

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6234370号
(P6234370)

(45) 発行日 平成29年11月22日(2017.11.22)

(24) 登録日 平成29年11月2日(2017.11.2)

(51) Int.Cl.	F 1		
C 12 N 15/113	(2010.01)	C 12 N	15/00
C 12 Q 1/68	(2006.01)	C 12 Q	1/68
A 61 K 31/7115	(2006.01)	A 61 K	31/7115
A 61 K 48/00	(2006.01)	A 61 K	48/00
A 61 P 21/02	(2006.01)	A 61 P	21/02

請求項の数 13 (全 123 頁)

(21) 出願番号	特願2014-535856 (P2014-535856)
(86) (22) 出願日	平成24年10月11日 (2012.10.11)
(65) 公表番号	特表2014-534810 (P2014-534810A)
(43) 公表日	平成26年12月25日 (2014.12.25)
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/059671
(87) 国際公開番号	W02013/055865
(87) 国際公開日	平成25年4月18日 (2013.4.18)
審査請求日	平成27年10月13日 (2015.10.13)
(31) 優先権主張番号	61/545,968
(32) 優先日	平成23年10月11日 (2011.10.11)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/601,205
(32) 優先日	平成24年2月21日 (2012.2.21)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	503146324 ザ ブリガム アンド ウィメンズ ホスピタル インコーポレイテッド The Brigham and Women's Hospital, Inc. アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2115 ボストン フランシス ストリート 75
(74) 代理人	100092783 弁理士 小林 浩
(74) 代理人	100120134 弁理士 大森 規雄
(74) 代理人	100104282 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】神経変性障害におけるマイクロRNA

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

h s a - m i R - 1 5 5 中に存在する少なくとも 1 2 ヌクレオチドの連続配列に相補的な配列であって、前記 1 2 ヌクレオチドの連続配列のうち少なくとも 5 ヌクレオチドが h s a - m i R - 1 5 5 のシード配列に相補的である前記配列を含む抑制性核酸を含む、対象における筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を治療するための医薬組成物。

【請求項2】

少なくとも 1 種の抑制性核酸が、アンタゴミアである、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

アンタゴミアが、配列番号 2 6 2 の配列を有する、請求項2に記載の組成物。

10

【請求項4】

少なくとも 1 種の抑制性核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】

少なくとも 1 種の抑制性核酸が、対象の髄液への注射用に製剤されている、請求項1～4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項6】

注射が、頭蓋内注射である、請求項5に記載の組成物。

【請求項7】

注射が、髄腔内注射である、請求項5に記載の組成物。

20

【請求項 8】

少なくとも 1 種の抑制性核酸が、1 種または複数のカチオン性ポリマーおよび / またはカチオン脂質と複合体化されている、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を治療するための対象の選択方法であって、
対象からの CD14⁺ CD16⁻ 単球中のマイクロ RNA hsa-miR-155 のレベルを決定すること；
対象からの CD14⁺ CD16⁻ 単球中のマイクロ RNA hsa-miR-155 のレベルを、マイクロ RNA hsa-miR-155 の参照レベルと比較すること；および
CD14⁺ CD16⁻ 単球中のマイクロ RNA hsa-miR-155 のレベルが前記 10
参照レベルと比較して増加している対象を ALS を治療するために選択すること
を含む、方法。

【請求項 10】

参照レベルが、閾値レベルである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

参照レベルが、対照の対象からの CD14⁺ CD16⁻ 単球中で見出されるレベルである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

マイクロ RNA hsa-miR-155 が、配列番号 59 を含む、前駆マイクロ RNA である、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 13】

マイクロ RNA hsa-miR-155 が、配列番号 58 を含む、成熟マイクロ RNA である、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****関連出願の相互参照**

本出願は、それぞれその全体が参照により本明細書に組み込まれる 2011 年 10 月 1 1 日付けで出願された米国特許出願第 61/545,968 号、および 2012 年 2 月 21 日付けで出願された米国特許出願第 61/601,205 号の優先権を主張する。 30

【背景技術】**【0002】**

炎症は、多数の神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症 (ALS) および多発性硬化症）との関連が示してきた。例えば炎症性反応の増加は、ヒト ALS 患者および動物の ALS モデルの両方で観察されている (McGreer ら、Muscle Nerve 26 : 459 ~ 470、2002；Beers ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 105 : 15558 ~ 15563、2008；Banerjee ら、PLoS ONE 3 : e2740、2008；Chiu ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 105 : 17913 ~ 17918、2008；Chiu ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 106 : 20960 ~ 20965、2009；Beers ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 103 : 16021 ~ 16026、2006；Henkel ら、Ann. Neurol. 55 : 221 ~ 235、2004；Meissner ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 107 : 13046 ~ 13050、2010)。マウスの家族性 ALS モデルでは、中枢神経系でミクログリアと星状細胞の両方が活性化されていること (Alexianu ら、Neurology 57 : 1282 ~ 1289、2001；Hall ら、Glia 23 : 249 ~ 256、1998)、およびマウスの ALS モデルでは、神経変性疾患が進行する間にナチュラルキラー細胞および末梢 T 細胞は脊髄に浸潤すること (Chiu ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 105 : 17913 ~ 17918、2008) が報告されている。 40

【0003】

末梢神経系において、末梢性運動神経軸索の変性は、ALS 患者および動物の ALS モデルにおける初期の有意な病理学的特徴であり、それに先立ちマクロファージの動員および活性化が起こる (Chiu ら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 106 : 20960 ~ 20965、2009)。マウスにおける特異的な単球サブセット (Ly6C^{hi}) は、マウス多発性硬化症モデルに

10

20

30

40

50

おける組織の損傷および疾患の病因に関与し (Kingら、Blood 113 : 3190 ~ 3197、2009) 、これらの単球は、CCL2により炎症組織に動員される (Kimら、Immunity 34:769 ~ 780、2011;Gettsら、J.Exp.Med.205 : 2319 ~ 2337、2008)。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、特異的なマイクロRNAおよび炎症性マーカー遺伝子が、神経変性疾患有する対象からの髄液 (CSF) 中ならびにCD14⁺CD16⁻中およびCD14⁺CD16⁺単球中で、健康な対象からのCSF中ならびにCD14⁺CD16⁻中およびCD14⁺CD16⁺単球中でのこれらのマイクロRNAおよびこれらの炎症性マーカー遺伝子の発現レベルと比較して、増加または減少しているという発見に少なくとも部分的に基づく。表1～21に、神経変性疾患有する対象におけるCSF中、ならびに/またはCD14⁺CD16⁻中および/もしくはCD14⁺CD16⁺単球中で増加または減少すると同定された特異的なマイクロRNAおよび炎症性マーカー遺伝子を列挙する。表20および21に、本明細書で説明される炎症性マーカーを列挙する。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本明細書において、対象における神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症）の診断方法であって、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻およびCD14⁺CD16⁺単球）中またはCSF中の表1～21のいずれか1つまたは複数に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること、および1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベル（例えば、閾値レベル、あるいは健康な対象からのCSF中またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中に存在するレベル）と比較することを含む、診断方法が提供される。これらの方法において、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの参照レベルに対する増加または減少が、神経変性障害を対象が有することの指標である。

【0006】

また、神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症）を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）またはCSF中の、表1～21のいずれか1つまたは複数に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること、および1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベル（例えば、閾値レベル、あるいは健康な対象からのCSF中またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中に存在するレベル）と比較することを含む、識別方法も提供される。これらの方法において、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの参照レベルと比した増加または減少が、（例えば、参照レベルと比較して1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの増加または減少を示さない人と比べて）神経変性障害を発症させる高いまたは低いリスクを対象が有することの指標である。

【0007】

また、神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症）を有する対象における疾患の進行速度の予測方法であって、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中またはCSF中の、表1～21のいずれか1つまたは複数に列挙した1つまたは複数のマイクロRNA

および／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること、および1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベル（例えば、閾値レベル、あるいは健康な対象からのCSF中またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中に存在するレベル）と比較することを含む、予測方法も提供される。これらの方法において、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの参照レベルに対する増加または減少が、（例えば、参照レベルと比較して1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの増加または減少を示さない人と比べて）速いまたは遅い疾患の進行速度を対象が有するであろうと予想されることの指標である。

10

【0008】

また、神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症）を治療するための対象の選択方法であって、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中またはCSF中の、表1～21のいずれか1つまたは複数に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること；1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベル（例えば、閾値レベル、あるいは健康な対象からのCSF中またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中に存在するレベル）と比較すること；および神経変性障害を治療するために、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが参照レベルと比べて増加または減少している対象を選択することを含む、選択方法も提供される。

20

【0009】

また、対象における神経変性障害（例えば筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症）の治療の有効性の決定方法であって、第1の時点で、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球））中またはCSF中の、表1～21のいずれか1つまたは複数に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること；少なくとも1回の治療用量を投与した後の第2の時点で、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球））中またはCSF中の1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること；および第1の時点における1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、第2の時点における1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルと比較することを含む、決定方法も提供される。これらの方法において、第2の時点における健康な対象のレベルへの回復または接近（例えば、第2の時点における1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが、本明細書において説明される第1の時点におけるレベルと比較して減少または増加すること）が、治療が対象において有効であったこと（例えば、治療が、同じ神経変性障害を有し同じ治療を受けた対象と比べて有効であったが、第2の時点で健康な対象のレベルへの回復または接近（例えば、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが、本明細書において説明される参照値と比較して増加または減少すること）を示さないか、あるいは本明細書において説明される参照値と比較して、1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの顕著な増加または減少を示さないこと）の指標である。

30

【0010】

また、臨床試験に参加させるための対象の選択方法も提供される。これらの方法は、対象からの単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末

40

50

梢血または血液由来単球) 中または C S F 中の、表 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つまたは複数に列挙した 1 つまたは複数のマイクロ R N A および / または 1 つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定すること; 1 つまたは複数のマイクロ R N A および / または 1 つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1 つまたは複数のマイクロ R N A および / または 1 つまたは複数の炎症性マーカーのレベル (例えは、閾値レベル、あるいは健康な対象からの C S F 中または C D 1 4 + C D 1 6 - もしくは C D 1 4 + C D 1 6 + 単球 (例えは末梢血または血液由来単球) 中に存在するレベル) と比較すること; および 1 つまたは複数のマイクロ R N A および / または 1 つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが参照レベルと比較して増加または減少している対象を、臨床試験に参加させるために選択することを含む。

10

【 0 0 1 1 】

また、対象における神経変性障害 (例えは筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症) の治療方法であって、対象に、表 1 、 3 、 5 、 7 、 9 、 1 1 、 1 2 、 1 4 、 1 6 、または 1 8 に列挙した 1 つまたは複数のマイクロ R N A 、または表 2 1 に列挙した炎症性マーカーのいずれかの発現または活性を低下させる少なくとも 1 種の作用物質 (例えは抑制性核酸、例えはアンタゴミア (antagonir)) を投与することを含む、治療方法も提供される。

また、対象における神経変性障害 (例えは筋萎縮性側索硬化症または多発性硬化症) の治療方法であって、対象に、表 2 、 4 、 6 、 8 、 1 0 、 1 3 、 1 5 、 1 7 、または 1 9 に列挙した 1 つまたは複数のマイクロ R N A および / または表 2 0 に列挙した 1 つまたは複数の炎症性マーカーの発現または活性を高める少なくとも 1 種の作用物質 (例えはセンス (タンパク質をコードする) 核酸を含む核酸) を投与することを含む、治療方法も提供される。

20

【 0 0 1 2 】

また、対象における神経変性障害 (例えは A L S 、例えは孤発性 A L S もしくは家族性 A L S 、または多発性硬化症) の治療方法であって、神経変性障害 (例えは A L S 、例えは孤発性 A L S もしくは家族性 A L S 、または多発性硬化症) を有する対象に、 h s a - m i R - 1 5 5 中に存在する連続配列 (例えは h s a - m i R - 1 5 5 の前駆体または成熟型中に存在する連続配列) に相補的な配列を含む少なくとも 1 種の抑制性核酸 (例えは s i R N A 、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アンタゴミア、および / またはリボザイム) を投与することを含む、治療方法も提供される。

30

【 0 0 1 3 】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症 (A L S) の治療に使用するための、連続配列に相補的な、例えは、 h s a - m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p 、 h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 h s a - m i R - 1 5 b 、または h s a - m i R - 1 9 a 中に存在する少なくとも 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 、 1 5 、 1 6 、 1 7 、 1 8 、 1 9 、 2 0 、 2 1 、 2 2 、 2 3 、 2 4 、または 2 5 個のヌクレオチドの連続配列に相補的な配列を含む抑制性核酸も提供される。好ましくは上記配列は、 h s a - m i R - 1 5 5 中に存在する少なくとも 7 または 8 個のヌクレオチドの連続配列に相補的である。

40

【 0 0 1 4 】

本明細書において、対象における筋萎縮性側索硬化症 (A L S) の診断方法であって、対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5

50

p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580からなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の1つまたは複数のマイクロRNA（複数可）のレベルを、1つまたは複数のマイクロRNA（複数可）の参照レベルと比較することを含み、参照レベルと比較して、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが増加していること、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが減少していることが、ALSを対象が有することの指標である、方法が提供される。

【0015】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断方法であって、対象の髄液（CSF）中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルと比較することを含み、対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、ALSを対象が有することの指標である、診断方法も提供される。

【0016】

また、対象における家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断方法であって、対象の髄液（CSF）中のhsa-miR-27bのレベルと、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhs

a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルとを決定すること；および対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b のレベルを、 h s a - m i R - 2 7 b の参照レベルと比較すること、さらに、対象の C S F 中の h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較することを含み、対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b のレベルが、 h s a - m i R - 2 7 b の参照レベルと比較して増加していること、さらに、対象の C S F 中の h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルが、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がないことが、家族性 A L S を対象が有することの指標である、診断方法も提供される。
10

【 0 0 1 7 】

また、対象における孤発性筋萎縮性側索硬化症 (A L S) の診断方法であって、対象の髄液 (C S F) 中の h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p からなる群から選択される 2 つ以上のマイクロ R N A のレベルを決定すること；および対象の C S F 中の前記 2 つ以上のマイクロ R N A のレベルを、前記 2 つ以上のマイクロ R N A の参照レベルと比較することを含み、対象の C S F 中の前記 2 つ以上のマイクロ R N A のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、孤発性 A L S を対象が有することの指標である、診断方法も提供される。
20

【 0 0 1 8 】

また、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p 、 h s a - m i R - 5 1 8 f 、 h s a - m i R - 2 0 6 、 h s a - m i R - 2 0 4 、 h s a - m i R - 1 3 7 、 h s a - m i R - 4 5 3 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 6 0 3 、 h s a - m i R - 1 2 9 7 、 h s a - m i R - 1 9 2 、 h s a - m i R - 5 2 6 a 、 h s a - m i R - 6 1 5 - 5 p 、 h s a - m i R - 6 5 5 、 h s a - m i R - 4 5 0 b - 5 p 、 h s a - m i R - 5 4 8 b - 3 p 、 h s a - m i R - 5 8 4 、 h s a - m i R - 5 4 8 f 、 h s a - m i R - 3 0 0 、 h s a - m i R - 3 0 2 c 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 h s a - m i R - 4 2 1 、および h s a - m i R - 5 8 0 からなる群から選択される 1 つまたは複数のマイクロ R N A のレベルを決定すること；および対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の前記 1 つまたは複数のマイクロ R N A のレベルを、前記 1 つまたは複数のマイクロ R N A の参照レベルと比較することを含み、参照レベルと比較して、対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 5 0
30
40
50

i R - 155、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルが増加していること、および / または hsa - miR - 518 f、hsa - miR - 206、hsa - miR - 204、hsa - miR - 137、hsa - miR - 453、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 603、hsa - miR - 1297、hsa - miR - 192、hsa - miR - 526 a、hsa - miR - 615 - 5 p、hsa - miR - 655、hsa - miR - 450 b - 5 p、hsa - miR - 548 b - 3 p、hsa - miR - 584、hsa - miR - 548 f、hsa - miR - 300、hsa - miR - 302 c、hsa - miR - 328、hsa - miR - 421、および hsa - miR - 580 のうち 1 つまたは複数のレベルが減少していることが、ALS を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、識別方法も提供される。

10

【0019】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、対象の髄液 (CSF) 中の hsa - miR - 27 b、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを決定すること；および対象のCSF 中の hsa - miR - 27 b、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、hsa - miR - 27 b、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較することを含み、対象のCSF 中の hsa - miR - 27 b、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、ALS を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、識別方法も提供される。

20

【0020】

また、家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、対象の髄液 (CSF) 中の hsa - miR - 27 b のレベルと、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルとを決定すること；および対象のCSF 中の hsa - miR - 27 b のレベルを、hsa - miR - 27 b の参照レベルと比較すること、さらに、対象のCSF 中の hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較することを含み、対象のCSF 中の hsa - miR - 27 b のレベルが、hsa - miR - 27 b の参照レベルと比較して増加していること、さらに、対象のCSF 中の hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルが、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がないことが、家族性ALS を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、識別方法も提供される。

30

【0021】

また、孤発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、対象の髄液 (CSF) 中の hsa - miR - 27 b、hsa - miR - 99 b、hsa - miR - 146 a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、および hsa - miR - 532 - 3 p からなる群から選択される 2 つ以上のマイクロRNA のレベルを決定すること；および対象のCSF 中の前記 2 つ以上のマイクロRNA のレベル

40

50

を、前記2つ以上のマイクロRNAの参照レベルと比較することを含み、対象のCSF中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加していることが、孤発性ALSを発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、識別方法も提供される。

【0022】

また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を有する対象における疾患の進行速度の予測方法であって、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較することを含み、参照レベルと比較して、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびmiR-19aのうち1つまたは複数のレベルが増加していること、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが減少していることが、疾患の進行速度の増加を対象が有するであろうと予想されることの指標である、予測方法も提供される。

【0023】

また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を有する対象における疾患の進行速度の予測方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-27b、hsa-mi

R - 99b、hsa - miR - 146a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、およびhsa - miR - 532 - 3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較することを含み、対象のCSF中のhsa - miR - 27b、hsa - miR - 99b、hsa - miR - 146a、hsa - miR - 150、hsa - miR - 328、およびhsa - miR - 532 - 3pのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、疾患の進行速度の増加を対象が有するであろうと予想されることの指標である、予測方法も提供される。いくつかの実施形態において、疾患の進行速度の増加は、ALSの1つまたは複数の症状が発症する速度の増加、ALSの1つまたは複数の症状の悪化の増進、ALSの1つまたは複数の症状の頻度の増加、ALSの1つまたは複数の症状の持続時間の増加、または対象の寿命の減少である。

10

【0024】

また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を治療するための対象の選択方法であって、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa - miR - 19b、hsa - miR - 106b、hsa - miR - 30b、hsa - miR - 21、hsa - miR - 142 - 5p、hsa - miR - 27a、hsa - miR - 16、hsa - miR - 374a、hsa - miR - 374b、hsa - miR - 101、hsa - miR - 340、hsa - miR - 30e、hsa - miR - 29c、hsa - miR - 29a、hsa - miR - 223、hsa - miR - 26a、hsa - miR - 26b、hsa - miR - 24、hsa - miR - 181a、hsa - miR - 103、hsa - miR - 155、hsa - miR - 532 - 3p、hsa - miR - 518f、hsa - miR - 206、hsa - miR - 204、hsa - miR - 137、hsa - miR - 453、hsa - miR - 146a、hsa - miR - 603、hsa - miR - 1297、hsa - miR - 192、hsa - miR - 526a、hsa - miR - 615 - 5p、hsa - miR - 655、hsa - miR - 450b - 5p、hsa - miR - 548b - 3p、hsa - miR - 584、hsa - miR - 548f、hsa - miR - 300、hsa - miR - 302c、hsa - miR - 328、hsa - miR - 421、hsa - miR - 580、hsa - miR - 15b、およびhsa - miR - 19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；およびCD14⁺CD16⁻単球中のhsa - miR - 19b、hsa - miR - 106b、hsa - miR - 30b、hsa - miR - 21、hsa - miR - 142 - 5p、hsa - miR - 27a、hsa - miR - 16、hsa - miR - 374a、hsa - miR - 374b、hsa - miR - 101、hsa - miR - 340、hsa - miR - 30e、hsa - miR - 29c、hsa - miR - 29a、hsa - miR - 223、hsa - miR - 26a、hsa - miR - 26b、hsa - miR - 24、hsa - miR - 181a、hsa - miR - 103、hsa - miR - 155、hsa - miR - 532 - 3p、hsa - miR - 15b、およびhsa - miR - 19aのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加している、および/またはhsa - miR - 518f、hsa - miR - 206、hsa - miR - 204、hsa - miR - 137、hsa - miR - 453、hsa - miR - 146a、hsa - miR - 603、hsa - miR - 1297、hsa - miR - 192、hsa - miR - 526a、hsa - miR - 615 - 5p、hsa - miR - 655、hsa - miR - 450b - 5p、hsa - miR - 548b - 3p、hsa - miR - 584、hsa - miR - 548f、hsa - miR - 300、hsa - miR - 302c、hsa - miR - 328、hsa - miR - 421、およびhsa - miR - 580のうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して減少している対象をALSを治療するために選択することを含む、選択方法も提供される。

20

30

40

【0025】

また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa - miR - 27b、hsa - miR - 99b、hsa - mi

50

R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および対象のC S F 中のh s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルを、h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数の参照レベルと比較すること；およびC S F 中のh s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加している対象をA L S 10 を治療するために選択することを含む、選択方法も提供される。

【 0 0 2 6 】

また、家族性筋萎縮性側索硬化症（A L S）を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液（C S F）中のh s a - m i R - 2 7 bのレベルと、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルとを決定すること；および対象のC S F 中のh s a - m i R - 2 7 bのレベルを、h s a - m i R - 2 7 bの参照レベルと比較すること、さらに、対象のC S F 中のh s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルを、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数の参照レベルと比較すること；およびC S F 中のh s a - m i R - 2 7 bのレベルが、h s a - m i R - 2 7 bの参照レベルと比較して増加しているおよびC S F 中のh s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルが、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がない対象を家族性A L S を治療するために選択することを含む、選択方法も提供される。 30

【 0 0 2 7 】

また、孤発性筋萎縮性側索硬化症（A L S）を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液（C S F）中のh s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 p からなる群から選択される2つ以上のマイクロRNAのレベルを決定すること；対象のC S F 中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルを、前記2つ以上のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；およびC S F 中の2つ以上のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加している対象を孤発性A L S を治療するために選択することを含む、選択方法も提供される。 40

【 0 0 2 8 】

本明細書において説明される方法のいくつかの実施形態において、選択された対象はさらに、A L S 治療が施される。

【 0 0 2 9 】

また、臨床試験に参加させるための対象の選択方法であって、対象からのC D 1 4 + C D 1 6 - 单球中のh s a - m i R - 1 9 b、h s a - m i R - 1 0 6 b、h s a - m i R - 3 0 b、h s a - m i R - 2 1、h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p、h s a - m i R - 2 7 a、h s a - m i R - 1 6、h s a - m i R - 3 7 4 a、h s a - m i R - 3 7 4 b、h s a - m i R - 1 0 1、h s a - m i R - 3 4 0、h s a - m i R - 3 0 e、h s a - m i R - 2 9 c、h s a - m i R - 2 9 a、h s a - m i R - 2 2 3、h s a - m i R - 2 6 a、h s a - m i R - 2 6 b、h s a - m i R - 2 4、h s a - m i R - 1 8 1 a、 50

hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；およびCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加している、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して減少している対象を、臨床試験に参加させるために選択することを含む、選択方法も提供される。

【0030】

30

また、臨床試験に参加させるための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；対象のCSF中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；およびCSF中の1つまたは複数のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加している対象を、臨床試験に参加させるために選択することを含む、選択方法も提供される。

【0031】

40

また、対象における筋萎縮性側索硬化症治療の有効性の決定方法であって、第1の時点での対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-1

50

92、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；少なくとも1回の治療用量を投与した後の第2の時点で、対象からのCD14+/CD16-単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および第1の時点における前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、第2の時点における前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルと比較することを含み、第1の時点におけるレベル（複数可）と比較して、第2の時点におけるhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが減少していること、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが増加していることが、対象において治療が有効であったことの指標である、決定方法も提供される。
10
20
30

【0032】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症治療（ALS）の有効性の決定方法であって、第1の時点で、対象の髄液中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；少なくとも1回の治療用量を投与した後の第2の時点で、対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および第1の時点におけるhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、第2の時点におけるhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルと比較することを含み、第1の時点におけるレベル（複数可）と比較して、第2の時点におけるhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが減少していることが、対象において治療が有効であったことの指標である、決定方法も提供される。
40
50

【0033】

本明細書において説明される方法のいずれかのいくつかの実施形態において、参照レベルは、閾値レベルである。いくつかの実施形態において、参照レベルは、対照の対象からのCD14+/CD16-単球（例えは末梢血または血液由来単球）中で見出されるレベルである。いくつかの実施形態において、参照レベルは、対照の対象のCSF中で見出され

るレベルである。

【0034】

本明細書において説明される方法のいくつかの実施形態はさらに、対象から C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球を含む生体サンプル（例えば、血液、血漿、血清、または髄液を含むサンプル）を得ることを含む。いくつかの実施形態において、本方法は、生体サンプルから C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球を精製することをさらに含む。

【0035】

本明細書において説明される方法のいくつかの実施形態はさらに、対象から C S F を含むサンプルを得ることを含む。

【0036】

本明細書において説明される方法のいずれかのいくつかの実施形態において、マイクロ R N A または 1 つまたは複数のマイクロ R N A は、前駆マイクロ R N A である。本明細書において説明される方法のいずれかのいくつかの実施形態において、マイクロ R N A または 1 つまたは複数のマイクロ R N A は、成熟マイクロ R N A である。

【0037】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症 (A L S) の治療方法であって、 A L S を有する対象に、 h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p 、 h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 h s a - m i R - 3 2 8 、 h s a - m i R - 1 9 a 、 h s a - m i R - 1 5 b 、 h s a - m i R - 1 5 b 、および h s a - m i R - 1 9 a のいずれか 1 つ中に存在する連続配列（例えば、少なくとも 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 、 1 5 、 1 6 、 1 7 、 1 8 、 1 9 、 2 0 、 2 1 、 2 2 、 2 3 、 2 4 、または 2 5 個のヌクレオチド、好ましくは少なくとも 7 または 8 個のヌクレオチドの連続配列）に相補的な配列を含む少なくとも 1 つのアンタゴミアを投与することを含む、方法も提供される。

【0038】

また、対象における筋萎縮性側索硬化症 (A L S) の治療方法であって、 A L S を有する対象に、 h s a - m i R - 1 5 5 中に存在する連続配列に相補的な配列を含む少なくとも 1 種の抑制性核酸を投与することを含む、方法も提供される。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種の抑制性核酸は、アンタゴミアである（例えば、配列番号 2 6 2 の配列を含む、または有するアンタゴミアである）。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種の抑制性核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種の抑制性核酸は、リボザイムである。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種の抑制性抑制性核酸は、対象の髄液に注射される（例えば頭蓋内注射または髄腔内注射）。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 種の抑制性核酸は、 1 種または複数のカチオン性ポリマーおよび / またはカチオン脂質と複合体を形成する。いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、レンチウイルスベクターを用いて送達される。

【0039】

また、対象の筋萎縮性側索硬化症を治療するための医薬品製造において、 h s a - m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6

10

20

30

40

50

a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのいずれか1つ中に存在する連続配列に相補的な配列を含む少なくとも1つのアンタゴミアを使用する方法も提供される。また、本明細書において、対象の筋萎縮性側索硬化症を治療するのに使用するための、hsa-miR-155、hsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのいずれか1つ中に存在する連続配列に相補的な配列を含むアンタゴミアも提供される。
10

【0040】

また、対象の筋萎縮性側索硬化症を治療するための医薬品製造において、hsa-miR-155中に存在する連続配列に相補的な配列を含む少なくとも1種の抑制性核酸（例えばアンタゴミア）を使用する方法も提供される。また、本明細書において、対象の筋萎縮性側索硬化症を治療するのに使用するための、hsa-miR-155中に存在する連続配列に相補的な配列を含む抑制性核酸（例えばアンタゴミア）も提供される。
20

【0041】

「RNA」は、本明細書で用いられる場合、少なくとも1つまたは複数のリボヌクレオチド残基を含む分子を指す。「リボヌクレオチド」とは、ベータ-D-リボフラノース部分の2'位にヒドロキシル基を有するヌクレオチドである。RNAという用語は、本明細書で用いられる場合、二本鎖RNA、一本鎖RNA、単離されたRNA、例えば一部精製したRNA、実質的に純粋なRNA、合成RNA、組換えによって生産されたRNAを含み、加えて1つまたは複数のヌクレオチドの付加、欠失、置換、および/または変更により天然に存在するRNAとは異なる変性RNAも含む。またRNA分子のヌクレオチドは、標準的ではないヌクレオチド、例えば天然に存在しないヌクレオチド、または化学合成されたヌクレオチド、またはデオキシヌクレオチドを含んでいてもよい。
30

【0042】

「成熟マイクロRNA」（成熟miRNA）は、典型的には、遺伝子発現を調節する、約21～23個のヌクレオチドの長さの一本鎖RNA分子を指す。miRNAは、そのDNAからmiRNAが転写される遺伝子によってコードされているが、miRNAはタンパク質に翻訳されない；その代わりに一次転写物（pri-miRNA）はそれぞれ短いステム-ループ構造（前駆マイクロRNA）にプロセシングされ、その後、機能的な成熟miRNAへのさらなるプロセシングを受ける。成熟miRNA分子は、部分的に1つまたは複数のメッセンジャーRNA（mRNA）分子に相補的であり、それらの主要な機能は、遺伝子発現を下方調節することである。本明細書全体で用いられているように、用語「マイクロRNA」または「miRNA」は、成熟マイクロRNAおよび前駆マイクロRNAの両方を含む。
40

【0043】

用語「炎症性マーカー」は、本明細書で用いられる場合、表20および21に列挙したタンパク質またはmRNAのいずれかを指す。表20および21に列挙したタンパク質およびmRNAは、炎症における役割との関連が示されている。炎症性マーカーのレベルまたは活性を検出する方法が当技術分野で公知である。本明細書では、追加の炎症性マーカーのレベルまたは活性を検出する方法が説明される。
50

【0044】

用語「参照レベル」は、表1～19に列挙したマイクロRNAのうち1種、または表20および21に列挙した炎症性マーカーのうち1種の対照レベルを意味する。参照レベルは、特異的なマイクロRNAまたは炎症性マーカーの閾値レベルを示す可能性がある。また参照レベルは、健康な対象（例えば、2つ以上の神経変性障害の症状を示していない対象、神経変性障害と診断されていない対象、および／または神経変性疾患の家族歴がない対象）からの髄液中または単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球））中に存在する特定のマイクロRNAまたは炎症性マーカーのレベルであってもよい。

【0045】

10

用語「増加」は、参照レベルまたは同じ対象でそれよりもしくは後の時点で測定されたレベルと比較して、観察可能な、検出可能な、または有意なレベルの増加を意味する。

【0046】

用語「減少」は、参照レベルまたは同じ対象でそれよりもしくは後の時点で測定されたレベルと比較して、観察可能な、検出可能な、または有意なレベルの減少を意味する。

【0047】

用語「神経変性障害」は、ニューロンの機能および構造の進行性喪失、ならびにニューロンの死を特徴とする神経障害を意味する。神経変性障害の非限定的な例としては、パーキンソン病（PD）、アルツハイマー病（AD）、ハンチントン病（HD）、脳卒中、脳腫瘍、心臓虚血、加齢性黄斑変性症（AMD）、網膜色素変性症（RP）、筋萎縮性側索硬化症（ALS、例えば家族性ALSおよび孤発性ALS）、および多発性硬化症（MS）が挙げられる。本明細書では、神経変性障害の診断方法が説明される。追加の神経変性障害の診断方法は、当技術分野で公知である。

20

【0048】

用語「抑制性RNA」は、標的核酸のレベルまたは活性（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球中の活性）の減少を仲介する標的核酸（例えば、標的マイクロRNAまたは標的炎症性マーカー、例えば、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、もしくは18に列挙したマイクロRNAのいずれか、または表21に列挙した炎症性マーカーのいずれか）に相補的な配列を含む核酸分子を意味する。抑制性RNAの非限定的な例としては、干渉RNA、shRNA、siRNA、リボザイム、アンタゴニア、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書では、抑制性RNAの作製方法が説明される。追加の抑制性RNAの作製方法は、当技術分野で公知である。

30

【0049】

「干渉RNA」は、本明細書で用いられる場合、直接的または間接的（すなわち変換の際に）のいずれかによって、RNA干渉を仲介することにより遺伝子発現を阻害または下方調節することができるあらゆる二本鎖または一本鎖のRNA配列を指す。干渉RNAとしては、これらに限定されないが、低分子干渉RNA（「siRNA」）および低分子ヘアピングRNA（「shRNA」）が挙げられる。「RNA干渉」は、配列親和性（sequence-compatible）メッセンジャーRNA転写物の選択的な分解を指す。

40

【0050】

「shRNA」（低分子ヘアピングRNA）は、本明細書で用いられる場合、アンチセンス領域、ループ部分、およびセンス領域を含むRNA分子を指し、この場合のセンス領域は、アンチセンス領域と塩基対を形成して二重のシステムを形成する相補的ヌクレオチドを有する。転写後プロセシングがなされた後、低分子ヘアピングRNAは、RNアーゼIIIファミリーのメンバーである酵素ダイサーが仲介する切断現象によって低分子干渉RNAに変換される。

【0051】

「低分子干渉RNA」または「siRNA」は、本明細書で用いられる場合、RNA干渉を配列特異的な方式で仲介することにより遺伝子発現を阻害または下方調節することが

50

できるあらゆる小さいRNA分子を指す。この小さいRNAの長さは、例えば約18~21個のヌクレオチドであってもよい。

【0052】

「アンタゴミア」は、本明細書で用いられる場合、特異的なマイクロRNA標的への相補性を有する小さい合成RNAを指し、任意選択で、切断を阻害するような切断部位における誤対合または1つまたは複数の塩基修飾のいずれかを有していてもよい。

【0053】

成句「転写後プロセシング」は、本明細書で用いられる場合、転写後に起こるmRNAプロセシングを指し、このようなプロセシングは、例えば酵素ダイサーおよび/またはドローシャによって仲介される。

10

【0054】

成句「疾患を発症させるリスク」は、対照の対象または集団（例えば健康な対象または集団）と比較して対象が将来的に神経変性障害を発症させる相対的な確率を意味する。本明細書において、対象が将来的に神経変性疾患を発症させるリスクの決定方法であって、表1~19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または表20~21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを決定することを含む、方法が提供される。

【0055】

成句「疾患の進行速度」は、対象における神経変性障害の症状の発症率、対象における神経変性障害の症状が強度を増す（悪化する）速度、対象における1つまたは複数の神経変性障害の症状の頻度、対象における1つまたは複数の神経変性障害の症状の持続時間、または対象の寿命のうち1つまたは複数を意味する。例えば、疾患の進行速度の増加は、対象における神経変性障害の症状の発症率の増加、対象における1つまたは複数の神経変性障害の症状の持続時間の増加、または対象の寿命の減少のうち1つまたは複数を含んでいてもよい。本明細書では、神経変性障害を有する対象における疾患の進行速度の予測方法が説明される。

20

【0056】

用語「精製する」は、物質をその天然の環境から部分的に単離することを意味する（例えば不純にする生体分子または細胞の部分的な除去）。例えば単球（例えばCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球）は、末梢血液サンプル中に存在する他の細胞型から（例えば蛍光補助セルソーティングを用いて）精製することができる。

30

【0057】

用語「治療する」は、症状の数を減少させること、あるいは対象における疾患（例えば神経変性疾患）の1つまたは複数の症状の重症度、持続時間、または頻度を減少させることを含む。また治療するという用語は、対象において神経変性障害を発症させるリスクを減少させること、対象において神経変性障害の症状の発症を遅らせること、または神経変性障害を有する対象の寿命を長くすることも含む可能性がある。

【0058】

用語「カチオン性ポリマー」は、核酸をナノ粒子に縮合させることができる生理学的なpH（例えばおよそpH6.5~8.0）で正電荷を有する高分子材料を意味する。カチオン性ポリマーの非限定的な例としては、ポリ-L-リシンおよびポリ（エチレンイミン）が挙げられる。カチオン性ポリマーの追加の例は、当技術分野で公知である。

40

【0059】

用語「カチオン脂質」は、核酸との複合体を形成することができる生理学的なpH（例えばおよそpH6.5~8.0）で少なくとも1つの正電荷を有する脂質を意味する。カチオン脂質の非限定的な例としては、1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロポン(propone)(DOTAP)、N-メチル-4-(ジオレイル)メチルピリジニウム、および3-[N-(N',N'-ジメチルアミノエタン)-カルバモイル]コレステロールが挙げられる。カチオン脂質の追加の例は、当技術分野で公知であり、市販されている（例えば、Lipofectamine(商標)2000；Life Tec

50

h n o l o g i e s C o r p o r a t i o n, C a r l s b a d, C A).

【0060】

他の定義はこの開示全体にわたり文章中に記載される。特に他の定義がない限り、本明細書において用いられる全ての専門用語や科学用語は、本発明が属する分野の当業者により一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書では、本発明で使用する方法および材料が説明されるが、当技術分野で公知の他の適切な方法および材料も使用することができる。材料、方法、および例は単なる説明のためであり、限定を目的としない。本明細書で述べられた全ての公報、特許出願、特許、配列、データベースエントリー、および他の参考文献は、それら全体が参照により開示に組み込まれる。矛盾が生じる場合、定義を含めて本明細書に従うものとする。

10

【0061】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および図から、さらに特許請求の範囲から明らかであろうと予想される。

【図面の簡単な説明】

【0062】

【図1A】症状を示す前(60日目)の時点(前症状)、症状の発症時(発症時)、および疾患末期(末期)における、非トランスジェニック同腹子からのCD39⁺ミクログリアにおけるマイクロRNA発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのCD39⁺ミクログリアにおける有意に調節異常のマイクロRNAのボルケーノプロットである。x軸は、発現の変化(ddCT値に基づくlog₂倍率変化)を表し、y軸は、その変化の統計的有意性を対数オッズで示す。

20

【図1B】全ての疾患段階にわたる非トランスジェニック同腹子からのCD39⁺ミクログリアにおけるマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのCD39⁺ミクログリアにおける有意に調節異常のマイクロRNAのベン図である。数値は、各疾患段階における有意に調節異常のマイクロRNAを表す。

【図1C】非トランスジェニック同腹子からのCD39⁺ミクログリアにおけるマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのCD39⁺ミクログリアにおける有意に調節異常のマイクロRNAの要約である。これらのデータをシングルプレックスTaqMan PCRで検証した。

【図2A】症状を示す前(60日目)の時点(前症状)、症状の発症時(発症時)、および疾患の末期(末期)における、非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{Hi}単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{Hi}単球における有意に調節異常のマイクロRNAのボルケーノプロットである。x軸は、発現の変化(ddCT値に基づくlog₂倍率変化)を表し、y軸は、その変化の統計的有意性を対数オッズで示す。

30

【図2B】全ての疾患段階にわたる(症状を示す前、症状の発症、および疾患の末期)、非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{Hi}単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{Hi}単球における有意に調節異常のマイクロRNAのベン図である。数値は、各疾患段階における有意に調節異常のマイクロRNAを表す。

【図2C】非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{Hi}単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{Hi}単球における有意に調節異常のマイクロRNAの要約である。これらのデータをシングルプレックスTaqMan PCRで検証した。

40

【図3A】症状を示す前(60日目)の時点、症状の発症時(発症時)、および疾患の末期(末期)における、非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{LoW}単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{LoW}単球における有意に調節異常のマイクロRNAのボルケーノプロットである。x軸は、発現の変化(ddCT値に基づくlog₂倍率変化)を表し、y軸は、その変化の統計的有意性を対数オッズで示す。

【図3B】全ての疾患段階にわたる、非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{LoW}

50

単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{Low}単球における有意に調節異常のマイクロRNAのベン図である。数値は、各疾患段階における有意に調節異常のマイクロRNAを表す。

【図3C】非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{Low}単球中のマイクロRNAの発現と比較した、SOD^{G93A}マウスのLy6C^{Low}単球における有意に調節異常のマイクロRNAの要約である。これらのデータをシングルプレックストaqMan PCRで検証した。

【図4】SOD1マウスにおける全ての疾患段階にわたる（非トランスジェニック同腹子対照と比較した）Ly6C^{Hi}単球における32種の調節異常のマイクロRNAのIngenuityパスウェイアナリシスの結果を示すグラフおよび表である。このグラフは、骨疾患、筋疾患、および筋障害性疾患で観察されたパターンを示す。

【図5】健康な対照（8人）からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、孤発性ALS（8人）および再発寛解型多発性硬化症（8人）における664種のマイクロRNAに関する血液由来CD14⁺CD16⁻単球のnCounter発現プロファイリングを示すヒートマップである。ヒートマップは、ダネットの事後検定（P < 0.01）を用いた分散分析（ANOVA）の結果を示す。ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中で（健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のこれらのマイクロRNAの発現と比較して）上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は個体を表す。

【図6】孤発性ALS（8人）および再発寛解型多発性硬化症（8人）における664種のマイクロRNAに関する、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球（8人）におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較した血液由来CD14⁺CD16⁻単球のnCounter発現プロファイリングを示すヒートマップである。ヒートマップは、ダネットの事後検定（P < 0.01）を用いたANOVAの結果を示す。MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中で（健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較して）上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は個体を表す。

【図7A】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における独特な、または類似の調節異常の（上方調節または下方調節された）マイクロRNAのベン図である。

【図7B】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常のマイクロRNAを示すボルケーノプロットである。

【図7C】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常のマイクロRNAを示すボルケーノプロットである。

【図8】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常のマイクロRNAの要約である。バーは、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の調節異常のマイクロRNAの相対的な発現を示す。

【図9】健康な対象（8人）およびALSを有する対象（対象11人）からのCD14⁺CD16⁻単球中の6種の異なるマイクロRNAの発現を示す一連の6つのグラフである（リアルタイムPCRによって決定された）。両側マン-ホイットニーt検定を用いて、P値を計算した（*、P < 0.05；**、P < 0.01；***、P < 0.001）。

【図10A】8人の異なるALS患者の臨床的なスコア付け（努力性肺活量（FVC）スコアおよび機能評価尺度（FRS））を示す2つのグラフである。図10Cに、これらの8人の患者からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNA発現と、健康な対照およびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNA発現との比較を示す。

【図10B】図10Aおよび10Cで説明されている8人の異なるALS患者のリストで

10

20

30

40

50

ある。

【図10C】孤発性ALS対象(8人)、健康な対象、およびMSを有する対象からのCD14⁺CD16⁻単球における20種の上方調節されたマイクロRNAの発現を示す20のグラフである(リアルタイムPCRを用いて決定された)。両側マン-ホイットニット検定を用いて、P値を計算した。

【図11】健康な対照(n=8)、およびMSを有する対象(n=8)と比較した、孤発性ALSの対象(n=11)からのCD14⁺CD16⁻単球における4種の上方調節されたマイクロRNAの発現のリアルタイムPCR分析を示す4つのグラフである。示されたデータは、一元配置ANOVAとダネットの多重比較検定を用いて作製された(* * * *、p<0.001)。

【図12A】8人の異なるALS患者の臨床的なスコア付け(努力性肺活量(FVC)スコアおよび機能評価尺度(FRS))を示す2つのグラフである。図10Cに、これらの8人の患者からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNA発現と、健康な対照およびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNA発現との比較を示す。

【図12B】図12Aおよび12Cで説明されている8人の異なるALS患者のリストである。

【図12C】健康な対象、および再発寛解型MS(MS-RR)を有する対象と比較した、孤発性ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における20種の下方調節されたマイクロRNAの発現を示す20のグラフである(リアルタイムPCRを用いて決定された)。両側マン-ホイットニット検定を用いて、P値を計算した(*、P<0.05；**、P<0.01；***、P<0.001)。

【図13】健康な対象、対象(各群で8人)と比較した、孤発性ALSおよびMS-RRからのCD14⁺CD16⁻単球における8種の上方調節されたマイクロRNAの発現を示す8つのグラフである(リアルタイムPCRを用いて決定された)。示されたデータは、一元配置ANOVAとダネットの多重比較検定を用いて作製された(* *、P<0.01；***、p<0.001)。

【図14】健康な対象およびALSを有する対象(8人)と比較した、MS-RR対象からのCD14⁺CD16⁻単球における5種の上方調節されたマイクロRNAの発現を示す5つの異なるグラフである(リアルタイムPCRを用いて決定された)。両側マン-ホイットニット検定を用いて、P値を計算した(*、P<0.05；**、P<0.01；***、P<0.001)。

【図15】健康な対象、および孤発性ALSを有する対象と比較した、MS-RR対象からのCD14⁺CD16⁻単球における5種の下方調節されたマイクロRNAの発現を示す5つのグラフである(リアルタイムPCRによって決定した)。両側マン-ホイットニット検定を用いて、P値を計算した(*、P<0.05)。

【図16】健康な対象、家族性ALSを有する対象(n=5)、および孤発性ALSを有する対象(n=10)からの髄液(CSF)において6種の上方調節されたマイクロRNAの発現を示す6つのグラフである。データは、ANOVAをボンフェローニの多重比較検定と共に用いて解析された。*、p<0.05；**、p<0.01；および***、p<0.001。

【図17】健康な対照(n=10)からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらの炎症性マーカー遺伝子のレベルと比較した、ALS対象(n=8)およびMS対象(n=11)からのCD14⁺CD16⁻単球における179種の炎症関連遺伝子(「炎症性マーカー遺伝子」)のnCounter発現プロファイルを示すヒートマップである。データ解析は、ANOVAとダネットの事後検定と共に用いて行われた(p<0.01)。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は、個々の対象を表す。

【図18A】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球における炎症性マーカー遺伝子のレベルと比較した、ALS対象(左のグラフ)およびMS対象(右のグラフ)からのCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常の炎症性マーカー遺伝子を示す2つのボルケーノプロットである。

10

20

30

40

50

【図18B】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球における炎症性マーカー遺伝子のレベルと比較した、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常の炎症性マーカー遺伝子の要約である。バーは、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における調節異常の炎症性マーカー遺伝子の、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらの遺伝子の発現と比較した相対的な発現を示す。

