、第57天给药/ 群组2b: 仅单次剂量(第1天)
群组3/3b	200 mg		200 mg, 第29天、第57天给药/ 群组3b: 仅单次剂量(第1天)
群组4/4b	300 mg		300 mg, 第29天、第57天给药/ 群组4b: 仅单次剂量(第1天)

图4

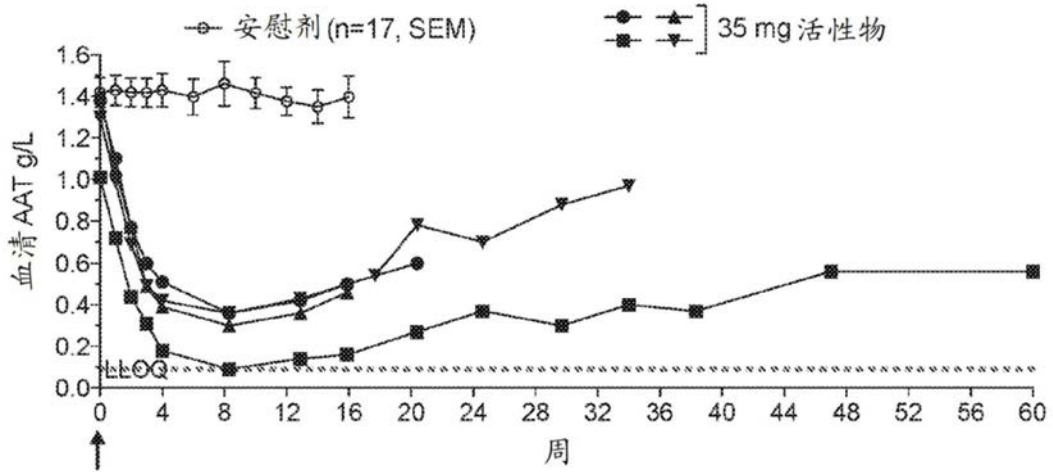


图5

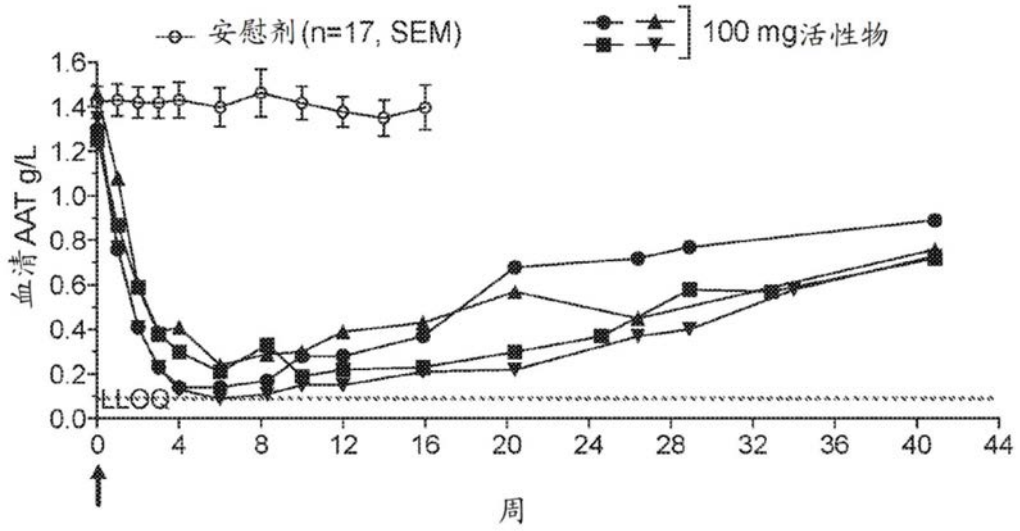


图6

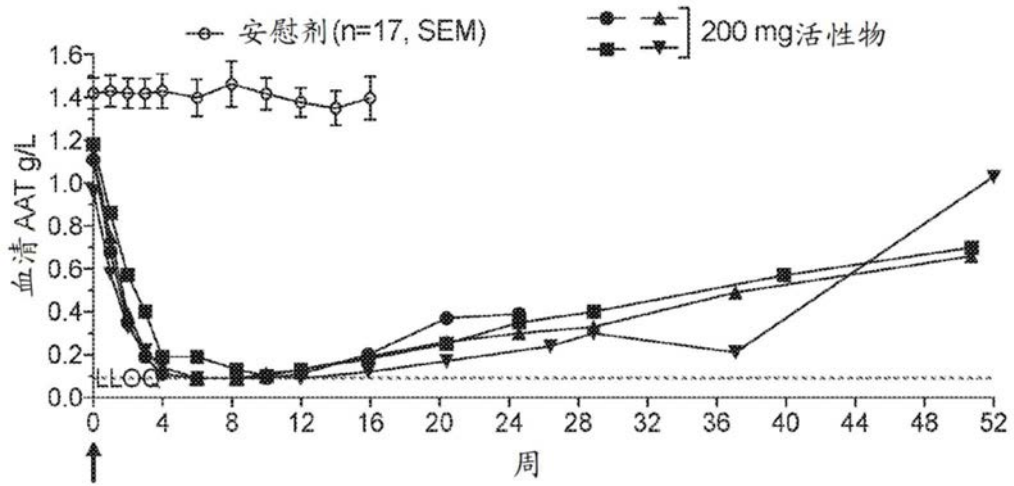


图7

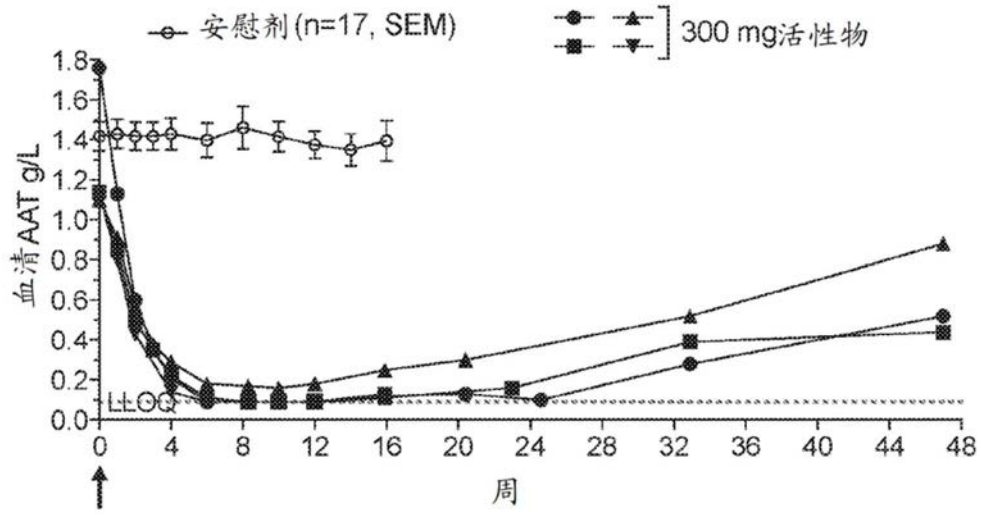


