

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7237816号
(P7237816)

(45)発行日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(24)登録日 令和5年3月3日(2023.3.3)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/713(2006.01)

A 6 1 K 31/713

Z N A

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 31/20 (2006.01)

A 6 1 P 31/20

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1

請求項の数 122 (全161頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-505172(P2019-505172)

(86)(22)出願日 平成29年8月4日(2017.8.4)

(65)公表番号 特表2019-527694(P2019-527694
A)

(43)公表日 令和1年10月3日(2019.10.3)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/045446

(87)国際公開番号 WO2018/027106

(87)国際公開日 平成30年2月8日(2018.2.8)

審査請求日 令和2年8月4日(2020.8.4)

(31)優先権主張番号 62/370,754

(32)優先日 平成28年8月4日(2016.8.4)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/534,733

(32)優先日 平成29年7月20日(2017.7.20)

最終頁に続く

(73)特許権者 512219840

アローヘッド ファーマシューティカルズ

インコーポレイテッド

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1

0 5 , バサデナ , イースト コロラド

ブルバード 1 7 7 , スイート 7 0 0

(74)代理人 100092783

弁理士 小林 浩

(74)代理人 100095360

弁理士 片山 英二

(74)代理人 100093676

弁理士 小林 純子

(74)代理人 100120134

弁理士 大森 規雄

(74)代理人 100104282

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 B型肝炎ウイルス感染のためのRNAi薬

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象におけるB型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための、配列番号300、302、306、307、309および319～321のいずれか1つに記載の核酸塩基配列を含むセンス鎖と、センス鎖に対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む、RNAi薬。

【請求項2】

前記センス鎖が、配列番号302に記載の核酸塩基配列を含む、請求項1に記載のRNAi薬。

【請求項3】

前記アンチセンス鎖が、配列番号152、160、170、171、174、175、178、180、および181のいずれか1つに記載の核酸塩基配列を含む、請求項1又は請求項2に記載のRNAi薬。

【請求項4】

前記アンチセンス鎖が、配列番号171に記載の核酸塩基配列を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載のRNAi薬。

【請求項5】

前記RNAi薬の前記センス鎖の少なくとも1つのヌクレオチド、及び/又は、前記アンチセンス鎖の少なくとも1つのヌクレオチドが、修飾ヌクレオチドである、及び/又は修飾ヌクレオチド間連結を有する、請求項1～4のいずれか1項に記載のRNAi薬。

【請求項 6】

前記 RNA i 薬のセンス鎖のヌクレオチドの全てまたは実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、および / または前記 RNA i 薬のアンチセンス鎖のヌクレオチドの全てまたは実質的に全てが修飾ヌクレオチドである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 7】

前記センス鎖が、配列番号 2 1 1、2 2 6、2 2 9、2 3 4、2 3 5、2 3 7、2 3 8、2 4 4、2 4 5、2 5 2 ~ 2 5 5、および 2 7 3 のいずれか 1 つに記載の配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 8】

前記センス鎖が、配列番号 2 5 2 に記載の配列を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 9】

前記センス鎖が、配列番号 2 1 1、2 2 6、2 2 9、2 3 4、2 3 5、2 3 7、2 3 8、2 4 4、2 4 5、2 5 2 ~ 2 5 5、および 2 7 3 のいずれか 1 つに記載の構造を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 10】

前記アンチセンス鎖が、配列番号 7 9、9 8、1 0 8 ~ 1 1 2、1 2 0、1 2 5、1 2 6、1 2 8、および 1 3 0 のいずれか 1 つに記載の配列を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 11】

前記アンチセンス鎖が、配列番号 1 2 6 に記載の配列を含む、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 12】

前記アンチセンス鎖が、配列番号 7 9、9 8、1 0 8 ~ 1 1 2、1 2 0、1 2 5、1 2 6、1 2 8、および 1 3 0 のいずれか 1 つに記載の構造を含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 13】

前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ 1 7 ~ 3 0 ヌクレオチド長である、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 14】