【図19】健康な対照($n = 8$)およびALS対象($n = 11$)からのCD14⁺CD16⁻単球における8人の異なるマイクロRNAの発現を示す8つのグラフである(リアルタイムPCRを用いて決定された)。データは、両側マン-ホイットニーt検定を用いて解析された(*、 $P < 0.05$)。

【図20A】ALS対象($n = 8$)およびMS対象($n = 8$)からのCD14⁺CD16⁻単球におけるマイクロRNAの、健康な対照($n = 8$)からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較したnCounter発現プロファイルを示すヒートマップである。データ解析は、ANOVAとダネットの事後検定とを共に用いて行われた($p < 0.01$)。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は、個々の対象を表す。健康な対象からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球において上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。

【図20B】健康な対照($n = 8$)からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALS対象($n = 8$)およびMS対象($n = 8$)からのCD14⁺CD16⁻単球におけるマイクロRNAのnCounter発現プロファイルを示すヒートマップである。データ解析は、ANOVAとダネットの事後検定とを共に用いて行われた($p < 0.01$)。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は、個々の対象を表す。健康な対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるマイクロRNAの発現と比較して、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球において上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。

【図20C】健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球マイクロRNAの発現と比較した、ALSおよびMS対象のCD14⁺CD16⁻単球における有意に調節異常のマイクロRNAの要約である。バーは、健康な対照のCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における調節異常のマイクロRNAの相対的な発現を示す。

【図21A-1】症状を示す前(60日目)、発症時(体重減少で定義される)、および疾患の末期における、非トランスジェニック(Tg)同腹子の同じ細胞と比較した、SOD1^{G93A}マウスからのLy6C^{Hi}脾臓由来単球サブセットにおける179種の炎症性マーカー遺伝子のnCounter発現プロファイルである。転写レベルが少なくとも2倍変化した遺伝子を示すダネットの事後検定の結果と共にANOVAのヒートマップを示す($P < 0.01$)。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は、個々の群を生物学的な3つの組で示す(各時点につき、マウス4~5匹を含むプールの群ごとに $n = 3$ のアレイを用いた)。各疾患段階における非トランスジェニックの重複をまとめて、遺伝子を階層的にクラスタリングした。遺伝子発現レベルを6種のハウスキーピング遺伝子(CLTC、GAPDH、GUSB、HPRT1、PGK1、およびTUBB5)の相乗平均に対して正規化した。

【図21A-2】図21A-1の続き。

【図21B】症状を示す前(60日目)、発症時(体重減少で定義される)、および疾患の末期における、非トランスジェニック(Tg)同腹子の同じ細胞と比較してSOD1^{G93A}マウスからのLy6C^{Hi}脾臓由来単球サブセットで有意に下方調節された炎症性マーカー遺伝子を示すnCounter発現プロファイルのデータである。

【図21C】SOD1^{G93A}マウスにおいて疾患発症の1カ月前にLy6C^{Hi}脾臓由来単球で活性化された主要な生物学的ネットワークのリストである。

【図21D】SOD1^{G93A}マウスからの脊髄由来CD39⁺ミクログリア中で、非ト

10

20

30

40

50

ランスジェニック同腹子からの同じ細胞と比較して上方調節された遺伝子の n C o u n t e r 発現プロファイルのデータを示す。

【図 21 E - 1】 S O D 1 G 9 3 A マウスからの脊髄由来 C D 3 9 + ミクログリア中で、非トランスジェニック同腹子からの同じ細胞と比較して下方調節された遺伝子の n C o u n t e r 発現プロファイルのデータを示す。

【図 21 E - 2】 図 21 E - 1 の続き。

【図 21 F】 疾患発症時の、S O D 1 マウスの脊髄からの C D 3 9 + ミクログリアにおいて活性化された主要な生物学的経路のリストである。

【図 21 G】 発症時の S O D 1 マウスの脊髄からの C D 3 9 + ミクログリア中で、同じ S O D 1 マウスの脳から単離した C D 3 9 + ミクログリアと比較して有意に上方調節された遺伝子の比較解析である。 10

【図 22 A】 健康な対照 (n = 10) と比較した、孤発性 A L S (n = 11) および M S (n = 8) 対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 血液単球における 184 種の炎症関連遺伝子の n C o u n t e r 発現プロファイルである。

【図 22 B】 健康な対照と比較した、孤発性 A L S および M S 対象における有意に調節異常の遺伝子の発現における倍数の差を示すグラフである。遺伝子発現レベルを、6 種の内部基準のハウスキーピング遺伝子 (C L T C 、 G A P D H 、 G U S B 、 P G K 1 、および T U B B 5) の相乗平均に対して正規化した。

【図 22 C】 孤発性 A L S 対象および M S 対象で同定された調節異常の遺伝子の主成分分析 (P C A) 分析を遺伝子の空間分布と共に示すグラフである。 20

【図 23 A】 健康な対照 (10 人) と比較した、孤発性 A L S (10 人) および家族性 S O D 1 A L S (4 人) における 511 種の免疫関連遺伝子および 184 種の炎症関連遺伝子に関する、血液でソートした C D 1 4 + C D 1 6 - 単球の n C o u n t e r 発現プロファイルである。プロファイル (ヒートマップ) は、有意に調節異常の遺伝子を示す教師なし階層的クラスタリング (ピアソン相関) である (ノンパラメトリックなクラスカル - ワリス検定 ; 有意性は、ベンジャミン - ホッホバーグ法によって決定した偽発見率 (F D R) に基づく ; 選択された F D R の限界 : 0.05 ; P < 0.01) 。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は個々の対象を表す。

【図 23 B】 健康な対照と比較した、孤発性 A L C および家族性 A L S 対象からの血液でソートした C D 1 4 + C D 1 6 - 単球の有意に調節異常の遺伝子の倍数の差を示すグラフである。遺伝子発現レベルを、15 種の内部基準のハウスキーピング遺伝子 (A B C F 1 、 A L A S 1 、 E E F 1 G 、 G 6 P D 、 G A P D H 、 G U S B 、 H P R T 1 、 O A Z 1 、 P O L R 1 B 、 P O L R 2 A 、 P P I A 、 R P L 1 9 、 D S H A 、 T B P 、および T U B B) の相乗平均に対して正規化した。 30

【図 23 C】 健康な対照と比較した、孤発性 A L S および家族性 A L S 対象からの血液でソートした C D 1 4 + C D 1 6 - 単球において同定された調節異常の遺伝子の P C A 分析を遺伝子の空間分布と共に示すグラフである。

【図 24】 健康な対照からの血液でソートした C D 1 4 + C D 1 6 - 単球と比較して、家族性および / または孤発性 A L S 対象からの血液でソートした C D 1 4 + C D 1 6 - 単球において最も有意に調節異常であった 8 種の遺伝子のリアルタイム P C R による検証を示す一連の 8 つのグラフである。健康な対照に対する孤発性 A L S および家族性 A L S の相対的な発現は、比較 C t (2 - C t) 法を用いて計算した。遺伝子発現レベルを、3 種のハウスキーピング遺伝子 (G A P D H 、 T U B B 、および G R B 2) の相乗平均に対して正規化した。ポリメラーゼ連鎖反応を対象ごとに二連で行った。このグラフは、 A L S 対象における有意に調節異常の遺伝子の一元配置分散分析 (A N O V A) およびダネットの多重比較検定を表す。 40

【図 25】 A L S 対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 血液単球において同定された有意に調節異常の m i R N A および m R N A を基準とした、 A L S 対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 血液単球における上位 10 種の m i R N A - m R N A の相互作用を示す I n g e n u i t y ターゲットフィルターアナリシスのグラフである。 50

【図26-1】ALS対象からのCD14⁺CD16⁻血液単球から集められたデータに行われたマイクロRNA-mRNAターゲットアナリシスの結果を示す表である(IPA; Ingenuity)。結果から、27種のmRNAを標的とする32種のmiRNAが示される。

【図26-2】図26-1の続き。

【図27-1】ALSの血液でソートしたCD14⁺CD16⁻単球におけるマイクロRNA-mRNAの相互作用を示すグラフである。このグラフは、ALS対象からの血液でソートしたCD14⁺CD16⁻単球において有意に調節異常のmiRNAおよび免疫関連遺伝子に関する結果を示す。27種のmRNAを標的化する合計32種のmiRNAが示される。

10

【図27-2】図27-1の続き。

【図28A】41種の調節されない高度に発現されたmiRNA、およびSOD1マウスの脾臓由来Ly6C^{Hi}単球で観察された47種の調節異常の遺伝子(図28A)、および64種の調節されない高度に発現されたmiRNA、およびALS対象からのCD14⁺CD16⁻末梢血液単球で観察された59種の調節異常の遺伝子(図28B)において観察された推定のmiRNA-mRNA対と比較して、1000種の無作為の調節されないmiRNA-mRNA対間の可能性のある無作為の相互作用の分布を示す2つのグラフである(ターゲットスキャン(Targets can)4.1)。

【図28B】41種の調節されない高度に発現されたmiRNA、およびSOD1マウスの脾臓由来Ly6C^{Hi}単球で観察された47種の調節異常の遺伝子(図28A)、および64種の調節されない高度に発現されたmiRNA、およびALS対象からのCD14⁺CD16⁻末梢血液単球で観察された59種の調節異常の遺伝子(図28B)において観察された推定のmiRNA-mRNA対と比較して、1000種の無作為の調節されないmiRNA-mRNA対間の可能性のある無作為の相互作用の分布を示す2つのグラフである(ターゲットスキャン(Targets can)4.1)。

20

【図29-1】ALS対象からの血液でソートしたCD14⁺CD16⁻単球で調節異常の上位20種の転写因子および標的遺伝子を示す表(GeneGoパスウェイアナリシスを用いて決定された)、およびALS対象の血液でソートしたCD14⁺CD16⁻単球における特異性タンパク質-1(SP1)転写因子およびその標的遺伝子を示すグラフである。

30

【図29-2】図29-1の続き。

【図30】SOD1/miR-155^{-/-}およびSOD1/miR-155^{+/+}マウス両方のカプラン-マイヤー生存率分析のグラフである。SOD1/miR-155^{-/-}対SOD1/miR-155^{+/+}マウスの群間のマンテル-コックスのF検定による比較である(P<0.0001)。

【図31】疾患の神経系の発症(2の神経学的重症度スコア)に関するイベント発生時間分析のグラフである。SOD1/miR-155^{+/+}マウスと比較したところ、SOD1/miR-155^{-/-}マウスでの疾患発症は有意に遅かった(P<0.0001)。

【図32】SOD1/miR-155^{-/-}およびSOD1/miR-155^{+/+}マウスのロータロッド性能を日齢の関数として示したグラフである。**P<0.01; **
*P<0.001; 要因ANOVAおよびフィッシャーのLSD事後検定によってなされた。

40

【図33】SOD1/miR-155^{-/-}およびSOD1/miR-155^{+/+}マウスの体重の減少のグラフである。統計的分析は、両側ANOVA、ボンフェローニの事後検定を用いて行われた。***P<0.001。

【図34】SOD1/miR-155^{-/-}およびSOD1/miR-155^{+/+}マウスに関する疾患初期の持続時間(発症から体重が5%減少するまで)(左のグラフ)および疾患後期の持続時間(体重の5%減少から末期まで)を示す一連の2つのグラフである。

【図35A】野生型、SOD1/miR155^{+/+}、SOD1/miR155^{-/-}、

50

およびSOD1 / miR155^{-/+}マウスにおける、4D4で染色された脊髄由来单核細胞（常在性ミクログリア）およびCD11bで染色された脊髄由来单核細胞（骨髄細胞）の蛍光活性化細胞分類法（FACS）の解析データを示す。

【図35B】野生型、SOD1 / miR155^{+/+}、SOD1 / miR155^{-/+}、およびSOD1 / miR155^{-/-}マウスにおける、脊髄あたりのミクログリア（4D4陽性）および单球細胞（CD11b陽性）細胞の絶対数を示す。

【図36-1】WT、SOD1 / miR155^{-/+}、およびSOD1 / miR155^{-/-}マウスにおける、脊髄ミクログリアおよびLy6C^{Hi}脾臓由来单球における炎症関連遺伝子の発現を示す一連の4つのヒートマップである。（a）で示されるヒートマップは、末期の動物によるものである。（この場合、SOD1 / miR155^{-/-}マウスはそれでもなお生存可能であり、研究終了時には繁殖するが、SOD1 / miR^{-/+}マウスは症状を発症させた（末期）ことに留意する）。全てのマウスは、バックグラウンドがC57/B16 - SOD1の雄である。（b）で示されるヒートマップは、SOD1マウスにおいて有意にmiR155の影響を受けた遺伝子を示す。

【図36-2】図36-1の続き。

【図37】野生型、SOD1 / miR155^{-/+}、SOD1 / miR155^{-/-}マウスからのLy6C^{Hi}脾臓由来单球サブセットにおける数匹のマウスのマイクロRNAの発現を示すnCounter発現プロファイルのデータである。

【図38-1】健康な対照（8人）からのCD14⁺CD16⁻单球中のマイクロRNAの発現と比較した、孤発性ALS（8人）および再発寛解型多発性硬化症（8人）におけるマイクロRNAに関する血液由来CD14⁺CD16⁻单球のnCounter発現プロファイリングを示すヒートマップおよび棒グラフである。ヒートマップは、ダネットの事後検定を用いた分散分析（ANOVA）の結果を示す（P < 0.01）。ALS対象からのCD14⁺CD16⁻单球中で（健康な対照からのCD14⁺CD16⁻单球中のこれらのマイクロRNAの発現と比較して）上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。ヒートマップの各列は、個々の遺伝子を表し、各行は個体を表す。

【図38-2】図38-1の続き。

【発明を実施するための形態】

【0063】

本発明は、少なくとも部分的に、特異的なマイクロRNAおよび炎症性マーカーが、神経変性疾患を有する患者からのCD14⁺CD16⁻单球および/またはCD14⁺CD16⁺单球（例えば末梢血または血液由来单球）において調節異常であり、さらに、神経変性障害（例えばALS（例えば孤発性ALSおよび家族性ALS）ならびにMS）を有する患者の髄液中に、特異的なマイクロRNAが健康な個体と比較して増加または減少したレベルで存在するという発見に基づく。本発明はまた、hsa-miR-155は、マウスのALSモデルでの疾患発症において有意な役割を果たすという発見にもに基づく。この発見を考慮して、本明細書において、神経変性障害の診断方法、神経変性障害を発症させるリスク（例えば高いリスクまたは低いリスク）がある対象の識別方法、神経変性障害を有する対象における疾患の進行速度の予測方法、神経変性障害を治療するための対象の選択方法、神経障害を有する対象のための治療の選択方法、神経変性障害治療の有効性の決定方法、および臨床試験に参加させるための対象の選択方法が提供される。これらの方法は、表1～19のうち1つまたは複数に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10種の）マイクロRNAおよび/または表20～21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを測定することを含む。

【0064】

また、神経変性障害（例えばALSまたはMS）の治療方法であって、対象に、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNA（例えばhsa-miR-155）のレベルまたは活性を減少させる、および/または表2、4、6、8、10、13、15、17、または19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAのレベルまたは活性を増加させる作用物質（例えば核酸）を投与す

10

20

30

40

50

ることを含む、方法も提供される。また、神経障害（例えばA L S またはM S ）の治疗方法であって、対象に、表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの発現（例えばタンパク質またはm R N A ）および／または活性を減少させる作用物質（例えば核酸）、および／または表20に列挙した遺伝子のうち1つまたは複数の発現（例えばタンパク質またはm R N A ）および／または活性を増加させる物質（例えば核酸）を投与することを含む、方法も提供される。

【0065】

また、表1～19に列挙したマイクロR N A のいずれか1つ中に存在する配列、または表20および21に列挙した遺伝子のいずれか（例えばプライマーまたはプローブ）をコードするm R N A 中に存在する配列に相補的な配列を含む核酸も提供される。また、標的マイクロR N A または標的m R N A （例えば抑制性R N A 、例えば本明細書において説明される抑制性核酸のいずれか）の発現または活性を減少させる、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙したマイクロR N A （標的マイクロR N A ）のいずれか1つ中に存在する配列、または表21に列挙した遺伝子のいずれかによってコードされたm R N A （標的m R N A ）中に存在する配列に相補的な配列を含む核酸も提供される。また、標的マイクロR N A または標的m R N A の発現または活性を増加させる、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙したマイクロR N A （標的マイクロR N A ）のいずれか1つの配列、または表20に列挙した遺伝子のいずれかによってコードされたm R N A （標的m R N A ）中に存在する配列を含む核酸を含む組成物も提供される。また、表20および表21に列挙したタンパク質のいずれか1つに特異的に結合する少なくとも1種の抗体を含む組成物も包含される。また、表20および表21に列挙した少なくとも1種のタンパク質を含む組成物も包含される。また、上記の核酸、タンパク質、または抗体のうち1つまたは複数を（あらゆる組合せで）含むキットも提供される。

【0066】

神経変性障害

神経変性障害とは、ニューロンの構造および機能の進行性喪失と神経細胞死を特徴とする神経疾患のクラスである。いくつかの神経変性障害において炎症が関与することが示されている。様々な種類の神経変性障害では、運動および感覚ニューロンの進行性喪失と、外部の物体に対する感覚情報を参照する知能が影響を受ける。神経変性障害の非限定的な例としては、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症（A L S 、例えば家族性A L S および孤発性A L S ）、および多発性硬化症（M S ）が挙げられる。

【0067】

医療専門家は、対象における1つまたは複数の神経変性障害の症状を評価することによって、神経変性障害を有すると対象を診断する可能性がある。対象における非限定的な神経変性障害の症状としては、足の前部とつま先を持ち上げることの困難さ；腕、脚、足、または足首の衰弱；手の衰弱または不器用；言語不明瞭；嚥下困難；筋痙攣；腕、肩、および舌の単収縮；咀嚼困難；呼吸困難；筋麻痺；部分的または完全な失明；複視；体の一部の刺痛または疼痛；頭の動きに伴い生じる電気ショックのような感覚；震え；歩行不安定；疲労；眩暈；記憶喪失；見当識障害；空間関係の誤認；読み取りまたは筆記の困難；集中および思考の困難；判断および決定をなすことの困難；普通の作業の計画および実行の困難；うつ病；不安；社会的引きこもり；気分変動；興奮性；攻撃性；睡眠習慣の変化；徘徊；認知症；自動運動の損失；姿勢およびバランスを保てないこと；筋肉の硬直；運動緩慢；遅いまたは異常な目の動き；不随意の痙攣または身もだえするような動き（舞蹈病）；不随意の持続的な筋肉の痙攣（ジストニア）；柔軟性の損失；衝動を制御できないこと；および食欲の変化が挙げられる。また医療専門家は、部分的に対象の神経変性障害の家族歴に関する診断を根拠とすることもある。医療専門家は、医療施設（例えば診療所または病院）への対象の説明に基づき神経変性障害を有すると対象を診断することもある。場合によっては、医療専門家は、神経変性障害を有すると対象を診断する可能性があり、

10

20

30

40

50

その間、対象を介護施設に入院させる。典型的には、医師は、1つまたは複数の症状が示された後に、対象の神経変性障害を診断する。

【0068】

本明細書において、対象（例えば1つまたは複数の神経変性障害の症状を示す対象、または神経変性障害の症状を示さない対象（例えば診断未確定の、および／または無症状の対象）における、追加の神経変性障害の診断方法が提供される。また、本明細書において、対象における神経変性障害の予後予測方法および治療方法（例えば、対象における神経変性障害の症状（例えば運動失調）の発症率または進行を低減させる方法）も提供される。

【0069】

マーカー

本明細書において説明される1つまたは複数のマーカーのあらゆる組合せは、本明細書において説明される方法のどれにおいても使用することができ、例えば、対象における神経変性障害の診断方法、神経変性障害を発症させるリスク（例えば高いまたは低いリスク）がある対象の識別方法、神経変性障害を有する対象における疾患の進行速度の予測方法、神経変性障害を治療するための対象の選択方法、神経変性障害を有する対象における治療の有効性の決定方法、または臨床試験に参加させるための対象の選択方法で使用することができる。

【0070】

表1に、健康な対照（健康な対照のCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球、またはCSF）と比較して、神経変性障害を有する対象における単球（CD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球）またはCSFで増加したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【0071】

10

20

【表 1】

表 1. 健康な対照と比較して、神経変性障害を有する患者からの CD14⁺CD16⁻単球、CD14⁺CD16⁻単球、または CSF 中で増加したマイクロ RNA のリスト

MiRNA	成熟 miRNA 配列	前駆 miRNA 配列	
hsa-miR-19b	gugcaaaucuaugcaaaacu ga (配列番号 1)	CACUGUUCUAUGGUAGUUUUGCAGGUUUGCAUC CAGCUGUGUGAUAAUCUGCUGUGCAAUCCAUGC AAAACUGACUGUGGUAGUG (配列番号 3)	10
	ugugcaaaucuaugcaaaac uga (配列番号 2)	ACAUUGCACUUACAAUAGUUUUGCAGGUUUGC AUUUCAGCGUAUAUAUGUAAUUGUGGCUGUGCA AAUCCAUGCAAAACUGAUUGUGAUAAUGU (配列 番号 4)	
hsa-miR-106b	uaaagugcugacagugcag au (配列番号 5)	CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGGCAGAUAG UGGUCCUCUCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUU GCUGCUCCAGCAGG (配列番号 6)	
hsa-miR-30b	uguaaacauccuacacucag cu (配列番号 7)	ACCAAGUUUCAGUUCAUGUAAACAUCCUACACUC AGCUGUAAUACAAUGGAUUGGUGGGAGGUGGAU GUUUACUUCAGCUGACUUGGA (配列番号 8)	
hsa-miR-21	uagcuuauacagacugau uga (配列番号 9)	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGU UGAAUCUCAUGGCAACACCCAGUCGAUGGGCUGUC UGACA (配列番号 10)	20
hsa-miR-142- 5p	cauaaaguagaaagcacuac u (配列番号 11)	GACAGUGCAGUCACCAUAAGUAGAAAGCACUA CUAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUCCUACUU UAUGGAUGAGUGUACUGUG (配列番号 12)	
hsa-miR-27a	uucacaguggcuaaguucc gc (配列番号 12)	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGG UCCACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUC CGCCCCCCCAG (配列番号 13)	
hsa-miR-16	uagcagcacguaaauuug gcg (配列番号 14)	GUCAGCAGUGCCUUAGCAGCACGUAAAUAUUGGC GUUAAGAUUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACU GUGCUGCUGAAGUAAGGUUGAC (配列番号 16)	30
	uagcagcacguaaauuug gcg (配列番号 15)	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCUGA UGAAAUAUAUUAACACCAAUAUUAACUGUGC UGCUCUAGUGUGAC (配列番号 17)	
hsa-miR-374a	uuauaaauacaaccugauaag ug (配列番号 18)	UACAUCGGCCAUUAUAAAACAACCUGUAAGUGU UAUAGCACUUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCU GUGUA (配列番号 19)	
hsa-miR-374b	auauaaauacaaccugcuaag ug (配列番号 20)	ACUCGGAUGGAUAAAACAACCUGCUAAGUGUC CUAGCACUUAGCAGGUUGUUAUCAUUGUCCGU GUCU (配列番号 21)	
hsa-miR-101	uacaguacugugauaacug aa (配列番号 22)	UGCCCUUGGCUCAGUUACACAGUGCUGAUGCUGU CUAUUCUAAAGGUACAGUACUGUGUAACUGAA GGAUGGCA (配列番号 24)	40
	uacaguacugugauaacug aa (配列番号 23)	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCU GUUAUCUGAAAGGUACAGUACUGUGUAACUG AAGAAUGGUGGU (配列番号 25)	
hsa-miR-340	uuauaaagcaaugagacug auu (配列番号 26)	UUGUACCUGGUGUGAUUAAGCAAUGAGACU GAUUGUCAUUAUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAG UUACUUUAUAGCCAUACCUGGUUAUCUUA (配列番 号 27)	
hsa-miR-30e	uguaaacauccuugacugg aag (配列番号 28)	GGGCAGUCUUUGCUACUGUAACAUCCUUGACUG GAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGAGCUUUCAGUC GGAUGUUUACAGCGGCAGGCUGCCA (配列番号 29)	

hsa-miR-29c	uagcaccauuugaaaucgg uua (配列番号 30)	AUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUGGUG UUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAA UCGGUUUAUGAUGUAGGGGGA (配列番号 31)	
hsa-miR-29a	uagcaccaucugaaaucgg uua (配列番号 32)	AUGACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUA UAUUUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU (配 列番号 33)	
hsa-miR-223	ugucaguuugucaaauacc cca (配列番号 34)	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCCUCCGUGUAUU GACAAGCUGAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGU GUCAGUUUGUCAAUAUACCCCAAGUGCGGCACAUG CUUACCAAG (配列番号 35)	
hsa-miR-26a	uucaaguaauccaggauag gcu (配列番号 36) uucaaguaauccaggauag gcu (配列番号 37)	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUG CAGGUCCCAAUGGGCCUAUUUCUUGGUACUUGCA CGGGGACGC (配列番号 38) GGCUGUGGCUGGAUUCAGUAAUCCAGGAUAGGC UGUUUCCAUUCUGUGAGGCCUAUUUCUUGAUUACUU GUUUCUGGAGGCAGCU (配列番号 39)	10
hsa-miR-26b	uucaaguaauucaggauag gu (配列番号 40)	CCGGGACCCAGUUCAGUAAUUCAGGAUAGGUUG UGUGCGUCCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC GGGGACCGG (配列番号 41)	
hsa-miR-24	uggcucaguucagcaggaa cag (配列番号 42) uggcucaguucagcaggaa cag (配列番号 43)	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUAUCAGUUCUCAU UUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG (配列番号 44) CUCUGCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAG UUGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAA CAGGG (配列番号 45)	20
hsa-miR-181a	aacauucaacgcugucgg gagu (配列番号 46) aacauucaacgcugucgg gagu (配列番号 47)	UGAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAAC GCUGUCGGUGAGUUUGGAAUAAAUCAAAACC AUCGACCGUUGAUUGUACCCUAUGGCUAACCAUC AUCUACUCCA (配列番号 48) AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCC AAGGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGA UUUGAAAAAACACUGACCGUUGACUGUACCUUG GGGUCCUUA (配列番号 49)	30
hsa-miR-103	agcagcauuguacaggc auga (配列番号 50) agcagcauuguacaggc auga (配列番号 51) ucauagcccuguaacaug ugcu (配列番号 52) ucauagcccuguaacaug ugcu (配列番号 53)	UACUGCCCUCGGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGU UGCAUAUGGAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAU GAAGGCAUUG (配列番号 54) UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGU AGCAUUCAGGUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAU GAAAGAACCA (配列番号 55) UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGAUCCAUAUG CAACAAGGCAGCACUGUAAAGAAGCCGA (配列番 号 56) UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCUUGACCUGAAUG CUACAAGGCAGCACUGUAAAGAAGCUGA (配列番 号 57)	40
hsa-miR-155	uuuaugcuauucgugauag gggu (配列番号 58)	CUGUUAAUGCUCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUGCC UCCAACUGACUCCUACAUUAUAGCAUUAACAG (配 列番号 59)	

hsa-miR-532-3p	caugccuugaguguaggac cgu (配列番号 60)	CGACUUGCUUUCUCUCCUCCAUGCCUUGAGUGUA GGACCGUUGGCAUCUUAUUACCCUCCCACACCC AAGGCUUGCAAAAAGCGAGCCU (配列番号 61)	
hsa-miR-320c	aaaagcuggguugagaggg u (配列番号 62) aaaagcuggguugagaggg u (配列番号 63)	UUUGCAUAAAAAUGAGGCCUUCUCUUCAGUU CUUCCCAGAGUCAGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGG UAGAAAAAAAUGAUGUAGG (配列番号 64) CUUCUCUUUCCAGUUCUUCAGAAUUGGGAAAA GCUGGGUUGAGAGGGU (配列番号 65)	10
hsa-miR-27b	uucacaguggcuaguucu gc (配列番号 66)	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUAGCUGAUUG GUGAACAGUGAUUGGUUUCGCUUUGUUCACAGU GGCUAAGUUCUGCACCUGAAGAGAAGGUG (配列 番号 67)	
hsa-miR-664	uuuucauuuaucccccagcc uaca (配列番号 68)	GAACAUUGAAACUGGCCUAGGGAAAUGAUUGGA UAGAAACUAUAUUCUAAUCAUUUAUCCCCAGCC UACAAAUGAAAAAA (配列番号 69)	
hsa-miR-432-5p	ucuuggaguaggcuauugg gugg (配列番号 70)	UGACUCCUCCAGGUCUUGGAGUAGGUCAUUGGU GGAUCCUCUAUUUCUACUGGGGCCACUGGAUG GCUCCUCCAUGUCUUGGAGUAGAUCA (配列番号 71)	
hsa-miR-92a	uuuugcacuuguccggcc ugu (配列番号 72) uaauugcacuuguccggcc ugu (配列番号 73)	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCCGCUAUGCUG UGUUUCUGUAUGGUAUUGCACUUGUCCCCGGCCUG UUGAGUUUGG (配列番号 74) UCAUCCCUGGGGUGGGGAUUUGUUGCAUUACUUGU GUUCUUAUAAGUAUUGCACUUGUCCCCGGCCUG UGGAAGA (配列番号 75)	20
hsa-miR-99b	cacccguagaaccgaccuug cg (配列番号 76)	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCU UCGCCGCACACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUG UC (配列番号 77)	
hsa-miR-146a	ugagaacugaauuccaugg guu (配列番号 78)	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUUC CAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAUUC AGUUCUUCAGCUGGGAUAAUCUCUGUCAUCGU (配 列番号 79)	
hsa-miR-150	ucucccaacccuuguaccag ug (配列番号 80)	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCA GUGCUGGGCUCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGG ACAGGGACCUGGGGAC (配列番号 81)	30
hsa-miR-328	cuggccucucugcccuuec cgu (配列番号 82)	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGCUCAGGGAGAA AGUGCAUACAGCCCCUGGCCUCUGCCCUUCC GUCCCCUG (配列番号 83)	
hsa-miR-532-3p	ccucccacacccaaggcuug ca (配列番号 84)	CGACUUGCUUUCUCUCCUCCAUGCCUUGAGUGUA GGACCGUUGGCAUCUUAUUACCCUCCCACACCC AAGGCUUGCAAAAAGCGAGCCU (配列番号 85)	
hsa-miR-1260	auecccaccucugccacca (配列番号 86)	ACCUUCCAGCUCAUCCCACCUUGCCACCAAAA CACUCAUCGCGGGUCAGAGGGAGUGCCAAAAAA GGUAA (配列番号 87)	
hsa-miR-423	ugagggcagagagcgaga cuuu (配列番号 88)	AUAAAGGAAGUUAGGCUGAGGGCAGAGAGCGA GACUUUUCUAUUUUCAAAAGCUCGGUCUGAGGC CCCUCAGCUUGCUUCCUAACCCCGCG (配列番号 89)	40
hsa-miR-361-5p	uuauccagaaucuccagggg uac (配列番号 90)	GGAGCUUAUCAGAAUCUCCAGGGGUACUUUAUA UUUCAAAAAGUCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUUG CUUC (配列番号 91)	

hsa-miR-93	caaagugcuguuucgugcagg guag (配列番号 92)	CUGGGGGCUCCAAAGUGUCUGUUCGUGCAGGUAGU GUGAUUACCCAAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUC CCGAGCCCCGG (配列番号 93)
hsa-miR-221	agcuacauugucugcuggg uuuc (配列番号 94)	UGAACAUCCAGGUCUGGGCAUGAACCUGGCAUA CAAUGUAGAUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCU ACAUGUCUGCUGGGUUUCAGGCUACCUGGAAAC AUGUUCUC (配列番号 95)
hsa-miR-20a	uaaagugcuuauagugcagg guag (配列番号 96)	GUAGCACUAAGUGCUUUAUGUGCAGGUAGUGU UUAGUUAUCUACUGCAUUAUGAGCACUUAAGU ACUGC (配列番号 97)
hsa-miR-30c	uguaaacauccuacacucuc age (配列番号 98)	ACCAUGCUGUAGUGUGUAAACAUCUACACUC UCAGCUGUGAGCUAAGGUGGUGGGAGAGGGU UGUUUACUCCUUCUGCCAUGGA (配列番号 100)
	uguaaacauccuacacucuc age (配列番号 99)	AGAUACUGUAAAACAUCUACACUCUCAGCUGUGG AAAGUAAGAAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUC UUUCU (配列番号 101)
hsa-miR-15b	uagcagcacaucaugguuu aca (配列番号 102)	UUGAGGCCUUAAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUG GUUUACAUGCUACAGCUAGAUGCAGAAUCAUUAU UUGCUGCUCUAGAAAUUUAAGGAAAUUCAU (配列 番号 103)
hsa-let-7g	ugagguaguaguuuguaca guu (配列番号 104)	AGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGUUUGAGGGU CUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUACUGUAC AGGCCACUGCCUUGCCA (配列番号 105)
hsa-let-7b	ugagguaguagguugugug guu (配列番号 106)	CGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUCAGGG CAGUGAUGUUGCCCCUCGGAAAGAUACUUAACAA CCUACUGCCUUCCCUG (配列番号 107)
hsa-let-7a	ugagguaguagguuguaaua guu (配列番号 108)	UGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUAGGG UCACACCCACCACUGGGAGAUACUAUACAAUCU ACUGCUUUCCUA (配列番号 111)
	ugagguaguagguuguaaua guu (配列番号 109)	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUU ACAUCAAGGGAGAUACUGUACAGCCUCCUAGCU UUCCU (配列番号 112)
	ugagguaguagguuguaaua guu (配列番号 110)	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGCUC UGCCUGCUAUGGGAUACUAUACAAUCUACUGU CUUCCU (配列番号 113)
hsa-miR-574- 3p	ugagugugugugugug ugugu (配列番号 114)	GGGACCUGCGUGGGUGCGGGCGUGUGAGUGUGU GUGUGUGAGUGUGUGUCGCUCCGGGUCCAC GCUAUGCACACACCCACACGCCACACUCAGG (配列番号 115)
hsa-miR-19a	ugugcaaaucuaugcaaaac uga (配列番号 116)	GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUAC AAGAAGAAUGUAGUUGUGCAAAUCUAUGCAAAA CUGAUGGUGGCCUGC (配列番号 117)
hsa-let-7f	ugagguaguagauuguaaua guu (配列番号 118)	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGG GUAGUGAUUUUACCCUGUUUCAGGAGAUACUAU ACAAUCUAUUGCCUUCCCUGA (配列番号 120)
	ugagguaguagauuguaaua guu (配列番号 119)	UGUGGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUAG GGUCAUACCCCAUCUUGGAGAUACUAUACAGUC UACUGCUUUUCCACG (配列番号 121)
hsa-miR-140- 5p	cagugguuuacccuaagg uag (配列番号 122)	UGUGUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUAC CCUAUGGUAGGUACGUCAUGCUGUUCUACCACA GGGUAGAACCAACGGACAGGAUACCGGGCACC (配 列番号 123)

hsa-miR-30a	uguaaacauccucgacugg aag (配列番号 124)	GCGACUGUAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAA GCCACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC UGC (配列番号 125)	
hsa-miR-190	ugauauguuugauauuu ggu (配列番号 126)	UGCAGGCCUCUGUGUAUGUUUGAUUAUUA GGUUGUUAUUUAAUCCAACUAUAUUAUCAAACAU AUUCCUACAGUGUCUUGCC (配列番号 127)	
hsa-miR-500	uaauccuugcuaccuggu gaga (配列番号 128) aaucuuugcuaccuggu (配列番号 129)	GCUCCCCCUCUCUAAUCCUUGCACCUUGGGUGAG AGUGCUGUCUGAAUGCAAUGCACCUUGGGCAAGGA UUCUGAGAGCGAGAGC (配列番号 130) CCCCCUCUCUAAUCCUUGCACCUUGGGUGAGAGU GCUUUCUGAAUGCAGUGCACCCAGGCAAGGAUUC UGCAAGGGGG (配列番号 131)	10
hsa-let-7i	ugagguaguaguuugugcu guu (配列番号 132)	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUUCGG GUUGUGACAUUGCCCUGUGGGAGAUACUGCGC AAGCUACUGCCUUGC (配列番号 133)	
hsa-miR-23a	aucacauugccagggauuu cc (配列番号 134)	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGC CCUGUCACAAUCACAUUGCCAGGGAUUUC CGACC (配列番号 135)	
hsa-miR-142- 3p	cauaaaguagaaagcacuac u (配列番号 136)	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUA CUAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUCC UACUUUAUGGAUGAGUGUACUGUG (配列番号 137)	20
hsa-miR-15a	uagcagcacauaaugguuu gug (配列番号 138)	CCUUGGAGUAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUG UGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCU GCCUCAAAAUAACAAGG (配列番号 139)	
hsa-miR-191	caacggaauccaaaggcag cug (配列番号 140)	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAUCCCCAAAGCA GCUGUUGUCUCCAGAGCAUUCAGCUGCGCUUGG AUUUCGUCCCCUGCUUCUCCUGCCU (配列番号 141)	
hsa-miR-720	ucucgeuggggccucca (配列番号 142)	CCGGAUCUCACACGGUGGUUAUAUCUC GGGCCUCAAAAGUUGUGCCAGGGUGUUAGA GAAAACACCACACUUUGAGAUGAAUUAAGAGUCC UUUAUAG (配列番号 143)	
hsa-miR-320a	aaaagcuggguugagagg cga (配列番号 144)	GUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUUC UCCCGGAGUCGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCG AAAAAGGAUGAGGU (配列番号 145)	30
hsa-miR-520g	acaaagugcuaecccuuuag agugu (配列番号 146)	UCCCAUGCUGUGACCCUCUAGAGGAAGCACUUUC UGUUUGUUGUCUGAGAAAAAAACAAGUGCUUCC UUUAGAGGUUACCGUUUGGG (配列番号 147)	
hsa-miR-204	uuccuuugucauccuaug ccu (配列番号 148)	GGCUACAGUCUUUCUCAUGUGACUC CCCUUUGUCAUCCUAUGCUGAGAAUUAUGAAG GAGGCUGGGAAAGGCACAGGGACGUUCAAUUGUC AUCACUGGC (配列番号 149)	
hsa-miR-708	aaggagcuaacaaucuage uggg (配列番号 252)	AACUGCCCUCAGGAGCUACAAUCUAGCUGGG GUAAAUGACUUGCACAUGAACACAUAGACUGU GAGCUUCUAGAGGGCAGGG (配列番号 253)	
hsa-miR-197	uucaccaccuuucuccaccca gc (配列番号 254)	GGCUGUGCCGGUAGAGGAGGGCAGUGGGAGGU AGAGCUCUUCACCCUUCACCACCUUCUCCACCC GCAUGGCC (配列番号 255)	40
hsa-miR-1274a	GUCCCCUGUUCAGG CGCCA (配列番号 256)		
hsa-miR-1274b	UCCCCUGUUCGGGC GCCA (配列番号 257)		

【 0 0 7 2 】

表 2 に、健康な対照（健康な対照の CD14⁺CD16⁻ または CD14⁺CD16⁺ 単球）と比較して、神経変性障害を有する対象における CD14⁺CD16⁻ または CD14⁺CD16⁺

14⁺CD16⁺ 単球で減少したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0073】

【表2】

表2. 健康な対照と比較して、神経変性疾患有する対象からの CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺ 単球で減少したマイクロ RNA のリスト

miRNA	成熟 miRNA 配列	前駆 miRNA 配列	
hsa-miR-518f	gaaagcgcuucucuuuagag g (配列番号 150)	UCUCAUGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAAGCACUUU CUCUUGUCUAAAAGAAAAGAAAGCGCUUCUCUUU AGAGGAUUACUCUUUGAGA (配列番号 151)	10
hsa-miR-206	uggaauguaaggaaaggugug gg (配列番号 152)	UGCUCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAUUAUCCCC AUUAUGGAUUACUUUGCUAUGGAAUGUAAGGAAG UGUGUGGUUUCGGCAAGUG (配列番号 153)	
hsa-miR-204	uucccuuugucauccuaugc cu (配列番号 154)	GGCUACAGUCUUUCUUCAUGUGACUCGUGGACUU CCCUUUGUCAUCCUAUGCCUGAGAAUUAUAGAAG GAGGCUGGGAAGGCAAAGGGACGUCAAUUGUC AUCACUGGC (配列番号 155)	
hsa-miR-137	uuauugcuuaagaauacgcg uag (配列番号 156)	GGUCCUCUGACUCUUCGGUGACGGGUAUUCUU GGGUGGAAUAUACGGAAUACGUUGUUUAUGCUU AAGAAUACGCGUAGUCGAGGAGAGUACCAGCGGC A (配列番号 157)	
hsa-miR-453	AGGUUGUCCGUGG UGAGUUCGCA (配列番号 257)	UGGUACUCGGAGGGAGGUUGUCCGUGGUGAGUU CGCAUUAUUUAAUGAUGCCAAUACACGGUCGAC CUCUUUUCGGUAUCA (配列番号 258)	20
hsa-miR-603	cacacacugcaauuacuuu gc (配列番号 158)	GAUUGAUGCUGUUGGUUUGGUGCAAAAGUAAUU GCAGUGCUUCCCCAUUAAAAGUAAUGGCACACAC UGCAAUUACUUUUGCUCCAACUUAUACUU (配列 番号 159)	
hsa-miR-1297	uucaaguaauucaggug (配 列番号 160)	UGUUUAUCUCUAGGGUUGAUCUAUUAGAAUUA UUUAUCUGAGCCAAGUAAUUCAGUAAUUCAGG UGUAGUGAAC (配列番号 161)	
hsa-miR-192	cugaccuaugaaauugacagc c (配列番号 162)	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGA AUUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCU GCCAAUUCCAUAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUCA AUGCCAGC (配列番号 163)	30
hsa-miR-526a	cucuagagggaagcacuuuc ug (配列番号 164)	CUCAGGCUGUGACCCUCUAGAGGGAAAGCACUUUC UGUUGCUGAAAGAAGAGAAAGCGCUUCCUUUU AGAGGAUUACUCUUUGAG (配列番号 166)	
	cucuagagggaagcacuuuc ug (配列番号 165)	GUGACCCUCUAGAGGGAAAGCACUUUCUGUUGAAA GAAAAGAACAUCAUCCUUUCAGAGGGUAC (配 列番号 167)	
hsa-miR-615- 5p	gggggucccccggugcugga uc (配列番号 168)	CUCGGAGGGCGGGAGGGGGUCCCCGGUGCUC GGAUCUCGAGGGUGCUUAUUGUUCGGUCCGAGCC UGGGUCUCCCUCUUCCCCCAACCCCC (配列番号 169)	40
hsa-miR-655	auaaucacaugguaaccucu uu (配列番号 170)	AACUAUGCAAGGAUAUUGAGGGAGAGGUUAUCC GUGUUAUGUUCGCUUCAUCAUCAUGAAUUAAC AUGGUAAACCUCUUUUGAAUUAUCAGACUC (配列 番号 171)	
hsa-miR- 450b-5p	uuuugcaauauguuccugaa ua (配列番号 172)	GCAGAAUUAUUUUGCAUAUAGUUCUGAAUUAU GUAAUUAAGUGUAUUGGAUCAUUUUGCAUCC AUAGUUUUGUAU (配列番号 173)	

hsa-miR-548b-3p	aaaaguaauugugguuuuggcc (配列番号 174)	CAGACUAUAUUAUUAGGUUGGCGCAAAGUAAUUGUGGUUUUGGCCUUUAUUUCAAUGGCAAGAACCUCAGUUGCUUUUGUGCCAACCUAAUACUU (配列番号 175)	
hsa-miR-584	uuuaggguuugccugggacugg (配列番号 176)	UAGGGUGACCAGCCAUUAUGGUUUGGCCUGGGACUGAGGAAUUGCUGGGAU AUGUCAGUUCGCCAGGCAACCCAGGCA (配列番号 177)	
hsa-miR-548f	aaaaacuguaauuacuuuu (配列番号 178)	AUUAGGUUGGUGCAAAAGUAAUCACAGUUUUUGACAUUACUUUCAAAGACAAAACUGUAUUACUUUUGGACCAACCUAAUAG (配列番号 183)	10
	aaaaacuguaauuacuuuu (配列番号 179)	UAAAACUAUUAGGUUGGUGCGAACAUAAUUGCAGUUUUUAUCAUUACUUUAAAUGGCAAAACUGUAAUACUUUACUUUUGCACCAACCUAAUAGU (配列番号 184)	
	aaaaacuguaauuacuuuu (配列番号 180)	AUUAGGUUGGUGCAAACCUAAUUGCAAUUUUGCAGUUUUUAAGUAAUUGCAAAACUGUAUUACUUUUGCACCAACCUAAUAC (配列番号 185)	
	aaaaacuguaauuacuuuu (配列番号 181)	GAGUUCUAACGUAAUAGGUUGGUGCGAAAAGUAAUAGGUUUUUGCAUAAAAGUAAUUGACAAAAACUGUAUUACUUUUGGAACAAUAAUUAUAGAAUUUCAG (配列番号 186)	20
	aaaaacuguaauuacuuuu (配列番号 182)	UAUUAGGUUGCUGCAAAAGUAAUCAUGUUUUUUCCAUUGUAAGUAAUUGGGAAAAACUGUAUUACUUUUGUACCAACCUAAUAGC (配列番号 187)	
hsa-miR-300	uauacaaggcagacucucu cu (配列番号 188)	UGCUACUUGAAGAGAGGUAAUCCUUCACGCAUUUGCUUUACUUGCAAAUGAUUAACAAGGGCAGACUCUCUGGGAGCAAA (配列番号 189)	
hsa-miR-302c	uaagugcuccaauguuucagg ug (配列番号 190)	CCUUUGCUUUACAUAGGGGUACCUGCUGUGUGAACAAAAGUAAGUGCUUCCCAUGUUUCAGUGGAGG (配列番号 191)	30
hsa-miR-328	cuggccucucugccuccgu (配列番号 82)	UGGAGUGGGGGGCAGGAGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUACAGCCCCUGGCCUCUCUGGCCUCCGUCCCCUG (配列番号 83)	
hsa-miR-421	aucaacagacacauuaauugggcgc (配列番号 192)	GCACAUUGUAGGCCUCAUAAAUGUUUGUUGAAUGAAAAAAUGAAUCAUCAACAGACACAUUAAUUGGCGCCUGCUCUGUGAUCUC (配列番号 193)	
hsa-miR-580	uugagaaugaugaaucauugg (配列番号 194)	AUAAAUUUCCAAUUGGAACCUAAUGAUUCAUGACUCAGAUUUAAGUUAACAGUAUUUGAGAAUGAUGAAUCAUUAAGGUUCCGGUCAGAAAUU (配列番号 195)	40
hsa-miR-651	uuuaggauaaggcuugacuuuug (配列番号 196)	AAUCUAUCACUGCUUUUUAGGAAGCUUGACUUUUGUCAAAUAAAUGCAAAAGGAAAGUGUAUCCUAAAAGGCAAUGACAGUUUUAUGUGUUU (配列番号 197)	
hsa-miR-379	ugguagacuauggaacguagg (配列番号 198)	AGAGAUGGUAGACUAUGGAACGUAGGCGUUAUGAUUUCUGACCUAUGUAACAUUGGUCCACUAACUCU (配列番号 199)	