图8

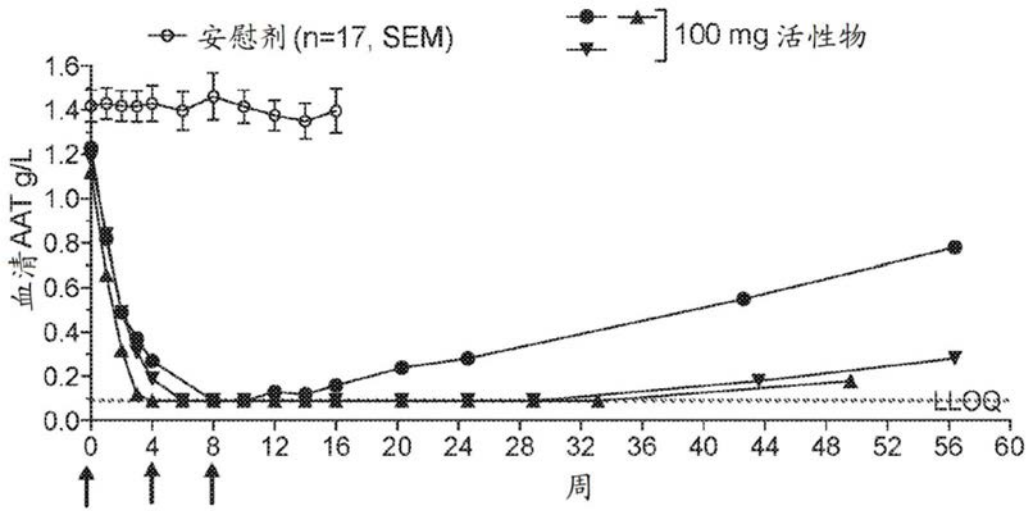


图9

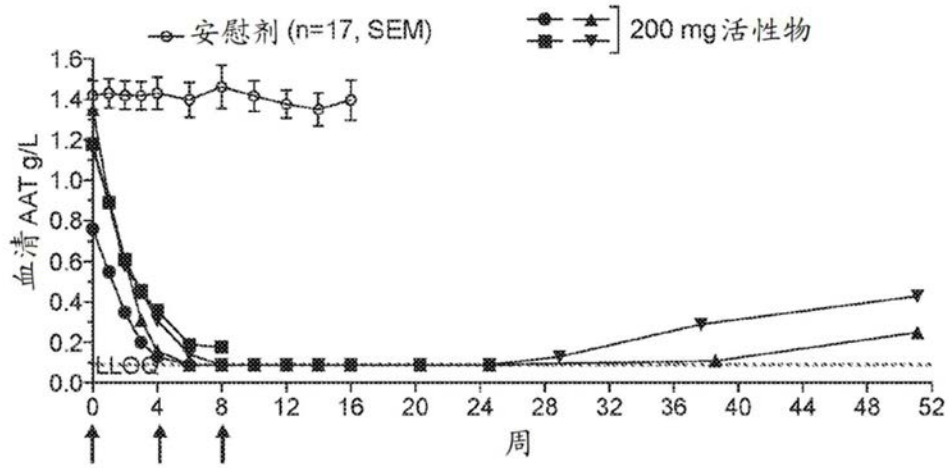


图10

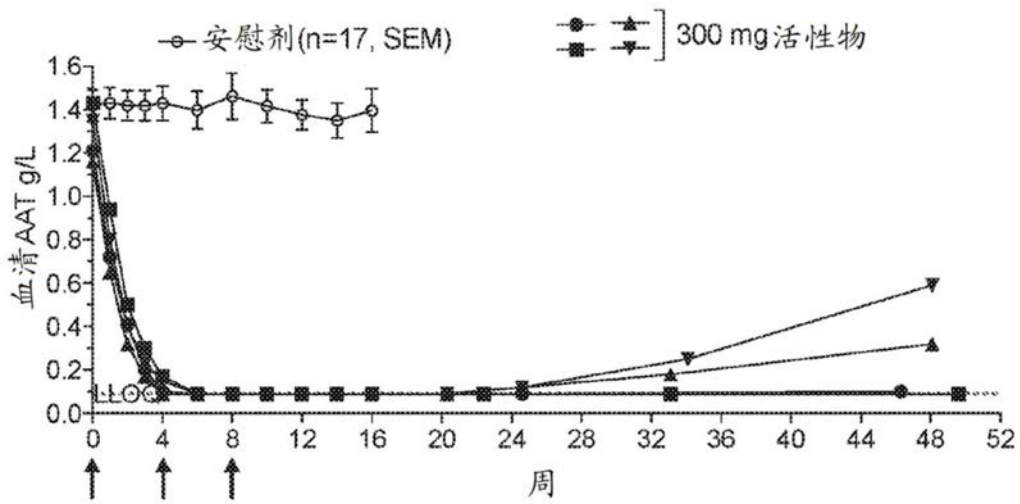


图11