前記 RNA i 薬が標的化リガンドにコンジュゲートされている、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 15】

前記標的化リガンドが N - アセチル - ガラクトサミンを含む、請求項 1 4 に記載の RNA i 薬。

【請求項 16】

前記標的化リガンドが (NAG 1 3)、(NAG 1 3) s、(NAG 1 8)、(NAG 1 8) s、(NAG 2 4)、(NAG 2 4) s、(NAG 2 5)、(NAG 2 5) s、(NAG 2 6)、(NAG 2 6) s、(NAG 2 7)、(NAG 2 7) s、(NAG 2 8)、(NAG 2 8) s、(NAG 2 9)、(NAG 2 9) s、(NAG 3 0)、(NAG 3 0) s、(NAG 3 1)、(NAG 3 1) s、(NAG 3 2)、(NAG 3 2) s、(NAG 3 3)、(NAG 3 3) s、(NAG 3 4)、(NAG 3 4) s、(NAG 3 5)、(NAG 3 5) s、(NAG 3 6)、(NAG 3 6) s、(NAG 3 7)、(NAG 3 7) s、(NAG 3 8)、(NAG 3 8) s、(NAG 3 9)、又は (NAG 3 9) s である、請求項 1 5 に記載の RNA i 薬。

【請求項 17】

前記標的化リガンドが (NAG 3 7) s、又は (NAG 2 5) s である、請求項 1 5 又は請求項 1 6 に記載の RNA i 薬。

【請求項 18】

前記標的化リガンドが、前記RNAi薬の前記センス鎖にコンジュゲートされている、請求項14～17のいずれか1項に記載のRNAi薬。

【請求項19】

前記RNAi薬が、修飾ヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、前記RNAi薬が、AD04010（配列番号79および配列番号211）；AD04438（配列番号98および配列番号226）；AD04581（配列番号108および配列番号211）；AD04583（配列番号109および配列番号234）；AD04584（配列番号110および配列番号234）；AD04585（配列番号111および配列番号235）；AD04586（配列番号112および配列番号235）；AD04588（配列番号110および配列番号237）；AD04591（配列番号108および配列番号238）；AD04771（配列番号120および配列番号244）；AD04872（配列番号126および配列番号252）；AD04873（配列番号127および配列番号252）；AD04874（配列番号128および配列番号253）；AD04875（配列番号129および配列番号254）；AD04876（配列番号130および配列番号255）；AD04962（配列番号111および配列番号244）；またはAD05164（配列番号126および配列番号273）のデュプレックス構造を有する、請求項1～18のいずれか1項に記載のRNAi薬。

10

【請求項20】

前記RNAi薬が、5'末端でNAG37sに連結され、構造(NAG25)s-(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)(配列番号235)を有するセンス鎖と、構造usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacssus(配列番号111)を有するアンチセンス鎖を含む、請求項19に記載のRNAi薬。

20

【請求項21】

前記RNAi薬が、5'末端でNAG37sに連結され、構造(NAG37)s-(invAb)sguggacuuCfUfCfucacuuuucus(invAb)(配列番号252)を有するセンス鎖と、構造asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc(配列番号126)を有するアンチセンス鎖を含む、請求項19に記載のRNAi薬。

【請求項22】

前記RNAi薬が、5'末端でNAG37sに連結され、構造(NAG37)s-(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)(配列番号244)を有するセンス鎖と、構造usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacssus(配列番号111)を有するアンチセンス鎖を含む、請求項19に記載のRNAi薬。

30

【請求項23】

請求項1～22のいずれか1項に記載のRNAi薬を製造する方法であって、RNAi薬のセンス鎖を合成すること、RNAi薬のアンチセンス鎖を合成すること、およびセンス鎖およびアンチセンス鎖をアニーリングしてRNAi薬を製造することを含む、方法。

40

【請求項24】

対象におけるB型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための、請求項1～22のいずれか1項に記載の第1のRNAi薬と、センス鎖及びアンチセンス鎖を含む第2のRNAi薬を含む、組成物。