hsa-miR-193a-3p	ugggucuuugcggcgagau ga (配列番号 200)	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGG GCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACAA AGUCCCAGUUCUCGGCCCCCG (配列番号 201)	
hsa-miR-515-3p	uucuccaaaagaaaagcacuu ucug (配列番号 202) uucuccaaaagaaaagcacuu ucug (配列番号 203)	UCUCAUGCAGUCAUUCUCCAAAAGAAAGCACUUU CUGUUGUCUGAAAGCAGAGUGGCCUUCUUUGGAG CGUUACUGUUUGAGA (配列番号 204) UCUCAUGCAGUCAUUCUCCAAAAGAAAGCACUUU CUGUUGUCUGAAAGCAGAGUGGCCUUCUUUGGAG CGUUACUGUUUGAGA (配列番号 205)	
hsa-miR-598	uacgucaucguugucaucgu ca (配列番号 206)	GCUUGAUGAUGCUGCUGAUGCUGCGGUGAUCC GAUGGGUGAGCUGGAAAUGGGGUGCUACGUCA UCGUUGUCAUCGUCAUCAUCAUCCGAG (配列 番号 207)	10
hsa-miR-513a-5p	uucacaggagguguau (配列番号 208) uucacaggagguguau (配列番号 209)	GGGAUGCCACAUUCAGCCAUCAGCGUACAGUGC CUUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGUGAACUAA AAUAUAAAUCACCUUUCUGAGAACGGGUAAUG UACAGCAUGCACUGCAUAUGUGGGUGUCC (配列番 号 210) GGAUGCCACAUUCAGCCAUCAGUGUGCAGUGCC UUUCACAGGGAGGUGUCAUUUAUGUGAACUAA AAUAUAAAUCACCUUUCUGAGAACGGGUAAUG ACAGCAUGCACUGCAUAUGUGGGUGUCC (配列番 号 211)	20
hsa-miR-640	augauccaggaaccugccuc u (配列番号 212)	GUGACCCUGGGCAAGUUCUGAAGAACAGACACA UCAGAUCCCUCUACUGUAAAUGGGCAUGAUCCA GGAACCUGCCUCUACGGUUGGCCUUGGGGG (配列番 号 213)	
hsa-miR-548g	aaaacuguaauuacuuuugu ac (配列番号 214)	AGUUUUAGAUUAGUGCAAAAGUAAUGCAGUU UUUGCAUUACGUUCUAUGGCAAAACUGUAAUUC UUUUGUACCAACAUAAUACUUC (配列番号 215)	
hsa-miR-1206	uguucauguagauguuuaag c (配列番号 216)	CAGUGUUCAUGUAGAUGUUUAAGCUCUUGCAGU AGGUUUUUGCAAGCUAGUGAACCGCUG (配列番 号 217)	
hsa-miR-383	agaucagaaggugauugugg cu (配列番号 218)	CUCCUCAGAUCAGAAGGUGAUUGUGGCCUUUGGGU GGAUUAUAAUCAGCCACAGCACUGCCUGGUCAGA AAGAG (配列番号 219)	30
hsa-miR-649	aaaccuguguugucaagag uc (配列番号 220)	GGCCUAGCCAAAUACUGUAUUUUGAUCGACAUU UGGUUGAAAAAUACUAUGUAUUAGUAAACCUG UGUUGUCAAGAGUCCACUGUGUUUUGCUG (配列 番号 221)	
hsa-miR-592	uugugucaauauggcaugau gu (配列番号 222)	UAUUUAUGCCAUGACAUUGUGUCAAUUAUGCAG AUGUGUUGUGAUGGCACAGCGUCAUCACGUGGUG ACGCAACAUCAUGACGUAAGACGUCACAAC (配列 番号 223)	
hsa-miR-2054	cuguaauauaaauuuuaauu au (配列番号 224)	CUGUAUAUAAAUAUUAUUCUCUAUCAAUU AAAAAAUGUAUUAACAG (配列番号 225)	40
hsa-miR-450a	uuuugcgauguguuccuaau au (配列番号 226) uuuugcgauguguuccuaau au (配列番号 227)	AAACGAUACUAAACUGUUUUGCGAUGUGUUCU AAUAUGCACUAAUAAAUAUUGGGAACAUUUUG CAUGUAUAGUUUUGUAUCAAAUUA (配列番号 228) CCAAAGAAAGAUGCUAAACUAUUUUGCGAUGU GUCCUAAUAUGUAUAAAUGUAUUGGGGAC AUUUUGCAUCAUAGUUUUGUAUCAAAUUAUG G (配列番号 229)	

hsa-miR-362-3p	aauccuuggaaccuaggugu (配列番号 230)	CUUGAAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGUCUAUUUCAGUGCACACACACCUAUUCAAGGAUUCAAA (配列番号 231)
hsa-miR-193a-3p	ugggucuuugcgggcgagau (配列番号 232)	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGCUCUUUGCGG GCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCACUGGCCUACAA AGUCCCAGUUCUCGGCCCCG (配列番号 233)
hsa-miR-566	ggcgccugugaucccaac (配列番号 234)	GCUAGGCGUGGUGGCGGGCGCCUGUGAUCCCCAAC UACUCAGGAGGCUGGGGCAGCAGAAUCGCUUGAA CCCGGGAGGCGAAGGUUGCAGUGAGC (配列番号 235)
hsa-miR-142-3p	cauaaaguagaaagcacuacu (配列番号 236)	GACAGUGCAGUCACCCAUAAAGUAGAAAGCACUA CUAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUCCUACUUA UAUUGGAUGAGUGUACUGUG (配列番号 237)
hsa-miR-15a	uagcagcacauaaugguuug ug (配列番号 238)	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUG UGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUAUUGUGCU GCCUCAAAAAUACAAGG (配列番号 239)
hsa-miR-1537	aaaaccguguacaguugu (配列番号 240)	ACAGCUGUAUUAGUCAGUUUCUGUCCUGUCCA CACAGAAAACCGUCUAGUUACAGUUGU (配列番号 241)
hsa-miR-148b	ucagugcaucacagaacuuu gu (配列番号 242)	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGU UAUACACUCAGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGU GCAUCACAGAACUUUGUCUCGAAAGCUUUCUA (配列番号 243)
hsa-miR-494	ugaaacauacacggaaaccu c (配列番号 244)	GAUACUCGAAGGAGAGGUUGUCCGUGUUGUCUUC UCUUUUUUAUGAUGAAACAUACACGGAAACCU CUUUUUAGUAUC (配列番号 245)
hsa-miR-369-3p	agaucgaccguguauauuc gc (配列番号 246)	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUUAUUCGCUUU AUUGACUUCGAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUC UCAG (配列番号 247)
hsa-miR-10a	uaccctuguagaucggaaauu gug (配列番号 248)	GAUCUGUCUGCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUC CGAAUUUGUGUAAGGAAUUUUGUGGUUCACAAAU UCGUAUCUAGGGAAUAUGUAGUUGACAUAAAC ACUCCGCUCU (配列番号 249)
hsa-miR-30d	uguaaacaucccgacugga ag (配列番号 250)	GUUGUUGUAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAG ACACAGCUAAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCU AC (配列番号 251)
hsa-miR-660	uacccauugcauaucggagu ug (配列番号 260)	CUGCUCCUUCUCCAUACCAUUGCAUAUCGGAG UUGUGAAUUCUAAAACACCUCCUGUGUGCAUGG AUUACAGGAGGGUGAGCCUUGUCAUCGUG (配列番号 259)
	accuccugugugcauggauu a (配列番号 261)	

【 0 0 7 4 】

表3に、健康な対照（健康な対照のCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球、またはCSF）と比較して、ALSを有する対象の単球（CD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球）またはCSFで増加したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【 0 0 7 5 】

10

20

30

40

【表3】

表3. 健康な対照と比較して、ALS を有する対象の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球、または CSF で増加したマイクロ RNA のリスト

hsa-miR-19b	hsa-miR-26b	hsa-let-7a	
hsa-miR-106b	hsa-miR-24	hsa-miR-574-3p	
hsa-miR-30b	hsa-miR-181a	hsa-miR-19a	
hsa-miR-21	hsa-miR-103	hsa-let-7f	
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-155	hsa-miR-140-5p	10
hsa-miR-27a	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-30a	
hsa-miR-16	hsa-miR-1260	hsa-miR-190	
hsa-miR-374a	hsa-miR-423	hsa-miR-500	
hsa-miR-374b	hsa-miR-361-5p	hsa-let-7i	
hsa-miR-101	hsa-miR-93	hsa-miR-23a	
hsa-miR-340	hsa-miR-221	hsa-miR-142-3p	
hsa-miR-30e	hsa-miR-20a	hsa-miR-15a	
hsa-miR-29c	hsa-miR-30c	hsa-let-7b	20
hsa-miR-29a	hsa-miR-15b	hsa-miR-26a	
hsa-miR-223	hsa-let-7g		

【0076】

表4に、健康な対照（健康な対照の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球）と比較して、ALS を有する対象の単球（CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球）で減少したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0077】

【表4】

30

表4. 健康な対照と比較して、ALS を有する対象の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロ RNA のリスト。

hsa-miR-518f	hsa-miR-655	hsa-miR-421	hsa-miR-383
hsa-miR-206	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-651	hsa-miR-649
hsa-miR-204	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-379	hsa-miR-592
hsa-miR-137	hsa-miR-584	hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-2054
hsa-miR-453	hsa-miR-548f	hsa-miR-515-3p	hsa-miR-566
hsa-miR-603	hsa-miR-300	hsa-miR-598	hsa-miR-494
hsa-miR-1297	hsa-miR-302c	hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-192	hsa-miR-328	hsa-miR-640	hsa-miR-1206
hsa-miR-526a	hsa-miR-421	hsa-miR-548g	hsa-miR-580
hsa-miR-615-5p			
hsa-miR-660			

【0078】

表5に、健康な対照からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、ALS 患者からの C

50

D₁₄⁺CD₁₆⁻単球で増加したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【0079】

【表5】

表5. 健康な対照からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球と比較して、ALS患者からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球で増加したマイクロRNAのリスト。

hsa-miR-1260	hsa-let-7g	hsa-miR-26a	hsa-miR-500
hsa-miR-30a	hsa-let-7b	hsa-miR-16	hsa-miR-150
hsa-miR-423	hsa-let-7a	hsa-miR-374b	hsa-miR-30e
hsa-miR-361-5p	hsa-miR-574-3p	hsa-miR-140-5p	hsa-miR-29c
hsa-miR-93	hsa-miR-26b	hsa-miR-101	hsa-miR-29a
hsa-miR-103	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-142-5p	hsa-miR-223
hsa-miR-24	hsa-miR-19a	hsa-miR-374a	hsa-miR-423
hsa-miR-221	hsa-let-7f	hsa-miR-340	hsa-miR-1260
hsa-miR-20a	hsa-miR-27a	hsa-miR-21	hsa-miR-30a
hsa-miR-30c	hsa-miR-106b	hsa-miR-155	hsa-miR-30b
hsa-miR-181a	hsa-miR-19b	hsa-miR-146a	hsa-miR-190
hsa-miR-15b			

【0080】

表6に、健康な対照からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球と比較して、ALS患者からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球で減少したマイクロRNAを列挙する。

【0081】

【表6】

表6. 健康な対照からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球と比較して、ALS患者からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球で減少したマイクロRNAのリスト。

hsa-miR-328	hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-302c	hsa-miR-453
hsa-miR-651	hsa-miR-640	hsa-miR-2054	hsa-miR-204
hsa-miR-379	hsa-miR-548g	hsa-miR-584	hsa-miR-518f
hsa-miR-300	hsa-miR-1206	hsa-miR-655	hsa-miR-206
hsa-miR-548f	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-421	hsa-miR-192
hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-566
hsa-miR-137	hsa-miR-383	hsa-miR-526a	hsa-miR-598
hsa-miR-580	hsa-miR-649	hsa-miR-603	
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-592	hsa-miR-1297	
hsa-miR-660			

【0082】

表7に、MS対象および健康な対照の両方からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球と比較して、ALS患者からのCD₁₄⁺CD₁₆⁻単球で独特に増加したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【0083】

10

20

30

40

【表7】

表7. MSの対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁻単球で独特に増加したマイクロRNAのリスト

hsa-miR-19b	hsa-miR-16	hsa-miR-29c	hsa-miR-181a
hsa-miR-106b	hsa-miR-374a	hsa-miR-29a	hsa-miR-103
hsa-miR-30b	hsa-miR-374b	hsa-miR-223	hsa-miR-155
hsa-miR-21	hsa-miR-101	hsa-miR-26a	hsa-miR-532-3p
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-340	hsa-miR-26b	hsa-miR-24
hsa-miR-27a	hsa-miR-30e		

10

【0084】

表8に、MS対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁻単球で独特に減少したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【0085】

【表8】

表8. MSの対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁻単球で独特に減少したマイクロRNAのリスト

20

hsa-miR-518f	hsa-miR-603	hsa-miR-655	hsa-miR-300
hsa-miR-206	hsa-miR-1297	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-302c
hsa-miR-204	hsa-miR-192	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-328
hsa-miR-137	hsa-miR-526a	hsa-miR-584	hsa-miR-421
hsa-miR-453	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-548f	hsa-miR-580

【0086】

表9に、健康な対照からのCD14⁺CD16⁺単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁺単球で増加したマイクロRNAマーカーを列挙する。

30

【0087】

【表9】

表9. 健康な対照からのCD14⁺CD16⁺単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁺単球で増加したマイクロRNAのリスト

hsa-miR-708	hsa-miR-24	hsa-miR-26a	hsa-miR-21
hsa-miR-142-5p	hsa-miR-103	hsa-miR-30b	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-15b	hsa-miR-23a	hsa-miR-16	hsa-miR-340
hsa-miR-223	hsa-miR-29a	hsa-miR-15a	hsa-let-7i

40

【0088】

表10に、健康な対照からのCD14⁺CD16⁺単球と比較して、ALS患者からのCD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロRNAマーカーを列挙する。

【0089】

【表 10】

表 10. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁺単球と比較して、ALS 患者からの CD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロ RNA のリスト

hsa-miR-598
hsa-miR-494
hsa-miR-142-3p

【0090】

10

表 11 に、健康な対照からの CSF と比較して、孤発性 ALS または家族性 ALS を有する対象からの CSF で特に増加したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0091】

【表 11】

表 11. 健康な対照からの CSF と比較して、孤発性 ALS または家族性 ALS を有する対象からの CSF で特に増加したマイクロ RNA のリスト

miRNA	ALS の形態
hsa-miR-27b	家族性および孤発性 ALS
hsa-miR-99b	孤発性 ALS
hsa-miR-146a	孤発性 ALS
hsa-miR-150	孤発性 ALS
hsa-miR-328	家族性および孤発性 ALS
hsa-miR-532-3p	家族性および孤発性 ALS

【0092】

20

表 12 に、健康な対照（健康な対照の CD14⁺CD16⁻ または CD14⁺CD16⁺ ）と比較して、MS を有する対象の単球（CD14⁺CD16⁻ または CD14⁺CD16⁺ 単球）で増加したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0093】

30

【表12】

表12. 健康な対照の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS を有する対象の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球で増加したマイクロ RNA のリスト。

hsa-miR-320c	hsa-miR-1260	hsa-miR-19b	hsa-miR-340	hsa-let-320a
hsa-miR-27b	hsa-miR-720	hsa-miR-106b	hsa-miR-26b	hsa-miR-520g
hsa-miR-664	hsa-miR-1274a	hsa-let-7g	hsa-miR-1260	hsa-miR-204
hsa-miR-432-5p	hsa-miR-423	hsa-miR-181a	hsa-miR-361-5p	hsa-miR-29a
hsa-miR-92a	hsa-miR-197	hsa-miR-140-5p	hsa-miR-374b	hsa-miR-23a
hsa-miR-24	hsa-miR-30a	hsa-miR-142-5p	hsa-let-7a	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-93	hsa-miR-221	hsa-miR-19a	hsa-miR-532-3p	hsa-miR-103
hsa-miR-20a	hsa-miR-361-5p	hsa-let-7b	hsa-miR-155	hsa-miR-15a
hsa-miR-let-7a	hsa-miR-103	hsa-miR-221	hsa-miR-27a	hsa-miR-21
hsa-miR-30c	hsa-miR-16	hsa-miR-15b	hsa-miR-146a	hsa-miR-223
hsa-miR-181a	hsa-miR-30b	hsa-miR-574-3p	hsa-let-7i	hsa-miR-1274b
hsa-miR-423	hsa-miR-26a	hsa-let-7f	hsa-let-191	

10

20

【0094】

表13に、健康な対照（健康な対照の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球）と比較して、MS を有する対象の単球（CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球）で減少したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0095】

【表13】

表13. 健康な対照の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS を有する対象の CD14⁺CD16⁻または CD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロ RNA のリスト

hsa-miR-649	hsa-miR-362-3p	hsa-miR-603	hsa-miR-15a
hsa-miR-383	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-584	hsa-miR-1537
hsa-miR-1206	hsa-miR-302c	hsa-miR-204	hsa-miR-148b
hsa-miR-548g	hsa-miR-548f	hsa-miR-526a	hsa-miR-369-3p
hsa-miR-640	hsa-miR-328	hsa-miR-453	hsa-miR-615-5p
hsa-miR-592	hsa-miR-580	hsa-miR-2054	hsa-miR-10a
hsa-miR-598	hsa-miR-421	hsa-miR-655	hsa-miR-30d
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-1297	hsa-miR-518f	hsa-miR-494
hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-548b-3p	hsa-miR-206	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-651	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-192	hsa-miR-651
hsa-miR-379	hsa-miR-137	hsa-miR-450a	
hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-300	hsa-miR-566	

30

40

【0096】

表14に、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球で増加したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0097】

【表14】

表14. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球で増加したマイクロ RNA のリスト。

hsa-miR-720	hsa-miR-20a	hsa-let-7g	hsa-miR-26b
hsa-miR-1274a	hsa-miR-93	hsa-miR-181a	hsa-miR-21
hsa-miR-320c	hsa-miR-361-5p	hsa-140-5p	hsa-miR-374b
hsa-miR-27b	hsa-miR-423	hsa-142-5p	hsa-let-7a
hsa-miR-664	hsa-miR-24	hsa-miR-19a	hsa-miR-532-3p
hsa-miR-1260	hsa-miR-103	hsa-let-7b	hsa-miR-155
hsa-miR-423	hsa-miR-16	hsa-miR-15b	hsa-miR-27a
hsa-miR-197	hsa-miR-30b	hsa-miR-574-3p	hsa-miR-146a
hsa-miR-30a	hsa-miR-26a	hsa-let-7f	hsa-miR-92a
hsa-miR-30c	hsa-miR-19b	hsa-miR-340	hsa-miR-1274b
hsa-miR-221	hsa-miR-106b	hsa-miR-101	

10

【0098】

20

表15に、健康な患者からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球で減少したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0099】

【表15】

表15. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球で減少したマイクロ RNA のリスト。

hsa-miR-649	hsa-miR-193a-3p	hsa-miR-615-5p	hsa-miR-206
hsa-miR-383	hsa-miR-450a	hsa-miR-137	hsa-miR-192
hsa-miR-1206	hsa-miR-362-3p	hsa-miR-300	hsa-miR-566
hsa-miR-548g	hsa-miR-450b-5p	hsa-miR-603	hsa-miR-142-3p
hsa-miR-640	hsa-miR-302c	hsa-miR-584	hsa-miR-15a
hsa-miR-592	hsa-miR-548f	hsa-miR-204	hsa-miR-1537
hsa-miR-598	hsa-miR-328	hsa-miR-526a	hsa-miR-148b
hsa-miR-515-3p	hsa-miR-580	hsa-miR-453	hsa-miR-379
hsa-miR-513a-5p	hsa-miR-421	hsa-miR-2054	hsa-miR-548b-3p
hsa-miR-651	hsa-miR-1297	hsa-miR-655	hsa-miR-518f

30

【0100】

40

表16に、ALS 対象および健康な対照の両方からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS 患者からの CD14⁺CD16⁻単球で特に増加したマイクロ RNA マーカーを列挙する。

【0101】

【表16】

表16. ALSの対象および健康な対照の両方からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁻単球で特に増加したマイクロRNAのリスト

hsa-miR-320c	hsa-miR-664	hsa-miR-92a
hsa-miR-27b	hsa-miR-432-5p	

【0102】

表17に、ALS対象および健康な対照の両方からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁻単球で特に減少したマイクロRNAマーカーを列挙する。 10

【0103】

【表17】

表17. ALSの対象および健康な対照の両方からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁻単球で特に減少したマイクロRNAのリスト

hsa-miR-142-3p	hsa-miR-1537	hsa-miR-148b
hsa-miR-15a	hsa-miR-362-3p	

20

【0104】

表18に、健康な対照からの CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁺単球で増加したマイクロRNAマーカーを示す。 20

【0105】

【表18】

表18. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁺単球で増加したマイクロRNAのリスト

hsa-let-7i	hsa-miR-520g	hsa-miR-24	hsa-miR-21
hsa-miR-191	hsa-miR-204	hsa-miR-30b	hsa-miR-16
hsa-miR-1260	hsa-miR-340	hsa-miR-142-3p	hsa-miR-142-5p
hsa-miR-720	hsa-miR-15b	hsa-miR-103	hsa-miR-223
hsa-miR-1274a	hsa-miR-29a	hsa-miR-15a	
hsa-miR-320a	hsa-miR-23a	hsa-miR-26a	

30

【0106】

表19に、健康な対照からの CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロRNAマーカーを列挙する。 40

【0107】

【表19】

表19. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁺単球と比較して、MS患者からの CD14⁺CD16⁺単球で減少したマイクロRNAのリスト

hsa-miR-369-3p	hsa-miR-10a	hsa-miR-598
hsa-miR-615-5p	hsa-miR-30d	hsa-miR-494

50

【0108】

表20に、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、神経変性障害を有する患者からのCD14⁺CD16⁻単球で減少した炎症性マーカーを列挙する。

【0109】

【表20】

表20. 健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、神経変性障害を有する患者からのCD14⁺CD16⁻単球で減少した炎症性マーカーのリスト

マーカー	タンパク質配列(NCBI登録番号;バージョン番号)	mRNA配列(NCBI登録番号;バージョン番号)
BCL6	NP_001128210; NP_001128210.1 NP_001124317; NP_001124317.1	NM_001134738; NM_001134738.1 NM_001130845; NM_001130845.1
IL1RAP	NP_001161401; NP_001161401.1 NP_001161402; NP_001161402.1 NP_001161403; NP_001161403.1	NM_001167929; NM_001167929.1 NM_001167930; NM_001167930.1 NM_001167931; NM_001167931.1
PLCB1	NP_056007; NP_056007.1 NP_877398; NP_877398.1	NM_015192; NM_015192.2 NM_182734; NM_182734.1
MAFK	AAC14426; AAC14426.1	AF059194; AF059194.1
NFE2L2	NP_006155; NP_006155.2 NP_001138884; NP_001138884.1 NP_001138885; NP_001138885.1	NM_006164; NM_006164.3 NM_001145412; NM_001145412.1 NM_001145413; NM_001145413.1
DDIT3	NP_001181982; NP_001181982.1 NP_001181983; NP_001181983.1 NP_001181984TN; NP_001181984.1 NP_001181985; NP_001181985.1 NP_004074; NP_004074.2	NM_001195053; NM_001195053.1 NM_001195054; NM_001195054.1 NM_001195055; NM_001195055.1 NM_001195056; NM_001195056.1 NM_004083; NM_004083.5
GNAQ	NP_002063; NP_002063.2	NM_002072; NM_002072.3
RAPGEF2	NP_055062; NP_055062.1	NM_014247; NM_014247.2
MAFG	NP_002350; NP_002350.1 NP_116100; NP_116100.2	NM_002359; NM_002359.3 NM_032711; NM_032711.3
PTK2N	NP_722560; NP_722560.1 NP_005598; NP_005598.3 NP_001186578; NP_001186578.1	NM_153831; NM_153831.3 NM_005607; NM_005607.4 NM_001199649; NM_001199649.1
MKNK1	NP_003675; NP_003675.2 NP_945324; NP_945324.1 NP_001129025; NP_001129025.1	NM_003684; NM_003684.4 NM_198973; NM_198973.2 NM_001135553; NM_001135553.1
RIPK1	NP_003795; NP_003795.2	NM_003804; NM_003804.3
IL15	NP_751915; NP_751915.1 NP_000576; NP_000576.1	NM_172175; NM_172175.2 NM_000585; NM_000585.4
MAP3K1	NP_005912; NP_005912.1	NM_005921; NM_005921.1
PPPIR12B	NP_001184060; NP_001184060.1 NP_001161330; NP_001161330.1 NP_001161329; NP_001161329.1 NP_115287; NP_115287.1 NP_115286; NP_115286.1 NP_002472; NP_002472.2	NM_001197131; NM_001197131.1 NM_001167858; NM_001167858.1 NM_001167857; NM_001167857.1 NM_032104; NM_032104.2 NM_032103; NM_032103.2 NM_002481; NM_002481.3
MAPK14	NP_620582; NP_620582.1 NP_001306; NP_001306.1 NP_620583; NP_620583.1 NP_620581; NP_620581.1	NM_139013; NM_139013.2 NM_001315; NM_001315.2 NM_139014; NM_139014.2 NM_139012; NM_139012.2
CXCR4	NP_001008540; NP_001008540.1 NP_003458; NP_003458.1	NM_001008540; NM_001008540.1 NM_003467; NM_003467.2
MEF2A	NP_001165365; NP_001165365.1 NP_001124400; NP_001124400.1 NP_001124399; NP_001124399.1 NP_001124398; NP_001124398.1 NP_005578; NP_005578.2	NM_001171894; NM_001171894.1 NM_001130928; NM_001130928.1 NM_001130927; NM_001130927.1 NM_001130926; NM_001130926.1 NM_005587; NM_005587.2
TGFB1	NP_000651; NP_000651.3	NM_000660; NM_000660.4

10

20

30

40

NR3C1	NP_001191194; NP_001191194.1 NP_001019265; NP_001019265.1 NP_001018661; NP_001018661.1 NP_001018087; NP_001018087.1 NP_001018086; NP_001018086.1 NP_001018085; NP_001018085.1 NP_001018084; NP_001018084.1 NP_000167; NP_000167.1	NM_001204265; NM_001204265.1 NM_001024094; NM_001024094.1 NM_001020825; NM_001020825.1 NM_001018077; NM_001018077.1 NM_001018076; NM_001018076.1 NM_001018075; NM_001018075.1 NM_001018074; NM_001018074.1 NM_000176; NM_000176.2
MAP3K5	NP_005914; NP_005914.1	NM_005923; NM_005923.3
CDC42	NP_426359; NP_426359.1 NP_001782; NP_001782.1 NP_001034891; NP_001034891.1	NM_044472; NM_044472.2 NM_001791; NM_001791.3 NM_001039802; NM_001039802.1
RAF1	NP_002871; NP_002871.1	NM_002880; NM_002880.3
CFB	NP_001701; NP_001701.2	NM_001710; NM_001710.5
ITGB2	NP_000202; NP_000202.2 NP_001120963; NP_001120963.1	NM_000211; NM_000211.3 NM_001127491; NM_001127491.1
ATF2	NP_001871; NP_001871.2	NM_001880; NM_001880.2
CREB1	NP_004370; NP_004370.1 NP_604391; NP_604391.1	NM_004379; NM_004379.3 NM_134442; NM_134442.3
MAP2K6	NP_002749; NP_002749.2	NM_002758; NM_002758.3
MAP3K7	NP_663306; NP_663306.1 NP_663305; NP_663305.1 NP_663304; NP_663304.1 NP_003179; NP_003179.1	NM_145333; NM_145333.1 NM_145332; NM_145332.1 NM_145331; NM_145331.1 NM_003188; NM_003188.2
RPS6KA5	NP_004746; NP_004746.2 NP_872198; NP_872198.1	NM_004755; NM_004755.2 NM_182398; NM_182398.1
TRADD	NP_003780; NP_003780.1	NM_003789; NM_003789.3
C5	NP_001726; NP_001726.2	NM_001735; NM_001735.2
NCR1	NP_004820; NP_004820.1 NP_001138929; NP_001138929.1 NP_001138930; NP_001138930.1 NP_001229285; NP_001229285.1 NP_001229286; NP_001229286.1	NM_004829; NM_004829.5 NM_001145457; NM_001145457.1 NM_001145458; NM_001145458.1 NM_001242356; NM_001242356.1 NM_001242357; NM_001242357.1
SOCS1	NP_003736; NP_003736.1	NM_003745; NM_003745.1
TAGAP	NP_687034; NP_687034.1 NP_473455; NP_473455.2 NP_620165; NP_620165.1	NM_152133; NM_152133.1 NM_054114; NM_054114.3 NM_138810; NM_138810.2
PTGS2	NP_000954; NP_000954.1	NM_000963; NM_000963.2
PRDM1	NP_001189; NP_001189.2 NP_878911; NP_878911.1	NM_001198; NM_001198.3 NM_182907; NM_182907.2
PLAUR	NP_002650; NP_002650.1 NP_001005376; NP_001005376.1	NM_002659; NM_002659.3 NM_00100537; NM_001005376.2
FOS	NP_005243; NP_005243.1	NM_005252; NM_005252.3
NFKBIZ	NP_113607; NP_113607.1 NP_001005474; NP_001005474.1	NM_031419; NM_031419.3 NM_001005474; NM_001005474.2
LILRA5	NP_067073; NP_067073.1 NP_871714; NP_871714.1 NP_870994; NP_870994.1 NP_871715; NP_871715.1	NM_021250; NM_021250.2 NM_181985; NM_181985.2 NM_181879; NM_181879.2 NM_181986; NM_181986.2
RIPK2	NP_003812; NP_003812.1	NM_003821; NM_003821.5
LCP2	NP_005556; NP_005556.1	NM_005565; NM_005565.3
LITAF	NP_004853; NP_004853.2 NP_037531; NP_037531.2 NP_001129945; NP_001129945.1	NM_004862; NM_004862.3 NM_013399; NM_013399.2 NM_001136473; NM_001136473.1 NR_024320; NR_024320.1

10

20

30

40

TNFRSF8	NP_001234; NP_001234.2 NP_694421; NP_694421.1	NM_001243; NM_001243.3 NM_152942; NM_152942.2
MEF2D	NP_005911; NP_005911.1	NM_005920; NM_005920.2
CDKN1A	NP_000380; NP_000380.1 NP_510867; NP_510867.1 NP_001207707; NP_001207707.1 NP_001207706; NP_001207706.1	NM_000389; NM_000389.2 NM_078467; NM_078467.2 NM_001220778; NM_001220778.1 NM_001220777; NM_001220777.1
CD83	NP_004224; NP_004224.1 NP_001035370; NP_001035370.1 NP_001238830; NP_001238830.1	NM_004233; NM_004233.3 NM_001040280; NM_001040280.1 NM_001251901; NM_001251901.1
CASP10	NP_116759; NP_116759.2 NP_116756; NP_116756.2 NP_001221; NP_001221.2 NP_116758; NP_116758.1 NP_001193471; NP_001193471.1 NP_001193453; NP_001193453.1	NM_032977; NM_032977.3 NM_032974; NM_032974.4 NM_001230; NM_001230.4 NM_032976; NM_032976.3 NM_001206542; NM_001206542.1 NM_001206524; NM_001206524.1
LTB4R	NP_858043; NP_858043.1 NP_001137391; NP_001137391.1	NM_181657; NM_181657.3 NM_001143919; NM_001143919.2

10

【 0 1 1 0 】

表21に、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、神経変性障害を有する患者からのCD14⁺CD16⁻単球で独特に増加した炎症性マーカーを列挙する。

【 0 1 1 1 】

【表 21】

表 21. 健康な対照からの CD14⁺CD16⁻単球と比較して、神経変性障害を有する患者からの CD14⁺CD16⁻単球で増加した炎症性マーカーのリスト

マーカー	タンパク質配列(NCBI 登録番号;バージョン番号)	mRNA 配列(NCBI 登録番号;バージョン番号)
CSF1	NP_000748; NP_000748.3 NP_757351; NP_757351.1 NP_757349; NP_757349.1	NM_000757; NM_000757.5 NM_172212; NM_172212.2 NM_172210; NM_172210.2
IL10	NP_000563; NP_000563.1	NM_000572; NM_000572.2
IL1A	NP_000566; NP_000566.3	NM_000575; NM_000575.3
HLA-DRA	NP_061984; NP_061984.2	NM_019111; NM_019111.4
RAC1	NP_061485; NP_061485.1 NP_008839; NP_008839.2	NM_018890; NM_018890.3 NM_006908; NM_006908.4
GRB2	NP_987102; NP_987102.1 NP_002077; NP_002077.1	NM_203506; NM_203506.2 NM_002086; NM_002086.4
PLA2G4A	NP_077734; NP_077734.1	NM_024420; NM_024420.2
GNAS	NP_001070956; NP_001070956.1 NP_001070957; NP_001070957.1 NP_001070958; NP_001070958.1 NP_057676; NP_057676.1 NP_536351; NP_536351.1 NP_536350; NP_536350.2 NP_000507; NP_000507.1	NM_001077488; NM_001077488.2 NM_001077489; NM_001077489.2 NM_001077490; NM_001077490.1 NM_016592; NM_016592.2 NM_080426; NM_080426.2 NM_080425; NM_080425.2 NM_000516; NM_000516.4
GNB1	NP_002065; NP_002065.1	NM_002074; NM_002074.3
TGFB3	NP_003230; NP_003230.1	NM_003239; NM_003239.2
IL6R	NP_000556; NP_000556.1 NP_852004; NP_852004.1 NP_001193795; NP_001193795.1	NM_000565; NM_000565.3 NM_181359; NM_181359.2 NM_001206866; NM_001206866.1
CXCL3	NP_002081; NP_002081.2	NM_002090; NM_002090.2
IL18	NP_001553; NP_001553.1 NP_001230140; NP_001230140.1	NM_001562; NM_001562.3 NM_001243211; NM_001243211.1
IL1RN	NP_776214; NP_776214.1 NP_000568; NP_000568.1 NP_776213; NP_776213.1 NP_776215; NP_776215.1	NM_173842; NM_173842.2 NM_000577; NM_000577.4 NM_173841; NM_173841.2 NM_173843; NM_173843.2
KEAP1	NP_036421; NP_036421.2 NP_987096; NP_987096.1	NM_012289; NM_012289.3 NM_203500; NM_203500.1
LIMK1	NP_002305; NP_002305.1 NP_001191355; NP_001191355.1	NM_002314; NM_002314.3 NM_001204426; NM_001204426.1
MYC	NP_002458; NP_002458.2	NM_002467; NM_002467.4
NFKB1	NP_003989; NP_003989.2	NM_003998; NM_003998.2
SHC1	NP_892113; NP_892113.4 NP_001123512; NP_001123512.1 NP_001123513; NP_001123513.1 NP_001189788; NP_001189788.1 NP_003020; NP_003020.2	NM_183001; NM_183001.4 NM_001130040; NM_001130040.1 NM_001130041; NM_001130041.1 NM_001202859; NM_001202859.1 NM_003029; NM_003029.4
TLR2	NP_003255; NP_003255.2	NM_003264; NM_003264.3
TLR4	NP_612564; NP_612564.1	NM_138554; NM_138554.3
TNFSF14	NP_003798; NP_003798.2 NP_742011; NP_742011.2	NM_003807; NM_003807.3 NM_172014; NM_172014.2
AHR	NP_001612; NP_001612.1	NM_001621; NM_001621.4
BCL3	NP_005169; NP_005169.1	NM_005178; NM_005178.4

10

20

30

40

CD44	NP_000601; NP_000601.3 NP_001001389; NP_001001389.1 NP_001001390; NP_001001390.1 NP_001001391; NP_001001391.1 NP_001001392; NP_001001392.1 NP_001189484; NP_001189484.1 NP_001189485; NP_001189485.1 NP_001189486; NP_001189486.1	NM_000610; NM_000610.3 NM_001001389; NM_001001389.1 NM_001001390; NM_001001390.1 NM_001001391; NM_001001391.1 NM_001001392; NM_001001392.1 NM_001202555; NM_001202555.1 NM_001202556; NM_001202556.1 NM_001202557; NM_001202557.1
CD81	NP_004347; NP_004347.1	NM_004356; NM_004356.3
CD82	NP_002222; NP_002222.1 NP_001020015; NP_001020015.1	NM_002231; NM_002231.3 NM_001024844; NM_001024844.1
FCER1A	NP_001992; NP_001992.1	NM_002001; NM_002001.2
FCER1G	NP_004097; NP_004097.1	NM_004106; NM_004106.1
IL4R	NP_000409; NP_000409.1 NP_001008699; NP_001008699.1	NM_000418; NM_000418.2 NM_001008699; NM_001008699.1
IL7R	NP_002176; NP_002176.2	NM_002185; NM_002185.2
ITGAM	NP_000623; NP_000623.2 NP_001139280; NP_001139280.1	NM_000632; NM_000632.3 NM_001145808; NM_001145808.1
JAK3	NP_000206; NP_000206.2	NM_000215; NM_000215.3
KLRB1	NP_002249; NP_002249.1	NM_002258; NM_002258.2
LILRB4	NP_001074907; NP_001074907.1 NP_006838; NP_006838.3	NM_001081438; NM_001081438.1 NM_006847; NM_006847.3
PTAFR	NP_000943; NP_000943.1 NP_001158193; NP_001158193.1 NP_001158194; NP_001158194.1 NP_001158195; NP_001158195.1	NM_000952; NM_000952.4 NM_001164721; NM_001164721.1 NM_001164722; NM_001164722.2 NM_001164723; NM_001164723.2
RUNX1	NP_001745; NP_001745.2 NP_001001890; NP_001001890.1 NP_001116079; NP_001116079.1	NM_001754; NM_001754.4 NM_001001890; NM_001001890.2 NM_001122607; NM_001122607.1
SELL	NP_000646; NP_000646.2	NM_000655; NM_000655.4
TNFSF8	NP_001235; NP_001235.1; NP_001239219; NP_001239219.1	NM_001244; NM_001244.3 NM_001252290; NM_001252290.1
TRAF3	NP_663777; NP_663777.1 NP_001186356; NP_001186356.1 NP_003291; NP_003291.2 NP_663778; NP_663778.1	NM_145725; NM_145725.1 NM_001199427; NM_001199427.1 NM_003300; NM_003300.3 NM_145726; NM_145726.2
CCL2	NP_002973; NP_002973.1	NM_002982; NM_002982.3
CCL4	NP_002975; NP_002975.1	NM_002984; NM_002984.2
CCR1	NP_001286; NP_001286.1	NM_001295; NM_001295.2
TLR1	NP_003254; NP_003254.2 AAC34137; AAC34137.1 AAI09094; AAI09094.1 AAI09095; AAI09095.1 AAH89403; AAH89403.1 AAY85642; AAY85642.1 AAY85640; AAY85640.1 AAY85638; AAY85638.1 AAY85636; AAY85636.1 AAY85634; AAY85634.1 AAY85643; AAY85643.1 AAY85641; AAY85641.1 AAY85639; AAY85639.1 AAY85637; AAY85637.1 AAY85635; AAY85635.1 AAY85633; AAY85633.1	NM_003263; NM_003263.3 U88540; U88540.1 BC109093; BC109093.1 BC109094; BC109094.1 BC089403; BC089403.1 DQ012263; DQ012263.1 DQ012261; DQ012261.1 DQ012259; DQ012259.1 DQ012257; DQ012257.1 DQ012255; DQ012255.1 DQ012264; DQ012264.1 DQ012262; DQ012262.1 DQ012260; DQ012260.1 DQ012258; DQ012258.1 DQ012256; DQ012256.1 DQ012254; DQ012254.1
TLR5	NP_003259; NP_003259.2 AAC34136; AAC34136.1 BAG55042; BAG55042.1 AAI09120; AAI09120.1 AAI09119; AAI09119.1 BAB43955; BAB43955.1	NM_003268; NM_003268.5 U88881; U88881.1 AB445645; AB445645.1 BC109119; BC109119.1 BC109118; BC109118.1 AB060695; AB060695.1

10

20

30

40

50

【0112】

診断方法

本明細書において、神経変性障害の診断方法が提供される。これらの方法は、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNA、および/または表20～21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）炎症性マーカーのレベルを決定すること、および1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較することを含む。1つまたは複数のマイクロRNAのレベルおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが参照レベル（複数可）と比較して増加または減少していることが、以下で詳細に概説されるように、対象が神経変性疾患を有することの指標である。

10

【0113】

いくつかの実施形態において、対象からのCSFまたはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中の表1に列挙した1つまたは複数または複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNAのレベルが、表1に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して増加している場合、および/または対象からのCSFまたはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球（例えば末梢血または血液由来単球）中の表2に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNAのレベルが、表2に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して減少している場合、対象を神経変性障害を有すると診断することができる。

20

【0114】

いくつかの実施形態において、対象からのCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球中の表3および12に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNAのレベルが、表3および12に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNAの参照レベルと比較して増加している場合、および/または対象からのCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球中の表4および13に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAのレベルが、表4および13に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して減少している場合、対象を神経変性障害を有すると診断することができる。

30

【0115】

いくつかの実施形態において、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の、表5および表14に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNA、および/または表21に記載の1つまたは複数の炎症性マーカー（例えば、少なくとも2、3、4、5または6）のレベルが、表5および表14に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している場合；および/または対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の、表6および表15に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNA、および/または表20に記載の1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表6および表15に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、対象を神経変性障害を有すると診断することができる。

40

【0116】

いくつかの実施形態において、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の、表5および7に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表5および7に列挙した1つま

50

たは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または表21に記載の1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している場合；および／または対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の、表6および8に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNA、および／または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表6および8に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、対象を筋萎縮性側索硬化症を有すると診断することができる。

【0117】

いくつかの実施形態において、対象からのCD14⁺CD16⁺単球中の表9に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種の）マイクロRNAのレベルが、表9に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して増加している場合、および／または対象からのCD14⁺CD16⁺単球中の表10に列挙した1つまたは複数の（例えば1、2、または3種の）マイクロRNAのレベルが、表10に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して減少している場合、対象を筋萎縮性側索硬化症を有すると診断することができる。

10

【0118】

いくつかの実施形態において、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5または6種）のレベルが、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pの参照レベルと比較して、対象の髄液中で増加している場合、対象を筋萎縮性側索硬化症を有すると診断することができる。

20

【0119】

いくつかの実施形態において、対象からの髄液中のhsa-miR-27bのレベルが、hsa-miR-27bの参照レベルと比較して増加しており、対象からの髄液中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数（例えば1、2、3、4、または5種）のレベルが、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまた有意な変化がない場合、対象を家族性ALSを有すると診断することができる。

30

【0120】

いくつかの実施形態において、対象からの髄液中のhsa-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pから選択される2つ以上の（例えば2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベルが、1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して増加している場合、対象を孤発性ALSを有すると診断することができる。いくつかの実施形態において、対象からの髄液中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pから選択される1つまたは複数の（例えば2、3、4または5種の）マイクロRNAのレベルが、1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較して増加している場合、対象を孤発性ALSを有すると診断することができる。

40

【0121】

いくつかの実施形態において、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の、表14および表16に記載の1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表21に記載の1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表14および表16に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または表21に列挙した1

50

つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している場合；および／または対象からの C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球中の、表 1 5 および表 1 7 に記載の 1 つまたは複数の（例えば、少なくとも 2、3、4、5、または 6 種の）マイクロ R N A、および／または表 2 0 に記載の 1 つまたは複数の（例えば、少なくとも 2、3、4、5、または 6 種の）炎症性マーカーのレベルが、表 1 5 および表 1 7 に列挙した 1 つまたは複数のマイクロ R N A の参照レベルおよび／または表 2 0 に列挙した 1 つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、対象を多発性硬化症を有すると診断することができる。

【 0 1 2 2 】

いくつかの実施形態において、対象からの C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球中の表 1 8 に記載の 1 つまたは複数の（例えば、少なくとも 2、3、4、5、または 6 種の）マイクロ R N A のレベルが、表 1 8 に記載の 1 つまたは複数のマイクロ R N A の参照レベルと比較して増加している場合、および／または対象からの C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球中の表 1 9 に記載の 1 つまたは複数の（例えば、少なくとも 2、3、4、5、または 6 種の）マイクロ R N A のレベルが、表 1 9 に列挙した 1 つまたは複数のマイクロ R N A の参照レベルと比較して減少している場合、対象を多発性硬化症を有すると診断することができる。

【 0 1 2 3 】

表 1 ~ 1 9 に記載の 1 つまたは複数のマイクロ R N A（成熟および前駆マイクロ R N A の両方）のレベルは、当技術分野で公知の分子生物学的な方法を用いて決定することができる。例えば、本明細書で説明されているようなマイクロ R N A のいずれかのレベルは、ポリメラーゼ連鎖反応（ P C R ）と適切なプライマーの使用を含む技術、例えば定量リアルタイム P C R (q R T - P C R) を用いて測定することができる。本明細書で説明されているような成熟および前駆マイクロ R N A それぞれのプライマーは、当技術分野で公知の方法を用いて設計することができる。同様に、表 2 0 および 2 1 に記載の炎症性マーカーのいずれかをコードする m R N A のレベルは、 P C R と適切なプライマーの使用を含む技術を用いて決定することができる。例えば、プライマーは、標的マイクロ R N A または標的炎症性マーカーの m R N A 中に存在する配列に相補的な少なくとも 7 個の（例えば、少なくとも 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 個の）連続したヌクレオチドを含んでいてもよい。プライマーは、本明細書において説明される 1 つまたは複数の修飾（例えば、主鎖における 1 つまたは複数の修飾、核酸塩基（複数可）における 1 つまたは複数の修飾、および糖（複数可）における 1 つまたは複数の修飾）を含んでいてもよい。プライマーはまた、標識（例えば、放射線同位体またはフルオロフォア）を含んでいてもよい。プライマーはまた、（本明細書において説明されているような）プライマーの安定性を改善するために、二次的な分子または作用物質にコンジュゲートしていてもよい。