【請求項25】

前記第1のRNAi薬が、HBV遺伝子のSオープンリーディングフレーム(ORF)を標的とし、かつ、前記第2のRNAi薬が、HBV遺伝子のXオープンリーディングフレーム(ORF)を標的とする、請求項24に記載の組成物。

【請求項26】

50

請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の第 1 の RNA i 薬と、HBV 遺伝子の X オープンリーディングフレーム (ORF) を標的とする、第 2 の RNA i 薬を含み、前記第 1 の RNA i 薬および / または前記第 2 の RNA i 薬が標的化リガンドにコンジュゲートされている、対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害することに使用するための組成物。

【請求項 2 7】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 4 9 ~ 6 0、2 7 5 ~ 2 8 1、2 9 1 ~ 2 9 4、3 0 3 ~ 3 0 5、3 1 6、3 1 7 および 3 2 2 ~ 3 3 4 のいずれか 1 つに記載の核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 3 2 8 に記載の核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む、請求項 2 6 又は請求項 2 7 に記載の組成物。

【請求項 2 9】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 2 2 ~ 3 3、1 4 9 ~ 1 5 1、1 5 3、1 5 4、1 6 1 ~ 1 6 4、1 7 2、1 7 3 および 1 8 2 ~ 1 9 4 のいずれか 1 つに記載の核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 0】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 1 8 8 に記載の核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 2 6 または請求項 2 9 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

前記第 1 の RNA i 薬と第 2 の RNA i 薬が、標的化リガンドにそれぞれコンジュゲートされている、請求項 2 6 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記標的化リガンドが N - アセチル - ガラクトサミンを含む、請求項 2 6 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記標的化リガンドが (NAG 1 3)、(NAG 1 3) s、(NAG 1 8)、(NAG 1 8) s、(NAG 2 4)、(NAG 2 4) s、(NAG 2 5)、(NAG 2 5) s、(NAG 2 6)、(NAG 2 6) s、(NAG 2 7)、(NAG 2 7) s、(NAG 2 8)、(NAG 2 8) s、(NAG 2 9)、(NAG 2 9) s、(NAG 3 0)、(NAG 3 0) s、(NAG 3 1)、(NAG 3 1) s、(NAG 3 2)、(NAG 3 2) s、(NAG 3 3)、(NAG 3 3) s、(NAG 3 4)、(NAG 3 4) s、(NAG 3 5)、(NAG 3 5) s、(NAG 3 6)、(NAG 3 6) s、(NAG 3 7)、(NAG 3 7) s、(NAG 3 8)、(NAG 3 8) s、(NAG 3 9)、又は (NAG 3 9) s である、請求項 3 2 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記標的化リガンドが (NAG 3 7) s、又は (NAG 2 5) s である、請求項 3 2 又は請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記標的化リガンドが、前記第 1 の RNA i 薬のセンス鎖および / または第 2 の RNA i 薬のセンス鎖にコンジュゲートされている、請求項 2 6 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 1 9 5 ~ 2 0 3、2 1 3 ~ 2 1 8、2 3 0 ~ 2 3 3、2 4 8 ~ 2 5 0、2 5 6 ~ 2 7 2 および 2 7 4 のいずれか 1 つに記載の配列を含むセンス鎖を含む、請求項 2 6 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記第 2 の RNA i 薬が、配列番号 2 6 2 に記載の配列を含むセンス鎖を含む、請求項 2 6 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 8】

10

20

30

40

50

前記第2のRNA i薬が、配列番号195～203、213～218、230～233、248～250、256～272および274のいずれか1つに記載の構造を含むセンス鎖を含む、請求項26～30、36および37のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項39】

前記第2のRNA i薬が、配列番号61～64、66～71、80～87、101～107および131～148のいずれか1つに記載の配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項26～30、および36～38のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項40】

前記第2のRNA i薬が、配列番号140に記載の配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項26～30、および36～39のいずれか1項に記載の組成物。

10

【請求項41】

前記第2のRNA i薬が、配列番号61～64、66～71、80～87、101～107および131～148のいずれか1つに記載の構造を含むアンチセンス鎖を含む、請求項26～30、および36～40のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項42】

前記第2のRNA i薬が、修飾ヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、前記第2のRNA i薬が、AD03498（配列番号61および配列番号196）；AD03499（配列番号62および配列番号195）；AD03500（配列番号63および配列番号195）；AD03501（配列番号64および配列番号195）；AD03738（配列番号66および配列番号197）；AD03739（配列番号67および配列番号197）；AD03967（配列番号64および配列番号198）；AD03968（配列番号68および配列番号198）；AD03969（配列番号64および配列番号199）；AD03970（配列番号68および配列番号203）；AD03971（配列番号69および配列番号199）；AD03972（配列番号64および配列番号200）；AD03973（配列番号64および配列番号201）；AD03974（配列番号64および配列番号202）；AD03975（配列番号70および配列番号199）；AD03976（配列番号71および配列番号203）；AD03977（配列番号70および配列番号201）；AD03978（配列番号70および配列番号195）；AD04176（配列番号80および配列番号213）；AD04177（配列番号64および配列番号214）；AD04178（配列番号68および配列番号214）；AD04412（配列番号68および配列番号215）；AD04413（配列番号68および配列番号216）；AD04414（配列番号81および配列番号215）；AD04415（配列番号68および配列番号217）；AD04416（配列番号82および配列番号218）；AD04417（配列番号83および配列番号218）；AD04418（配列番号84および配列番号218）；AD04419（配列番号85および配列番号218）；AD04420（配列番号86および配列番号218）；AD04421（配列番号87および配列番号218）；AD04570（配列番号68および配列番号230）；AD04571（配列番号101および配列番号230）；AD04572（配列番号102および配列番号230）；AD04573（配列番号103および配列番号231）；AD04574（配列番号104および配列番号231）；AD04575（配列番号105および配列番号232）；AD04576（配列番号106および配列番号232）；AD04577（配列番号68および配列番号233）；AD04578（配列番号102および配列番号232）；AD04579（配列番号71および配列番号214）；AD04580（配列番号107および配列番号214）；AD04776（配列番号102および配列番号248）；AD04777（配列番号106および配列番号249）；AD04778（配列番号106および配列番号250）；AD04823（配列番号82および配列番号248）；AD04881（配列番号131および配列番号256）；AD04882（配列番号132および配列番号257）；AD04883（配列番号133および配列番号258）；AD04884（配列番号134および配列番号259）；AD04885（配列番号135および配列番号260）；A

20

30

40

50

D 0 4 9 6 3 (配列番号 1 0 7 および配列番号 2 1 6) ; A D 0 4 9 8 1 (配列番号 1 3 6 および配列番号 2 4 8) ; A D 0 4 9 8 2 (配列番号 1 3 7 および配列番号 2 4 8) ; A D 0 4 9 8 3 (配列番号 1 3 8 および配列番号 2 4 8) ; A D 0 5 0 6 9 (配列番号 1 3 9 および配列番号 2 6 1) ; A D 0 5 0 7 0 (配列番号 1 4 0 および配列番号 2 6 2) ; A D 0 5 0 7 1 (配列番号 1 4 1 および配列番号 2 6 3) ; A D 0 5 0 7 2 (配列番号 6 8 および配列番号 2 6 4) ; A D 0 5 0 7 3 (配列番号 1 4 2 および配列番号 2 6 5) ; A D 0 5 0 7 4 (配列番号 1 4 3 および配列番号 2 4 8) ; A D 0 5 0 7 5 (配列番号 1 4 4 および配列番号 2 6 6) ; A D 0 5 0 7 6 (配列番号 1 4 5 および配列番号 2 6 7) ; A D 0 5 0 7 7 (配列番号 1 4 6 および配列番号 2 6 8) ; A D 0 5 0 7 8 (配列番号 1 4 7 および配列番号 2 6 9) ; A D 0 5 1 4 7 (配列番号 1 4 8 および配列番号 2 7 0) ; A D 0 5 1 4 8 (配列番号 1 4 0 および配列番号 2 7 1) ; A D 0 5 1 4 9 (配列番号 1 4 8 および配列番号 2 7 2) ; または A D 0 5 1 6 5 (配列番号 1 4 0 および配列番号 2 7 4) のデュプレックス構造を有する、請求項 2 4 ~ 4 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