【 0 1 2 4 】

表 2 0 および 2 1 に列挙した炎症性マーカー遺伝子によってコードされたタンパク質のレベルは、表 2 0 および 2 1 に列挙したタンパク質のうち 1 種に特異的に結合する抗体を利用する当技術分野で公知の多数の技術（例えば免疫プロッティング）を用いて検出することができる。

【 0 1 2 5 】

本明細書において説明される方法のいずれかはさらに、対象サンプル（例えば髄液または末梢血液を含む生体サンプル）を得ること、または回収することを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、本方法（例えば本明細書において説明される方法のいずれか）はさらに、単球（例えば、対象からの生体サンプルから C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球、または C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球）を精製することを含む。 C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球または C D 1 4 ⁺ C D 1 6 ⁻ 単球を精製する方法は、当技術分野で公知の様々な方法を用いて行うことができ、例えば蛍光補助セルソーティング（ F A C S ）などの抗体ベースの方法を用いて行うことができる。

【 0 1 2 6 】

10

20

30

40

50

本明細書において説明される方法のいずれかは、医療施設（例えば病院、診療所、または介護施設）に訪れた患者に行うことができる。対象は、1つまたは複数の神経変性障害の症状（例えば、本明細書において説明される神経変性障害の症状のいずれか）を示していてよい。対象はまた、症状を示していないてもよいし（無症状の対象）、あるいは神経変性障害の症状を1つだけ示していてよい。対象は、神経変性障害（例えば家族性ALS）の家族歴を有していてよい。

【0127】

本明細書において説明される診断方法は、あらゆる医療専門家（例えば、医師、検査技師、看護師、医師助手、および看護師助手）によって行うことができる。本明細書において説明される診断方法は、あらゆる追加の当技術分野で公知の診断試験法（例えば、対象における1つまたは複数の神経変性障害の症状の観察または評価）と組み合わせて用いてよい。

10

【0128】

治療のための対象の選択方法

また、神経変性障害の治療のための対象の選択方法も提供される。これらの方法は、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルを決定すること；対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較すること；および神経変性障害を治療するために、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および／または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している；および／または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している対象を選択することを含む。

20

【0129】

対象は、治療のために、上記の診断方法を説明する章で説明されているように、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーの相対的な発現に基づき選択されてもよい。例えば、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）増加は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、神経変性障害を治療するために対象を選択するのにも用いられる可能性がある。同様に、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または

30

40

50

表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）減少は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、神経変性障害を治療するために対象を選択するのにも用いられる可能性がある。

【0130】

表1～19に記載の1つまたは複数のマイクロRNA（成熟および前駆マイクロRNAの両方）のレベルは、当技術分野で公知の分子生物学的な方法を用いて決定することができる。例えば、本明細書で説明されているようなマイクロRNAのいずれかのレベルは、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）と適切なプライマーの使用を含む技術、例えば定量リアルタイムPCR（qRT-PCR）を用いて測定することができる。本明細書で説明されているような成熟および前駆マイクロRNAそれぞれのプライマーは、当技術分野で公知の方法を用いて設計することができる。同様に、表20および21に記載の炎症性マーカーのいずれかをコードするmRNAのレベルは、PCRと適切なプライマーの使用を含む技術を用いて決定することができる。例えば、プライマーは、標的マイクロRNAまたは標的炎症性マーカーのmRNA中に存在する配列に相補的な少なくとも7個の（例えば、少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20個の）連続したヌクレオチドを含んでいてもよい。プライマーは、本明細書において説明される1つまたは複数の修飾（例えば、主鎖における1つまたは複数の修飾、核酸塩基（複数可）における1つまたは複数の修飾、および糖（複数可）における1つまたは複数の修飾）を含んでいてもよい。プライマーはまた、標識（例えば、放射線同位体またはフルオロフォア）を含んでいてもよい。プライマーはまた、（本明細書において説明されているような）プライマーの安定性を改善するために、二次的な分子または作用物質にコンジュゲートしていてもよい。本方法は、あらゆる医療専門家（例えば、医師、看護師、医師助手、検査技師、または看護師助手）によって行うことができる。

10

20

30

【0131】

対象は、神経変性障害（例えば、本明細書において説明される神経変性障害の症状のいずれか）の1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、または4つの）症状を示していてもよい。対象はまた、症状を示していないなくてもよいし、あるいは神経変性障害の症状を1つだけ示していてもよい。対象は、神経変性障害（例えば家族性ALS）の家族歴を有していてもよい。対象は、これまでに神経変性障害を有すると診断されていてもよい。

【0132】

対象に投与することができる神経変性障害の治療としては、リルゾール、コルチコステロイド、ベータ-インターフェロン、グラティラマー（glatiramer）、フィンゴリモド、ナタリズマブ、ミトキサントロン、筋弛緩剤、およびアマンタジンが挙げられる。追加の神経変性障害の治療としては、理学療法および血漿交換療法が挙げられる。

【0133】

神経変性障害を発症させるリスクがある対象の識別方法

また、神経変性障害を発症させるリスクがある対象の識別方法も提供される。これらの方法は、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルを決定すること；対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較することを含む。対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、

40

50

14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している場合；および/または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、対象は、神経障害を発症させる高いリスクを有すると識別される。

10

【0134】

いくつかの実施形態において、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がない場合；および/または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加しているかまたは有意な変化がない場合、対象は、神経障害を発症させる低いリスクを有すると識別される。

20

【0135】

いくつかの実施形態において、上記の診断方法を説明する章で説明されているように、参照値と比較した、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーの相対的な発現に基づき、対象を神経変性障害を発症させる高いまたは低いリスクを有すると識別することができる。例えば、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、および18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）増加は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、神経変性障害を発症させる高いリスクがある対象を識別するのに用いられる可能性がある。同様に、髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベルまたは表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）減少は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、神経変性障害を発症させる高いリスクがある対象を識別するのに用いられる可能性がある。

30

40

【0136】

いくつかの実施形態において、（上記の診断方法を説明する章で詳述されたように）1

50

つまたは複数のマイクロRNAのレベルの減少または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの減少が神経変性疾患の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、または19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）増加は、対象の神経変性障害を発症させるリスクが低いことの指標である。いくつかの実施形態において、（上記の診断方法を説明する章で詳述されたように）1つまたは複数のマイクロRNAのレベルの増加または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの増加が神経変性障害の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、および18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）減少は、対象の神経変性障害を発症させるリスクが低いことの指標である。
10

【0137】

本明細書において説明される方法のいずれかにおいて、高いまたは低いリスクとは、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベルの増加または減少がない対象、および／または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの増加または減少がない対象（例えば、本明細書において説明される方法のいずれかを用いて神経変性障害を有すると診断されていない対象）との比較によるものである。
20

【0138】

表1～19に記載のマイクロRNAのいずれかのレベルまたは表20および21に列挙した炎症性マーカーのいずれかのレベルは、標準的な分子生物学的な方法（例えば、本明細書において説明されるPCRベースの方法および抗体ベースの方法）を用いて得てもよい。本方法は、あらゆる医療専門家（例えば、医師、看護師、医師助手、検査技師、または看護師助手）によって行うことができる。
30

【0139】

対象は、1つまたは複数の神経変性障害の症状（例えば本明細書において説明される神経変性障害の症状のいずれか）を示していてもよい。対象はまた、症状を示していないなくてもよいし、あるいは神経変性障害の症状を1つだけ示していてもよい。対象は、神経変性障害（例えば家族性ALS）の家族歴を有していてもよい。

【0140】

神経変性疾患を発症させる高いリスクを有すると識別された対象には、神経変性障害治療を施してもよいし、あるいは新しいまたはその代わりの神経変性障害治療を施してもよい。また神経変性障害を発症させる高いリスクを有すると識別された対象は、より積極的な治療的処置（例えば、診療所または病院を訪れる頻度を多くすること）を受けてもよい。
40

【0141】

疾患の進行速度の予測方法

また、神経変性障害を有する対象における疾患の進行速度の予測方法も提供される。これらの方法は、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルを決定すること；1つまたは複数のマイクロRNAおよび／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または

1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較することを含む。対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している；および/または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、対象は、疾患の進行速度の増加を有すると予測される。
10

【0142】

いくつかの実施形態において、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がない；および/または対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加しているかまたは有意な変化がない場合、対象は、比較的遅いかまたは平均の疾患の進行速度を有すると予測される。
20
30

【0143】

いくつかの実施形態において、上記の診断方法を説明する章で説明されているように、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーの、参照値と比較した相対的な発現に基づき、対象は、速いまたは遅い疾患の進行速度を有すると予測することができる。例えば、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、および18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）増加は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、疾患の進行速度の増加を予測するのにも用いられる可能性がある。同様に、髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および/または表20に列挙した1つまたは複数の
40
50

(例えば、少なくとも 2、3、4、5、または 6 種の) 炎症性マーカーのレベルの(参照レベルと比較した)減少は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、疾患の進行速度の増加を予測するのにも用いられる可能性がある。

【0144】

いくつかの実施形態において、(上記の診断方法を説明する章で詳述されたように)1つまたは複数のマイクロRNAのレベルの減少および/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの減少が神経変性疾患の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)マイクロRNAのレベル、および/または表20に記載の1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)炎症性マーカーのレベルの(参照レベルと比較した)増加は、減少したまたは平均の疾患の進行速度を予測するのに用いられる可能性がある。いくつかの実施形態において、(上記の診断方法を説明する章で詳述されたように)1つまたは複数のマイクロRNAのレベルの増加、および/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの増加が神経変性障害の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)マイクロRNAのレベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)炎症性マーカーのレベルの(参照レベルと比較した)減少は、減少したまたは平均の疾患の進行速度を予測するのに用いられる可能性がある。

【0145】

いくつかの実施形態において、疾患の進行速度とは、神経変性障害の1つまたは複数の(例えば1、2、3、または4つの)症状(例えば運動失調)の発症率、神経変性障害の症状の強度を増す(悪化する)速度、1つまたは複数の神経変性障害の症状の頻度、1つまたは複数の神経変性障害の症状の持続時間、または対象の寿命である。例えば、疾患の進行速度の増加は、1つまたは複数の(新しい)神経変性障害の症状の発症率の増加、1つまたは複数の神経変性障害の症状の強度を増す(悪化する)速度の増加、1つまたは複数の神経変性障害の症状の持続時間の増加、および対象の寿命の減少のうち1つまたは複数によって証明することができる。

【0146】

本明細書において説明される方法を用いて決定された疾患の進行速度は、対象のCSF中またはCD14⁺CD16⁻またはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1~19に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)マイクロRNAのレベルの増加または減少がない、および/または表20および21に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)炎症性マーカーのレベルの増加または減少がない対象における疾患の進行速度と比較してもよい。いくつかの実施形態において、疾患の進行速度は、同じ神経変性疾患を有すると診断された全ての対象における平均の疾患の進行速度と比較してもよい。

【0147】

表1~19に記載のマイクロRNAのいずれかのレベルまたは表20および21に列挙した炎症性マーカーのいずれかのレベルは、標準的な分子生物学的な方法(例えば、本明細書において説明されるPCRベースの方法および抗体ベースの方法)を用いて得てもよい。本方法は、あらゆる医療専門家(例えば、医師、看護師、医師助手、検査技師、または看護師助手)によって行うことができる。

【0148】

対象は、1つまたは複数の(例えば1、2、3、または4)神経変性障害の症状(例えば本明細書において説明される神経変性障害の症状のいずれか)を示していてもよい。対象はまた、症状を示していないてもよいし、あるいは神経変性障害の症状を1つだけ示していてもよい。対象は、神経変性障害(例えば家族性ALS)の家族歴を有していてもよ

10

20

30

40

50

い。いくつかの実施形態において、対象は、すでに神経変性障害を有すると診断されてもよい。

【 0 1 4 9 】

これらの方法のいくつかの実施形態はさらに、疾患の進行速度の増加を有すると予測された対象に治療を施すことを含む。いくつかの実施形態において、疾患の進行速度の増加を有すると予測された対象には、より積極的な治療（例えば診療所を訪れる頻度を多くすること）が施される。

【 0 1 5 0 】

臨床試験に参加させるための対象の選択方法

また、臨床試験に参加させるための対象の選択方法も提供される。これらの方法は、対象からの髄液または $CD14^+CD16^-$ もしくは $CD14^+CD16^+$ 単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルを決定すること；1つまたは複数のマイクロRNAのレベルおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルを、1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較すること、および対象からの髄液または $CD14^+CD16^-$ もしくは $CD14^+CD16^+$ 単球中の、1つまたは複数のマイクロRNAおよび/または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルが参照レベルと比較して増加または減少している対象を、臨床試験に参加させるために選択すること（以下で詳細に説明されるように）を含む。いくつかの実施形態において、対象からの髄液または $CD14^+CD16^-$ もしくは $CD14^+CD16^+$ 単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベル、および/または表21に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加している；および/または対象からの髄液または $CD14^+CD16^-$ もしくは $CD14^+CD16^+$ 単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および/または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルが、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルおよび/または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して減少している場合、臨床試験に参加させるために対象を選択する。

【 0 1 5 1 】

数のマイクロRNAの参照レベルおよび／または表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカーの参照レベルと比較して増加しているかまたは有意な変化がない場合、臨床試験に参加させるために対象を選択する。

【0152】

いくつかの実施形態において、上記の診断方法を説明する章で説明されているように、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1～19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNA、および／または表20および21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーの、参照値と比較した相対的な発現に基づき、臨床試験に参加させるために対象を選択することができる。例えば、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、および18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）増加は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、臨床試験に参加させるために対象を選択するにも用いられる可能性がある。同様に、髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、または19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルの（参照レベルと比較した）減少は、対象を神経変性障害を有すると診断するのに用いられるのと同様に、臨床試験に参加させるために対象を選択するにも用いられる可能性がある。

【0153】

いくつかの実施形態において、（上記の診断方法を説明する章で詳述されたように）1つまたは複数のマイクロRNAのレベルの減少および／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの減少が神経変性疾患の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表2、4、6、8、10、13、15、17、および19に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表20に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルにおいて（参照レベルと比較して）増加しているかまたは有意な変化がないことを、臨床試験に参加させるために対象を（例えば対照の対象として）選択するのに用いることができる。いくつかの実施形態において、（上記の診断方法を説明する章で詳述されたように）1つまたは複数のマイクロRNAのレベルの増加、および／または1つまたは複数の炎症性マーカーのレベルの増加が神経変性障害の診断の指標である場合、対象からの髄液またはCD14⁺CD16⁻もしくはCD14⁺CD16⁺単球中の、表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）マイクロRNAのレベル、および／または表21に列挙した1つまたは複数の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）炎症性マーカーのレベルにおいて（参照レベルと比較して）減少または有意な変化がないことを、臨床試験に参加させるために対象を選択するのに用いることができる。

【0154】

表1～19に記載のマイクロRNAのいずれかのレベルまたは表20および21に列挙した炎症性マーカーのいずれかのレベルは、標準的な分子生物学的な方法（例えば、本明細書において説明されるPCRベースの方法および抗体ベースの方法）を用いて得てもよい。本方法は、あらゆる医療専門家（例えば、医師、看護師、医師助手、検査技師、または看護師助手）によって行うことができる。

【0155】

いくつかの実施形態において、対象は、1つまたは複数の神経変性障害の症状（例えば

10

20

30

40

50

本明細書において説明される神経変性障害の症状のいずれか)を示していくてもよい。いくつかの実施形態において、対象はまた、症状を示していくなくてもよいし、あるいは神経変性障害の症状を1つだけ示していくてもよい。いくつかの実施形態において、対象は、神経変性障害(例えば家族性ALS)の家族歴を有していくてもよい。いくつかの実施形態において、対象は、すでに神経変性障害を有すると診断されていてもよい。

【0156】

治療方法

また、神経変性障害の治療方法であって、対象に、少なくとも1種の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)作用物質(例えば核酸)、すなわち表1、3、5、7、9、11、12、14、16、または18に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)マイクロRNAのレベルまたは活性を減少させる作用物質(例えば抑制性核酸、例えばアンタゴニア)、および/または表2、4、6、8、10、13、15、17、または19に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種)のマイクロRNAのレベルまたは活性を増加させる作用物質(例えばセンス核酸)を投与することを含む、上記治療方法も提供される。また、神経変性障害(例えばALSまたはMS)の治療方法であって、対象に、少なくとも1種の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)作用物質(例えば核酸)、すなわち表21に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)炎症性マーカーの発現(例えばタンパク質またはmRNA)または活性を減少させる作用物質(例えば抑制性核酸または抗体)、および/または表20に列挙した1つまたは複数の(例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の)遺伝子の発現(例えばタンパク質またはmRNA)および/または活性を増加させる作用物質(例えばセンス核酸)を投与することを含む、上記治療方法も提供される。いくつかの実施形態において、対象はまず、本明細書において説明される診断方法のいずれか、または本明細書において説明される神経変性障害を発症させるリスクがある対象の予測方法のいずれかを用いた治療のために識別または選択される。

【0157】

いくつかの実施形態において、対象に、hsa-miR-155中に存在する連続配列(例えば、成熟または前駆hsa-miR-155中に存在する連続配列)に相補的な配列を含む少なくとも1種の抑制性核酸が投与される。非限定的な実施形態において、抑制性核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、siRNA、またはアンタゴニアであってもよい。いくつかの実施形態において、少なくとも1種の抑制性核酸は、対象の髄液に注射される。いくつかの実施形態において、注射は、頭蓋内注射または髄腔内注射である。いくつかの実施形態において、少なくとも1種の抑制性核酸は、1種または複数のカチオン性ポリマーおよび/またはカチオン脂質(例えば、本明細書において説明されるかまたは当技術分野で公知のカチオン性ポリマーのいずれか)と複合体を形成する。特異的な標的mRNA(例えばhsa-miR-155)の発現および/または活性を減少させるアンタゴニアは、当技術分野で公知の方法を用いて設計することができる(例えば、Krutzfeldら、Nature 438:685~689、2005を参照)。本明細書では、アンタゴニアおよび他のタイプの抑制性核酸を設計し作製する追加の例示的な方法が説明される。

【0158】

いくつかの実施形態において、miR-155レベルを減少させる抑制性核酸は、アンタゴニア-155LNA配列+TC+AC+A+A+TTA+G+C+AT+T+A(配列番号262)(式中、+は、LNA部分の存在を示す)である。標的マイクロRNA分子に対するアンタゴニアを設計する方法は、Obadら、Nature Genetics 43:371~378、2011で説明されている。hsa-miR-155のレベルまたは発現を減少させる追加の抑制性核酸は、Wormら、Nucleic Acids Res.37:5784~5792,2009、およびMurugaiyanら、J. Immunol.187:2213~2221、2011で説明されている。

【0159】

対象に、作用物質(例えば1つまたは複数の抑制性核酸)を、少なくとも1回(例えば

10

20

30

40

50

、少なくとも 2、3、4、または 5 回)の用量で投与することができる。作用物質(例えば 1 つまたは複数の抑制性核酸)は、少なくとも 1 日 1 回(例えば 1 日 2 回、1 日 3 回、および 1 日 4 回)、少なくとも週 1 回(例えば週 2 回、週 3 回、週 4 回)、および/または少なくとも月 1 回で対象に投与することができる。対象は、長期間で(例えば、少なくとも 1 カ月、2 カ月、6 カ月、1 年、2 年、3 年、4 年、または 5 年で)治療することができる(例えば作用物質を定期的に投与することができる)。本明細書で詳細に説明されるように、対象に投与される作用物質の投与量は、多数の生理学的な因子を考慮して医師により決定することができ、このような因子としては、これらに限定されないが、対象の性別、対象の体重、対象の年齢、および他の医療条件の存在が挙げられる。作用物質は、経口、静脈内、動脈内、皮下、筋肉内、頭蓋内で、または髄液への注射によって対象に投与することができる。同様に、作用物質は、固体(例えば経口投与の場合)として、または生理学的に許容できる液体キャリアー(例えば生理食塩水)として(例えば静脈内、動脈内、皮下、筋肉内、脳脊髄(髄腔内)、または頭蓋内投与の場合)配合されてもよい。いくつかの実施形態において、作用物質(例えば 1 つまたは複数の抑制性核酸)は、注射によって投与してもよいし、または所定時間にわたる注入により投与してもよい。

【0160】

以下で神経変性障害を治療するために対象に投与される作用物質を説明するが、これらは、あらゆる組合せで(例えば、作用物質または以下で説明されるクラスの作用物質のうち少なくとも 1、2、3、4、または 5 種のあらゆる組合せで)用いることができる。

【0161】

抑制性核酸

本明細書において説明される治療方法において有用な抑制性作用物質としては、表 1、3、5、7、9、11、12、14、16、または 18 に列挙したマイクロ RNA(例えば、成熟マイクロ RNA または前駆マイクロ RNA)のいずれかの発現または活性を減少させる抑制性核酸分子(例えば hsa - miR - 155)、または表 21 に列挙した炎症性マーカーをコードする mRNA のいずれかの発現または活性を減少させる抑制性核酸分子(標的 mRNA)が挙げられる。

【0162】

本発明の方法および組成物において有用な抑制性核酸としては、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、外部ガイド配列(EGS)オリゴヌクレオチド、siRNA 化合物、一本鎖または二本鎖 RNA 干渉(RNAi)化合物、例えば siRNA 化合物、修飾された塩基/ロツクト核酸(LNA)、アンタゴミア、ペプチド核酸(PNA)、および他のオリゴマー化合物、または標的核酸の少なくとも一部にハイブリダイズしてその機能を調節するオリゴヌクレオチド模倣体が挙げられる。いくつかの実施形態において、抑制性核酸としては、アンチセンス RNA、アンチセンス DNA、キメラアンチセンスオリゴヌクレオチド、修飾された結合を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド、干渉 RNA(RNAi)、短鎖干渉 RNA(siRNA)；マイクロ、干渉 RNA(miRNA)；低分子一過性 RNA(stRNA)；または低分子ヘアピン RNA(shRNA)；低分子 RNA によって誘導された遺伝子の活性化(RNAa)；低分子活性化 RNA(saRNA)、またはそれらの組合せが挙げられる。例えば WO 2010/040112 を参照されたい。

【0163】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、10~50、13~50、または 13~30 個のヌクレオチドの長さである。当技術分野で通常の技術を有するものであれば当然のことながら、このようなものとしては、10、11、12、13、14、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、または 50 個のヌクレオチドの長さ、またはそれらのいずれかの範囲のヌクレオチドの長さのアンチセンス部分を有するオリゴヌクレオチドが挙げられる。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、15 個のヌク

10

20

30

40

50

レオチドの長さである。いくつかの実施形態において、本発明のアンチセンスまたはオリゴヌクレオチド化合物は、12個または13～30個のヌクレオチドの長さである。当技術分野で通常の技術を有するものであれば当然のことながら、このようなものとしては、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個のヌクレオチドの長さ、またはそれらのいずれかの範囲のヌクレオチドの長さのアンチセンス部分を有する抑制性核酸が挙げられる。

【0164】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、それぞれ少なくとも1つのヌクレオチドで構成される2つ以上の化学的に別個の領域を含むキメラオリゴヌクレオチドである。これらのオリゴヌクレオチドは、典型的には、1つまたは複数の有益な特性（例えば、高いヌクレアーゼ耐性、細胞への取り込みの多さ、高い標的への結合親和性）を付与する修飾されたヌクレオチドの少なくとも1つの領域と、RNA:DNAまたはRNA:RNAハイブリッドを切断することができる酵素の基質である領域とを含む。本発明のキメラ抑制性核酸は、上述のような2つ以上のオリゴヌクレオチド、修飾されたオリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、および/またはオリゴヌクレオチド模倣体の複合的な構造として形成されていてもよい。このような化合物はまた、当技術分野ではハイブリッドまたはギャップマーともいう。このようなハイブリッド構造の製造を教示している代表的な米国特許は、これらに限定されないが、米国特許第5,013,830号；同第5,149,797号；同第5,220,007号；同第5,256,775号；同第5,366,878号；同第5,403,711号；同第5,491,133号；同第5,565,350号；同第5,623,065号；同第5,652,355号；同第5,652,356号；および同第5,700,922号を含み、これらはそれぞれ参照により本発明に組み込みこまれる。

【0165】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、糖の2'位で修飾された少なくとも1つのヌクレオチドを含み、最も好ましくは2'-O-アルキル、2'-O-アルキル-O-アルキルまたは2'-フルオロ-修飾ヌクレオチドを含む。他の好ましい実施形態において、RNA修飾としては、ピリミジンのリボースにおける2'-フルオロ、2'-アミノ、および2'-O-メチル修飾、脱塩基性残基、またはRNAの3'末端における逆向きの塩基が挙げられる。このような修飾は、慣例的操作でオリゴヌクレオチドに取り込まれ、これらのオリゴヌクレオチドは、所定の標的に対する2'-デオキシオリゴヌクレオチドよりも高いTm（すなわち、それよりも高い標的との結合親和性）を有することが示されている。

【0166】

多数のヌクレオチドおよびヌクレオシドの修飾は、それらが取り込まれているオリゴヌクレオチドに、ヌクレアーゼ消化に対して天然型のオリゴデオキシヌクレオチドよりも高い耐性を付与する（すなわち修飾されたオリゴは、修飾されていないオリゴヌクレオチドよりも長い時間無傷のままである）ことが示されている。修飾されたオリゴヌクレオチドの具体的な例としては、修飾された主鎖、例えばホスホロチオエート、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、短鎖アルキルまたはシクロアルキル糖間結合、または短鎖ヘテロ原子または複素環式の糖間結合を含むものが挙げられる。最も好ましくは、ホスホロチオエート主鎖を有するオリゴヌクレオチドおよびヘテロ原子主鎖を有するオリゴヌクレオチドであり、特定には、CH₂-NH-O-CH₂、CH₂-N(CH₃)-O-CH₂（メチレン（メチルイミノ）またはMMI主鎖として知られている）、CH₂-O-O-N(CH₃)-CH₂、CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-CH₂、およびO-N(CH₃)-CH₂-CH₂主鎖、ここで天然型のホスホジエステル主鎖は、O-P(=O)-CH₂のように表される；アミド主鎖（De Mesmaekerら、*Acc. Chem. Res.* 28: 366～374、1995を参照）；モルホリノ主鎖構造（米国特許第5,034,506号を参照）；ペプチド核酸（PNA）主鎖（この場合、オリゴヌクレオチドのホスホジエステル主鎖は、ヌクレオチドが直接的または間接的にポリアミド主鎖のアザ窒素原子に結合したポリアミド

10

20

30

40

50

主鎖で置き換えられる、Nielsenら、*Science* 254 : 1497、1991を参照)である。リン含有結合としては、これらに限定されないが、ホスホチオエート、キラルホスホチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネートを含むメチルおよび他のアルキルのホスホネート、ホスフィネート、3' - アミノホスホルアミデートおよびアミノアルキルホスホルアミデートを含むホスホルアミデート、チオノホスホルアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、および正常な3' - 5'結合を有するボラノホスフェート、2' - 5'結合したこれらの類似体、加えて、隣接する又クレオシド単位対が3' - 5' と 5' - 3' または 2' - 5' と 5' - 2' で連結している逆向きの極性を有するものが挙げられる。米国特許第3,687,808号; 同第4,177,196号; 同第5,188,897号; 同第5,264,423号; 同第5,276,019号; 同第5,278,302号; 同第5,286,717号; 同第5,321,131号; 同第5,399,676号; 同第5,405,939号; 同第5,453,496号; 同第5,455,233号; 同第5,466,677号; 同第5,476,925号; 同第5,519,126号; 同第5,536,821号; 同第5,541,306号; 同第5,550,111号; 同第5,563,253号; 同第5,571,799号; 同第5,587,361号; および同第5,625,050号を参照されたい(これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる)。

【0167】

10

モルホリノベースのオリゴマー化合物は、Braaschら、*Biochemistry* 41 (14) : 4503 ~ 4510、2002; *Genesis*、30巻、3版、2001; Heasman、J.、*Dev.Biol.*、243 : 209 ~ 214、2002; Naseviciusら、*Nat.Genet.* 26:216 ~ 220、2000; Lacerraら、*Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 97 : 9591 ~ 9596、2000; および米国特許第5,034,506号で説明されている。シクロヘキセニル核酸のオリゴヌクレオチド模倣体は、Wangら、*J.Am.Chem.Soc.* 122、8595 ~ 8602、2000で説明されている。

【0168】

20

リン原子非含有の修飾されたオリゴヌクレオチド主鎖は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルのヌクレオシド間結合、混成のヘテロ原子とアルキルもしくはシクロアルキルとのヌクレオシド間結合、あるいは1つまたは複数の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式のヌクレオシド間結合によって形成される主鎖を有する。このような主鎖は、モルホリノ結合(部分的にヌクレオシドの糖の部分から形成された)を有するもの; シロキサン主鎖; スルフィド、スルホキシド、およびスルホン主鎖; ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖; メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖; アルケン含有主鎖; スルファメート主鎖; メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ主鎖; スルホネートおよびスルホンアミド主鎖; アミド主鎖; および混成のN、O、S、およびCH₂構成部分を有する他のものを含む。米国特許第5,034,506号; 同第5,166,315号; 同第5,185,444号; 同第5,214,134号; 同第5,216,141号; 同第5,235,033号; 同第5,264,562号; 同第5,264,564号; 同第5,405,938号; 同第5,434,257号; 同第5,466,677号; 同第5,470,967号; 同第5,489,677号; 同第5,541,307号; 同第5,561,225号; 同第5,596,086号; 同第5,602,240号; 同第5,610,289号; 同第5,602,240号; 同第5,608,046号; 同第5,610,289号; 同第5,618,704号; 同第5,623,070号; 同第5,663,312号; 同第5,633,360号; 同第5,677,437号; および同第5,677,439号を参照されたい(これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる)。

【0169】

30

また1つまたは複数の置換された糖部分が含まれていてもよく、例えは、2'位において以下に示すもののうち1つ: OH、SH、SCH₃、F、OCN、OCH₃OCH₃、OCH₃O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nNH₂またはO(CH₂)_nCH₃(式

40

50

中nは、1～約10である) ; Ci～C10低級アルキル、アルコキシアルコキシ、置換低級アルキル、アルカリルまたはアラルキル; C1; Br; CN; CF3; OCf3; O-、S-、またはN-アルキル; O-、S-、またはN-アルケニル; SOCH3; SO2CH3; ONO2; NO2; N3; NH2; ヘテロシクロアルキル; ヘテロシクロアルカリル; アミノアルキルアミノ; ポリアルキルアミノ; 置換シリル; RNA切断基; レポーター基; インターカレーター; オリゴヌクレオチドの薬物動態学的特性を改善する基; またはオリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善する基、および他の類似の特性を有する置換基が含まれていてもよい。好ましい修飾としては、2'-メトキシエトキシ[2'-0-CH₂CH₂OCH₃、また2'-O-(2-メトキシエチル)としても知られている] (Martinら、Helv.Chim.Acta 78: 486、1995) が挙げられる。他の好ましい修飾としては、2'-メトキシ(2'-0-CH₃)、2'-プロポキシ(2'-OCH₂CH₂CH₃)、および2'-フルオロ(2'-F)が挙げられる。また類似の修飾が、オリゴヌクレオチドの他の位置、特定には3'末端ヌクレオチドの糖の3'位および5'末端ヌクレオチドの5'位になされていてもよい。またオリゴヌクレオチドは、ペントフラノシリル基の代わりにシクロブチルなどの糖模倣体を有していてもよい。

【0170】

また抑制性核酸は、それに加えて、またはその代わりに、核酸塩基(当技術分野では単に「塩基」ということが多い)の修飾または置換を含んでいてもよい。「修飾されていない」または「天然の」核酸塩基は、本明細書で用いられる場合、アデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)、シトシン(C)、およびウラシル(U)を含む。修飾された核酸塩基は、天然の核酸では希にまたは一時的にしか見られない核酸塩基、例えばヒポキサンチン、6-メチルアデニン、5-Meピリミジン、特定には5-メチルシトシン(または5-メチル-2'デオキシシトシンとも称し、当技術分野では5-Me-Cということが多い)、5-ヒドロキシメチルシトシン(HMC)、グリコシルHMC、およびゲントビオシル(gentobiosyl)HMC、加えて合成核酸塩基、例えば2-アミノアデニン、2-(メチルアミノ)アデニン、2-(イミダゾリルアルキル)アデニン、2-(アミノアルキルアミノ)アデニン、または他のヘテロ置換されたアルキルアデニン、2-チオウラシル、2-チオチミン、5-プロモウラシル、5-ヒドロキシメチルウラシル、8-アザグアニン、7-デアザグアニン、N6(6-アミノヘキシル)アデニン、および2',6-ジアミノプリンを含む。Kornberg,A.、DNA Replication、W.H.Freeman&Co.、San Francisco、1980、75～77ページ; およびGebeyehuら、Nucl.Acids Res.15: 4513、1987を参照されたい。また当技術分野で公知の「ユニバーサル」塩基、例えばイノシンが含まれていてもよい。5-Me-C置換は、核酸二本鎖の安定性を0.6～1.2<0>Cに高めることができており(Sanghvi,Y.S.、Crooke,S.T.、およびLebleu,B.編、Antisense Research and Applications、CRC Press、Boca Raton、1993、276～278ページ)、目下好ましい塩基置換である。

【0171】

所定のオリゴヌクレオチドの全ての位置を均一に修飾させることが必ずしも必要ではなく、実際には、単一のオリゴヌクレオチドに上述の修飾のうち1つより多くが取り込まれていてもよく、あるいはオリゴヌクレオチド内の単一のヌクレオシド中にさえ取り込まれていればよい。

【0172】

いくつかの実施形態において、糖とヌクレオシド間結合との両方、すなわちヌクレオチド単位の主鎖は、新規の基で置き換えられる。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。このようなオリゴマー化合物の1種の、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチド模倣体は、ペプチド核酸(PNA)と称される。PNA化合物において、オリゴヌクレオチドの糖主鎖は、アミド含有主鎖、例えばアミノエチルグリシン主鎖で置き換えられる。核酸塩基は保持され、主鎖のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合する。PNA化合物の調製を教示している代表的な米国特許は、これらに限定されないが、米国特許第

10

20

30

40

50

5,539,082号；同第5,714,331号；および同第5,719,262号を含み、これはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる。さらなるPNA化合物の教示は、Nielsenら、Science 254: 1497~1500、1991で見ることができる。

【0173】

抑制性核酸はまた、1つまたは複数の核酸塩基（当技術分野では単に「塩基」ということが多い）の修飾または置換を含んでいてもよい。「修飾されていない」または「天然の」核酸塩基は、本明細書で用いられる場合、プリン塩基のアデニン（A）およびグアニン（G）、ならびにピリミジン塩基のチミン（T）、シトシン（C）、およびウラシル（U）を含む。修飾された核酸塩基は、他の合成および天然核酸塩基、例えば5-メチルシトシン（5-methyl-C）、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、6-メチル、ならびに他のアデニンおよびグアニンのアルキル誘導体、2-プロピル、ならびに他のアデニンおよびグアニンのアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミン、および2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニルウラシルおよびシトシン、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル（プソイドウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル、ならびに他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特定には5-ブロモ、5-トリフルオロメチル、ならびに他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン、ならびに3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニンを含む。

10

20

【0174】

さらに、核酸塩基は、米国特許第3,687,808号で開示されたもの、「The Concise Encyclopedia of Polymer Science And Engineering」、858~859ページ、Kroschwitz, J.I.編、John Wiley&Sons、1990で開示されたもの、Englischら、Angewandte Chemie、国際版、1991、30、613ページによって開示されたもの、およびSanghvi, Y.S.、15章、Antisense Research and Applications、289~302ページ、それぞれCrooke, S.T.およびLebleu, B.、CRC Press、1993によって開示されたものを含む。これらの核酸塩基のうちある種のものは、本発明のオリゴマー化合物の結合親和性を高めるのに特に有用である。これらの核酸塩基としては、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびに2-アミノブロピルアデニン、5-プロピニルウラシル、および5-プロピニルシトシンを含むN-2、N-6、および0-6置換プリン類が挙げられる。5-メチルシトシン置換は、核酸二重鎖の安定性を0.6~1.2<0>Cに高めることが示されており（Sanghvi, Y.S.、Crooke, S.T.およびLebleu, B.編、「Antisense Research and Applications」、CRC Press、Boca Raton、1993、276~278ページ）、目下好ましい塩基置換であり、2'-O-メトキシエチル糖の修飾と組み合わされる場合によりいっそう好ましい。修飾された核酸塩基は、米国特許第3,687,808号ならびに同第4,845,205号；同第5,130,302号；同第5,134,066号；同第5,175,273号；同第5,367,066号；同第5,432,272号；同第5,457,187号；同第5,459,255号；同第5,484,908号；同第5,502,177号；同第5,525,711号；同第5,552,540号；同第5,587,469号；同第5,596,091号；同第5,614,617号；同第5,750,692号、および同第5,681,941号に記載されている（これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる）。

30

40

【0175】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、または細胞による取り込みを強化する1つまたは複数の部分または結合体と化学的に連結している。このような部分は、これらに限定されないが、脂質部分、例えばコレステロール部分（Letsingerら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.86: 6553~6556、1989）、コール酸（Manoharanら、Bioorg.Med.Chem.Lett.4: 1053~1060、1994）、チオエーテル、例えばヘキシリ-S-トリチルチオール（Manoharanら、Ann.N.Y.Acad.Sci.660: 306~309, 1992; Manoharanら、Bioorg.Med.Chem. Lett.3: 2765~2770、1993）、チオコレステロール（Ob

50

erhauserら、Nucl. Acids Res. 20: 533 ~ 538、1992)、脂肪鎖、例えばドデカンジオールまたはウンデシル残基 (Kabanovら、FEBS Lett. 259: 327 ~ 330、1990; Svinarchukら、Biochimie 75: 49 ~ 54、1993)、リン脂質、例えばジ-ヘキサデシル-*r a c*-グリセロールまたはトリエチルアンモニウム 1, 2-ジ-*O*-ヘキサデシル-*r a c*-グリセロ-3-*H*-ホスホネート (Manoharanら、Tetrahedron Lett. 36: 3651 ~ 3654、1995; Sheaら、Nucl. Acids Res. 18: 3777 ~ 3783、1990)、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖 (Mancharanら、Nucleosides&Nucleotides 14: 969 ~ 973、1995)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharanら、Tetrahedron Lett. 36: 3651 ~ 3654、1995)、パルミチル部分 (Mishraら、Biochim. Biophys. Acta 1264: 229 ~ 237、1995)、またはオクタデシルアミン、あるいはヘキシルアミノ-カルボニル-*t*オキシコレステロール部分 (Crookeら、J. Pharmacol. Exp. Ther. 277: 923 ~ 937、1996) を含む。また、米国特許第 4,828,979 号；同第 4,948,882 号；同第 5,218,105 号；同第 5,525,465 号；同第 5,541,313 号；同第 5,545,730 号；同第 5,552,538 号；同第 5,578,717 号、同第 5,580,731 号；同第 5,580,731 号；同第 5,591,584 号；同第 5,109,124 号；同第 5,118,802 号；同第 5,138,045 号；同第 5,414,077 号；同第 5,486,603 号；同第 5,512,439 号；同第 5,578,718 号；同第 5,608,046 号；同第 4,587,044 号；同第 4,605,735 号；同第 4,667,025 号；同第 4,762,779 号；同第 4,789,737 号；同第 4,824,941 号；同第 4,835,263 号；同第 4,876,335 号；同第 4,904,582 号；同第 4,958,013 号；同第 5,082,830 号；同第 5,112,963 号；同第 5,214,136 号；同第 5,082,830 号；同第 5,112,963 号；同第 5,214,136 号；同第 5,245,022 号；同第 5,254,469 号；同第 5,258,506 号；同第 5,262,536 号；同第 5,272,250 号；同第 5,292,873 号；同第 5,317,098 号；同第 5,371,241,5,391,723 号；同第 5,416,203 号、同第 5,451,463 号；同第 5,510,475 号；同第 5,512,667 号；同第 5,514,785 号；同第 5,565,552 号；同第 5,567,810 号；同第 5,574,142 号；同第 5,585,481 号；同第 5,587,371 号；同第 5,595,726 号；同第 5,597,696 号；同第 5,599,923 号；同第 5,599,928 号および同第 5,688,941 号も参照されたい (これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる)。
【0176】

これらの部分または結合体は、1級または2級ヒドロキシル基などの官能基に共有結合した結合基を含んでいてもよい。本発明の結合基としては、インター-カレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、ポリエーテル、オリゴマーの薬力学的特性を強化する基、およびオリゴマーの薬物動態学的特性を強化する基が挙げられる。典型的な結合基としては、コレステロール、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フォレート、フェナントリジン、アントラキノン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、および色素が挙げられる。薬力学的特性を強化する基としては、本発明に関して、取り込みを改善する、分解への耐性を強化する、および/または標的核酸との配列特異的なハイブリダイゼーションを強化する基が挙げられる。薬物動態学的特性を強化する基としては、本発明に関して、本発明の化合物の取り込み、分布、代謝、または排出を改善する基が挙げられる。代表的な結合基は、1992年10月23日付けて出願された国際特許出願第 PCT/US92/09196 号、および米国特許第 6,287,860 号に開示されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。結合部分としては、これらに限定されないが、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-5-トリチルチオール、チオコレステロール、脂肪鎖、例えばドデカンジオールまたはウンデシル残基、リン脂質、例えばジ-ヘキサデシル-*r a c*-グリセロールまたはトリエチルアンモニウム 1, 2-ジ-*O*-ヘキサデシル-*r a c*-グリセロ-3-*H*-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、
50

またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、あるいはオクタデシルアミンまたはヘキシリノ - カルボニル - オキシコレステロール部分が挙げられる。例えば、米国特許第4,828,979号；同第4,948,882号；同第5,218,105号；同第5,525,465号；同第5,541,313号；同第5,545,730号；同第5,552,538号；同第5,578,717号、同第5,580,731号；同第5,580,731号；同第5,591,584号；同第5,109,124号；同第5,118,802号；同第5,138,045号；同第5,414,077号；同第5,486,603号；同第5,512,439号；同第5,578,718号；同第5,608,046号；同第4,587,044号；同第4,605,735号；同第4,667,025号；同第4,762,779号；同第4,789,737号；同第4,824,941号 10
；同第4,835,263号；同第4,876,335号；同第4,904,582号；同第4,958,013号；同第5,082,830号；同第5,112,963号；同第5,214,136号；同第5,082,830号；同第5,112,963号；同第5,214,136号；同第5,245,022号；同第5,254,469号；同第5,258,506号；同第5,262,536号；同第5,272,250号；同第5,292,873号；同第5,317,098号；同第5,371,241号、同第5,391,723号；同第5,416,203号、同第5,451,463号；同第5,510,475号；同第5,512,667号；同第5,514,785号；同第5,565,552号；同第5,567,810号；同第5,574,142号；同第5,585,481号；同第5,587,371号；同第5,595,726号；同第5,597,696号；同第5,599,923号；同第5,599,928号および同第5,688,941号を参照されたい（これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる）。 20

【0177】

本発明の方法において有用な抑制性核酸は、標的m i R N Aに対して十分な相補性を有しており、すなわちこのような抑制性核酸は、十分良好に十分高い特異性でハイブリダイズして、所望の効果をもたらすことができる。「相補的」とは、天然に存在するまたは天然に存在しない塩基またはそれらの類似体を含む2つの配列間で水素結合を介して対形成する能力を指す。例えば、抑制性核酸の1つの位置における塩基が、m i R N Aのそれに対応する位置における塩基と水素結合することができる場合、それらの塩基は、その位置において互いに相補的であるとみなされる。いくつかの実施形態において、100%の相補性は必要ではない。いくつかの実施形態において、100%の相補性が必要である。慣例的な方法を用いて、十分に高い特異性で標的配列に結合する抑制性核酸を設計することができる。 30

【0178】

特定の例示的な標的セグメントの特異的配列が本明細書に記載されるが、当業者であれば、これらは、本発明の範囲内の特定の実施形態を図解し説明するのに役立つことを理解しているであろう。この開示を考慮すれば、当技術分野で通常の技術を有するものにより追加の標的セグメントを容易に確認することができる。同様に、シード配列内に、またはシード配列に直接隣接して、連続したヌクレオチド少なくとも5個の伸張部を含む5、6、7、8、9、10個以上のヌクレオチドの長さの標的セグメントが、標的化に適切であるとみなされる。いくつかの実施形態において、標的セグメントは、シード配列のうち1つの5'末端からの連続したヌクレオチドを少なくとも5個含む配列を含んでいてよい（残りのヌクレオチドは、シード配列の5'末端のすぐ上流から始まり、抑制性核酸が約5～約30個のヌクレオチドを含むようになるまで続く、同じR N Aの連続した伸張部である）。いくつかの実施形態において、標的セグメントは、シード配列のうち1つの3'末端からの連続したヌクレオチドを少なくとも5個含むR N A配列によって表される（残りのヌクレオチドは、標的セグメントの3'末端のすぐ下流から始まり、抑制性核酸が約5～約30個のヌクレオチドを含むようになるまで続く、同じm i R N Aの連続した伸張部である）。本明細書で示される配列が関与する分野の当業者であれば、余計な実験を行うことなく、標的化するのに好ましいさらなる領域を同定することが可能であろう。いく 40
50

つかの実施形態において、抑制性核酸は、標的（例えば標的m i R N A、例えば成熟もしくは前駆h s a - m i R - 1 5 5、または標的m R N A）中に存在する少なくとも5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25個の連続したヌクレオチドに相補的な配列を含む。

【0179】

1つまたは複数の標的領域、セグメントまたは部位が同定されれば、標的に十分に相補的な、すなわち十分に高い特異性で十分良好にハイブリダイズする（すなわち実質的に他の非標的R N Aに結合しない）抑制性核酸化合物が選択され、所望の効果をもたらすことができる。