10

【請求項 4 3】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列番号 2 5 2) を有するセンス鎖と、構造 a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u C f c a s c (配列番号 1 2 6) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s c g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 2 6 2) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 1 4 0) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 2 4 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

【請求項 4 4】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列番号 2 5 2) を有するセンス鎖と、構造 a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u C f c a s c (配列番号 1 2 6) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s (i n v A b) s g g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 2 4 8) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 1 3 7) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 2 4 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

30

【請求項 4 5】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列番号 2 5 2) を有するセンス鎖と、構造 a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u C f c a s c (配列番号 1 2 6) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s (i n v A b) s g g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 2 4 8) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 1 0 2) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 2 4 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【請求項 4 6】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 N A G 2 5) s - (i n v A b) s g u g g u g g A f C f U f u c u c u c a a u a u s u (i n v A b) (配列番号 2 3 5) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c s u s u (配列番号 1 1 1) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 N A G 3 1) s (i n v

50

A b) s c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 2 1 4) を有するセンス鎖と、構造 c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 1 0 7) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 2 4 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 4 7】

請求項 2 4 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の組成物を製造する方法であって、
第 1 の R N A i 薬のセンス鎖を合成すること、
第 1 の R N A i 薬のアンチセンス鎖を合成すること、
第 1 の R N A i 薬のセンス鎖およびアンチセンス鎖をアニーリングして第 1 の R N A i 薬を製造すること、
第 2 の R N A i 薬のセンス鎖を合成すること、
第 2 の R N A i 薬のアンチセンス鎖を合成すること、
第 2 の R N A i 薬のセンス鎖およびアンチセンス鎖をアニーリングして第 2 の R N A i 薬を製造すること、を含む、方法。

10

【請求項 4 8】

前記組成物における前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 5 : 1 である、請求項 2 4 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 4 9】

前記組成物における前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 3 : 1 である、請求項 2 4 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

【請求項 5 0】

前記組成物における前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 2 : 1 である、請求項 2 4 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5 1】

1 つ又は複数の追加の治療を更に含む、請求項 2 4 ~ 4 6 及び 4 8 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5 2】

1 つ又は複数の追加の治療が、抗ウイルス治療を含む、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 3】

前記 1 つ又は複数の追加の治療が、ラミブジン、テノホビル、テノホビルアラフェナミド、テノホビルジソプロキシル、又はエンテカビルを含む、請求項 5 1 に記載の組成物。

30

【請求項 5 4】

前記 1 つ又は複数の追加の治療がインターフェロンを含む、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 5】

前記 1 つ又は複数の追加の治療がインターフェロン を含む、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 6】

対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害することに使用するためのものであり、製薬的に許容される賦形剤を更に含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬を含む組成物、または請求項 2 4 ~ 4 5 及び 4 8 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【請求項 5 7】

対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害することに使用するための、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬または請求項 2 4 ~ 4 5 及び 4 8 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5 8】

H B V 感染、H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態を有する、または B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスおよびヒト免疫不全ウイルス (H I V) の少なくとも 1 つとに感染した対象を治療するために使用するための、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬または請求項 2 4 ~ 4 5 及び 4 8 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の組成物。

50

【請求項 59】

H B V 感染を有する対象を治療することに使用するための、請求項 58 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 60】

H B V 感染が、慢性 H B V 感染である、請求項 59 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 61】

慢性 D 型肝炎ウイルス (H D V) 感染を有する対象を治療するのに用いるための、請求項 58 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 62】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態を有する対象を治療することに使用するための、請求項 58 に記載の R N A i 薬または組成物。