【0180】

本発明に関して、ハイブリダイゼーションは、水素結合を意味し、この水素結合は、相補的ヌクレオシドまたはヌクレオチド塩基間のワトソン・クリック、フーグスティーンまたは逆フーグスティーン型水素結合であってもよい。例えば、アデニンとチミンは、水素結合の形成を介して対をなす相補的核酸塩基である。相補的とは、本明細書で用いられる場合、2個のヌクレオチド間で正確に対を形成する能力を指す。例えば、オリゴヌクレオチドの特定の位置におけるヌクレオチドが、m i R N A分子またはm R N A分子の同じ位置におけるヌクレオチドと水素結合が可能な場合、抑制性核酸およびm i R N Aもしくはm R N Aは、その位置で互いに相補的であるとみなされる。抑制性核酸とm i R N Aまたはm R N Aとは、それぞれの分子において十分な数の対応する位置が互いに水素結合可能なヌクレオチドで占められている場合、互いに相補的である。従って、「特異的にハイブリダイゼーション可能な」および「相補的」は、抑制性核酸とm i R N A標的との間で安定で特異的な結合が生じるのに十分な相補性または正確な対形成の程度を示すのに用いられる用語である。例えば、抑制性核酸の1つの位置における塩基が、m i R N Aまたはm R N Aのそれに対応する位置における塩基と水素結合が可能な場合、それらの塩基は、その位置において互いに相補的であるとみなされる。100%の相補性は必要ではない。

【0181】

当技術分野では当然のことながら、相補的核酸配列は、特異的にハイブリダイズ可能にするためにその標的核酸の配列に100%相補的でなくてもよいことが理解される。本発明の方法のための相補的核酸配列は、特異的な結合が望ましい条件下で、例えばi n v i v oでのアッセイまたは治療的処置の場合での生理学的条件下で、加えてi n v i t r oでのアッセイの場合ではアッセイが適切なストリンジエンシーの条件下で行われる条件下で、上記配列と標的m i R N Aまたはm R N A分子との結合が標的m i R N Aまたはm R N Aの正常な機能に干渉して、発現または活性の損失を引き起こし、かつ上記配列と非標的R N A配列との非特異的な結合を回避するのに十分な程度の相補性がある場合、特異的にハイブリダイズ可能である。例えば、ストリンジエントな塩濃度は、通常は約750mM未満のN a C lおよび75mMのクエン酸三ナトリウム、好ましくは約500mM未満のN a C lおよび50mMのクエン酸三ナトリウム、より好ましくは約250mM未満のN a C lおよび25mMのクエン酸三ナトリウムであろうと予想される。低いストリンジエンシーのハイブリダイゼーションは、例えばホルムアミドなどの有機溶媒の非存在下で達成することができ、高いストリンジエンシーのハイブリダイゼーションは、少なくとも約35%ホルムアミド、より好ましくは少なくとも約50%ホルムアミドの存在下で達成することができる。ストリンジエントな温度条件は、通常は少なくとも約30°の温度、より好ましくは少なくとも約37°の温度、最も好ましくは少なくとも約42°の温度を含むであろうと予想される。ハイブリダイゼーション時間、例えばドデシル硫酸ナトリウム(S D S)などの洗浄剤の濃度、およびキャリア-D N Aを含むか含まないかなどの様々な追加のパラメーターは、当業者周知である。様々なレベルのストリンジエンシーは、これらの様々な条件を必要に応じて組み合わせることによって達成される。好ましい実施形態において、ハイブリダイゼーションは、30°で、750mMのN a C l、75mMのクエン酸三ナトリウム、および1%S D Sで起こるであろうと予想される。より好ましい実施形態において、ハイブリダイゼーションは、37°で、500mMのN a C l

10

20

30

40

50

、50 mMのクエン酸三ナトリウム、1% SDS、35%ホルムアミド、および100 µg / mlの変性サケ精子DNA(ssDNA)で起こるであろうと予想される。最も好ましい実施形態において、ハイブリダイゼーションは、42で、250 mMのNaCl、25 mMのクエン酸三ナトリウム、1% SDS、50%ホルムアミド、および200 µg / mlのssDNAで起こるであろうと予想される。これらの条件の有用なバリエーションは、当業者にとって容易に理解されるであろうと予想される。

【0182】

ほとんどの適用に関して、ハイブリダイゼーション後に行われる洗浄工程もストリンジエンシーの点で異なるであろうと予想される。洗浄のストリンジエンシー条件は、塩濃度と温度で定義することができる。上述したように、洗浄のストリンジエンシーは、塩濃度を減少させるか、または温度を上げることにより高めることができる。例えば、洗浄工程のストリンジエントな塩濃度は、好ましくは約30 mM未満のNaClおよび3 mMのクエン酸三ナトリウム、最も好ましくは約15 mM未満のNaClおよび1.5 mMのクエン酸三ナトリウムであろうと予想される。洗浄工程のストリンジエントな温度条件は、通常は少なくとも約25の温度、より好ましくは少なくとも約42の温度、さらにより好ましくは少なくとも約68の温度を含むであろうと予想される。好ましい実施形態において、洗浄工程は、25で、30 mMのNaCl、3 mMのクエン酸三ナトリウム、および0.1% SDSで起こるであろうと予想される。より好ましい実施形態において、洗浄工程は、42で、15 mMのNaCl、1.5 mMのクエン酸三ナトリウム、および0.1% SDSで起こるであろうと予想される。これらの条件の追加のバリエーションは、当業者にとって容易に理解であろうと予想される。ハイブリダイゼーション技術は、当業者によく知られており、例えば、BentonおよびDavis (Science 196:180、1977) ; GrunsteinおよびHogness (Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.72:3961、1975) ; Ausubelら (Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, New York, 2001) ; BergerおよびKimmel (Guide to Molecular Cloning Techniques, 1987, Academic Press, New York) ; およびSambrookら、Molecular Cloning:A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New Yorkに記載されている。

【0183】

一般的に、本明細書において説明される方法で有用な抑制性核酸は、標的核酸内の標的領域に対して少なくとも80%の配列相補性を有し、例えばmiRNA内の標的領域に対して90%、95%、または100%の配列相補性を有する。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドの20個の核酸塩基のうち18個が相補的であり、それゆえに標的領域に特異的にハイブリダイズするであろうと予想されるアンチセンス化合物は、90パーセントの相補性を示すであろうと予想される。標的核酸のある領域に対する抑制性核酸の相補性のパーセントは、慣例的操作でベーシックローカルアライメントサーチツール (basic local alignment search tools) (BLASTプログラム) (Altschulら、J.Mol.Biol.215:403~410、1990 ; ZhangおよびMadden, Genome Res.7:649~656、1997) を用いて決定することができる。miRNAまたはmRNAにハイブリダイズする本発明のアンチセンスおよび他の化合物は、慣例的な実験により同定される。一般的に、抑制性核酸は、それらの標的に対する特異性を保持していなければならず、すなわち、対象の標的以外の転写物に直接結合してはならないか、あるいは対象の標的以外の転写物の発現レベルに直接的に有意な影響を与えてはならない。

【0184】

抑制性核酸に関するさらなる開示については、US2010/0317718 (アンチセンスオリゴ) ; US2010/0249052 (二本鎖リボ核酸(dsRNA)) ; US2009/0181914、およびUS2010/0234451 (LNA) ; US2007/0191294 (siRNA類似体) ; US2008/0249039 (修飾されたsiRNA) ; ならびにWO2010/129746 およびWO2010/0401

10

20

30

40

50

12(抑制性核酸)を参照されたい。

【0185】

アンチセンス

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、典型的には、標的に結合して、転写、翻訳、またはスプライシングレベルで発現を中断させることによって、DNAまたはRNA標的の発現をブロックするように設計される。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、標的マイクロRNAまたは標的炎症性マーカーのmRNAにストリンジエントな条件下でハイブリダイズするように設計された相補的な核酸配列である。従って、標的に十分に相補的な、すなわち十分に高い特異性で十分良好にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドが選択され、所望の効果をもたらすことができる。

10

【0186】

修飾された塩基/ロックト核酸(LNA)

いくつかの実施形態において、本明細書において説明される方法で用いられる抑制性核酸は、1つまたは複数の修飾された結合または塩基を含む。修飾された塩基としては、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ペプチド核酸、またはロックト核酸(LNA)分子が挙げられる。好ましくは、修飾されたヌクレオチドは、[アルファ]-L-LNAなどのロックト核酸分子である。LNAは、リボース環が2'-酸素と4'-炭素との間のメチレン架橋によって「ロック」されたリボ核酸類似体、すなわち、少なくとも1つのLNA単量体、すなわち1つの2'-O, 4'-C-メチレン- -D-リボフラノシリヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを含む。LNA塩基は、標準的なワトソン-クリック塩基対を形成するが、ロックされた配置は、塩基対形成反応の速度と安定性を高める(Jepsenら、Oligonucleotides 14: 130~146、2004)。またLNAは、RNAとの塩基対に対して、DNAと比べて高い親和性も有する。これらの特性のために、LNAは、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション(FISH)および比較ゲノムハイブリダイゼーションのためのプローブとして、mRNAのためのノックダウンツールとして、さらに標的mRNAまたは他のRNA、例えば本明細書において説明されているようなmiRNAおよびmRNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドとして特に有用である。

20

【0187】

LNA分子としては、各鎖において10~30、例えば12~24、例えば12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個のヌクレオチドを含む分子であって、一方の鎖が、miRNAまたはmRNA中の標的領域に実質的に同一な、例えば少なくとも80% (またはそれより高い割合で、例えば85%、90%、95%、または100%) 同一な、例えば3、2、1、または0個のミスマッチヌクレオチド(複数可)を有する分子が挙げられる。LNA分子は、当技術分野で公知の方法を用いて化学合成することができる。

30

【0188】

LNA分子は、当技術分野で公知のあらゆる方法を用いて設計することができ、多数のアルゴリズムが公知であり、(例えばインターネットで、例えばexiqon.comで)市販されている。例えば、Youら、Nuc.Acids.Res.34: e60、2006; McTigueら、Biochemistry 43: 5388~405、2004; およびLevinら、Nucl.Acids.Res.34: e142、2006を参照されたい。例えば、アンチセンスオリゴの設計に用いられる方法と類似した「ジーンウォーク(gene walk)」法を用いて、LNAの阻害活性を最適化することができる。例えば、標的miRNAまたはmRNAの所定長さに及ぶ10~30個のヌクレオチドの一続きのオリゴヌクレオチドを調製して、それに続いて活性に関して試験することができる。任意選択で、ギャップ、例えば5~10個またはそれより多くのヌクレオチドをLNA間に残して、合成および試験されるオリゴヌクレオチドの数を減らすことができる。GC含量は、好ましくは約30~60%である。LNA設計に関する一般的なガイドラインは当技術分野で公知である。例えば、LNA配列は他のLNA配列と非常にきつく結合するであろうと予想されるため、LNA内で有意な相補性を回避することが好ましい。可能であれば、連続した3つ以上のGまたはCの並び、または4つより多くのLNA残基は回避されるべきである

40

50

(例えば、極めて短い(例えば約9～10ntの)オリゴヌクレオチドの場合はこのようなことは不可能な可能性がある)。いくつかの実施形態において、LNAは、キシロ-LNAである。

【0189】

いくつかの実施形態において、LNA分子は、miRNAの特異的な領域を標的化するように設計することができる。例えば、特異的な機能的領域を標的化することができ、このような機能的領域としては、例えばシード配列を含む領域などがある。その代わりに、またはそれに加えて、高度に保存された領域を標的化してもよく、このような領域としては、例えば、靈長類(例えばヒト)およびげっ歯類(例えばマウス)などの異種由来の配列を並べて高度な同一性を有する領域を探すことにより同定された領域がある。同一性のパーセントは、ベーシックローカルアライメントサーチツール(BLASTプログラム)(Altschulら、J.Mol.Biol.215:403～410、1990; ZhangおよびMadden、Genome Res.7:649～656、1997)を用いて、例えばデフォルトパラメーターを用いて慣例的操作で決定することができる。

【0190】

LNAに関する追加の情報については、米国特許第6,268,490号；同第6,734,291号；同第6,770,748号；同第6,794,499号；同第7,034,133号；同第7,053,207号；同第7,060,809号；同第7,084,125号；および同第7,572,582号；および付与前の米国公開公報第2010/0267018号；同第2010/0261175号；および同第2010/0035968号；Koshkinら、Tetrahedron 54:3607～3630、1998；Obikaら、Tetrahedron Lett.39:5401～5404、1998；Jepsenら、Oligonucleotides 14:130～146、2004；Kauppinenら、Drug Disc.Today 2(3):287～290、2005；およびPontingら、Cell 136(4):629～641、2009、およびそこで引用された文献を参照されたい。

【0191】

また、その全体が参照により本明細書に組み込まれるUSSN61/412,862も参照されたい。

【0192】

アンタゴミア

いくつかの実施形態において、アンチセンスは、アンタゴミアである。アンタゴミアは、マイクロRNA(例えば標的hsa-miR-155)を標的化する化学修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチドである。例えば、本明細書において説明される方法で使用するためのアンタゴミアは、約12～25個のヌクレオチド、好ましくは約15～23個のヌクレオチドのmiRNA標的配列にハイブリダイズするのに十分な相補性を有するヌクレオチド配列を含んでいてもよい。

【0193】

一般的に、アンタゴミアは、例えば3'末端にコレステロール部分を含む。いくつかの実施形態において、アンタゴミアは、RNアーゼからの防御、ならびに強化された組織および細胞による取り込みなどの薬理学的特性のための様々な修飾を有する。例えば、上記でアンチセンスオリゴについて考察された修飾に加えて、アンタゴミアは、糖の完全なまたは部分的な2'-O-メチル化および/またはホスホロチオエート主鎖のうち1つまたは複数を有していてもよい。ホスホロチオエート修飾は、RNアーゼ活性に対する防御をもたらし、その親油性は、組織への取り込みの強化に寄与する。いくつかの実施形態において、アンタゴミアは、6つのホスホロチオエートの主鎖の修飾を含んでいてもよく、この場合、2つのホスホロチオエートは5'末端に配置され、4つは3'末端に配置される。例えば、Krutzfeldtら、Nature 438:685～689、2005; Czech、N. Engl. J. Med. 354:1194～1195、2006; Robertsonら、Silence 1:10、2010; MarquezおよびMcCaffrey、Human Gene Ther.19(1):27～38、2008; van Rooijら、Circ.Res.103(9):919～928、2008;およびLiuら、Int.J.Mol.Sci.9:978～999、2008を参照されたい。

【0194】

10

20

30

40

50

また本発明の方法において有用なアンタゴミアは、それらの長さに関して修飾されていてもよいし、あるいは別 の方法でアンタゴミアを構成するヌクレオチド数に関して修飾されていてもよい。一般的に、アンタゴミアは、最適な機能のために約20～21個のヌクレオチドの長さであり、このサイズはほとんどの成熟マイクロRNAのサイズに適合する。アンタゴミアは、それらの標的に対する特異性を保持していなければならず、すなわち、対象の標的以外の転写物に直接結合してはならないか、あるいは対象の標的以外の転写物の発現レベルに直接的に有意な影響を与えてはならない。

【0195】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、ロックされており、コレステロール部分を含む（例えばロックトアンタゴミア）。

10

【0196】

s i R N A

いくつかの実施形態において、標的m i R N Aまたは標的m R N Aに相補的な核酸配列は、干渉R N Aであってもよく、このような干渉R N Aとしては、これらに限定されないが、低分子干渉R N A（「s i R N A」）または低分子ヘアピンR N A（「s h R N A」）が挙げられる。干渉R N Aを構築する方法は当技術分野で周知である。例えば、干渉R N Aは、2つの別個のオリゴヌクレオチドから組み立ててもよく、この場合、一方の鎖はセンス鎖であり、他方はアンチセンス鎖であり、アンチセンスおよびセンス鎖は、自己相補的である（すなわち、それぞれの鎖が、他方の鎖のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含む；例えば、アンチセンス鎖およびセンス鎖が二重鎖または二本鎖構造を形成する場合が挙げられる）。アンチセンス鎖は、標的核酸分子のヌクレオチド配列またはその一部に相補的なヌクレオチド配列（すなわち望ましくない遺伝子）を含み、センス鎖は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を含む。あるいは、干渉R N Aは、単一種のオリゴヌクレオチドから組み立てられ、この場合、自己相補的なセンスおよびアンチセンス領域は、核酸ベースまたは非核酸ベースのリンクマー（複数可）によって連結される。干渉R N Aは、自己相補的なセンスおよびアンチセンス領域を有する二重鎖、非対称二重鎖、ヘアピンまたは非対称ヘアピン二次構造を有するポリヌクレオチドであってもよく、この場合、アンチセンス領域は、別の標的核酸分子のヌクレオチド配列またはその一部に相補的なヌクレオチド配列を含み、センス領域は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を有する。干渉は、自己相補的なセンスおよびアンチセンス領域を含む2つ以上のループ構造およびシステムを有する環状の一本鎖ポリヌクレオチドであってもよく、この場合、アンチセンス領域は、標的核酸分子のヌクレオチド配列またはその一部に相補的なヌクレオチド配列を含み、センス領域は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を有し、この場合、環状ポリヌクレオチドをi n v i v oまたはi n v i t r oのいずれかでプロセシングして、R N A干渉を仲介することができる活性なs i R N A分子を作製してもよい。

20

【0197】

いくつかの実施形態において、干渉R N Aのコード領域は、センス領域、アンチセンス領域、およびループ領域を有する自己相補的なR N A分子をコードする。このようなR N A分子は、所望通りに発現される場合、「ヘアピン」構造を形成し、本明細書では「s h R N A」と称される。ループ領域は、一般的に、約2～約10個のヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態において、ループ領域は、約6～約9個のヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態において、センス領域およびアンチセンス領域は、約15～約20個のヌクレオチドの長さである。転写後プロセシングがなされた後、低分子ヘアピンR N Aは、R N AーゼI I I ファミリーのメンバーである酵素ダイサーが仲介する切断現象によってs i R N Aに変換される。続いてs i R N Aは、それと相同性を共有する遺伝子の発現を阻害することができる。詳細については、Brummelkampら、Science 296: 550～553、2002；Leeら、Nature Biotechnol. 20、500～505、2002；Miyagishi and Taira、Nature Biotechnol. 20: 497～500、2002；Paddisonら、Genes&Dev. 16: 948～958、2002；Paul、Nature Biotechnol. 20、505～508、2002；Sui、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.、9

30

40

50

9(6) : 5515 ~ 5520, 2002; Yuら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 : 6047 ~ 6052, 2002を参照されたい。

【0198】

s i R N A によってガイドされる標的 R N A の切断反応は、高度な配列特異性を有する。一般的に、標的核酸の一部（すなわち、標的 m i R N A または m R N A のシード配列を含む標的領域）と同一なヌクレオチド配列を含む s i R N A が阻害に関して好ましい。しかしながら、本発明を実施するにあたり s i R N A と標的遺伝子との 100% の配列同一性は必要ではない。従って、本発明は、遺伝学的突然変異、系統多型、または進化的分岐に起因するであろう予想される配列のバリエーションを許容することができるという利点を有する。例えば、標的配列と比較して挿入、欠失、および単一点突然変異を含む s i R N A 配列も、阻害に関して有効であることが見出されている。あるいは、ヌクレオチド類似体の置換または挿入を含む s i R N A 配列が、阻害に関して有効である可能性がある。一般的に、s i R N A は、その標的に対する特異性を保持していなければならず、すなわち、対象の標的以外の転写物に直接結合してはならないか、あるいは対象の標的以外の転写物の発現レベルに直接的に有意な影響を与えてはならない。

【0199】

リボザイム

またトランス切断する酵素的な核酸分子も用いることができ、このような核酸分子は、ヒト疾患用の治療剤として見込みがあることが示されている (UsmanおよびMcSwiggen, Ann.Rep.Med.Chem.30 : 285 ~ 294, 1995; ChristoffersenおよびMarr, J.Med.Chem.38 : 2023 ~ 2037, 1995)。酵素的な核酸分子は、細胞 R N A のバックグラウンド中の特異的な m i R N A または m R N A 標的を切断するように設計されていてもよい。このような切断現象により、m i R N A または m R N A は機能しなくなる。

【0200】

一般的に、R N A 切断活性を有する酵素的な核酸は、まず標的 R N A に結合することによって作用する。このような結合は、標的 R N A を切断するように作用する分子の酵素的部分の近傍に保持される酵素的な核酸の標的結合部分を介して起こる。従って、酵素的な核酸はまず標的 R N A を認識して、その次に相補的塩基対形成によりそれと結合し、正しい部位に結合したら、酵素的に作用して標的 R N A を切断する。このような標的 R N A の戦略的な切断は、その活性を破壊するであろうと予想される。酵素的な核酸が結合してその R N A 標的が切断された後、酵素的な核酸はその R N A から解離して他の標的を探索し、さらに新しい標的に繰り返して結合して切断することができる。

【0201】

数種のアプローチ、例えば in vitroでの選択(進化)法 (Orgel, Proc.R.Soc.London, B 205 : 435, 1979) が、ホスホジエステル結合およびアミド結合の切断およびライゲーションなどの様々な反応を触媒することができる新しい核酸触媒を得るために用いられてきた (Joyce, Gene, 82, 83 ~ 87, 1989; Beaudryら、Science 257, 635 ~ 641, 1992; Joyce, Scientific American 267, 90 ~ 97, 1992; Breakerら、TIBTECH 12 : 268, 1994; Bartelら、Science 261 : 1411 ~ 1418, 1993; Szostak, TIBS 17, 89 ~ 93, 1993; Kumarrら、FASEB J., 9 : 1183, 1995; Breaker, Curr.Op.Biotech., 1 : 442, 1996)。触媒活性に最適なリボザイムの開発は、遺伝子発現を調節する目的で R N A 切断リボザイムを用いるあらゆる戦略に大いに貢献するであろうと予想される。ハンマーヘッド型リボザイムは、例えば、飽和 (10 r n M) 濃度の M g²⁺ 補因子の存在下で約 1 分⁻¹ の触媒反応速度 (k cat) で機能する。人工「R N A リガーゼ」リボザイムは、約 100 分⁻¹ の速度で対応する自己修飾反応を触媒することが示されている。加えて、D N A で構成される基質結合アームを有する特定の修飾されたハンマーヘッド型リボザイムは、100 分⁻¹ に近い複合的な回転率で R N A 切断を触媒することが知られている。

【0202】

センス核酸

本明細書において説明される治療方法において有用な作用物質としては、表 2、4、6

10

20

30

40

50

、 8、 10、 13、 15、 17、 および 19 に列挙したマイクロ RNA (例えば成熟マイクロ RNA または前駆マイクロ RNA) のいずれかの発現または活性を増加させる、または表 21 に列挙した炎症性マーカーをコードする mRNA のいずれかの発現または活性を増加させるセンス核酸分子が挙げられる。センス核酸は、表 2、 4、 6、 8、 10、 13、 15、 17、 および 19 に列挙したマイクロ RNA (例えば成熟マイクロ RNA または前駆マイクロ RNA) のいずれか 1 つの配列、または表 21 に列挙した mRNA のいずれか 1 つの配列と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 %) 同一な配列を含んでいてもよい。センス核酸は、これらに限定されないが、本明細書において説明される修飾 (例えば主鎖の修飾、核酸塩基の修飾、糖の修飾、または 1 つまたは複数のコンジュゲートした分子) のいずれかのうち 1 つまたは複数を含んでいてもよい。センス核酸の作製および投与方法は、当技術分野で公知である。本明細書では、追加のセンス核酸の作製および使用方法が説明される。 10

【 0203 】

抑制性核酸およびセンス核酸の作製および使用

本明細書において説明される方法を実施するのに用いられる核酸配列は、 RNA 、 cDNA 、ゲノム DNA 、ベクター、ウイルスまたはそれらのハイブリッドのいずれかにかかわらず、様々な源から単離し、遺伝操作し、增幅し、および / または組換えによって発現 / 生成することができる。組換え核酸配列は、個々に単離してもよいし、またはクローニングして所望の活性について試験してもよい。あらゆる組換え発現系を用いることができ、このような発現系としては、例えば *in vitro* 、細菌、真菌性、哺乳動物、酵母、昆虫、または植物細胞の発現系などが挙げられる。 20

【 0204 】

本発明の核酸配列 (例えば本明細書において説明される抑制性核酸またはセンス核酸のいずれか) は、送達用ベクターに挿入されて、ベクター内の転写単位から発現させてもよい。組換えベクターは、 DNA プラスミドまたはウイルスベクターであってもよい。ベクター・コンストラクトの作製は、当技術分野で周知のあらゆる適切な遺伝子操作技術を用いて達成することができ、このような技術としては、これらに限定されないが、例えば Sambrook ら、 Molecular Cloning : A Laboratory Manual. (1989) 、 Coffin ら、 (Retroviruses. (1997)) および 「 RNA Viruses : A Practical Approach 」 (Alan J. Cann 編、 Oxford University Press (2000)) に記載されているような、標準的な PCR 技術、オリゴヌクレオチド合成、制限エンドヌクレアーゼ消化、ライゲーション、形質転換、プラスミド精製、および DNA 配列決定が挙げられる。 30

【 0205 】

当業者には当然のことながら、本発明の核酸を細胞に移すために様々な適切なベクターが利用可能である。核酸を送達するのに適したベクターの選択、選択された発現ベクターを細胞に挿入する条件の最適化は当業者の技術範囲内であり、余計な実験を必要としない。ウイルスベクターは、パッケージング細胞中で組換えウイルスを生産するための配列を有するヌクレオチド配列を含む。本発明の核酸を発現するウイルスベクターは、これらに限定されないが、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ポックスウイルス、またはアルファウイルスなどのウイルス主鎖をベースとして構築してもよい。本発明の核酸を発現することができる組換えベクター (例えばウイルスベクター) は、本明細書において説明されているようにして送達して、標的細胞 (例えば安定な形質転換体) で維持してもよい。例えば、このような組換えベクター (例えば、 hsa - miR - 155 に相補的なアンチセンスオリゴマーの発現を起こす組換えベクター) は、対象の髄液に (例えば注射または注入) 投与することができる (例えば、頭蓋内注射、脳実質内注射、脳室内注射、および髄腔内注射、例えば Bergen ら、 Pharmaceutical Res. 25 : 983 ~ 998, 2007 を参照) 。また本明細書において説明される核酸のいずれかを発現させるのに使用できる多数の例示的な組換えウイルスベクターも Bergen ら (上記) によって説明されている。組換えウイルスベクターの追加の例は、当技術分野で公知である。 40

【0206】

本明細書において提供される核酸（例えば抑制性核酸）はさらに、対象に投与（例えば、対象の體液に注射または注入）する前に、カチオン性ポリマー（例えば、ポリ-L-リシンおよびポリ（エチレンイミン）、カチオン脂質（例えば、1,2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウムプロポン（propone）（DOTAP）、N-メチル-4-（ジオレオイル）メチルピリジニウム、および3-[N-(N',N'-ジメチルアミノエタン)-カルバモイル]コレステロール）、および/またはナノ粒子（例えば、カチオン性ポリブチルシアノアクリレートナノ粒子、シリカナノ粒子、またはポリエチレングリコールベースのナノ粒子）のうち1種または複数種と複合体を形成してもよい。核酸の治療的送達のためのカチオン性ポリマー、カチオン脂質、およびナノ粒子の追加の例は、当技術分野で公知である。また核酸の治療的送達は、ポリエチレンイミン/DNA複合体の體腔内注射のあとに達成されることが示されている（Wangら、Mol. Ther. 12: 314~320, 2005）。本明細書において説明される核酸の送達方法は、限定されない。追加の対象への核酸の治療的送達方法は、当技術分野で公知である。

10

【0207】

いくつかの実施形態において、抑制性核酸（例えば、hsa-miR-155を標的化する1つまたは複数の抑制性核酸）は、全身投与してもよいし（例えば静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、または腹腔内）、またはクモ膜下に投与してもよい（例えば硬膜外投与）。いくつかの実施形態において、抑制性核酸は、1つまたは複数のカチオン脂質と組み合わせて（例えばそれらと複合体化して）投与される。1つまたは複数の抑制性核酸（例えば本明細書において説明される抑制性核酸のいずれか）を投与するのに用いることができるカチオン脂質の非限定的な例としては、リポフェクトアミン、WO97/045069、および米国特許出願公開第2012/0021044号、同第2012/0015865号、同第2011/0305769号、同第2011/0262527号、同第2011/0229581号、同第2010/0305198号、同第2010/0203112号、および同第2010/0104629号（これはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているカチオン脂質分子が挙げられる。本発明を実施するのに用いられる核酸配列は、in vitroで周知の化学合成技術により合成することもでき、例えば、Adams、J.Am.Chem.Soc.105:661、1983；Belousov、Nucleic Acids Res.25:3440~3444、1997；Frenkel、Free Radic.Biol.Med.19:373~380、1995；Blommers、Bioc hemistry 33:7886~7896、1994；Narang、Meth.Enzymol.68:90、1994；Brown、Meth.Enzymol.68:109、1979；Beaucage、Tetra.Lett.22:1859、1981；および米国特許第4,458,066号に記載されているようにして合成することもできる。

20

【0208】

本発明の核酸配列は、例えばヌクレオチド修飾などの修飾を取り入れることにより、核酸分解に対して安定化されていてもよい。例えば、本発明の核酸配列は、少なくともヌクレオチド配列の5'または3'末端における第1、第2、または第3のインターヌクレオチド結合にホスホロチオエートを含む。別の例として、核酸配列は、2'位で修飾されたヌクレオチド、例えば2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル（2'-O-MOE）、2'-O-アミノプロピル（2'-O-AP）、2'-O-ジメチルアミノエチル（2'-O-DMAOE）、2'-O-ジメチルアミノプロピル（2'-O-DMAP）、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル（2'-O-DMAEOE）、または2'-O--N-メチルアセトアミド（2'-O--NMA）を含んでいてもよい。別の例として、核酸配列は、少なくとも1つの2'-O-メチル-修飾ヌクレオチドを含んでいてもよく、いくつかの実施形態において、全てのヌクレオチドが、2'-O-メチル修飾を含む。いくつかの実施形態において、核酸は、「ロック」されており、すなわち、リボース環が2'-O原子と4'-C原子とを連結するメチレン架橋によって「ロック」された核酸類似体を含む（例えば、Kaupinenら、Drug Disc.Today 2(3):287~290、2005；Koshkinら、J.Am.Chem.Soc.、120(50):13252~13253、1998を参照）。追加の修飾については、U.S.2010/000043

30

40

50

20、U.S.2009/0298916、およびU.S.2009/0143326を参照されたい（これらはそれぞれ参考により本明細書に組み込まれる）。

【0209】

本発明を実施するのに用いられる核酸の取り扱い技術、例えばサブクローニング、標識付けプローブ（例えば、クレノーポリメラーゼ、ニックトランスレーション、増幅を用いたランダムプライマーによる標識付け）、配列決定、ハイブリダイゼーションなどは、科学文献および特許文献でよく説明されており、例えば、Sambrookら、Molecular Cloning ; A Laboratory Manual 3版. (2001) ; Current Protocols in Molecular Biology、Ausubelら編 (John Wiley&Sons, Inc., New York 2010) ; Kriegler, Gene Transfer and Expression : A Laboratory Manual (1990) ; Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology : Hybridization With Nucleic Acid Probes, Part I. Theory and Nucleic Acid Preparation、Tijssen編. Elsevier、N.Y. (1993) を参考されたい。
10

【0210】

抗体および組換えタンパク質

また表21に列挙した炎症性マーカー遺伝子のいずれかによってコードされたタンパク質に特異的に結合する1つまたは複数の抗体を対象に投与することによっても、神経変性疾患を治療することができる。表21に列挙したタンパク質に特異的に結合する抗体は、市販のものでもよいし、あるいは当技術分野で公知の標準的な方法を用いて作製してもよい。例えば、表21に列挙したタンパク質に特異的に結合するポリクローナル抗体は、哺乳動物を精製タンパク質で免疫化し、哺乳動物から精製タンパク質に特異的に結合する抗体を単離することによって作製することができる。用いられる抗体は、モノクローナル抗体であってもよいし、またはポリクローナル抗体であってもよい。投与される抗体は、免疫グロブリンGであってもよいし、または免疫グロブリンMであってもよい。投与される抗体は、キメラ（例えばヒト化抗体）であってもよいし、またはヒト抗体であってもよい。用いられる抗体はまた、抗体フラグメント（例えばF(ab)、F(ab')₂、Fv、および単鎖Fv(scfv)フラグメント）であってもよい。
20

【0211】

また表20に列挙した1つまたは複数の炎症性マーカータンパク質は、神経変性障害の治療のために対象に投与することもできる。分子生物学および細胞培養技術を用いて組換えタンパク質を生産する数種の方法が当技術分野で公知である。例えば、表20に列挙したmRNA配列によってコードされた炎症性マーカータンパク質は、（タンパク質発現プラスミドまたはウイルスベクターを用いて）トランスフェクションされた細胞による炎症性の発現を可能にする細菌、酵母、または哺乳動物細胞にトランスフェクションすることもできる。当技術分野で公知の方法を用いて、トランスフェクションされた細胞または培養培地を回収して、組換え炎症性マーカータンパク質を精製してもよい。対象に投与される炎症性マーカータンパク質は、表20に列挙したアミノ酸配列のいずれかに少なくとも80%（例えば、少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%）の同一性を有する配列を含んでいてもよい。対象に投与される炎症性マーカータンパク質はさらに、修飾（例えば、ポリエチレンギリコールもしくはHIVのtatタンパク質、または炎症性マーカータンパク質の細胞透過性を高める他のあらゆる部分）を含んでいてもよい。
30
40

【0212】

医薬組成物

本明細書において説明される方法は、本明細書において説明される抑制性核酸（例えば、hsa-miR-155を標的化する1つまたは複数の抑制性核酸）、センス核酸、炎症性マーカータンパク質、または抗体のうちいずれか1つまたは複数（例えば2、3、4、または5種）を含む医薬組成物および製剤の投与を含んでいてもよい。

【0213】

いくつかの実施形態において、本組成物は、医薬的に許容されるキャリアーと共に配合される。医薬組成物および製剤は、非経口投与、局所投与、経口投与してもよいし、ある
50

いは例えばエアロゾルまたは経皮で局所投与してもよい。医薬組成物は、あらゆる方法で配合することができ、状態または疾患および疾病的程度、各患者の一般健康状態、その結果の好ましい投与方法などに応じて様々な単位剤形で投与することができる。医薬の配合および投与技術に関する詳細は、科学文献および特許文献でよく説明されており、例えば、Remington : The Science and Practice of Pharmacy、21版、2005を参照されたい。

【0214】

抑制性核酸は、単独で投与してもよいし、または医薬製剤（組成物）の成分として投与してもよい。本化合物は、ヒトまたは獣医学に使用するのに便利なあらゆる方法で、投与用に配合することができる。また潤滑剤、乳化剤、および潤滑剤、例えばラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム、加えて着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤および着香剤、保存剤、ならびに抗酸化剤も組成物中に存在していてもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のカチオン脂質、カチオン性ポリマー、またはナノ粒子が、1つまたは複数の抑制性核酸を含む組成物（例えば、h s a - m i R - 155 を標的化する1つまたは複数の抑制性核酸を含む組成物）中に含まれていてもよい。

10

【0215】

本発明の組成物の製剤は、皮内、吸入法、経口／経鼻、局所、非経口、直腸、および／または膣内投与に適した製剤を含む。このような製剤は、都合のよい形態としては単位剤形で提供することができ、当技術分野で周知のあらゆる薬学的方法で調製することができる。単一剤形を生産するのにキャリアー材料と組み合わせることができる活性成分（例えば本発明の核酸配列）の量は、治療を受ける宿主、例えば皮内または吸入法などの具体的な投与様式に応じて様々であろうと予想される。単一剤形を生産するのにキャリアー材料と組み合わせができる活性成分の量は、一般的には治療効果をもたらす化合物の量であろうと予想される。

20

【0216】

本発明の医薬製剤は、医薬製造分野で公知のあらゆる方法に従って調製することができる。このような薬物は、甘味剤、矯味矯臭剤、着色剤、および保存剤を含んでいてもよい。製剤は、製造に適した非毒性の医薬的に許容される賦形剤と混合されていてもよい。製剤は、1つまたは複数の希釈剤、乳化剤、保存剤、緩衝剤、賦形剤などを含んでもよく、さらに、液体、粉末、エマルジョン、凍結乾燥粉末、スプレー、クリーム、ローション、放出制御製剤、錠剤、丸剤、ゲルのような形態、パッチ上、インプラント中などで提供されてもよい。

30

【0217】

経口投与用の医薬製剤は、当技術分野で周知の医薬的に許容されるキャリアーを用いて適切で都合のよい投与量で配合することができる。このようなキャリアーにより、患者による摂取に適した錠剤、丸剤、粉末、糖衣錠、カプセル、液体、ロゼンジ、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液等として医薬を単位剤形で配合できるようになる。経口で使用するための医薬調製物を固体賦形剤として配合し、任意選択で得られた混合物を磨り潰し、必要に応じて適切な追加の化合物を添加した後に顆粒の混合物を加工することにより、錠剤または糖衣錠コアを得てもよい。適切な固体賦形剤は、炭水化物またはタンパク質の充填剤であり、このようなものとしては、例えば、ラクトース、スクロース、マンニトール、またはソルビトールなどの糖類；トウモロコシ、コムギ、コメ、ジャガイモ、または他の植物由来のデンプン；例えばメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル-セルロース、またはナトリウムカルボキシ-メチルセルロースなどのセルロース；ならびにアラビアゴムおよびトラガカントゴムなどのゴム；ならびに例えばゼラチンおよびコラーゲンなどのタンパク質が挙げられる。例えば、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、アルギン酸、またはそれらの塩、例えばアルギン酸ナトリウムなどの崩壊剤または可溶化剤が添加されていてもよい。ブッシュフィット式カプセルは、ラクトースまたはデンプンなどの充填剤または結合剤、タルクまたはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、および任意選択で安定剤と混合された活性物質を含んでいてもよい。ソフトカプセルの場合、活性物質は、脂

40

50

肪油、流動パラフィン、または液体ポリエチレングリコールなどの適切な液体に、安定剤と共に、または安定剤なしで溶解または懸濁させてもよい。

【0218】

水性懸濁液は、活性物質（例えば本明細書において説明される抑制性核酸またはセンス核酸）を、例えば水溶液の皮内注射のための水性懸濁液の製造に適した賦形剤と混合した状態で含んでいてもよい。このような賦形剤としては、懸濁化剤、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴム、およびアラビアゴム、および分散剤または湿潤剤、例えば天然に存在するホスファチド（例えばレシチン）、酸化アルキレンと脂肪酸（例えばステアリン酸ポリオキシエチレン）との縮合生成物、エチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコール（例えばヘプタデカエチレンオキシセタノール）との縮合生成物、エチレンオキシドと、脂肪酸およびヘキシトール（例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート）から誘導された部分エステルとの縮合生成物、またはエチレンオキシドと、脂肪酸およびヘキシトール無水物（例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート）から誘導された部分エステルとの縮合生成物が挙げられる。水性懸濁液はまた、1つまたは複数の保存剤、例えばエチルまたはn-p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、1つまたは複数の着色剤、1つまたは複数の香味剤、および1つまたは複数の甘味剤、例えばスクロース、アスパルテーム、またはサッカリンを含んでいてもよい。製剤の浸透圧モル濃度を調節することができる。

【0219】

いくつかの実施形態において、本発明の核酸配列を投与するためにオイルベースの医薬が用いられる。オイルベースの懸濁液は、落花生油、オリーブ油、ゴマ油、もしくはヤシ油などの植物油、または流動パラフィンなどの鉛油；またはこれらの混合物中に活性物質を懸濁することによって配合されてもよい。例えば、生物学的利用率を高め、経口投与される疎水性医薬化合物の個体間および個体内での変動を減少させるために、エッセンシャルオイルまたはエッセンシャルオイル成分を用いることが説明されている米国特許第5,716,928号を参照されたい（また米国特許第5,858,401号も参照）。油懸濁液は、蜜蠍、固体パラフィン、またはセチルアルコールなどの増粘剤を含んでいてもよい。口当たりのよい経口用調製物を提供するために、グリセロール、ソルビトール、またはスクロースなどの甘味剤が添加されていてもよい。これらの製剤は、アスコルビン酸などの抗酸化剤の添加により保存することができる。注射用油性ビヒクリの例としては、Minto、J.Pharmacol.Exp.Ther.281:93~102、1997を参照されたい。

【0220】

また医薬製剤は、水中油型エマルジョンの形態であってもよい。油相は、上述された植物油もしくは鉛油、またはこれらの混合物であってもよい。適切な乳化剤としては、天然に存在するゴム、例えばアラビアゴムおよびトラガカントゴム、天然に存在するホスファチド、例えばダイズレシチン、脂肪酸およびヘキシトール無水物から誘導されたエステルまたは部分エステル、例えばソルビタンモノオレエート、ならびにこれらの部分エステルとエチレンオキシドとの縮合生成物、例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートが挙げられる。またエマルジョンは、例えばシロップやエリキシルの配合の場合、甘味剤や香味剤を含んでいてもよい。このような製剤はさらに、粘滑薬、保存剤、または着色剤を含んでいてもよい。その代わりの実施形態において、これらの本発明の注射用水中油型エマルジョンは、パラフィン油、モノオレイン酸ソルビタン、エトキシ化モノオレイン酸ソルビタン、および/またはエトキシ化トリオレイン酸ソルビタンを含む。

【0221】

医薬化合物はまた、例えば坐剤、通気法、粉末、およびエアロゾル製剤（例えばステロイド吸入剤、例えば、Rohatagi, J.Clin.Pharmacol.35:1187~1193、1995；Tjwa, Ann.Allergy Asthma Immunol.75:107~111、1995を参照）として、鼻腔内、眼球内、および膣内経路で投与されてもよい。坐剤の製剤は、薬物を、常温では固体であるが体温では液体の適切な非刺激性の賦形剤と混合することによって調製することができ、それゆえに体内で

10

20

30

40

50

溶融して薬物を放出するであろうと予想される。このような材料は、カカオバターやポリエチレングリコールである。

【0222】

いくつかの実施形態において、アプリケータースティック、溶液、懸濁液、エマルジョン、ゲル、クリーム、軟膏、ペースト、ゼリー、塗料、粉末、およびエアロゾルとして配合される医薬化合物は、局部経路により経皮送達することもできる。

【0223】

いくつかの実施形態において、医薬化合物はまた、体内で遅延放出させるためのマイクロスフェアとして送達することもできる。例えば、マイクロスフェアは、皮下で徐放される薬物の皮内注射により投与してもよいし (Rao, J. Biomater Sci. Polym. 7版 : 623 ~ 645、1995を参照) ; 生分解性の注射用ゲル製剤として投与してもよいし (例えば、Gao, Pharm. Res. 12 : 857 ~ 863、1995を参照) ; または経口投与用マイクロスフェアとして投与してもよい (例えば、Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49 : 669 ~ 674、1997を参照) 。

【0224】

いくつかの実施形態において、医薬化合物は、静脈内 (IV) 投与もしくは体腔内、臓器の内腔への投与、または頭蓋への投与 (例えば頭蓋内注射または注入) もしくは対象の髄液への投与などによって非経口投与されてもよい。これらの製剤は、医薬的に許容されるキャリアーに溶解させた活性物質溶液を含んでいてもよい。使用可能な、許容できるビヒクルおよび溶媒は、水およびリングル液、等張の食塩水である。加えて、溶媒または懸濁媒として滅菌した不揮発性油を使用することもできる。この目的のために、合成モノまたはジグリセリドなどのあらゆる刺激の少ない不揮発性油を使用することができる。加えて、オレイン酸などの脂肪酸も同様に注射液調製物に使用することができる。これらの溶液は滅菌されており、通常は望ましくない物質を含まない。これらの製剤は、従来の周知の滅菌技術により滅菌することができる。このような製剤は、必要に応じて、生理学的条件に近づけるための医薬的に許容される補助剤を含んでいてもよく、このような補助剤としては、例えばpH調節剤および緩衝剤、毒性を調節する作用物質、例えば酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどが挙げられる。これらの製剤中の活性物質濃度は、広範囲に様々であってよく、主として流体の体積、粘度、体重などに基づき、選択された特定の投与様式および患者の要求に従って選択されるであろうと予想される。IV投与の場合、製剤は、滅菌された注射用水性または油性懸濁液などの滅菌注射用調製物であってもよい。この懸濁液は、適切な分散剤または湿润剤と懸濁化剤とを用いて配合することができる。また滅菌注射用調製物は、1,3-ブタンジオール溶液などの非毒性の非経口で許容できる希釈剤または溶媒中の懸濁液であってもよい。投与は、ボーラスまたは持続注入 (例えば、特定の期間にわたり実質的に中断しないで血管に導入されること) によってなされてもよい。

【0225】

いくつかの実施形態において、医薬化合物および製剤は、凍結乾燥することができる。抑制性核酸またはセンス核酸を含む安定な凍結乾燥製剤は、本発明の医薬と、充填剤、例えばマンニトール、トレハロース、ラフィノース、およびスクロース、またはそれらの混合物とを含む溶液を凍結乾燥することによって作製することができる。安定な凍結乾燥製剤の調製方法は、約2.5mg/mLのタンパク質、約15mg/mLのスクロース、約19mg/mLのNaCl、および5.5より高いが6.5より低いpHを有するクエン酸ナトリウム緩衝液の溶液を凍結乾燥することを含んでいてもよい。例えばU.S.2004/0028670を参照されたい。

【0226】

組成物および製剤は、リポソームの使用によって送達することができる。リポソームを用いれば、特にリポソーム表面が標的細胞に特異的なリガンドを有するか、あるいは別の方法で選択的に特定の臓器に向けられている場合、in vivoで集中的に標的細胞に活性物質を送達することができる。例えば、米国特許第6,063,400号；同第6,007,839号；Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13 : 293 ~ 306、1996；Chonn, Curr. Opin.