10

【請求項 63】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、肝臓炎症である、請求項 62 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 64】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、肝細胞癌である、請求項 62 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 65】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、慢性肝炎である、請求項 62 に記載の R N A i 薬または組成物。

20

【請求項 66】

B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスおよびヒト免疫不全ウイルス (H I V) の少なくとも 1 つとに感染した対象の治療に使用するための、請求項 58 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 67】

B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスとに感染した対象の治療に使用するための、請求項 66 に記載の R N A i 薬または組成物。

【請求項 68】

前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 1 : 1 ~ 約 5 : 1 の比で対象に投与される、請求項 58 に記載の組成物。

30

【請求項 69】

前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 1 : 1 ~ 約 3 : 1 の比で対象に投与される、請求項 58 に記載の組成物。

【請求項 70】

前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 1 : 1 ~ 約 2 : 1 の比で対象に投与される、請求項 58 に記載の組成物。

【請求項 71】

対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害することに使用するための、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬であって、前記 R N A i 薬が第 1 の R N A i 薬であり、前記第 1 の R N A i 薬が第 2 の R N A i 薬と組み合わせて投与される、R N A i 薬。

40

【請求項 72】

H B V 感染、H B V によって生じる慢性肝疾患、障害、又は状態を有する、または B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスおよびヒト免疫不全ウイルス (H I V) の少なくとも 1 つとに感染した対象を治療することに使用するための、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬であって、前記 R N A i 薬が第 1 の R N A i 薬であり、前記第 1 の R N A i 薬が第 2 の R N A i 薬と組み合わせて投与される、R N A i 薬。

【請求項 73】

H B V 感染を有する対象を治療することに使用するための、請求項 72 に記載の R N A i 薬。

50

【請求項 7 4】

H B V 感染が、慢性 H B V 感染である、請求項 7 3 に記載の R N A i 薬。

【請求項 7 5】

慢性 H D V 感染を有する対象の治療において用いるための、請求項 7 2 に記載の R N A i 薬。

【請求項 7 6】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態を有する対象を治療することに使用するための、請求項 7 2 に記載の R N A i 薬。

【請求項 7 7】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、肝臓炎症である、請求項 7 6 に記載の R N A i 薬。

10

【請求項 7 8】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、肝細胞癌である、請求項 7 6 に記載の R N A i 薬。

【請求項 7 9】

H B V 感染によって生じる慢性肝疾患、障害、もしくは状態が、慢性肝炎である、請求項 7 6 に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 0】

B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスおよびヒト免疫不全ウイルス (H I V) の少なくとも 1 つとに感染した対象の治療に使用するための、請求項 7 2 に記載の R N A i 薬。

20

【請求項 8 1】

B 型肝炎ウイルスと D 型肝炎ウイルスとに感染した対象の治療に使用するための、請求項 8 0 に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 2】

前記第 1 の R N A i 薬が、H B V 遺伝子の S オープンリーディングフレーム (O R F) を標的とし、かつ、前記第 2 の R N A i 薬が、H B V 遺伝子の X オープンリーディングフレーム (O R F) を標的とする、請求項 7 1 ~ 8 1 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 3】

前記第 1 の R N A i 薬が、H B V 遺伝子の S オープンリーディングフレーム (O R F) を標的とし、かつ、前記第 2 の R N A i 薬が、H B V 遺伝子の X オープンリーディングフレーム (O R F) を標的とし、前記第 1 の R N A i 薬および / または第 2 の R N A i 薬が、標的化リガンドにコンジュゲートされている、請求項 7 1 ~ 8 1 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

30

【請求項 8 4】

前記第 2 の R N A i 薬が、配列番号 4 9 ~ 6 0、2 7 5 ~ 2 8 1、2 9 1 ~ 2 9 4、3 0 3 ~ 3 0 5、3 1 6、3 1 7 および 3 2 2 ~ 3 3 4 のいずれか 1 つに記載の核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む、請求項 8 3 に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 5】