10

20

30

40

50

n.Biotechnol.6 : 698 ~ 708、1995 ; Ostro, Am.J.Hosp.Pharm.46 : 1576 ~ 1587、1989を参照されたい。

【 0 2 2 7 】

本発明の製剤は、予防的および / または治療的処置のために投与することができる。いくつかの実施形態において、治療用途の場合、組成物は、本明細書において説明される障害のリスクがあるかまたはそのような障害を有する対象に、障害またはその合併症の臨床徴候を治癒する、緩和する、または部分的に抑えるのに十分な量で投与される。これは、治療有効量と呼ばれることがある。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の医薬組成物は、症状の数を減らす、または対象における 1 つまたは複数の神経変性障害の症状の重症度、持続時間、もしくは頻度を減少させるのに十分な量で投与される。

10

【 0 2 2 8 】

これを達成するのに十分な医薬組成物の量は、治療上有効な用量である。この使用にとつて有効な処方計画および量、すなわち投与計画は、疾患または状態の段階、疾患の重症度または状態、患者の健康状態の全身状態、患者の身体状態、年齢などの様々な因子によつて決まるであろうと予想される。患者にあった計画を計算する際、投与様式も考慮に入れる。

【 0 2 2 9 】

また計画は、当技術分野で周知の薬物動態学的パラメーター、すなわち活性物質の吸収速度、生物学的利用率、代謝、クリアランスなども考慮に入れる（例えば、Hidalgo-Aragones、J.Steroid Biochem.Mol.Biol.58 : 611 ~ 617、1996 ; Groning、Pharmazie 51 : 337 ~ 341、1996 ; Fotherby、Contraception 54 : 59 ~ 69、1996 ; Johnson、J.Pharm.Sci.84 : 1144 ~ 1146、1995 ; Rohatagi、Pharmazie 50 : 610 ~ 613、1995 ; Brophy、Eur.J.Clin.Pharmacol.24 : 103 ~ 108、1983 ; Remington : The Science and Practice of Pharmacy、21版、2005を参照）。最先端技術により、臨床医は、それぞれ個々の患者、活性物質、および治療される疾患または状態にあった計画を決定することが可能になる。医薬として用いられる類似の組成物のために提供されたガイドラインを指針として用いることにより、計画、すなわち本発明の方法の実施の際に投与される用量のスケジュールと投与量のレベルが、正しく適切であることを決定することができる。

20

【 0 2 3 0 】

単回または複数回の製剤の投与は、例えば患者が必要とし許容されるような投与量および頻度などに応じてなされてもよい。製剤は、効果的に状態、疾患、または症状を治療、予防または改善するのに十分な量の活性物質を提供すべきである。

30

【 0 2 3 1 】

その代わりの実施形態において、経口投与用の医薬製剤の 1 日の量は、約 1 ~ 1 0 0 mg / キログラム体重 / 日またはそれより多い量である。経口投与とは異なり、血流、体腔または臓器の内腔には、それよりも少ない投与量が用いられる可能性がある。局所もしくは経口投与、あるいは粉末、スプレー、または吸入法での投与では、それよりも実質的に高い投与量が用いられる可能性がある。非経口投与または非経口ではない投与が可能な製剤を調製する実際の方法は、当業者にはよく知られており明白であると予想され、Remington : The Science and Practice of Pharmacy、21版、2005のような出版物でより詳細に説明されている。

40

【 0 2 3 2 】

様々な研究で、相補的核酸配列を用いた哺乳動物投与の成功が報告されている。例えば、Esau C. ら、Cell Metabolism、3 (2) : 87 ~ 98、2006では、4 週間で週 2 回、1 2 . 5 ~ 7 5 mg / kg の範囲の腹膜内用の用量の m i R - 1 2 2 アンチセンスオリゴヌクレオチドを正常なマウスに投与することが報告されている。治療の終了時、マウスは、体重の損失または食物摂取の減少がなく、健康で正常に見えた。全ての用量で血漿トランスアミナーゼレベルは正常な範囲内 (A S T 3 / 4 が 4 5 、 A L T 3 / 4 が 3 5) であったが、用量 7 5 mg / kg の m i R - 1 2 2 A S Oだけは、極めて軽度の A L T および A S T レベルの増加を示した。著者らは、5 0 mg / kg が有効な非毒性の用量と結論付けた。

50

Krutzfeldt J.ら、Nature 438、685～689、2005による別の研究では、総用量 80、160 または 240 mg / kg 体重のアンタゴニアをマウスに注射することにより、m i R - 122 を無効にした。最大用量で m i R - 122 シグナルが完全に消失した。さらに別の研究では、靈長類にロット核酸（「LNA」）を適用して m i R - 122 の無効化に成功した。Elmenら、Nature 452、896～899、2008では、靈長類において、10 mg / kg の 1 LNA - 抗 m i R を 3 回投与することにより m i R - 122 の効率的な無効化が達成され、それにより総血漿コレステロールの長期にわたる可逆的な減少が起こり、研究動物において LNA 関連の毒性または組織病理学的变化に関する証拠はまったく示されなかつたことが報告されている。

【0233】

10

いくつかの実施形態において、本明細書において説明される方法は、他の薬物または医薬の共投与を含んでいてもよく、例えば、本明細書において説明される神経変性障害の治療のいずれかを共に施してもよい。

【0234】

キット

また、本明細書において、本明細書において説明されるプローブ、抑制性核酸、センス核酸、炎症性マーカータンパク質、または抗体のいずれかのうち 1 つまたは複数（例えば、少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、または 20 種）を（あらゆる組合せで）含むキットも提供される。いくつかの実施形態において、キットは、本明細書において説明される方法のいずれかを行うための説明書を含んでいてもよい。

20

【0235】

いくつかの実施形態において、キットは、表 1～19 に列挙したマイクロ RNA（例えば成熟マイクロ RNA または前駆マイクロ RNA）のいずれかに存在する配列を増幅するための、または表 20 および 21 に列挙した mRNA のいずれかに存在する配列を増幅するための、少なくとも 2 種のプライマー（例えば、少なくとも 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、36、38、または 40 種）を含んでいてもよい。

【0236】

30

いくつかの実施形態において、キットは、表 1～11 のいずれか 1 つに列挙したマイクロ RNA のうち 1 つまたは複数（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または 109 のプライマー対）（例えば、表 1 および 2；表 3 および 4；表 5 および 6；表 7 および 8；表 9 および 10；および表 11 からのマイクロ RNA のうち 1 つまたは複数（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または 109））に存在する配列を増幅する、および / または表 20 および / または表 21 に列挙した mRNA のうち 1 つ

40

50

または複数（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、または95）に存在する配列を増幅する2つ以上のプライマーセット（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109のプライマーペア）を含む（例えばALSTON診断キット）。

【 0 2 3 7 】

6、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109のプライマー対)を含む(例えばAL S診断キット)。

【0238】

いくつかの実施形態において、キットは、表1、2、および12～19のいずれか1つに列挙したマイクロRNAのうち1つまたは複数(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109)(例えば、表1および2；表12および13；表14および15；表16および17；および表18および19からの3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109のマイクロRNA)に集合的にハイブリダイズすることができる、および/または表20および/または表21に列挙したmRNAのうち1つまたは複数(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、または95)に集合的にハイブリダイズすることができる2つ以上のアンチセンスオリゴヌクレオチド(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109のプライマー対)を含む(例えばMS診断キット)。

【0239】

いくつかの実施形態において、キットは、表1、2、および12～19のいずれか1つに列挙したマイクロRNAのうち1つまたは複数(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、または109のプライマー対)を含む(例えばAL S診断キット)。

6、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、7
 6、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89
 、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、1
 02、103、104、105、106、107、108、または109) (例えば、表
 1および2；表12および13；表14および15；表16および17；および表18お
 よび19からの3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、1
 6、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、5
 6、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、87、88、89、90、91、92、93、94、または9
 5) に集合的にハイブリダイズすることができる2つ以上のアンチセンスオリゴヌクレオ
 チド (例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、1
 6、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、5
 6、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、87、88、89、90、91、92、93、94、95、9
 6、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、1
 07、108、または109のアンチセンスオリゴヌクレオチド) を含む (例えばMS診
 断キット)。

【0240】

いくつかの実施形態において、キットは、表1～19に列挙したマイクロRNA (例えば成熟マイクロRNAまたは前駆マイクロRNA) のいずれかに存在する配列または表20および21に列挙したmRNAのいずれかの内の配列とハイブリダイズするための、少なくとも2種のアンチセンス分子 (例えば、少なくとも4、6、8、10、12、14、16、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、または40種) を含んでいてもよい。

【0241】

いくつかの実施形態において、キットは、少なくとも1種の抑制性核酸、および/または少なくとも1種のセンス核酸 (例えば本明細書において説明される抑制性核酸またはセンス核酸のいずれか) を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、キットは、髄腔内もしくは頭蓋内注射または注入用に配合された少なくとも1種の抑制性核酸 (例えば、hsa-miR-155を標的化する少なくとも1種の抑制性核酸) を含む。

【0242】

いくつかの実施形態において、キットは、表20または表21に列挙した炎症性マーカ 50

—遺伝子のいずれかによってコードされたタンパク質のいずれか1つに特異的に結合する少なくとも1種の（例えば、少なくとも2、3、4、5、または6種の）抗体（例えば本明細書において説明される様々な抗体または抗体フラグメントのいずれか）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、抗体は、標識することができる（例えば、フルオロフォア、放射線同位体、酵素、ビオチン、またはアビジンで標識することができる）。

【0243】

いくつかの実施形態において、キットはさらに、少なくとも1種の追加の治療剤（例えば、KNS760704、SB509、セフトリアキソン、ミノサイクリン、リルテック、およびリルゾールのうち1つまたは複数）を含む。いくつかの実施形態において、キットはさらに、神経変性疾患（例えば孤発性ALS、および/または家族性ALS、またはMS）を有するかまたは神経変性疾患（例えば孤発性ALS、および/または家族性ALS、またはMS）を有すると診断された対象に少なくとも1種の作用物質（例えば、1つまたは複数の抑制性核酸）を投与するための説明書を含む。

【0244】

以下の実施例において本発明をさらに説明するが、これは特許請求の範囲に記載される発明の範囲を限定するものではない。

【実施例1】

【0245】

マウスのALSモデル（SOD1^{G93A}マウス）のLy6C^{Hi}単球、Ly6C^{Lo}単球、およびCD39⁺ミクログリアにおけるマイクロRNAの脱制御

Ly6C^{Hi}/CCR2⁺単球は、動物MSモデルなどの様々な状態における組織の損傷と疾患の病因に関する（Kingら、Blood 113: 3190~3197、2009）。症状を示す前の段階（60日）、症状の発症時、および疾患の末期における、CD39⁺ミクログリア（図1A~1C）、Ly6C^{Hi}単球（図2A~2C）、およびLy6C^{Lo}単球（図3A~3C）の、加えてマウスSOD1^{G93A}のALSモデルのマイクロRNA発現プロファイルを、非トランスジェニック同腹子の同じ細胞における発現と比較する実験を行った。

【0246】

これらのデータを、げっ歯類用TaqManローデンシティアレイ（Low Density Arrays）（TaqManマイクロRNAアッセイ、これは、364種のマウスのマイクロRNAアッセイを含む（各群でn=2のアレイ；群あたりマウス5~6匹を含むプール））を用いて集めた。マイクロアレイデータを分位数（Rソフトウェア）を用いて正規化し、サンプル間の変動を取り除いた。マイクロRNAの発現レベルを、全てのサンプルにわたりU6 miRNA（内部対照）に対するdCTと相乗平均を用いて正規化した。正規化工程後、群間の分散分析（ANOVA）を用いて、SOD1マウスにおいて全ての疾患段階にわたり有意に変化したマイクロRNAを定義した（0.1の偽発見率を使用）。

【0247】

全ての疾患段階におけるSOD1マウスの脾臓由来Ly6C^{Hi}およびLy6C^{Lo}単球のマイクロRNAのプロファイリングから、Ly6C^{Hi}脾臓由来単球では32種の有意に調節異常のマイクロRNAが示され、Ly6C^{Lo}脾臓由来単球では23種の調節異常のマイクロRNAが示された。臨床的な発症の1ヶ月前と疾患の進行中に、単球サブセットにおける全ての調節異常のマイクロRNAを観察した。これらのマイクロRNAの大半がLy6C^{Hi}単球とLy6C^{Lo}単球とでオーバーラップしなかったが、これは、これらの異なる単球サブセットは、疾患の進行中に異なる機能を有することを示唆するものである。SOD1マウスでの疾患の進行中に、脾臓のLy6C^{Hi}単球において、炎症関連のマイクロRNA、例えばlet-7a、miR-27a、miR-34a、miR-132、miR-146a、miR-451、およびmiR-155は有意に上方調節された（図2）。SOD1マウスにおけるLy6C^{Hi}単球のマイクロRNAプロファイルのIngenuityパスウェイアナリシスから、原発性筋障害で観察されたマイクロRNA発現のパターンが同定された（図4）。

10

20

30

40

50

【0248】

SOD1マウスにおけるCD39⁺ミクログリアのマイクロRNA発現プロファイリングからのデータから、非トランスジェニック同腹子の同じ細胞と比較して、24種のマイクロRNAが上方調節され、2種のマイクロRNAが下方調節されたことが示される。これらのマイクロRNAは、6種のマイクロRNA (let-7a, miR-27a, miR-34a, miR-132, miR-146a、およびmiR-155) を除いて、Ly6C^{H-i}単球で調節異常のマイクロRNAとは異なっていた。これらのデータは、CD39によって同定された常在性ミクログリアと浸潤性Ly6C単球とで差があることを実証し、SOD1マウスにおけるミクログリアの独特なマイクロRNAパターンを同定する。

10

【実施例2】

【0249】

ALSおよびMSを有する対象のCD14⁺CD16⁻単球中で調節異常のマイクロRNA

マウス単球で観察された独特なマイクロRNAプロファイルを考慮して、ALS対象およびMS対象からのヒト血液由来CD14⁺CD16⁻単球 (Ly6C^{H-i}類似体) でマイクロRNA発現プロファイリングを行った。この実験は、孤発性ALSを有する対象 (n = 8)、再発寛解型MSを有する対象 (n = 8)、および健康な対照 (n = 8) からの血液由来CD14⁺CD16⁻単球における664種のマイクロRNAのnCounter発現プロファイリングである。マイクロRNA発現レベルを、5種のハウスキーピング遺伝子 (ACTB、B2M、GAPDH、RPL19、およびRPLP0) の相乗平均に對して正規化した。ALSまたはMS対象からの単球中のマイクロRNA発現と、健康な対照における発現とを比較するヒートマップを、ダネットの事後検定を用いたANOVAにより作製した (p < 0.01) (それぞれ図5、6、および33)。図7Aは、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で特に上方調節されたマイクロRNAの数、加えてALSおよびMS対象の両方からのCD14⁺CD16⁻単球で上方調節されたマイクロRNAの数を示す。また図7Aは、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で特に下方調節されたマイクロRNAの数、加えてALSおよびMS対象の両方からのCD14⁺CD16⁻単球で下方調節されたマイクロRNAの数も示す。図7Bは、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較して、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中で有意に脱制御されたマイクロRNAを示すボルケーノプロットである。図7Cは、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較して、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中で有意に脱制御されたマイクロRNAを示すボルケーノプロットである。図8は、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較して、ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で脱制御されたマイクロRNAの要約を示す。

20

【0250】

ALSおよびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における特異的なマイクロRNAの調節異常 (健康な対照と比較して) を、リアルタイムPCRを用いて確認した。例えば、リアルタイムPCRを用いて、ALS対象 (n = 11) からのCD14⁺CD16⁻単球におけるhsa-miR-27a、hsa-miR-190、hsa-miR-500、hsa-miR-155、およびhsa-miR-532-3pの、健康な対照 (n = 8) からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較した上方調節を確認した (両側マン-ホイットニーt検定) (図9)。追加のリアルタイムPCR実験を行って、ALS対象 (n = 8; これらの対象の臨床的なスコア付けは、図10Aおよび10Bに示される) からのCD14⁺CD16⁻単球におけるマイクロRNAの、MS対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較して独特な上方調節を確認した (図10C)。図10Cに記載のデータから、20種の異なるマイクロRNA: hsa-miR-19b、hsa-m

30

40

50

i R - 1 0 6 b、h s a - m i R - 3 0 b、h s a - m i R - 2 1、h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p、h s a - m i R - 2 7 a、h s a - m i R - 1 6、h s a - m i R - 3 7 4 a、h s a - m i R - 3 7 4 b、h s a - m i R - 1 0 1、h s a - m i R - 3 4 0、h s a - m i R - 3 0 e、h s a - m i R - 2 9 c、h s a - m i R - 2 9 a、h s a - m i R - 2 2 3、h s a - m i R - 2 6 a、h s a - m i R - 2 6 b、h s a - m i R - 2 4、h s a - m i R - 1 8 1 a、およびh s a - m i R - 1 0 3が、MS対象および健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較して、CD14⁺CD16⁻単球で特に上方調節されることが示される。また、第2の一連のリアルタイムPCR実験(図11)で、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるh s a - m i R - 2 7 a、h s a - m i R - 1 5 5、h s a - m i R - 1 4 6 a 10 、およびh s a - m i R - 5 3 2 - 3 pの、MS対象および健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較して独特な上方調節も確認された(マイクロRNA発現は、U6 miRNAを用いたdCTに対して正規化された)。追加のリアルタイムPCR実験を行って、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるh s a - m i R - 5 1 8 f、h s a - m i R - 2 0 6、h s a - m i R - 2 0 4、h s a - m i R - 1 3 7、h s a - m i R - 4 5 3、h s a - m i R - 6 0 3、h s a - m i R - 1 2 9 7、h s a - m i R - 1 9 2、h s a - m i R - 5 2 6 a、h s a - m i R - 6 1 5 - 5 p、h s a - m i R - 6 5 5、h s a - m i R - 4 5 0 b - 5 p、h s a - m i R - 5 4 8 b - 3 p、h s a - m i R - 5 8 4、h s a - m i R - 5 4 8 f、h s a - m i R - 3 0 0、h s a - m i R - 3 0 2 c、h s a - m i R - 3 2 8、h s a - m i R - 4 2 1、およびh s a - m i R - 5 8 0の、MS対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較して独特な下方調節を確認した(図12)。

【0251】

さらなる一連のリアルタイムPCR実験を行い、ALSおよびMS対象の両方からのCD14⁺CD16⁻単球におけるh s a - m i R - 2 4、h s a - m i R - 9 3、h s a - m i R - 2 0 a、h s a - l e t - 7 a、h s a - m i R - 3 0 c、h s a - m i R - 1 8 1 a、h s a - m i R - 4 3 2 - 3 p、およびh s a - m i R - 1 2 6 0の、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較した上方調節を検証した(図13)。追加の一連のリアルタイムPCR実験を行い、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるh s a - m i R - 3 2 0 c、h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 6 6 4、h s a - m i R - 4 2 3 - 5 p、およびh s a - m i R - 9 2 aの、健康な対照と比較した上方調節を検証した(図14)。またこれらのデータから、h s a - m i R - 6 6 4は、ALS対象および健康な対照の両方からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこのマイクロRNAの発現と比較して、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で特に上方調節されることが確認されたことも示される(図14)。

。

【0252】

加えて、MS対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるh s a - m i R - 1 4 2 - 3 p、h s a - m i R - 1 5 a、h s a - m i R - 1 5 3 7、h s a - m i R - 3 6 2 - 3 p、およびh s a - m i R - 1 4 8 bの、ALS対象および健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球におけるこれらのマイクロRNAの発現と比較して独特な下方調節を、リアルタイムPCRを用いて確認した(図15)。

【実施例3】

【0253】

孤発性ALSおよび家族性ALSを有する対象からの髄液における異常なマイクロRNAレベル

またマイクロRNA発現プロファイリングは、孤発性ALSおよび家族性ALSを有する対象からの髄液(CSF)を用いることによっても行われた。孤発性ALS(n=10)および家族性ALS(n=5)対象両方からのCSF中のマイクロRNAのレベルを、

10

20

30

40

50

健康な対照 ($n = 10$) の C S F 中のマイクロ RNA のレベルと比較した。得られたデータから、孤発性 A L S および家族性 A L S の両方を有する対象の C S F 中で、 h s a - m i R - 27b が、健康な対照の C S F 中のこのマイクロ RNA のレベルと比較して増加していること、さらに孤発性 A L S を有する対象からの C S F 中で、 h s a - m i R - 99b、 h s a - m i R - 146a、 h s a - m i R - 150、 h s a - m i R - 328、および h s a - m i R - 532 - 3p が、健康な対照または家族性 A L S を有する対象からの C S F 中のこれらのマイクロ RNA のレベルと比較して特に上方調節されること (図 16) が示される。

【実施例 4】

【0254】

炎症関連遺伝子は、 A L S および M S を有する対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球でも調節異常である

179種の炎症関連遺伝子 (「炎症性マーカー遺伝子」) の発現プロファイリング解析を、 A L S 対象 ($n = 8$) 、 M S 対象 ($n = 11$) 、および健康な対照 ($n = 10$) からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球を用いて行った。 A L S または M S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球における異なる炎症性マーカー遺伝子の発現の、健康な対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこれらの遺伝子の発現と比較した変化を示すヒートマップを図 17 に示す)。 A L S および M S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球で調節異常の炎症性マーカー遺伝子の、健康な対照からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこれらの遺伝子の発現と比較したボルケーノプロットを図 18 A (それぞれ左のグラフおよび右のグラフ) に示す。 A L S および M S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球で、健康な対照からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこれらの遺伝子の発現と比較して上方調節または下方調節された炎症性マーカー遺伝子のリストを図 18 B に示す。

【実施例 5】

【0255】

A L S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球でも調節異常なマイクロ RNA

さらに A L S 対象 ($n = 11$) および健康な対照 ($n = 8$) の両方からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球を用いてもマイクロ RNA の発現プロファイリングを行った (図 19)。これらのデータから、 h s a - m i R - 708 が、健康な対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこのマイクロ RNA の発現と比較して A L S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球で増加していることが示される。

【0256】

n C o u n t e r 発現プロファイリングを行って、健康な対象からの ($n = 8$) C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるマイクロ RNA 発現と比較して、 A L S ($n = 8$) および M S 対象 ($n = 8$) からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球で調節異常の追加のマイクロ RNA を同定した。これらの実験におけるデータを、 5 種の異なるハウスキーピング遺伝子 (A C T B 、 B 2 M 、 G A P D H 、 R P L 19 、および R P L 10) の相乗平均に対して正規化した。これらの実験では、 664 種のマイクロ RNA の発現を解析した (図 20 A ~ C)。 A L S 対象および M S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるマイクロ RNA の、健康な対照からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこれらのマイクロ RNA の発現と比較した相対的な発現のヒートマップを、それぞれ図 21 A および図 20 B に示す。図 20 C に、 A L S および M S 対象からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球において、健康な対照からの C D 14⁺ C D 16⁻ 单球におけるこれらのマイクロ RNA の発現と比較して有意に脱制御されたマイクロ RNA の要約を示す。

【実施例 6】

【0257】

S O D 1^{G 9 3 A} マウスからの L y 6 C^{H i} 单球および C D 39⁺ ミクログリアで発現された炎症促進性マーカー

臨床疾患発症の 1 カ月前と疾患の進行中に、 S O D 1 マウスの脾臓から単離した L y 6 C^{H i} 单球の遺伝子発現プロファイルである。両方の時点で炎症促進性の遺伝子を発現さ

10

20

30

40

50

せた(図21A)。nCounterによって測定された179種の炎症性マーカー遺伝子のうち、97種が(非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{H-i}単球と比較して)発現が変化したことが検出され:40種が、SOD1マウスからのLy6C^{H-i}単球において、少なくとも1つの疾患段階で(非トランスジェニック同腹子と比較して)遺伝子が上方調節されたことが検出された。SOD1マウスのLy6C^{H-i}単球において、TGF-1およびTGF-1受容体などの7種の遺伝子が、非トランスジェニック同腹子からのLy6C^{H-i}単球と比較して下方調節された(図21B)。生物学的ネットワーク解析から、CREB1、NF-kB、PU.1、およびPPARを含む本発明の解析で最も有意に影響を受けた経路は炎症性反応に関連することが実証される(図21C)。これらの経路は、単球の活性化と分化の両方において重要な役割を果たすことが示されている。遺伝子発現プロファイリングから、SOD1マウスの末梢免疫区画には活性化された炎症促進性Ly6C^{H-i}単球の集団があることが実証される。
10

【0258】

SOD1マウスの脊髄および脳から単離したCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアの発現プロファイリングを異なる疾患段階で行った。179種の炎症性マーカー遺伝子のうち120種が検出され、20種の遺伝子が、SOD1マウスからのCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアにおいて(非トランスジェニック同腹子からのCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアと比較して)上方調節され(図21D)、38種の遺伝子が、SOD1マウスからのCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアにおいて(非トランスジェニック同腹子からのCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアと比較して)下方調節された(図21E)。SOD1マウスからのCD11b⁺/CD39⁺ミクログリアミクログリアは、非トランスジェニック同腹子の同じ細胞と比較して、走化性に関する遺伝子(例えばCCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CXCR4、およびCXCR10)を有意に発現した。興味深いことに、下方調節された遺伝子のなかでも特に、TGF-1およびTGF-1受容体が下方調節された。生物学的ネットワーク解析から炎症経路の活性化が実証され、最も顕著なのは走化性であった(図21F)。これらの遺伝子の発現は症状の発症よりも前に起こり、脊髄では観察されたが、脳では観察されなかった(図21G)。
20

【実施例7】

【0259】

ALS対象のCD14⁺CD16⁻単球で発現された炎症促進性マーカー

30

ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における免疫関連遺伝子発現を実施例6で説明されているようにして解析した。数種の炎症関連遺伝子が、健康な対照と比較して、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で上方調節された。ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球とMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球とでは免疫関連遺伝子発現にある程度の差があったが、ALS対象およびMS対象からのCD14⁺CD16⁻単球における免疫関連遺伝子発現パターンは類似していた(図22A~C)。

【0260】

さらなる一連の実験で、ALS(孤発性および家族性ALS)を有する対象からのCD14⁺CD16⁻単球における511種の免疫関連遺伝子の発現を解析した。これらの実験は、定量的NanoString nCounter技術を用いて行われた。これらの実験から集められたデータと実施例6に記載されたデータを、GeneGoおよびIngenuity(登録商標)パスウェイアナリシスを用いてさらに解析した。
40

【0261】

健康な対照に対して、SOD1マウス脊髄CD39⁺ミクログリアおよび脾臓由来Ly6C^{H-i}単球で、さらに孤発性ALS対象の血液由来CD14⁺CD16⁻単球で差次的に上方調節された遺伝子を、GeneGo Metacoreパスウェイアナリシス(GeneGO、St. Joseph、MI)を用いて解析した。この方法は、所定のオントロジーにおいて過剰に存在する転写物を同定する。偽発見率(FDR)フィルターをq値計算を用いて予備的なP値に適用した。エンリッチメント後、所定のオントロジー内の全てのタームについてP値を計算し、それぞれのタームを別個の仮説として試験した。得ら
50

れた q 値は、校正済みの P 値を表し、加えて所定のオントロジーにおける総タームの説明と特定のタームの順位を表す。同定された有意に調節異常の遺伝子をさらに解析して、SOD1マウスおよびヒトALSにおける生物学的経過／疾患の経過と関与する経路／ネットワークを同定した。脊髄からのCD39⁺ミクログリアにおける58種の調節異常の遺伝子とSOD1マウスからのLy6C^{H/i}脾臓由来单球における47種の調節異常の遺伝子の全データセットをMetaCoreにインポートして、GeneGoプロセス、GeneGo疾患経過、正規の経路マップ、およびネットワークを用いた機能的なオントロジーの解析を構築した。マップ、ネットワーク、およびプロセスのためのMetaCore全体にわたる統計的有意性の計算は、超幾何分布に基づき計算された P 値に基づきなされた。P 値は、偶然生じる特定のマッピングの確率のことであり、マップ／ネットワーク／プロセスに存在する全ての遺伝子、特定のマップ／ネットワーク／プロセスにおける遺伝子、および実験における遺伝子のセット中の遺伝子数を表す。0.01のP 値をカットオフに用いた。アップロードされたデータセットの異なるカテゴリーに関する関連性の程度は P 値で定義され、ここで P 値が低ければ低いほどより優先順位が高いことを示す。実験データをインプットしてネットワークを構築した。ネットワーク構築アルゴリズムによって作製された小さいサブネットワークをランク付けするのに使用された3種の異なるスコアリング関数は、zスコア、gスコア、およびp値であった。zスコアは、実験からの遺伝子での飽和度に関してサブネットワークを（解析されたネットワーク内に）ランク付けする。高いzスコアは、そのネットワークが、実験で同定された調節異常の遺伝子で高度に飽和していることを意味する。言い換えれば、特定のネットワークにおいて比較的多数の遺伝子／分析物の数が水性サンプル中に存在することを意味する。各ネットワークは、ネットワークを構築するのに用いられた正規の経路で構成される。ネットワークが高いgスコアを有する場合、ネットワークは、（zスコアからの）発現された遺伝子で飽和しており、多くの正規の経路を含む。この解析は、偽発見率を推測することにより複数回の試験で制御した。測定された664種のマイクロRNAのうち、56種が確実に検出され、20種が少なくとも1つの疾患群で差次的に発現された。

【0262】

ターゲットスキャン14.1を用いて、miRNA-mRNA相互作用の統計的有意性を調査した。ターゲットスキャン14.1を用いて、862044種の保存されたmiRNA結合部位を、保存の尺度であるゼロ以外のコンテクストスコアを用いて予測した。SOD1マウスのデータセットにおいて：Ingenuity（登録商標）パスウェイアナリシス（IPA）を用いたmiRNA標的的フィルタリング解析により、10797種のmRNAを標的化すると予測される34種のmiRNAファミリーが得られた。これらのデータをフィルタリングして、細胞性免疫応答、体液性免疫応答、およびサイトカインシグナル伝達に関するシグナル伝達経路を表すIPA正規経路カテゴリーに関する遺伝子のみが含まれるようにした。その結果、免疫応答シグナル伝達に関する可能性がある971種のmRNAを標的化する34種のマイクロRNAをフィルタリングにより得た。mRNA発現研究をNanostringのプラットフォームを用いてまとめ、解析した。971種のフィルタリングして得られた標的は、miRNA-mRNA調節の逆の性質を考慮して、SOD1マウスで調節異常の47種の免疫関連遺伝子を含む。それにより、27種のmiRNAファミリーと33種のmRNAとを表す最終的な87対のmiRNA-mRNA相互作用が示された。ALS対象研究のmiRNA発現において、56種のmiRNAがALS対象で有意に調節異常であることが見出された。予測された862044の部位をフィルタリングしてこれら56種のmiRNAの標的を含むものだけにすることで、予測された部位の数を減らす（34118の部位に減少させる）。免疫学的なパネルのナノストリングアレイで、mRNA標的へのデータを、1.4より高い倍率変化で調節されることが見出された遺伝子に制限することにより、部位の数をさらに減らした。最終的なデータから、mRNAとmiRNAとが逆に調節される68種の独特なmiRNA-mRNA相互作用対が示される。56種の調節異常のmiRNAによって形成されたこれらの68種のmiRNA-mRNA相互作用の統計的有意性をさらに以下のようにして評

価した：1) 上記研究からの56種の無作為に選択された調節されないmRNAを含む1000種の無作為なネットワークを使用して、結合のために3'-UTRモチーフを含むmRNAを見出し、2) mRNA-mRNA対をさらにフィルタリングし、ALS対象で調節異常の59種のmRNAのみが含まれるようにした。平均44.88の相互作用が観察された（SD=9.99）。発現研究で決定された真の相互作用は68であり、これは、有意なP値に相当する（ $<1.1 \times 10^{-15}$ ）。SOD1マウスにおける調節されたmRNA-mRNA対に関する類似の解析から、平均15.26（SD=4.03）の相互作用分布が示され、それに対して実験的に決定された真のmRNA-mRNA相互作用は、41であり、有意なP値は $<5.7 \times 10^{-9}$ であった。

【0263】

データから、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球は、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して独特な免疫関連遺伝子の発現を有することが示される。加えて、家族性ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して、孤発性ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で、いくつかの免疫関連遺伝子が差次的に発現される（図23A～C）。これら結果は、ALS患者および健康な対照の独立したコホートで、シングルプレックスqPCRを用いて検証された（CCL2、AHR、PTAFR、NF-B、TRAF3、FCER1A、CXCR4、およびSOCS1の発現の変化が検証された）（図24）。これらのデータから、CCL2、AHR、PTAFR、NF-B、およびTRAF3は、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して上方調節されること、さらにCXCR4およびSOCS1は、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で、健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球と比較して下方調節されることが確認される。

【0264】

IngenuityマイクロRNA-mRNAターゲットフィルターアナリシスはさらに、SOD1マウスからのLy6C^{H-i}細胞における上位10種のマイクロRNA-miRNA相互作用は、ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球で最も有意に調節異常であることが見出された遺伝子と関連を有することも明らかにした（図25）。

【0265】

ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球におけるmRNAおよびmRNA発現プロファイルの両方のさらなる評価から、CD14⁺CD16⁻単球におけるmRNAおよび遺伝子発現に関する異常は、炎症関連および免疫関連遺伝子に関連がある（図26および図27）ことが示される。これらのCD14⁺CD16⁻単球におけるmRNA-mRNA相互作用を解析したところ、SOD1マウスおよびALS対象の両方において、この相互作用は、ターゲットスキャン4.1予測解析により統計学的に有意であることが示された（図28）。さらに、GeneGoパスウェイアナリシスにより、9種の炎症関連のネットワークが同定された（図29）。これらの炎症ネットワークは、（本明細書において説明される研究で）SOD1マウスLy6C^{H-i}単球において調節異常であることが観察されたものと同一であった。

【実施例8】

【0266】

SOD1^{G93A}モデルにおけるmiR-155の治療的役割

miR-155の有意な上方調節は、臨床的な発症の前に、脾臓由来Ly6C^{H-i}単球および脊髄由来ミクログリアで起こり、このような上方調節はSOD1^{G93A}マウスにおける疾患の進行の全ての段階で増加した（上記データを参照）。追加の実験を行って、miR-155は、ALSの発症/病因において役割を果たすかどうかを決定した。これらの実験では、SOD1マウス（ALSモデル）をさらに遺伝子操作して、miR-155の発現をノックダウンまたはノックアウトした。

【0267】

動物および行動に関する解析

B6/SJL-SOD1^{G93A}TgおよびSOD1-野生型(WT)をPrize4

10

20

30

40

50

Life から入手するか、または Jackson Laboratories から購入した。ALS マウスを、30 日目と 60 日目（症状を示す前）、90 ~ 100 日目（初期の症状）、および 120 ~ 140 日目（後期の症状 / 末期）の時点で解析した。症状の発症を体重曲線のピークと目視観察での筋衰弱の徴候によって定義した。末期疾患を、症候の進行と動物の取り扱いのガイドラインによって決定した（従って、135 の時点とは ± 5 日異なる）。疾患の進行を、Prize 4 Life と Jackson Laboratory によって提供された確立された方法に従って文書化した。80 日目から毎日モニターし、3 ~ 4 日毎に体重を測定することによって症候の解析を行った。症候の発症を、動物の体重が低下し始める日齢と定義した。各マウスの両方の後肢の神経学的スコアを 50 日齢から毎日評価した。神経学的スコアでは、ALS 治療開発研究所 (ALS Therapy Development Institute) (ALSTDI) により開発された 0 ~ 4 のスケールが用いられた。各スコアレベルを割り当てるのに使用された基準は以下の通りである：0 = マウスを尻尾で吊り下げる、マウスをこの位置で 2 秒ホールドし、さらに 2 ~ 3 回吊り下げる場合、後肢が正中線から外側に向かって十分伸長すること；2 = 尻尾で吊り下げる最中に、正中線から外側に肢を伸ばせないか部分的に伸ばせない（衰弱）または後肢が震えること；2 = 歩行中におけるつま先の巻き込みと少なくとも 1 本の肢の引き摺り；3 = 硬直または関節が最小限しか動かないこと、前方への動きに足が利用されないこと；および 4 = マウスが、どちらの側からも 30 秒間起き上がれないか、安楽死。

【0268】

10

SOD1^{G93A} / miR-155^{-/-} の作製

雄 SOD1^{G93A} [B6.Cg-Tg(SOD1^{G93A})1Gur/J] マウスを非 Tg C57BL/6 miR155^{-/-} 雌と共に飼育した。非トランスジェニック miR155^{-/-} を F1 - SOD1^{G93A} / miR155^{-/-} に戻し交配して、miR155 が欠失した F2 - SOD1^{G93A} / miR155^{-/-} を生産した。マウスを、神経行動学的な試験（ロータロッド性能および神経学的スコア）で臨床的に評価し、続いて miR-155 の発現レベルが異なる SOD1 マウスの 3 つの実験群の生存率を評価した：1) SOD1^{G93A} / miR155^{+/+}；2) SOD1^{G93A} / miR155^{-/+}；および 3) SOD1^{G93A} / miR155^{-/-}。

【0269】

20

SOD1 マウスにおける miR-155 の標的化

miRNA とそれらの標的との直接的な相互作用を証明するために、可能性のある miRNA 結合部位を有する 3' UTR を有しているルシフェラーゼレポーターを利用する。miRNA 結合部位の部位特異的変異誘発により、ルシフェラーゼレポーターの miRNA 調節への応答性が無効になり、これが、直接的な標的化の証明になるであろうと予想される。

【0270】

30

フローサイトメトリー

Cardona ら (Nat. Protoc. 1 : 1947 ~ 1951, 2006) で説明されているようにして、マウス脊髄から単核細胞を直接単離したが、本発明者らは、ディスパーゼは数種の表面分子を切断して表面での表面分子検出を低減させる可能性があることを見出したため、ディスパーゼを用いなかった。マウスを氷冷したリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で経心臓的に灌流し、脊髄と脳を別々に解剖した。単一の細胞懸濁液を調製し、37% / 70% の不連続なパーコール勾配 (GE Healthcare) で遠心分離し、境界面から単核細胞を単離し、全細胞数を決定した。細胞を抗 CD16 / CD32 (Fc Block BD Biosciences) で予めブロッキングし、抗 Ly6C - FITC、CD11b - PE - Cy (商標) 7、および 4D4 - APC (独特なミクログリア抗体) の組合せで氷上で 30 分染色した。7AAD - PerCP を用いて、初期のアポトーシスを起こした細胞と死細胞を検出するかまたは除去した (BD Biosciences)。全ての染色に適切な抗体 IgG アイソタイプ対照 (BD Biosciences) を使用した。蛍光

40

50

活性化細胞分類法(F A C S)解析を L S R 装置(B D B i o s c i e n c e s)で行い、その後 F l o w J o ソフトウェア(T r e e S t a r S o f t w a r e)でデータを解析した。

【 0 2 7 1 】

定量的 N a n o S t r i n g n C o u n t e r による m i R N A / 遺伝子発現解析

Na n o s t r i n g n C o u n t e r 技術を用いて、最大 8 0 0 種の炎症関連遺伝子の発現を研究した。また炎症および免疫応答中に差次的に発現された遺伝子からなる 1 7 9 種の炎症関連転写物のマルチプレックス標的プロファイリングも上述のようにして行った。

【 0 2 7 2 】

得られたデータから、 S O D 1 ^{G 9 3 A} / m i R 1 5 5 ^{+ / -} 動物の疾患発症と生存率について、 S O D 1 ^{G 9 3 A} 動物と比較して有意な遅延がみられたことが示される。(表 2 2 および 2 3 、ならびに図 3 0 ~ 3 4)。マウスの体重を 8 0 日目から始めて 3 ~ 4 日毎に評価し、マウスの臨床神経学的スコアを毎日評価し、ロータロッド性能を週 3 回評価した。データから、遺伝学的に m i R - 1 5 5 を欠失させることにより、生存が 5 1 日延長し(P < 0 . 0 0 0 1 ; 図 3 0)、 2 の神経学的スコアに到達するまでの時間が 4 9 日延長し(P < 0 . 0 0 0 1 ; 図 3 1)、ロータロッド性能が強化され(図 3 2)、体重減少が少なくなり(図 3 3)、初期(P = 0 . 0 0 0 3)および後期(P = 0 . 0 0 0 4)の疾患発症が遅くなつたことが示される(図 3 4)。

【 0 2 7 3 】

【表 2 2 】

表 22. S O D 1 / m i R 1 5 5 ^{+ / -} における発症の遅延および生存率の増加(予備的な結果の要約

S O D 1 . m i R 1 5 5 + / +	S O D 1 / m i R 1 5 5 - / -
末期の 1 4 5 日	1 6 2 日目でも生存

【 0 2 7 4 】

【表 2 3 】

表 23. S O D 1 / m i R 1 5 5 ^{+ / -} および S O D 1 / m i R 1 5 5 ^{- / -} マウスの統計的分析の累積結果

雌	カプラン-マイヤーによる生存率のフィッティング			P 値	
	期間中央値(日)		変化		
	S O D 1 / m i R - 1 5 5 + / -	S O D 1 / m i R - 1 5 5 - / -			
神経系の発症(スコア 2)	1 3 8	1 8 7	4 9	<0.0001	
死亡までのピーク体重	3 2	8 0	4 8	<0.0001	
50%生存	1 5 6	2 0 7	5 1	<0.0001	

雄	カプラン-マイヤーによる生存率のフィッティング			P 値	
	期間中央値(日)		変化		
	S O D 1 / m i R - 1 5 5 + / -	S O D 1 / m i R - 1 5 5 - / -			
神経系の発症(スコア 2)	1 4 4	1 6 8	2 4	<0.0001	
死亡までのピーク体重	5 6	6 4	8	0.1397	
50%生存(死亡時の日齢)	1 5 7	1 8 4	2 7	<0.0001	

【 0 2 7 5 】

また S O D 1 ^{G 9 3 A} / m i R 1 5 5 ^{+ / -} 動物は、 S O D 1 ^{G 9 3 A} マウスと比較して、脊髄におけるミクログリアの保護に関連する末梢単球動員の有意な減少(図 3 5)、さらに S O D 1 ^{G 9 3 A} マウスと比較して、脊髄ミクログリアおよび L y 6 C H i 単球における

炎症関連遺伝子発現の有意な減少も示す(図 3 6)。脾臓 T 細胞では炎症関連遺伝子はほとんど影響を受けなかつたが、抗炎症性遺伝子(I L 4 および I L 1 0)の発現が非トランジェニックマウスのレベルに戻つたことから、 m i R - 1 5 5 は、主として S O D 1 ^{G 9 3 A} マウスの L y 6 C H i 単球において M 1 関連シグネチャーの活性化に影響を与える。

10

20

30

40

50

る可能性があることが示唆される。

【0276】

これらのデータから、*miR-155*は、ALS発症（病因）において有意な役割を果たすこと、さらに神経変性障害を有する対象（例えばALS、例えば家族性ALS、および／または孤発性ALS）の治療は、神経変性障害（例えばALS、例えば、家族性ALS、および／または孤発性ALS）を有する対象に、*hsa-miR-155*を標的化する少なくとも1つの抑制性核酸（例えば、前駆または成熟 $hsa-miR-155$ ）を投与することによって達成できることが示される。本明細書では、神経変性障害を有する対象に投与することができる例示的な $hsa-miR-155$ を標的化する抑制性核酸（例えば前駆または成熟 $hsa-miR-155$ ）が説明される。

10

【実施例9】

【0277】

*SOD1^{G93A}*マウスの治療に関する*miR-155*アンタゴミアの有効性

家族性ALSの*SOD1^{G93A}*モデルに第1の一連の実験を行って、*miR-155*を標的化するアンタゴミアが、脊髄由来ミクログリアおよび脾臓由来*Ly6CHi*単球において*mRNA*発現、および／または炎症性遺伝子発現を変化させるかどうかを決定した。これらの実験では、以下の5つの実験群が研究された。

【0278】

群I。対照、スクランブル化した*miR-155*（腹膜内注射、注射1回あたり2mg、3日に1回）（n=3）。対照、スクランブル化した*miR-155*：+TC+AA+C+A+TTA+G+A+CT+T+A（配列番号263）（「+」は、LNA部分の存在を示す）。

20

【0279】

群II。アンタゴミア*miR-155*、低い用量（静脈注射、注射1回あたり0.2mg、3日に1回）（n=3）。アンタゴミア*miR-155*：+TC+AC+A+A+TTA+G+C+AT+T+A（配列番号262）（「+」は、LNA部分の存在を示す）。

【0280】

群III。アンタゴミア*miR-155*、高い用量（静脈注射、注射1回あたり2mg、3日に1回）（n=3）。

30

【0281】

群IV。アンタゴミア*miR-155*、低い用量（腹膜内注射、注射1回あたり0.2mg、3日に1回）（n=3）。

【0282】

群V。アンタゴミア*miR-155*、高い用量（腹膜内注射、注射1回あたり2mg、3日に1回）（n=3）。

【0283】

*Nanostring*による炎症性遺伝子および*mRNA*発現の解析を、脊髄由来ミクログリアおよび脾臓由来*Ly6CHi*単球で上述のようにして行った。

【0284】

3日に1回、低い用量（注射1回あたり0.2mg/kg体重）および高い用量（注射1回あたり2mg/kg体重）を（腹腔内または静脈内）投与された*SOD1*マウスのミクログリアおよび脾臓由来*Ly6CHi*単球からのデータの比較から、低い用量は、脾臓由来*Ly6CHi*単球のM1表現型に影響を与えないことが示される（未処理*SOD1*マウスと比較して、これらのマウスでは同じ*mRNA*および炎症性遺伝子発現が観察されている）。しかしながら、（腹腔内または静脈内のいずれかで投与された）高い用量は、炎症関連遺伝子について定量的*nCounter*技術で測定したところ、炎症促進性サイトカインの発現を阻害した。これらのデータから、脊髄由来ミクログリアはアンタゴミア*miR-155*の全身的治療による影響を受けなかったことも示される。

40

【0285】

50

第2の一連の実験を行って、SOD1マウスの行動および生存に対するアンタゴミアmiR-155の効果を決定する。これらの実験では、SOD1マウスには、スクランブル化したmiR-155 (n=10) またはアンタゴミアmiR-155のいずれかが、注射1回あたり2mg/kg体重で、3日に1回、腹膜内注射で投与される (n=10)。この処置は、疾患の発症時（体重減少および神経学的スコアで定義される）に開始される。実験の最後まで、または末期までマウスを連続して処置する。例えばロータロッド性能によってマウスの行動を判定し、さらにマウスの体重および生存をモニターする。

【0286】

SOD1マウスの中枢神経系におけるmiR-155が、レンチウイルスが仲介するmiR-155の阻害を用いて標的化され得るのかどうかを調査するために、第3の一連の実験を設計する。これらの実験では、アンタゴミアmiR-155は、レンチウイルス感染により送達される。miR-155阻害のために、突然変異体miR-155またはその特異的な阻害剤をコードする配列をレンチウイルスベクター（Gene copoeia）にクローニングする。このウイルスは、使用者用マニュアルに従って標的細胞を感染させることにより生産される。脳を定位固定してCSFまたは側脳室に注射することによって、およそ 2×10^7 個の形質転換単位の組換えレンチウイルスがSOD1マウスに送達される。治療群は、以下の通りである。

【0287】

群I。対照レンチウイルスのスクランブル化したmiR-155（GFPタグを有する）を、高い用量で投与されたマウス (n=10)。（対照であり、配列番号263に記載のスクランブル化したアンタゴミア配列を参照）。

【0288】

群II。アンタゴミアのレンチウイルスmiR-155（GFPタグを有する）を、高い用量で投与されたマウス (n=10)。（配列番号262に記載のアンタゴミアmiR-155配列を参照）。

【0289】

マウスの行動は、例えばロータロッド性能、およびマウスの体重および生存をモニターすることに従った。また自然免疫系のNanostring miRNAおよび免疫関連遺伝子プロファイリングとT細胞の炎症関連遺伝子プロファイリングもこれらのマウスから得られた細胞（例えば末梢Ly6CH^{hi}細胞）で行われる。

【0290】

またnCounter発現解析も行い、野生型、SOD1/miR155^{-/-}、SOD1/miR155^{-/+}マウスからのLy6CH^{hi}脾臓由来単球サブセットにおける数種のマイクロRNAの発現を決定した。データから、数種のマイクロRNAが、野生型マウスでは、SOD1/miR155^{-/+}マウスとは異なって発現され、さらにSOD1/miR155^{-/+}マウスとSOD1/miR155^{-/-}マウスとでも異なって発現されたことが示される（図37）。

【0291】

また、健康な対照（8人）からのCD14⁺CD16⁻単球中のマイクロRNAの発現と比較した、孤発性ALS（8人のヒト対象）および再発寛解型多発性硬化症（8人のヒト対象）からのマイクロRNAに関する血液由来CD14⁺CD16⁻単球のnCounter発現プロファイリングも行われた。図38に記載の得られたヒートマップは、ダネットの事後検定を用いた分散分析（ANOVA）の結果を示す（P<0.01）。ALS対象からのCD14⁺CD16⁻単球中で（健康な対照からのCD14⁺CD16⁻単球中のこれらのマイクロRNAの発現と比較して）上方調節または下方調節されたマイクロRNAが示される。

【0292】

他の実施形態

本発明をその詳細な説明と共に説明したが、当然のことながら前述の記載は説明のためであり、本発明の範囲を限定せず、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によって定義

10

20

30

40

50

されることが理解されよう。他の態様、利点、および変形形態も以下の特許請求の範囲である。

本発明は以下を提供する。

[1]

対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の治療に使用するための、hsa-miR-155中に存在する連続配列、例えばヌクレオチド少なくとも5個の連続配列、に相補的な配列を含む抑制性核酸。

[2]

対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の治療方法であって、ALSを有する対象に、hsa-miR-155、hsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのいずれか1つ中に存在する連続配列、例えばヌクレオチド少なくとも5個の連続配列、に相補的な配列を含む少なくとも1つのアンタゴミアを投与することを含む、方法。

10

20

[3]

対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の治療方法であって、ALSを有する対象に、hsa-miR-155中に存在する連続配列、例えばヌクレオチド少なくとも5個の連続配列、に相補的な配列を含む少なくとも1種の抑制性核酸を投与することを含む、方法。

[4]

少なくとも1種の抑制性核酸が、アンタゴミアである、請求項3に記載の方法。

[5]

アンタゴミアが、配列番号262の配列を有する、請求項4に記載の方法。

30

[6]

少なくとも1種の抑制性核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項3に記載の方法。

[7]

少なくとも1種の抑制性核酸が、リボザイムである、請求項3に記載の方法。

[8]

少なくとも1種の抑制性核酸が、対象の髄液に注射される、請求項3に記載の方法。

[9]

注射が、頭蓋内注射である、請求項8に記載の方法。

[10]

注射が、髄腔内注射である、請求項8に記載の方法。

40

[11]

少なくとも1種の抑制性核酸が、1種または複数のカチオン性ポリマーおよび/またはカチオン脂質と複合体化されている、請求項3に記載の方法。

[12]

対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断方法であって、該方法は、

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-

50

223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つ

10

または複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の1つまたは複数のマイクロRNA（複数可）のレベルを、1つまたは複数のマイクロRNA（複数可）の参照レベルと比較することを含み、

参照レベルと比較して、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが増加していること、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが減少していることが、ALSを対象が有することの指標である、方法。

20

[13]

対象における筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断方法であって、該方法は、

対象の髄液（CSF）中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および

対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較することを含み、

30

対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、ALSを対象が有することの指標である、方法。

40

[14]

対象における家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断方法であって、該方法は、

対象の髄液（CSF）中のhsa-miR-27bのレベルと、hsa-miR-99

50

b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルとを決定すること；および

対象のCSF中のhsa-miR-27bのレベルを、hsa-miR-27bの参照レベルと比較すること、さらに、対象のCSF中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較すること

を含み、

10

対象のCSF中のhsa-miR-27bのレベルが、hsa-miR-27bの参照レベルと比較して増加していること、さらに、対象のCSF中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がないことが、家族性ALSを対象が有することの指標である、方法。

[15]

20

対象における孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)の診断方法であって、該方法は、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pからなる群から選択される2つ以上のマイクロRNAのレベルを決定すること；および

対象のCSF中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルを、前記2つ以上のマイクロRNAの参照レベルと比較すること

を含み、

対象のCSF中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加していることが、孤発性ALSを対象が有することの指標である、方法。

[16]

30

筋萎縮性側索硬化症(ALS)を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、該方法は：

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および

40

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること

50

を含み、

参照レベルと比較して、対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b、h s a - m i R - 1 0 6 b、h s a - m i R - 3 0 b、h s a - m i R - 2 1、h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p、h s a - m i R - 2 7 a、h s a - m i R - 1 6、h s a - m i R - 3 7 4 a、h s a - m i R - 3 7 4 b、h s a - m i R - 1 0 1、h s a - m i R - 3 4 0、h s a - m i R - 3 0 e、h s a - m i R - 2 9 c、h s a - m i R - 2 9 a、h s a - m i R - 2 2 3、h s a - m i R - 2 6 a、h s a - m i R - 2 6 b、h s a - m i R - 2 4、h s a - m i R - 1 8 1 a、h s a - m i R - 1 0 3、h s a - m i R - 1 5 5、h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p、h s a - m i R - 1 5 b、および h s a - m i R - 1 9 a のうち 1 つまたは複数のレベルが増加していること、および / または h s a - m i R - 5 1 8 f、h s a - m i R - 2 0 6、h s a - m i R - 2 0 4、h s a - m i R - 1 3 7、h s a - m i R - 4 5 3、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 6 0 3、h s a - m i R - 1 2 9 7、h s a - m i R - 1 9 2、h s a - m i R - 5 2 6 a、h s a - m i R - 6 1 5 - 5 p、h s a - m i R - 6 5 5、h s a - m i R - 4 5 0 b - 5 p、h s a - m i R - 5 4 8 b - 3 p、h s a - m i R - 5 8 4、h s a - m i R - 5 4 8 f、h s a - m i R - 3 0 0、h s a - m i R - 3 0 2 c、h s a - m i R - 3 2 8、h s a - m i R - 4 2 1、および h s a - m i R - 5 8 0 のうち 1 つまたは複数のレベルが減少していることが、A L S を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、方法。

[1 7]

10

対象において筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、該方法は、

対象の髄液 (C S F) 中の h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを決定すること；および

対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較すること

30

を含み、

対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、A L S を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、方法。

[1 8]

50

家族性筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、該方法は、

対象の髄液 (C S F) 中の h s a - m i R - 2 7 b のレベルと、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルとを決定すること；および

対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b のレベルを、h s a - m i R - 2 7 b の参照レベルと比較すること、さらに、対象の C S F 中の h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、h s a - m i R - 9 9 b、h s a - m i R - 1 4 6 a、h s a - m i R - 1 5 0、h s a - m i R - 3 2 8、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数の参照レベルと比較すること

を含み、

40

50

対象のC S F 中の h s a - m i R - 2 7 b のレベルが、 h s a - m i R - 2 7 b の参照レベルと比較して増加していることおよび対象のC S F 中の h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数のレベルが、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち1つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がないことが、家族性A L S を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、方法。

[1 9]

孤発性筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を発症させるリスクがある対象の識別方法であって、該方法は、

対象の髄液 (C S F) 中の h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p からなる群から選択される2つ以上のマイクロRNAのレベルを決定すること；および

対象のC S F 中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルを、前記2つ以上のマイクロRNAの参照レベルと比較することを含み、

対象のC S F 中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加していることが、孤発性A L S を発症させる高いリスクを対象が有することの指標である、方法。

[2 0]

筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を有する対象における疾患の進行速度の予測方法であって、該方法は、

対象からのC D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p 、 h s a - m i R - 5 1 8 f 、 h s a - m i R - 2 0 6 、 h s a - m i R - 2 0 4 、 h s a - m i R - 1 3 7 、 h s a - m i R - 4 5 3 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 6 0 3 、 h s a - m i R - 1 2 9 7 、 h s a - m i R - 1 9 2 、 h s a - m i R - 5 2 6 a 、 h s a - m i R - 6 1 5 - 5 p 、 h s a - m i R - 6 5 5 、 h s a - m i R - 4 5 0 b - 5 p 、 h s a - m i R - 5 4 8 b - 3 p 、 h s a - m i R - 5 8 4 、 h s a - m i R - 5 4 8 f 、 h s a - m i R - 3 0 0 、 h s a - m i R - 3 0 2 c 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 h s a - m i R - 4 2 1 、 h s a - m i R - 5 8 0 、 h s a - m i R - 1 5 b 、および h s a - m i R - 1 9 a からなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および

対象からのC D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較することを含み、

参照レベルと比較して、対象からのC D 1 4 + C D 1 6 - 単球中の h s a - m i R - 1 9 b 、 h s a - m i R - 1 0 6 b 、 h s a - m i R - 3 0 b 、 h s a - m i R - 2 1 、 h s a - m i R - 1 4 2 - 5 p 、 h s a - m i R - 2 7 a 、 h s a - m i R - 1 6 、 h s a - m i R - 3 7 4 a 、 h s a - m i R - 3 7 4 b 、 h s a - m i R - 1 0 1 、 h s a - m i R - 3 4 0 、 h s a - m i R - 3 0 e 、 h s a - m i R - 2 9 c 、 h s a - m i R - 2 9 a 、 h s a - m i R - 2 2 3 、 h s a - m i R - 2 6 a 、 h s a - m i R - 2 6 b 、 h s a - m i R - 2 4 、 h s a - m i R - 1 8 1 a 、 h s a - m i R - 1 0 3 、 h s a - m

10

20

30

40

50

iR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが増加していること、および/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが減少していることが、疾患の進行速度の増加を対象が有すると予想されることの指標である、方法。10

[21]

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を有する対象における疾患の進行速度の予測方法であって、該方法は、

対象の髄液 (CSF) 中の hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および

対象のCSF中の hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較すること

を含み、

対象のCSF中の hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加していることが、疾患の進行速度の増加を対象が有すると予想されることの指標である、方法。

[22]

疾患の進行速度の増加は、ALSの1つまたは複数の症状が発症する速度の増加、ALSの1つまたは複数の症状の悪化の増進、ALSの1つまたは複数の症状の頻度の増加、ALSの1つまたは複数の症状の持続時間の増加、または対象の寿命の減少である、請求項20または請求項21に記載の方法。30

[23]

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を治療するための対象の選択方法であって、

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の hsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つ

50

または複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；およびCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加しているおよび/またはhsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して減少している対象を孤発性ALSを治療するために選択することを含む、方法。
10

[24]

筋萎縮性側索硬化症(ALS)を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを決定すること；および

対象のCSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルと比較すること；および

CSF中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが参照レベルと比較して増加している対象をALSを治療するために選択することを含む、方法。
30

[25]

家族性筋萎縮性側索硬化症(ALS)を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27bのレベルと、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルとを決定すること；および

対象のCSF中のhsa-miR-27bのレベルを、hsa-miR-27bの参照レベルと比較すること、さらに、対象のCSF中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルを、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較すること；および

CSF中のhsa-miR-27bのレベルが、hsa-miR-27bの参照レベル

10

20

30

40

50

と比較して増加しているおよびCSF中のhsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数のレベルが、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pのうち1つまたは複数の参照レベルと比較して減少しているかまたは有意な変化がない対象を家族性ALSを治療するために選択することを含む、方法。

[26]

孤発性筋萎縮性側索硬化症(ALS)を治療するための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pからなる群から選択される2つ以上のマイクロRNAのレベルを決定すること;

10

対象のCSF中の前記2つ以上のマイクロRNAのレベルを、前記2つ以上のマイクロRNAの参照レベルと比較すること;および

CSF中の2つ以上のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加している対象を孤発性ALSを治療するために選択することを含む、方法。

[27]

選択された対象はさらに、ALS治療が施される、請求項23~26のいずれか1項に記載の方法。

20

[28]

臨床試験に参加させるための対象の選択方法であって、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること;

30

対象からのCD14⁺CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること;および

40

参照レベルと比較して、CD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが増加しているおよび/またはhsa-miR-19aのうち1つまたは複数のレベルが増加しているおよび/またはhsa-miR-5

50

18f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、およびhsa-miR-580のうち1つまたは複数のレベルが減少している対象を、臨床試験に参加させるために選択することを含む、方法。

[29]

10

臨床試験に参加させるための対象の選択方法であって、対象の髄液(CSF)中のhsa-miR-27b、hsa-miR-99b、hsa-miR-146a、hsa-miR-150、hsa-miR-328、およびhsa-miR-532-3pからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；

対象のCSF中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、前記1つまたは複数のマイクロRNAの参照レベルと比較すること；および

CSF中の1つまたは複数のマイクロRNAのレベルが参照レベルと比較して増加している対象を、臨床試験に参加させるために選択することを含む、方法。

[30]

20

対象における筋萎縮性側索硬化症治療の有効性の決定方法であって、該方法は、第1の時点で、対象からのCD14⁺CD16⁻単球中のhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-miR-155、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-518f、hsa-miR-206、hsa-miR-204、hsa-miR-137、hsa-miR-453、hsa-miR-146a、hsa-miR-603、hsa-miR-1297、hsa-miR-192、hsa-miR-526a、hsa-miR-615-5p、hsa-miR-655、hsa-miR-450b-5p、hsa-miR-548b-3p、hsa-miR-584、hsa-miR-548f、hsa-miR-300、hsa-miR-302c、hsa-miR-328、hsa-miR-421、hsa-miR-580、hsa-miR-15b、およびhsa-miR-19aからなる群から選択される1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；

少なくとも1回の治療用量を投与した後の第2の時点で、対象からのCD14⁺/CD16⁻単球中の前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを決定すること；および

第1の時点における前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルを、第2の時点における前記1つまたは複数のマイクロRNAのレベルと比較することを含み、

第1の時点におけるレベル(複数可)と比較して、第2の時点におけるhsa-miR-19b、hsa-miR-106b、hsa-miR-30b、hsa-miR-21、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-27a、hsa-miR-16、hsa-miR-374a、hsa-miR-374b、hsa-miR-101、hsa-miR-340、hsa-miR-30e、hsa-miR-29c、hsa-miR-29a、hsa-miR-223、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-24、hsa-miR-181a、hsa-miR-103、hsa-

30

40

50

- m i R - 1 5 5 、 h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p 、 h s a - m i R - 1 5 b 、 および h s a - m i R - 1 9 a のうち 1 つまたは複数のレベルが減少していること、および / または h s a - m i R - 5 1 8 f 、 h s a - m i R - 2 0 6 、 h s a - m i R - 2 0 4 、 h s a - m i R - 1 3 7 、 h s a - m i R - 4 5 3 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 6 0 3 、 h s a - m i R - 1 2 9 7 、 h s a - m i R - 1 9 2 、 h s a - m i R - 5 2 6 a 、 h s a - m i R - 6 1 5 - 5 p 、 h s a - m i R - 6 5 5 、 h s a - m i R - 4 5 0 b - 5 p 、 h s a - m i R - 5 4 8 b - 3 p 、 h s a - m i R - 5 8 4 、 h s a - m i R - 5 4 8 f 、 h s a - m i R - 3 0 0 、 h s a - m i R - 3 0 2 c 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 h s a - m i R - 4 2 1 、 および h s a - m i R - 5 8 0 のうち 1 つまたは複数のレベルが増加していることが、対象において治療が有効であったことの指標である方法。

10

[3 1]

対象における筋萎縮性側索硬化症治療の有効性 (A L S) の決定方法であって、該方法は、

第 1 の時点で、対象の髄液中の h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを決定すること；

少なくとも 1 回の治療用量を投与した後の第 2 の時点で、対象の C S F 中の h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを決定すること； および

20

第 1 の時点における h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルを、第 2 の時点における h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルと比較することを含み、

第 1 の時点におけるレベル (複数可) と比較した、第 2 の時点における h s a - m i R - 2 7 b 、 h s a - m i R - 9 9 b 、 h s a - m i R - 1 4 6 a 、 h s a - m i R - 1 5 0 、 h s a - m i R - 3 2 8 、 および h s a - m i R - 5 3 2 - 3 p のうち 1 つまたは複数のレベルの減少が、対象において治療が有効であったことの指標である、方法。

30

[3 2]

参照レベルが、閾値レベルである、請求項 1 2 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[3 3]

参照レベルが、対照の対象からの C D 1 4 + C D 1 6 - 単球中で見出されるレベルである、請求項 1 2 、 1 6 、 2 0 、 2 3 、 2 8 、 および 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[3 4]

参照レベルが、対照の対象の C S F 中で見出されるレベルである、請求項 1 3 ~ 1 5 、 1 7 ~ 1 9 、 2 1 、 2 4 ~ 2 6 、 2 9 、 および 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

[3 5]

対象から C D 1 4 + C D 1 6 - 単球を含む生体サンプルを得ることをさらに含む、請求項 1 2 、 1 6 、 2 0 、 2 3 、 2 8 、 および 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[3 6]

生体サンプルから C D 1 4 + C D 1 6 - 単球を精製することをさらに含む、請求項 3 5 に記載の方法。

[3 7]

対象から C S F を含むサンプルを得ることをさらに含む、請求項 1 3 ~ 1 5 、 1 7 ~ 1 9 、 2 1 、 2 4 ~ 2 6 、 2 9 、 および 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[3 8]

50

マイクロRNAまたは1つまたは複数のマイクロRNAが、前駆マイクロRNAである
、請求項12～31のいずれか1項に記載の方法。

【39】

マイクロRNAまたは1つまたは複数のマイクロRNAが、成熟マイクロRNAである
、請求項12～31のいずれか1項に記載の方法。

【図1A】

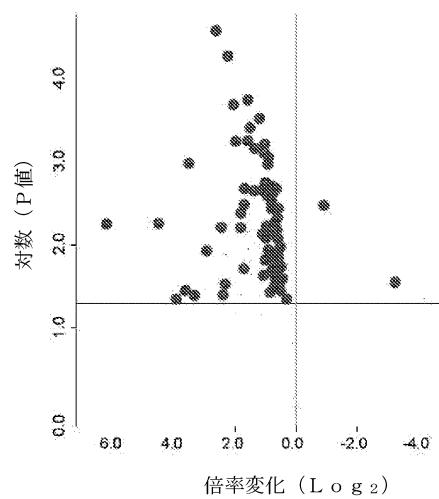


FIGURE 1A

【図1B】

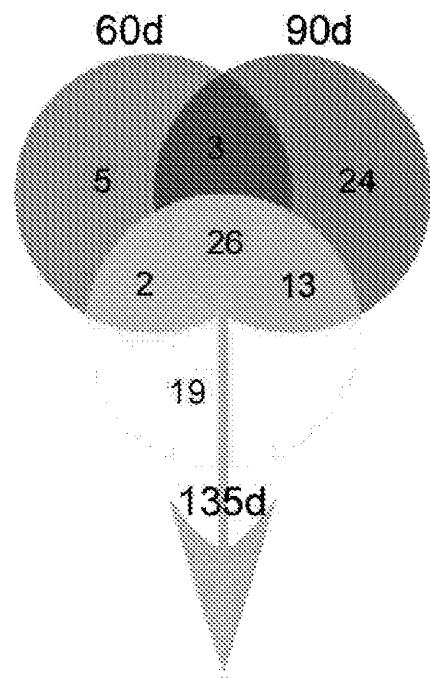
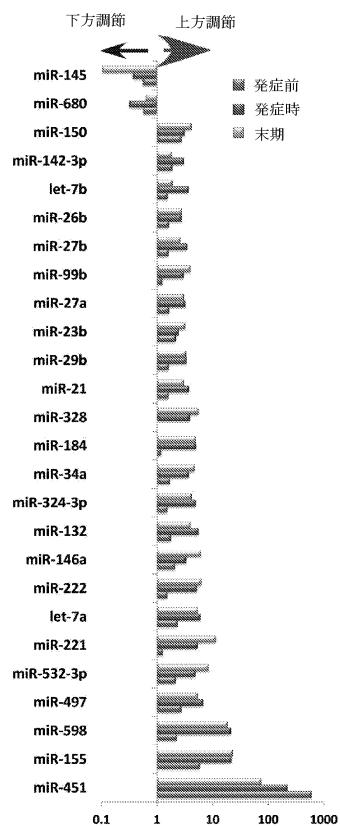


FIGURE 1B

【図 1 C】



【図 2 A】

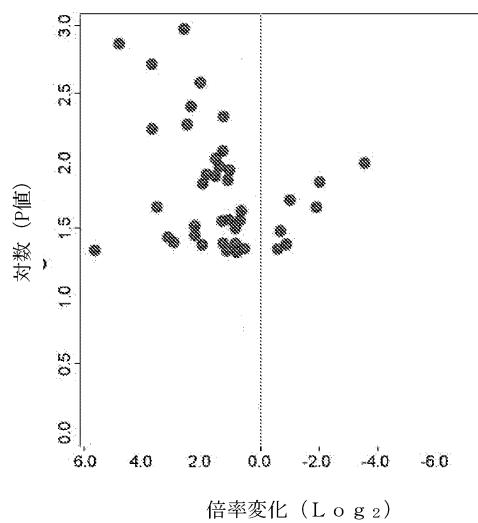


FIGURE 2A

【図 2 B】

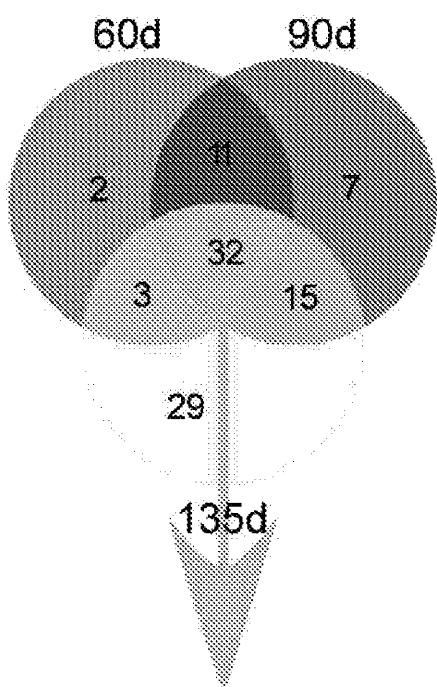
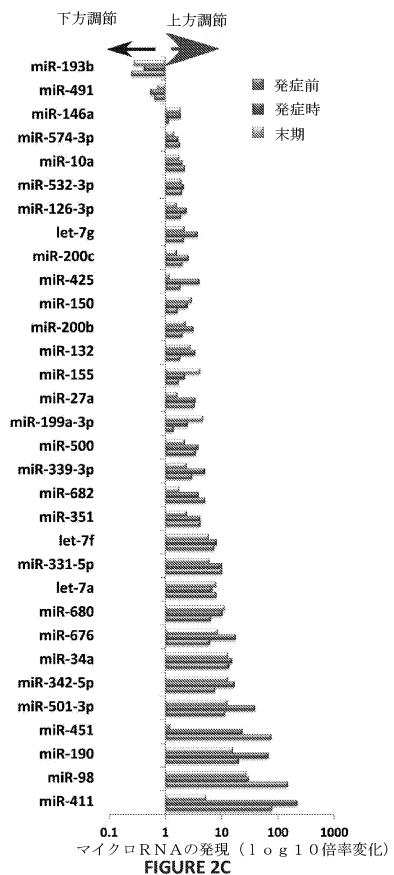


FIGURE 2B

【図 2 C】



マイクロRNAの発現 (Log10倍率変化)

FIGURE 2C

【図3A】

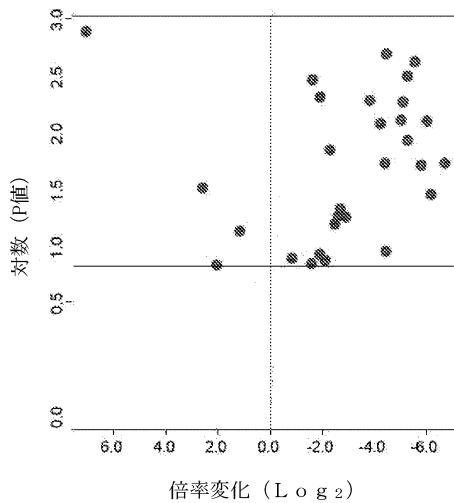


FIGURE 3A

【図3B】

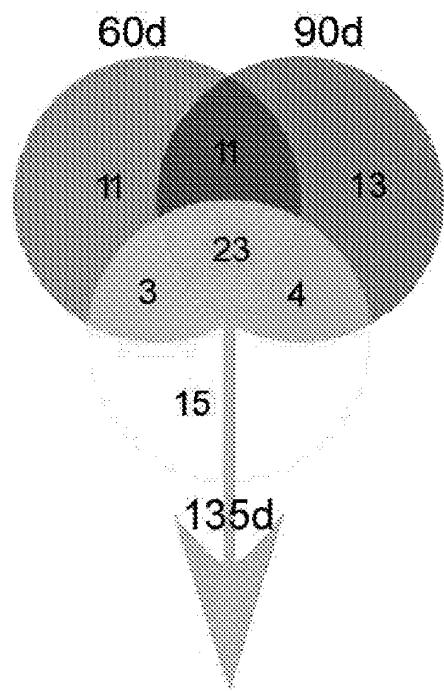
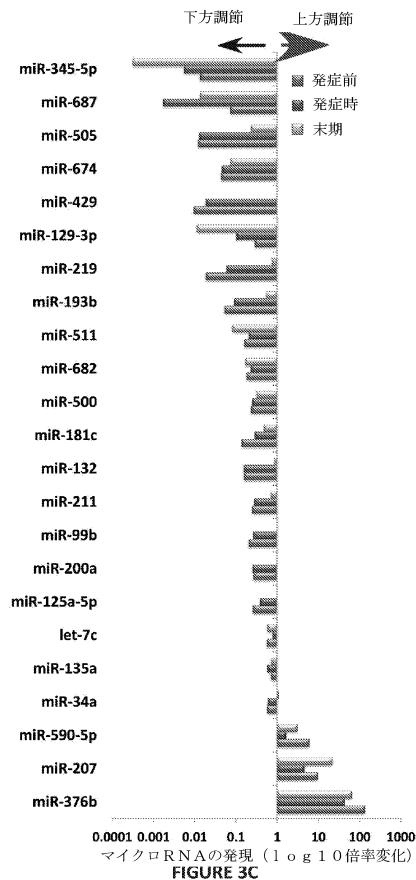


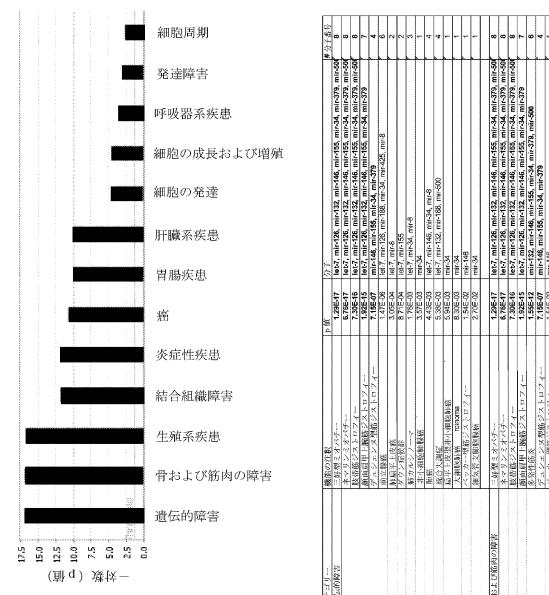
FIGURE 3B

【図3C】



RNAの発現 **FIGURE 3C**

【 図 4 】



【図5】

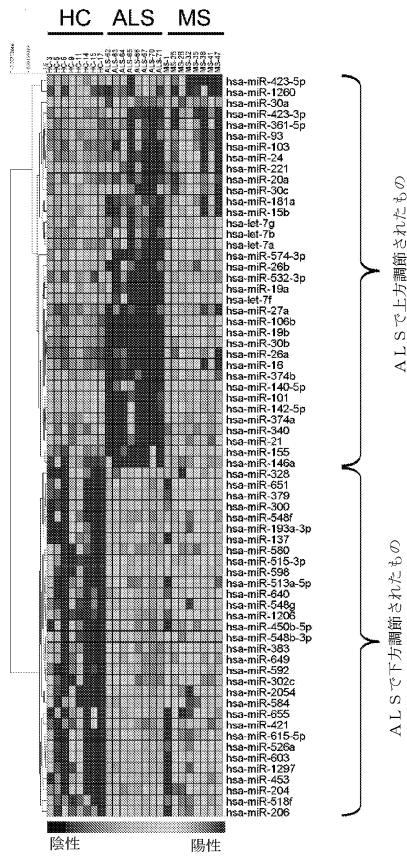


FIGURE 5

【図6】

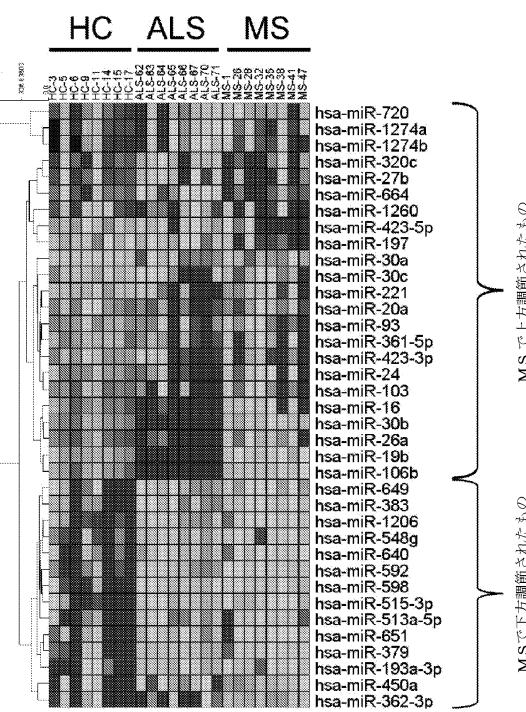


FIGURE 6

【図7A】

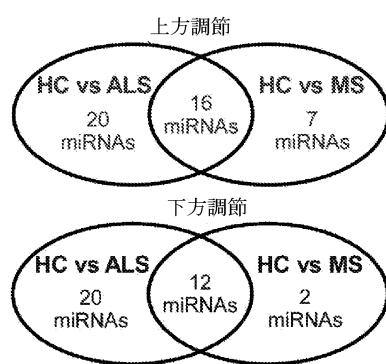


FIGURE 7A

【図7B】

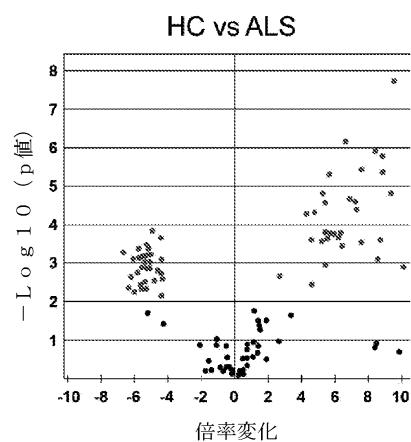


FIGURE 7B

【図7C】

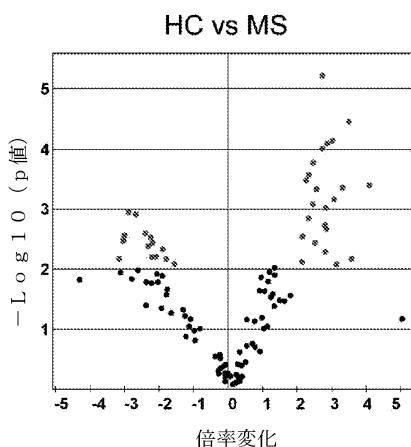


FIGURE 7C

【図8】

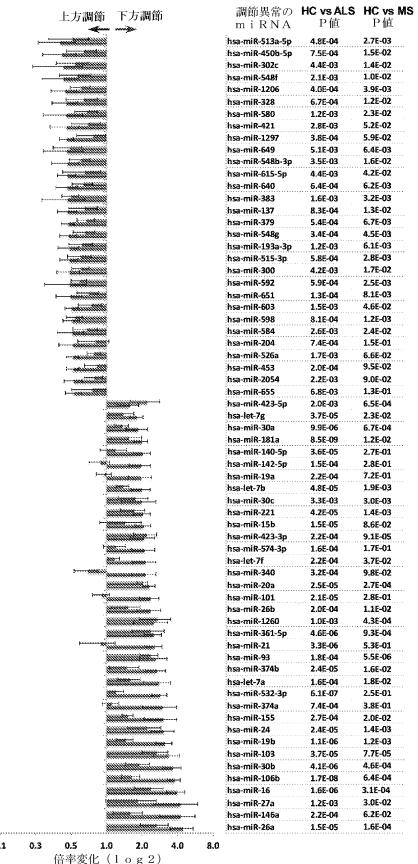


FIGURE 8

【図9】

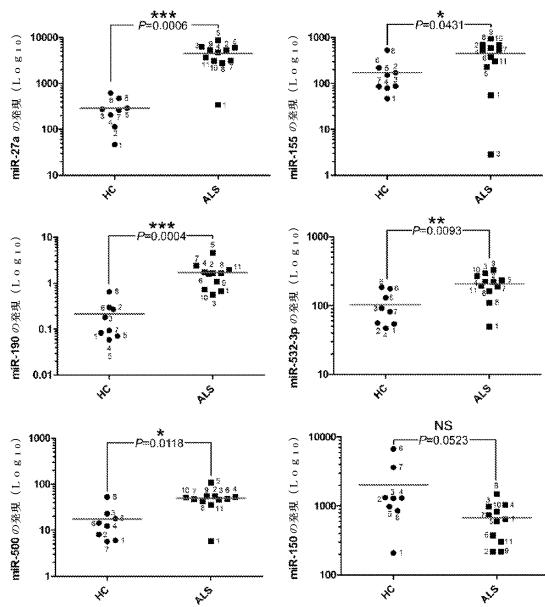


FIGURE 9

【図10B】

1. ALS-062
2. ALS-063
3. ALS-064
4. ALS-065
5. ALS-066
6. ALS-067
7. ALS-070
8. ALS-071

FIGURE 10B

【図10A】

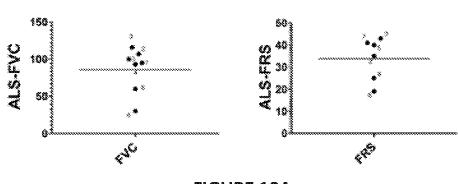
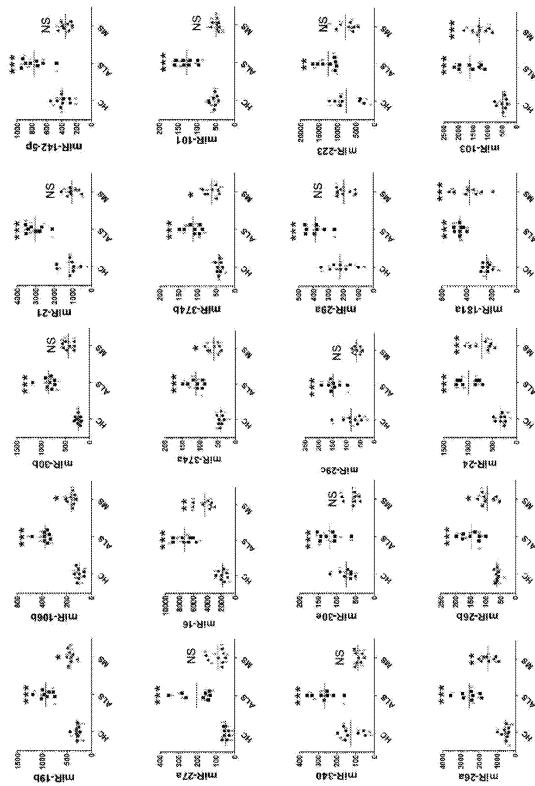


FIGURE 10A

【図10C】



【図11】

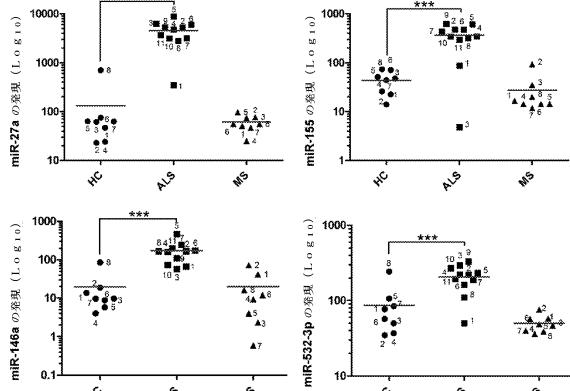


FIGURE 11

【図12A】

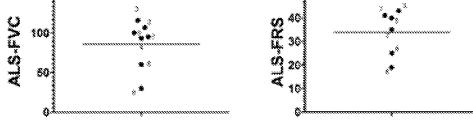


FIGURE 12A

【図12B】

1. ALS-062
2. ALS-063
3. ALS-064
4. ALS-065
5. ALS-066
6. ALS-067
7. ALS-070
8. ALS-071

FIGURE 12B

【図12C】

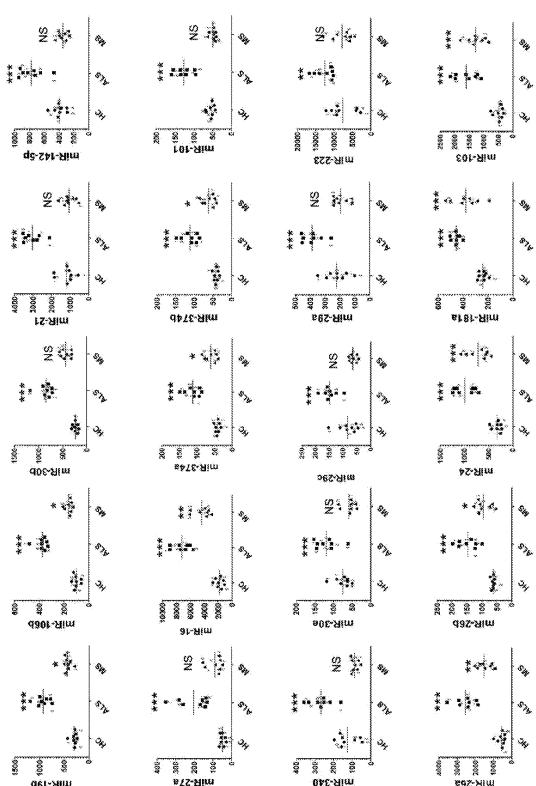


FIGURE 12C

【図13】

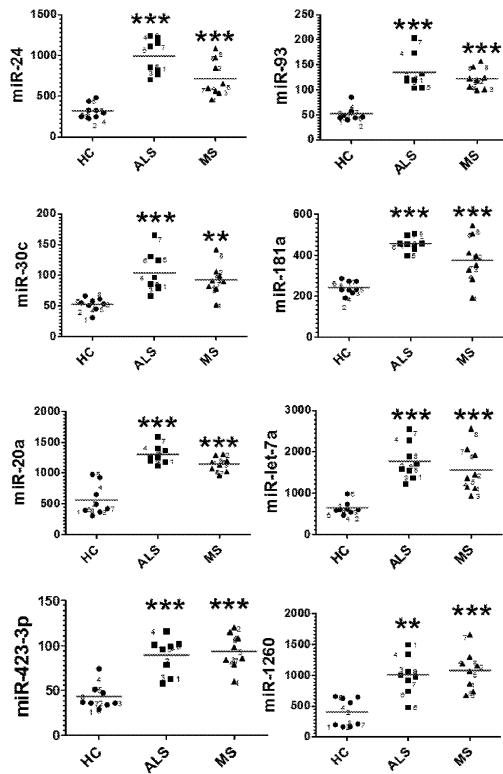


FIGURE 13

【図14】

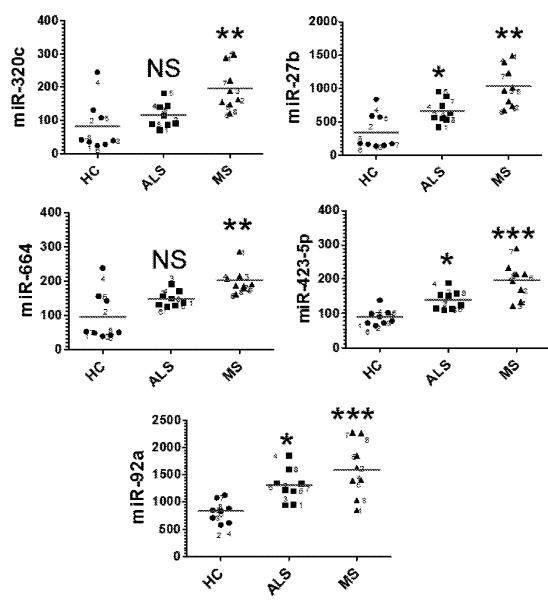


FIGURE 14

【図15】

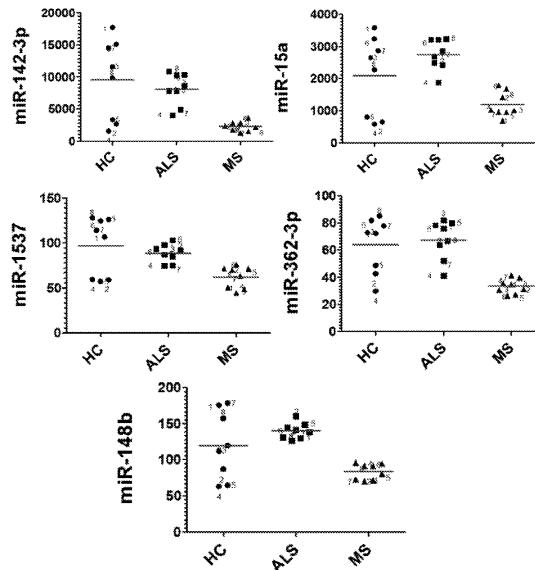


FIGURE 15

【図16】

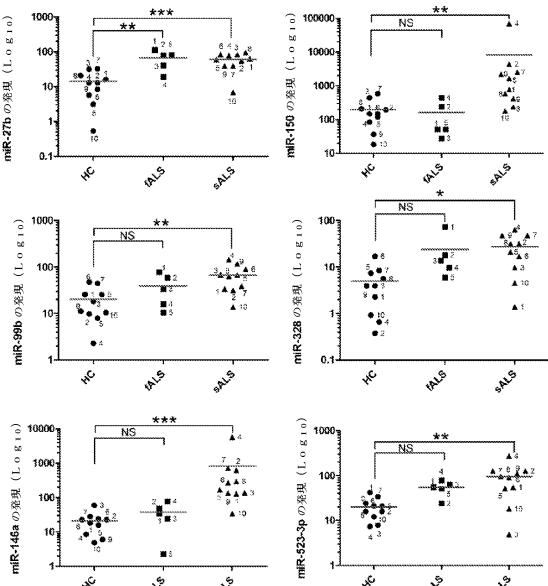


FIGURE 16

【図17】

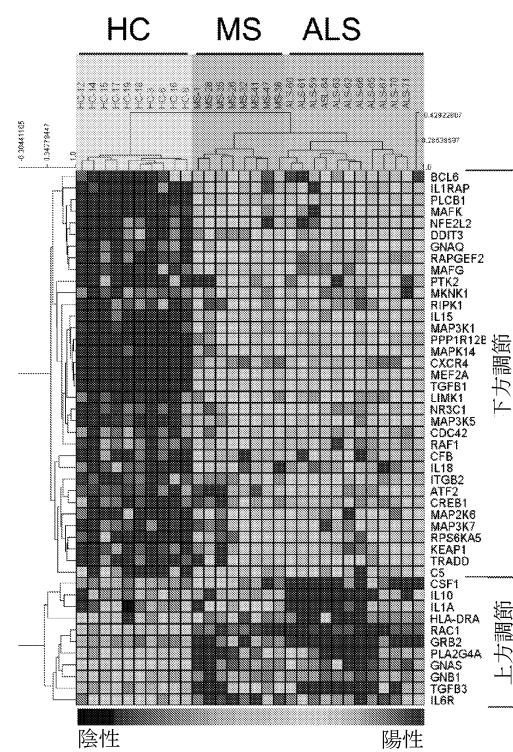


FIGURE 17

【図18 A】

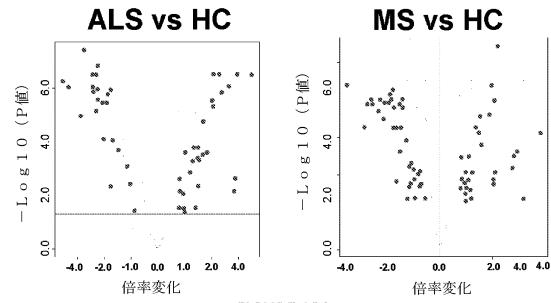
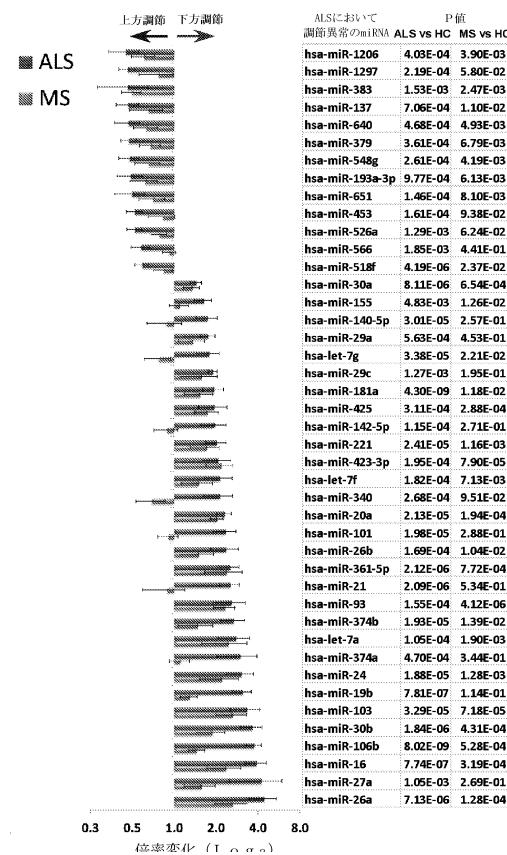