前記第 2 の R N A i 薬が、配列番号 3 2 8 に記載の核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む、請求項 8 3 に記載の R N A i 薬。

40

【請求項 8 6】

前記第 2 の R N A i 薬が、配列番号 2 2 ~ 3 3、1 4 9 ~ 1 5 1、1 5 3、1 5 4、1 6 1 ~ 1 6 4、1 7 2、1 7 3 および 1 8 2 ~ 1 9 4 のいずれか 1 つに記載の核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 8 3 に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 7】

前記第 2 の R N A i 薬が、配列番号 1 8 8 に記載の核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 8 3 又は請求項 8 6 に記載の R N A i 薬。

【請求項 8 8】

前記第 1 の R N A i 薬と第 2 の R N A i 薬が、標的化リガンドにそれぞれコンジュゲートされている、請求項 8 3 ~ 8 7 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

50

【請求項 89】

前記標的化リガンドが N - アセチル - ガラクトサミンを含む、請求項 83 ~ 88 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

【請求項 90】

前記標的化リガンドが (NAG13)、(NAG13)s、(NAG18)、(NAG18)s、(NAG24)、(NAG24)s、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(NAG39)、又は (NAG39)s である、請求項 89 に記載の RNAi 薬。

10

【請求項 91】

前記標的化リガンドが (NAG37)s 又は (NAG25)s である、請求項 89 又は請求項 90 に記載の RNAi 薬。

【請求項 92】

前記標的化リガンドが、前記第 1 の RNAi 薬のセンス鎖および / または第 2 の RNAi 薬のセンス鎖にコンジュゲートされている、請求項 83 ~ 91 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

20

【請求項 93】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 195 ~ 203、213 ~ 218、230 ~ 233、248 ~ 250、256 ~ 272 および 274 のいずれか 1 つに記載の配列を含むセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

【請求項 94】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 262 に記載の配列を含むセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87 及び 93 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

【請求項 95】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 195 ~ 203、213 ~ 218、230 ~ 233、248 ~ 250、256 ~ 272 および 274 のいずれか 1 つに記載の構造を含むセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87、93、及び 94 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

30

【請求項 96】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 61 ~ 64、66 ~ 71、80 ~ 87、101 ~ 107 および 131 ~ 148 のいずれか 1 つに記載の配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87 及び 93 ~ 95 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

【請求項 97】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 140 に記載の配列を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87 及び 93 ~ 96 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

【請求項 98】

前記第 2 の RNAi 薬が、配列番号 61 ~ 64、66 ~ 71、80 ~ 87、101 ~ 107 および 131 ~ 148 のいずれか 1 つに記載の構造を含むアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 87 及び 93 ~ 96 のいずれか 1 項に記載の RNAi 薬。

40

【請求項 99】

前記第 2 の RNAi 薬が、修飾ヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、前記第 2 の RNAi 薬が、AD03498 (配列番号 61 および配列番号 196) ; AD03499 (配列番号 62 および配列番号 195) ; AD03500 (配列番号 63 および配列番号 195) ; AD03501 (配列番号 64 および配列番号 195) ; AD03738 (配列番号 66 および配列番号 197) ; AD03739 (配列番号 67 および配列番号 197) ; AD03967 (配列番号 64 および配列番号 198) ; AD03968 (配列番号 68 および配列番号 198) ; AD03969 (配列番号 64 および配列番号 198) ;