FIGURE 18A

【図18 B】



【図19】

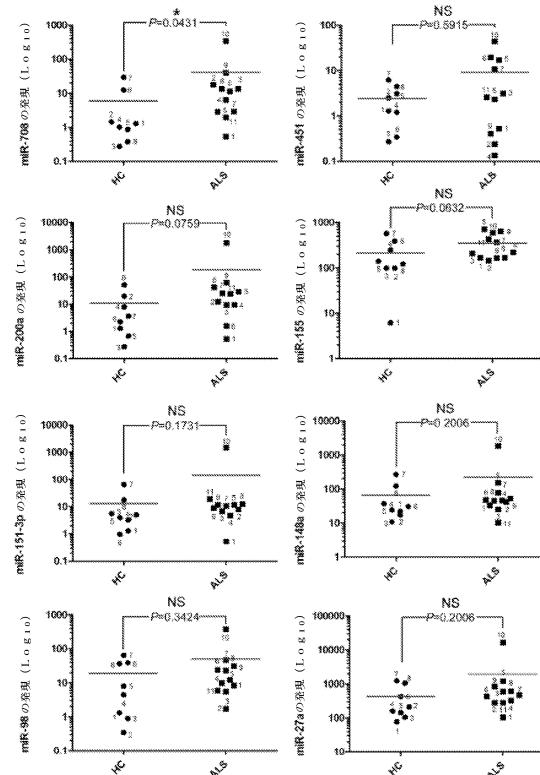
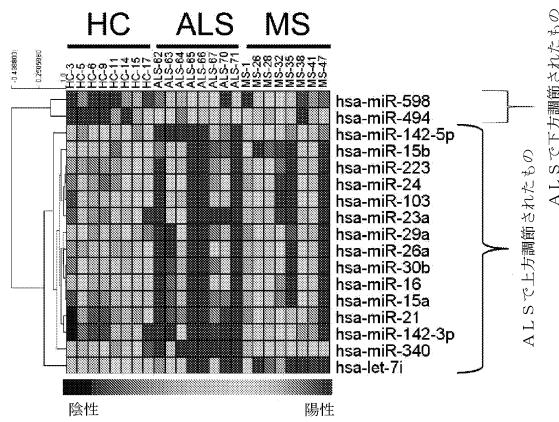
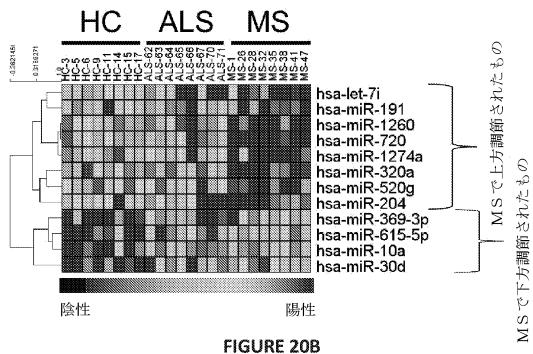


FIGURE 19

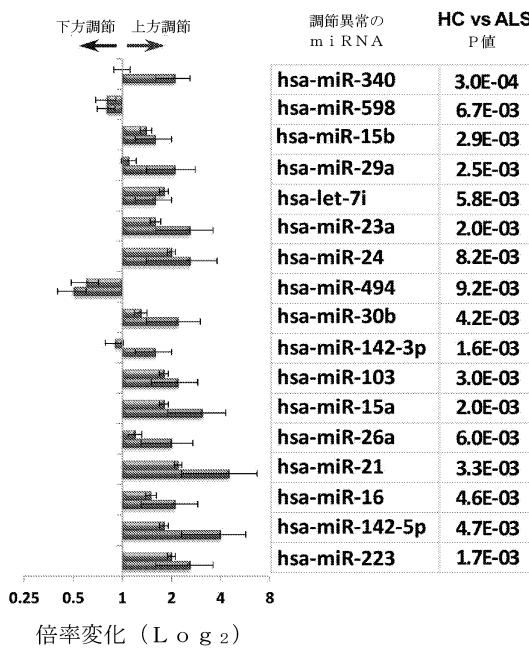
【図20A】



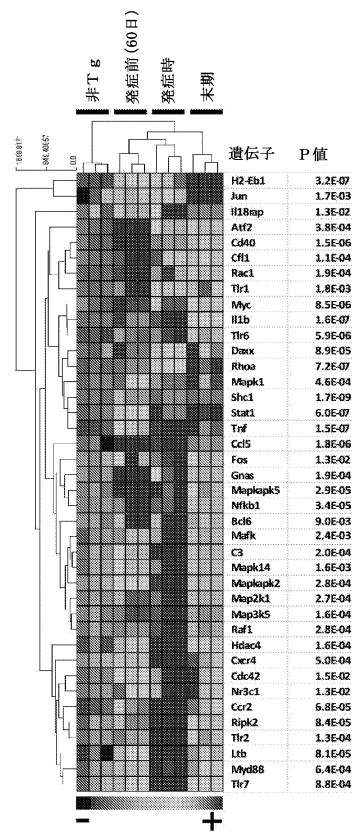
【図20B】



【図20C】



【図21A-1】



【図21A-2】

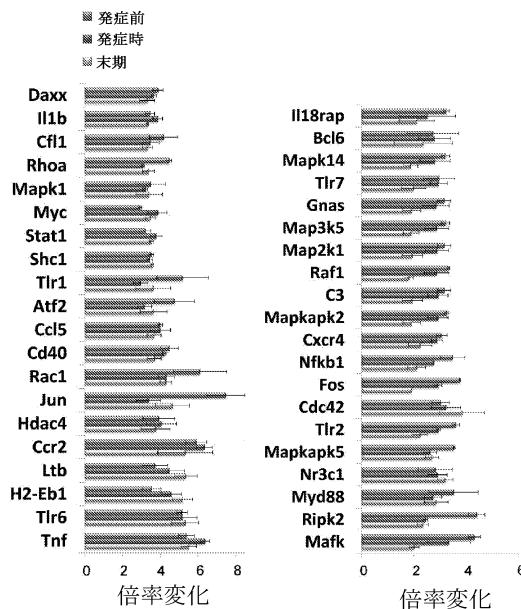


Figure 21A (page 2 of 2)

【図21B】

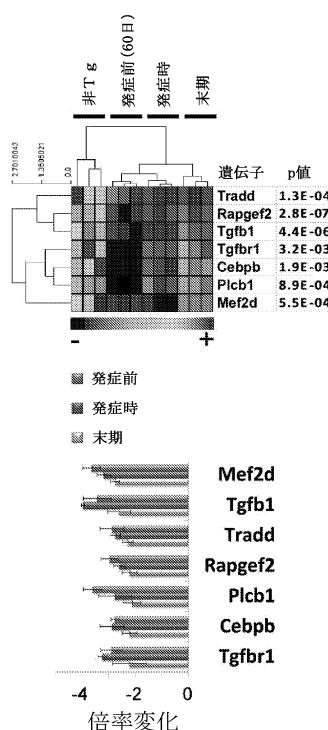


FIGURE 21B

【図21C】

ネットワーク	総ノード	シードノード	P値	zスコア
1 CREB1	30	29	1.60E-97	203.23
2 RelA (p65 NF-kBサブユニット)	29	28	8.09E-94	199.58
3 SRF	28	27	3.74E-90	195.86
4 SP1	28	27	3.74E-90	195.86
5 c-Rel (NF-kBサブユニット)	28	27	3.74E-90	195.86
6 STAT3	27	26	1.59E-86	192.06
7 ikaros	27	26	1.59E-86	192.06
8 E2A	27	26	1.59E-86	192.06
9 AP1	27	26	1.59E-86	192.06
10 GCR-7マニア	25	25	2.42E-84	191.92
11 PU.1	26	25	6.30E-83	188.19
12 PPAR-ガシマ	26	25	6.30E-83	188.19
13 NF-kB p50/p65	26	25	6.30E-83	188.19
14 IRF2	26	25	6.30E-83	188.19
15 IRF1	26	25	6.30E-83	188.19
16 HSF1	26	25	6.30E-83	188.19
17 HIF1A	26	25	6.30E-83	188.19
18 Bcl-6	26	25	6.30E-83	188.19
19 AP-2A	26	25	6.30E-83	188.19
20 アンドロゲン受容体	26	25	6.30E-83	188.19

FIGURE 21C

【図21D】

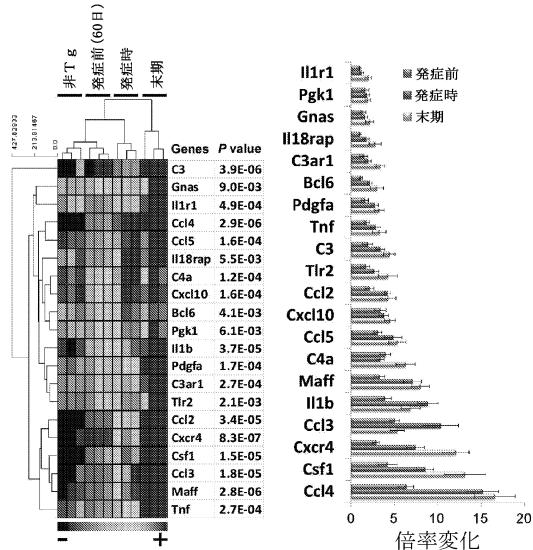


FIGURE 21D

【図21E-1】

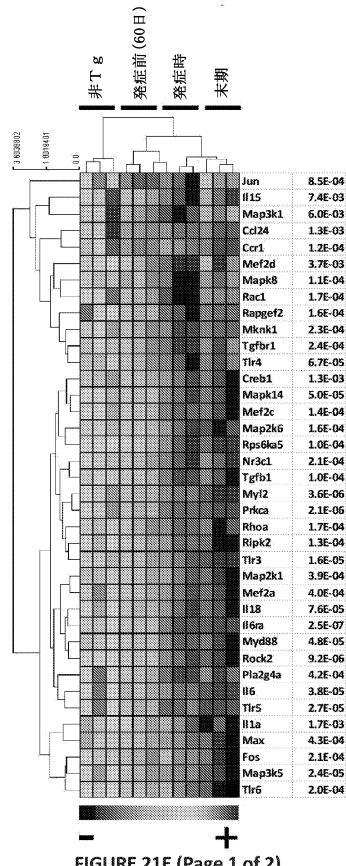


FIGURE 21E (Page 1 of 2)

【図21E-2】

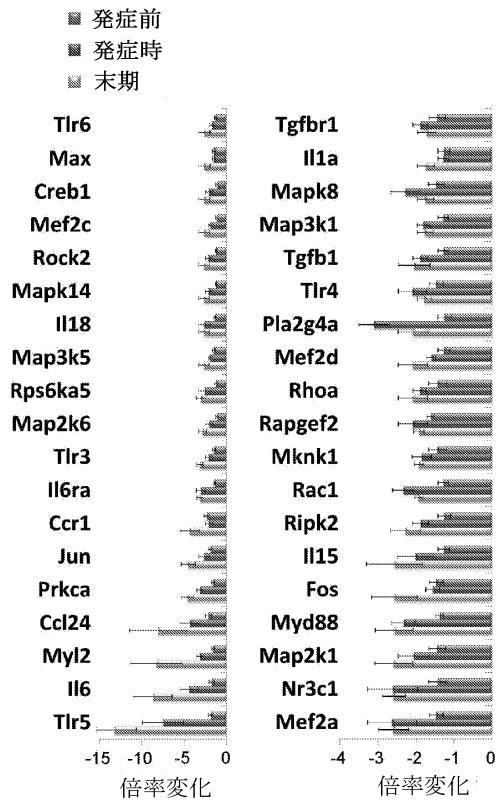


FIGURE 21E (Page 2 of 2)

【図21F】

生物学的経路		P値
1	走化性	6.3E-83
2	変更された補体経路	6.3E-83
3	先天性の炎症性反応	6.3E-83
4	好中球活性化	2.1E-09
5	インテグリンのプライシング	1.2E-08
6	Tヘルペス細胞の分化	4.3E-07
7	Jak-STAT経路	5.6E-07
8	白血球走化性	1.1E-06
9	血管形成の調節	2.4E-05
10	リバ球増殖	1.7E-04
11	血管の形態形成	2.6E-04
12	白血球の相互作用	6.3E-04
13	食作用	1.9E-03
14	TREM1シグナル伝達	2.7E-03
15	IL-1シグナル伝達経路	5.2E-03
16	CREM経路	7.2E-03
17	IFN-ガンマシグナル伝達経路	9.9E-03

FIGURE 21F

【図21G】

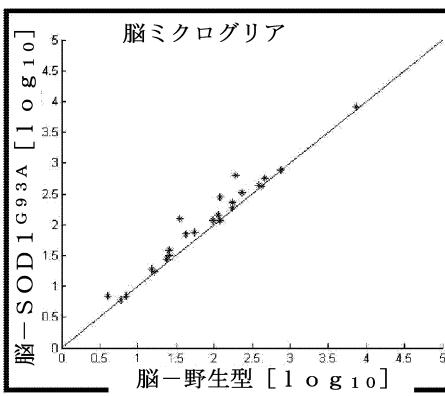
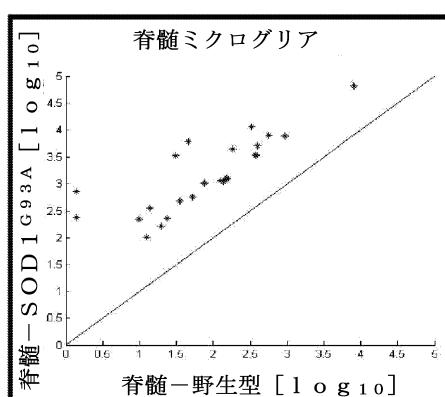


FIGURE 21G

【図22A】

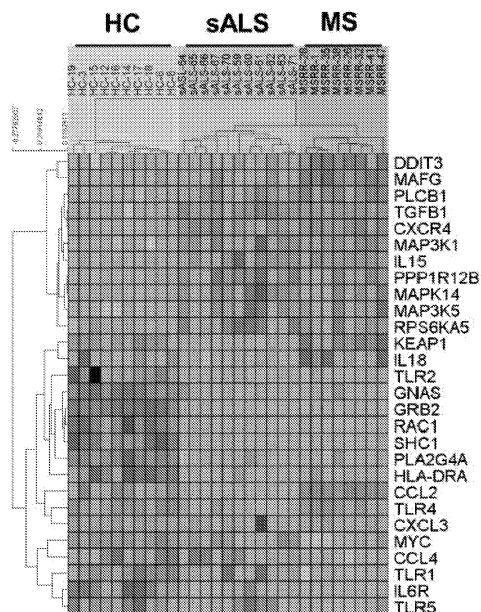


FIGURE 22A

【図22B】

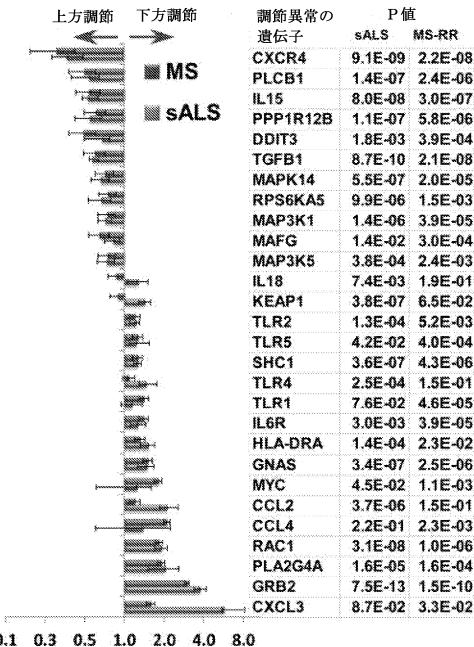


FIGURE 22B

【図22c】

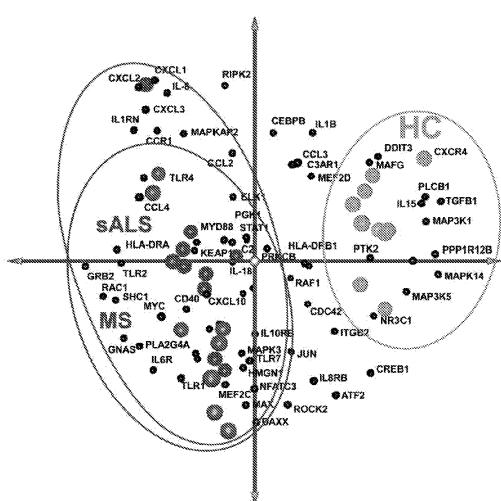


FIGURE 22C

【 2 3 A 】

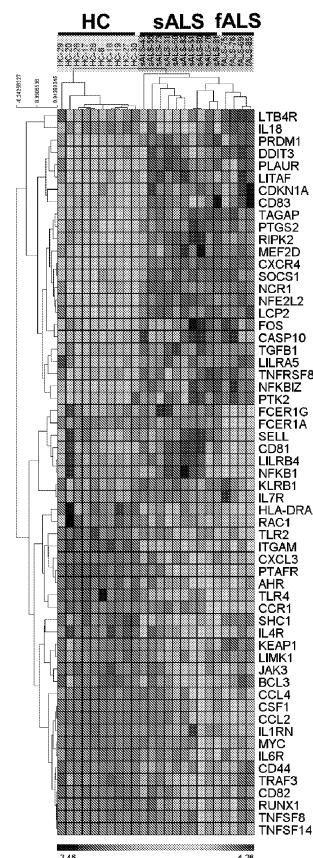


FIGURE 23A

【図23B】

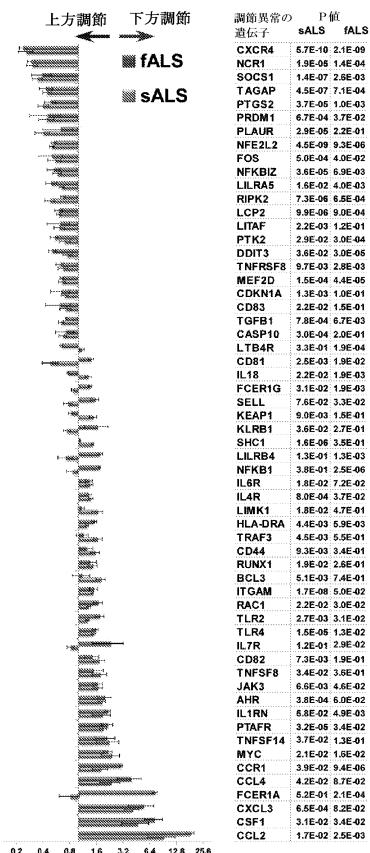


FIGURE 23B

【図23C】

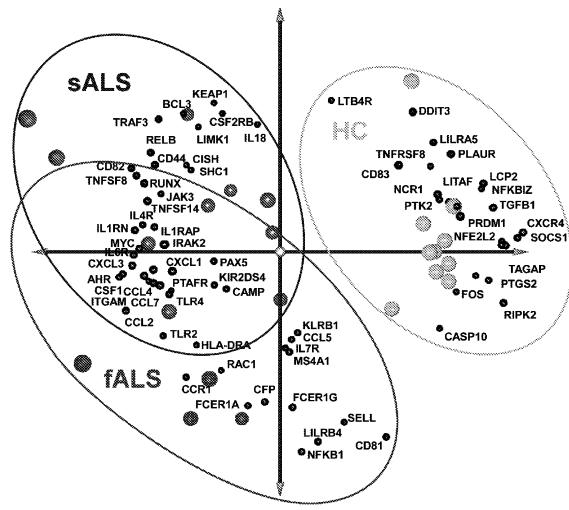


FIGURE 23C

【図24】

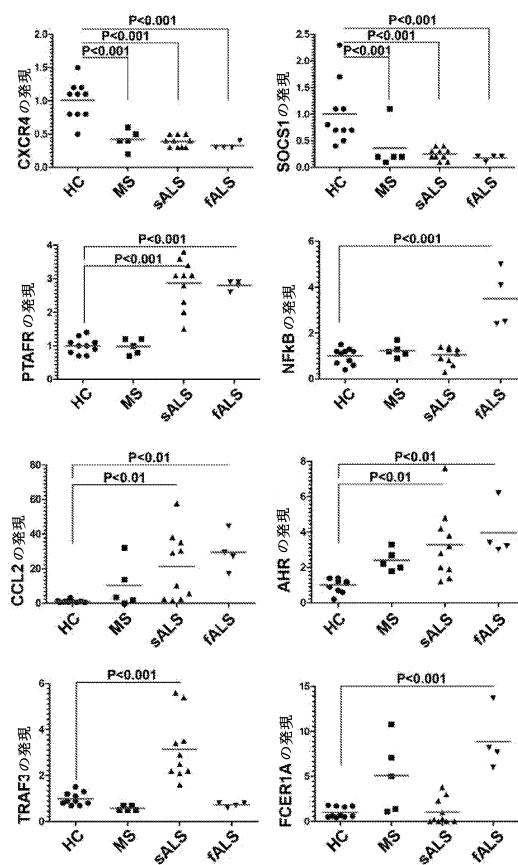


FIGURE 24

【図25】

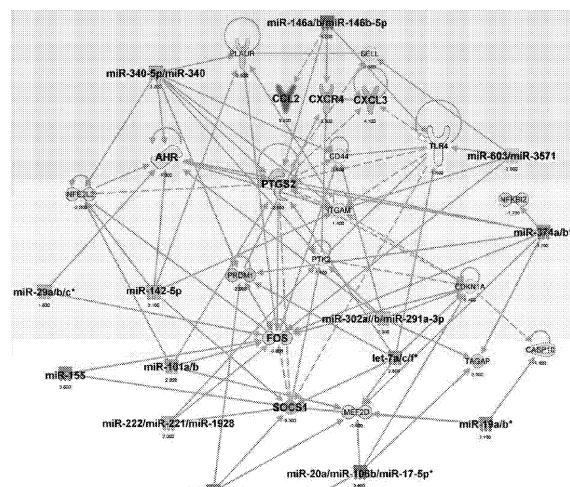


FIGURE 25

【図26-1】

ID	記号	倍率変化	記号	倍率変化
hsa-miR-137	miR-137 (ヒト、マウス、ラット)	+2.100	AHR	+2.000
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (他を含む)	+2.300	AHR	+2.000
hsa-miR-453	miR-410*/*miR-464*/*miR-496* (他を含む)	+1.900	CASP10	+1.500
hsa-miR-19b	miR-19b/miR-19a	+3.000	CASP10	+1.500
hsa-miR-24	miR-24	+3.000	CASP10	+1.500
hsa-miR-361-5p	miR-361/miR-361-5p	+2.500	CASP10	+1.500
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (他を含む)	+2.300	CD44	+1.600
hsa-miR-513a-5p	miR-513a-5p	+2.500	CD44	+1.600
hsa-miR-526a	miR-526a/miR-522*/*miR-522c-5p (他を含む)	+1.900	CD44	+1.600
hsa-let-7a	let-7a/let-7b/let-7c (他を含む)	+2.800	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106a/miR-17-5p (他を含む)	+3.800	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-21	miR-21/miR-590-5p	+2.500	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-423-5p	miR-423-5p/miR-423/*miR-3573-5p (他を含む)	+1.600	CDKN1A	+1.400
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	CXCL3	+5.400
hsa-miR-146a	miR-146a/miR-146b/miR-146b-5p	+4.200	CXCR4	+4.200
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101c	+2.300	FOS	+2.000
hsa-miR-155	miR-155 (ヒト、マウス)	+3.000	FOS	+2.000
hsa-miR-221	miR-222/miR-221/miR-192t	+2.000	FOS	+2.000
hsa-miR-29c	miR-29u/miR-29c/miR-29u	+1.800	FOS	+2.000
hsa-miR-374a	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	FOS	+2.000
hsa-miR-513a-5p	miR-513a-5p	+2.500	IL1RN	+2.100
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	ITGAM	+1.500
hsa-miR-16	miR-16/miR-497/miR-195 (他を含む)	+3.000	LTAF	+1.600
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106a/miR-17-5p (他を含む)	+3.800	LTAF	+1.600
hsa-miR-27a	miR-27a/miR-27a	+4.200	LTAF	+1.600
hsa-miR-24	miR-24	+3.000	LTBAR	+1.600
hsa-miR-320c	miR-320d/miR-320b/miR-320c (他を含む)	+2.000	LTBAR	+1.600
hsa-let-7a	let-7a/let-7b/let-7c (他を含む)	+2.800	MEF2C	+1.500
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101c	+2.300	MEF2D	+1.500
hsa-miR-19b	miR-19b/miR-19a	+3.100	MEF2D	+1.500
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106a/miR-17-5p (他を含む)	+3.800	MEF2D	+1.500
hsa-miR-223	miR-223	+1.700	MEF2D	+1.500
hsa-miR-30c	miR-30c/miR-30a/miR-30d (他を含む)	+3.600	MEF2D	+1.500
hsa-miR-374a	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	MEF2D	+1.500
hsa-miR-423-5p	miR-423-5p/miR-423/*miR-3573-5p (他を含む)	+1.600	MEF2D	+1.500
hsa-miR-1260	miR-1260/miR-126	+2.500	NCR1	+3.400
hsa-miR-532-3p	miR-532-3p	+2.800	NCR1	+3.400
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101c	+2.300	NFE2L2	+2.000

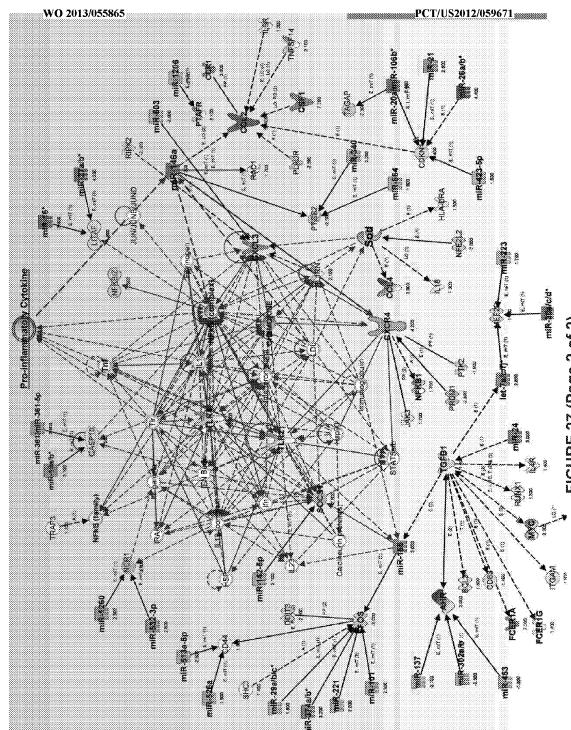
FIGURE 26 (Page 1 of 2)

【図26-2】

hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	+2.100	NFE2L2	+2.000
hsa-miR-27a	miR-27b/miR-27a	+4.200	NFE2L2	+2.000
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-34C	+2.200	NFE2L2	+2.000
hsa-miR-374a	miR-374/miR-374a/miR-374t	+3.200	NFKBIZ	+1.900
hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	+2.100	PLAUR	+2.500
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-34C	+2.200	PLAUR	+2.500
hsa-let-7a	let-7a/let-7b/let-7c (他を含む)	+2.800	PRDM1	+2.300
hsa-miR-223	miR-223	+1.700	PRDM1	+2.300
hsa-miR-30d	miR-30d/miR-30a/miR-30d (他を含む)	+3.600	PRDM1	+2.300
hsa-miR-320c	miR-320a/miR-320b/miR-320c (他を含む)	+2.000	PRDM1	+2.300
hsa-miR-340-5p/miR-34C	miR-340-5p/miR-34C	+2.200	PRDM1	+2.300
hsa-miR-374a	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	PTAF1	+2.100
hsa-miR-1206	miR-1206	+2.200	PTAF1	+2.100
hsa-let-7a	let-7a/let-7b/let-7c (他を含む)	+2.800	PTG52	+2.500
hsa-miR-101	miR-101/miR-101a/miR-101c	+2.300	PTG52	+2.500
hsa-miR-146a	miR-146a/miR-146b/miR-146b-5p	+4.200	PTG52	+2.500
hsa-miR-16	miR-16/miR-497/miR-195 (他を含む)	+3.000	PTG52	+2.500
hsa-miR-26a	miR-26a/miR-26	+4.400	PTG52	+2.500
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-26	+2.200	PTG52	+2.500
hsa-miR-664	miR-664 (ヒト、マウス、ラット)	+1.900	PTG52	+2.500
hsa-miR-221	miR-221/miR-221/miR-192t	+2.000	PTK2	+1.900
hsa-miR-340	miR-340-5p/miR-34C	+2.200	PTK2	+1.900
hsa-miR-137	miR-137 (ヒト、マウス)	+2.100	RAC1	+1.700
hsa-miR-302c	miR-302a/miR-302b/miR-291a-3p (他を含む)	+2.300	RUNX1	+1.500
miR-513a-5p	miR-513a-5p	+2.500	RUNX1	+1.500
hsa-miR-548g	miR-548g	+2.100	RUNX1	+1.500
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	SELL	+1.500
hsa-let-7a	let-7a/let-7b/let-7c (他を含む)	+2.800	SOC51	+2.900
hsa-miR-142-5p	miR-142-5p	+2.100	SOC51	+2.900
hsa-miR-155	miR-155 (ヒト、マウス)	+3.000	SOC51	+2.900
hsa-miR-19b/miR-19a	miR-19b/miR-19a	+3.100	SOC51	+2.900
hsa-miR-221	miR-221/miR-221/miR-192t	+2.000	SOC51	+2.900
hsa-miR-30b	miR-30c/miR-30a/miR-30d (他を含む)	+2.600	SOC51	+2.900
hsa-miR-106b	miR-20a/miR-106a/miR-17-5p (他を含む)	+2.800	TAGAP	+2.300
hsa-miR-21	miR-21/miR-596-5p	+2.500	TAGAP	+2.300
hsa-miR-374a	miR-374a/miR-374a/miR-374t	+3.200	TAGAP	+2.300
hsa-miR-526a	miR-526a/miR-522*/*miR-520c-5p (他を含む)	+1.900	TLR3	+1.700
hsa-miR-603	miR-603/miR-3571	+2.000	TLR4	+1.600

FIGURE 26 (Page 2 of 2)

【図27-1】



【図28A】

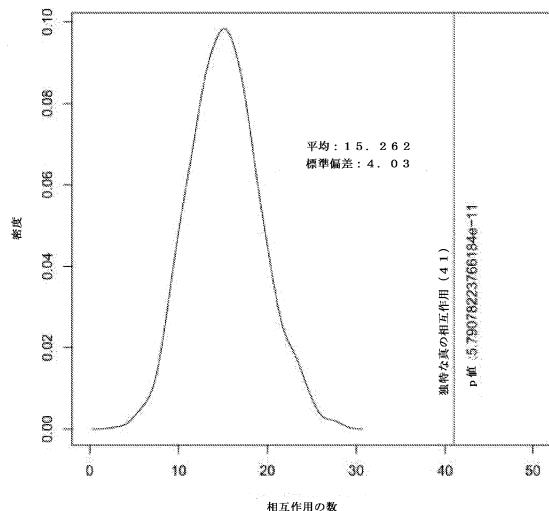


FIGURE 28A

【図28B】

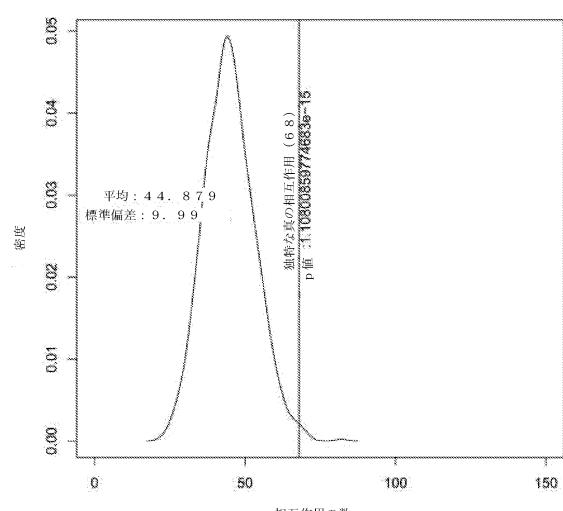


FIGURE 28B

【図29-1】

ネットワーク	総ノード	シードノード	z-P値	zスコア	rスコア
1 SP1	45	44	3.6E-136	192.12	192.12
2 AP-1	40	39	1.5E-119	180.61	180.61
3 RelA (p65 NF- κ B サブユニット)	39	38	2.8E-116	178.22	178.22
4 c-Rel (NF- κ B サブユニット)	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
5 STAT3	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
6 ETS1	33	32	6.8E-97	163.14	163.14
7 NF- κ B1 (p50)	31	31	3.2E-95	163.07	163.07
8 c-Jun	32	31	1.0E-93	160.49	160.49
9 CREB1	32	31	1.0E-93	160.49	160.49
10 c-Myc	30	30	5.0E-92	160.41	160.41
11 STAT1	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
12 PU.1	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
13 p53	31	30	1.5E-90	157.8	157.8
14 NF- κ B	29	29	7.4E-89	157.71	157.71
15 EGR1	30	29	2.2E-87	155.06	155.06
16 GCR-alpha	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
17 C/EBPbeta	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
18 HIF1A	29	28	3.1E-84	152.27	152.27
19 YY1	28	27	4.3E-81	149.43	149.43
20 SP3	27	26	5.8E-78	146.53	146.53

【図29-2】

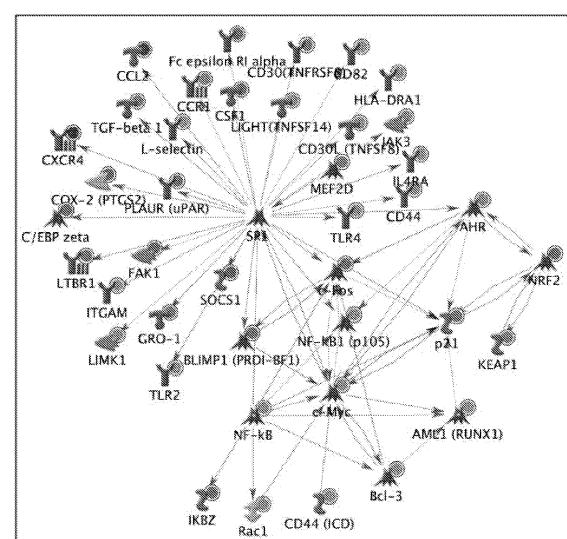


FIGURE 29 (Page 2 of 2)

【図30】

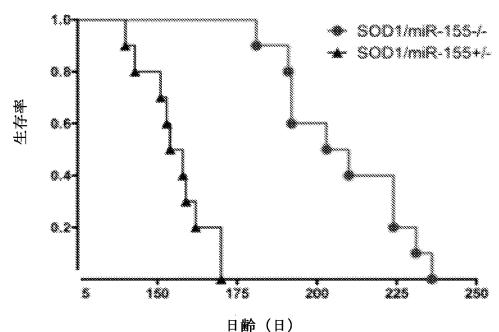


FIGURE 30

【図32】

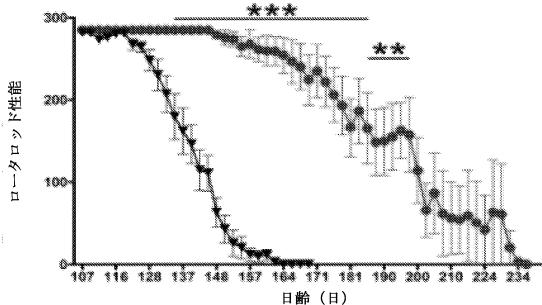


FIGURE 32

【図31】

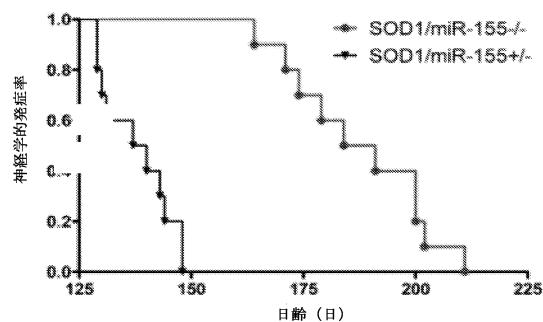


FIGURE 31

【図33】

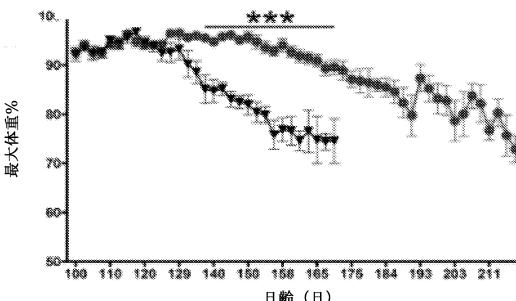


FIGURE 33

【図34】

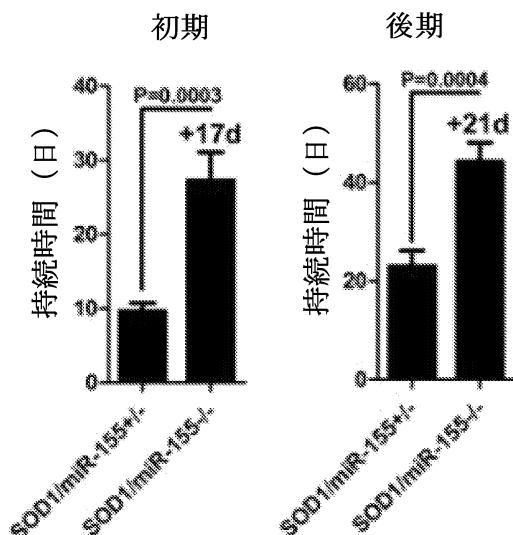


FIGURE 34

【図35A】

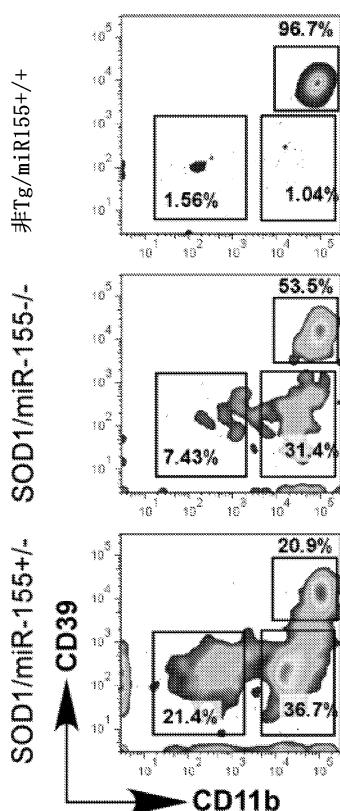


Figure 35A

【図35B】

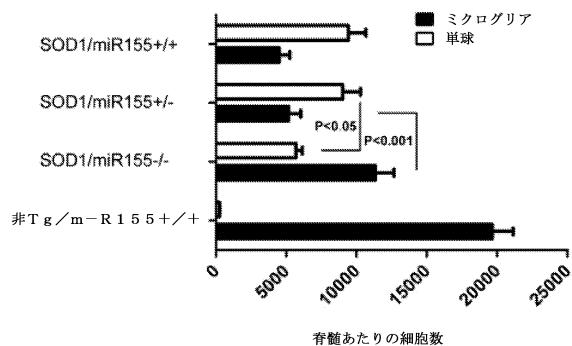


Figure 35B

【図36-1】

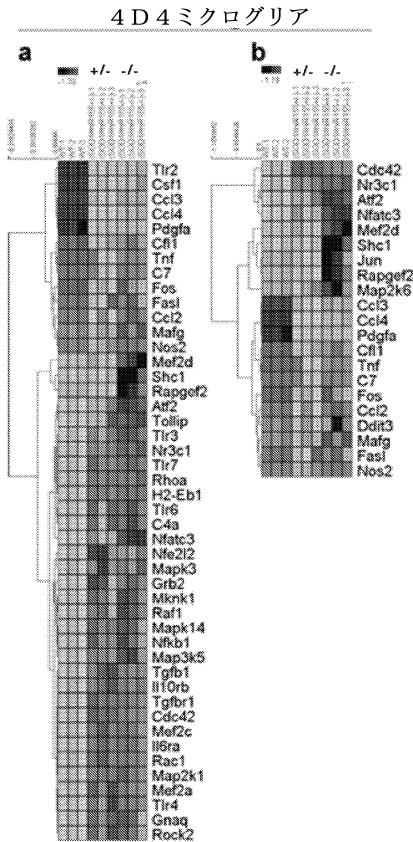


Figure 36 (Page 1 of 2)

【図36-2】

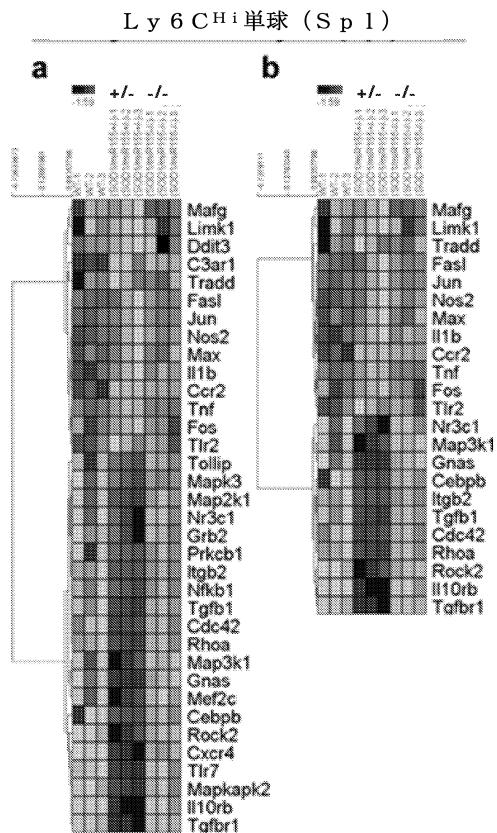
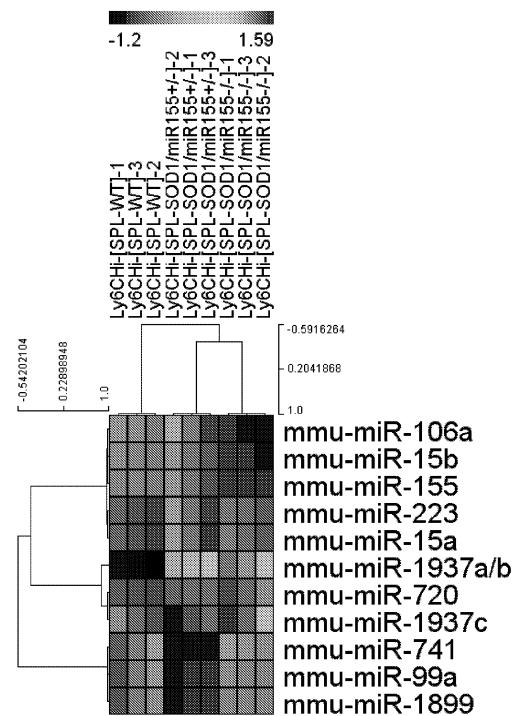


Figure 36 (Page 2 of 2)

【図37】



【図38-1】

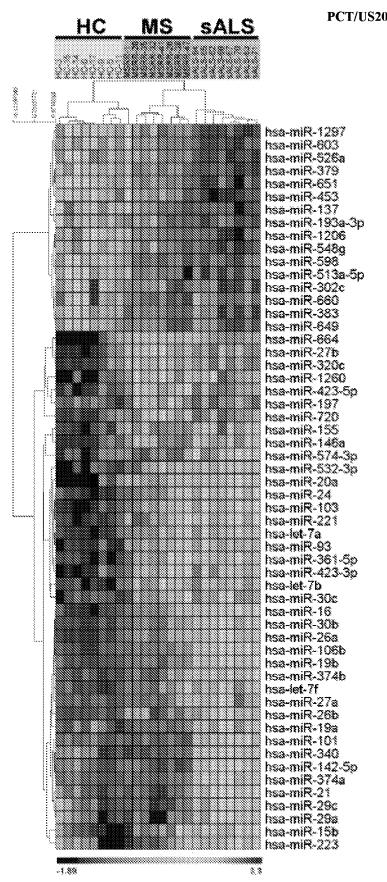


Figure 38 (Page 1 of 2)

【図38-2】

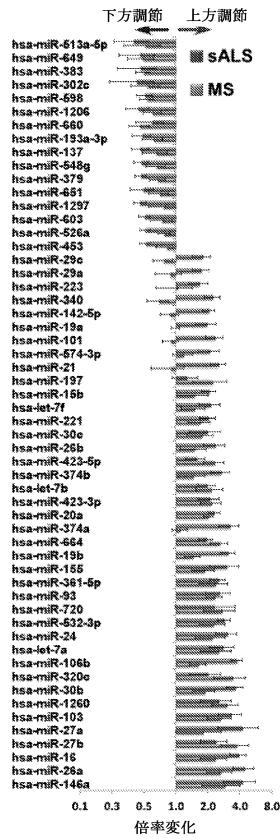


Figure 38 (Page 2 of 2)

【配列表】

0006234370000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 ウェイナー, ハワード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02445, ブルックライン, コルボーン クレセント
72

(72)発明者 ブートフスキー, オレグ

アメリカ合衆国 02215, ボストン, パーク ドライブ 117, アパートメント ナンバー
1

審査官 宮岡 真衣

(56)参考文献 國際公開第2009/117418 (WO, A1)

特表2009-532044 (JP, A)

國際公開第2009/029690 (WO, A1)

米国特許出願公開第2010/0286385 (US, A1)

國際公開第2008/153692 (WO, A1)

特表2005-511061 (JP, A)

Nature Genetics, 2011年, 43(4), p.371-378

SOREQ H., Nucleic Acid Therapeutics, 7th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, 21(5) (2011 Sep), A-57, 1002

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/113

C12Q 1/68

A61K 31/7105 - 31/7125

A61K 48/00

A61P 21/02

JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamIII)

PubMed

Capplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS / REGISTRY / WPIDS
(STN)