50

よび配列番号199) ; A D 0 3 9 7 0 (配列番号68および配列番号203) ; A D 0
 3 9 7 1 (配列番号69および配列番号199) ; A D 0 3 9 7 2 (配列番号64および
 配列番号200) ; A D 0 3 9 7 3 (配列番号64および配列番号201) ; A D 0 3 9
 7 4 (配列番号64および配列番号202) ; A D 0 3 9 7 5 (配列番号70および配列
 番号199) ; A D 0 3 9 7 6 (配列番号71および配列番号203) ; A D 0 3 9 7 7
 (配列番号70および配列番号201) ; A D 0 3 9 7 8 (配列番号70および配列番号
 195) ; A D 0 4 1 7 6 (配列番号80および配列番号213) ; A D 0 4 1 7 7 (配
 列番号64および配列番号214) ; A D 0 4 1 7 8 (配列番号68および配列番号21
 4) ; A D 0 4 4 1 2 (配列番号68および配列番号215) ; A D 0 4 4 1 3 (配列番
 号68および配列番号216) ; A D 0 4 4 1 4 (配列番号81および配列番号215) 10
 ; A D 0 4 4 1 5 (配列番号68および配列番号217) ; A D 0 4 4 1 6 (配列番号8
 2および配列番号218) ; A D 0 4 4 1 7 (配列番号83および配列番号218) ; A
 D 0 4 4 1 8 (配列番号84および配列番号218) ; A D 0 4 4 1 9 (配列番号85お
 よび配列番号218) ; A D 0 4 4 2 0 (配列番号86および配列番号218) ; A D 0
 4 4 2 1 (配列番号87および配列番号218) ; A D 0 4 5 7 0 (配列番号68および
 配列番号230) ; A D 0 4 5 7 1 (配列番号101および配列番号230) ; A D 0 4
 5 7 2 (配列番号102および配列番号230) ; A D 0 4 5 7 3 (配列番号103およ
 び配列番号231) ; A D 0 4 5 7 4 (配列番号104および配列番号231) ; A D 0
 4 5 7 5 (配列番号105および配列番号232) ; A D 0 4 5 7 6 (配列番号106お
 よび配列番号232) ; A D 0 4 5 7 7 (配列番号68および配列番号233) ; A D 0 20
 4 5 7 8 (配列番号102および配列番号232) ; A D 0 4 5 7 9 (配列番号71およ
 び配列番号214) ; A D 0 4 5 8 0 (配列番号107および配列番号214) ; A D 0
 4 7 7 6 (配列番号102および配列番号248) ; A D 0 4 7 7 7 (配列番号106お
 よび配列番号249) ; A D 0 4 7 7 8 (配列番号106および配列番号250) ; A D
 0 4 8 2 3 (配列番号82および配列番号248) ; A D 0 4 8 8 1 (配列番号131お
 よび配列番号256) ; A D 0 4 8 8 2 (配列番号132および配列番号257) ; A D
 0 4 8 8 3 (配列番号133および配列番号258) ; A D 0 4 8 8 4 (配列番号134
 および配列番号259) ; A D 0 4 8 8 5 (配列番号135および配列番号260) ; A
 D 0 4 9 6 3 (配列番号107および配列番号216) ; A D 0 4 9 8 1 (配列番号13
 6および配列番号248) ; A D 0 4 9 8 2 (配列番号137および配列番号248) ; 30
 A D 0 4 9 8 3 (配列番号138および配列番号248) ; A D 0 5 0 6 9 (配列番号1
 39および配列番号261) ; A D 0 5 0 7 0 (配列番号140および配列番号262)
 ; A D 0 5 0 7 1 (配列番号141および配列番号263) ; A D 0 5 0 7 2 (配列番号
 68および配列番号264) ; A D 0 5 0 7 3 (配列番号142および配列番号265)
 ; A D 0 5 0 7 4 (配列番号143および配列番号248) ; A D 0 5 0 7 5 (配列番号
 144および配列番号266) ; A D 0 5 0 7 6 (配列番号145および配列番号267
) ; A D 0 5 0 7 7 (配列番号146および配列番号268) ; A D 0 5 0 7 8 (配列番
 号147および配列番号269) ; A D 0 5 1 4 7 (配列番号148および配列番号27
 0) ; A D 0 5 1 4 8 (配列番号140および配列番号271) ; A D 0 5 1 4 9 (配列
 番号148および配列番号272) ; またはA D 0 5 1 6 5 (配列番号140および配列
 番号274) のデュプレックス構造を有する、請求項83~98のいずれか1項に記載の
 R N A i 薬。

【請求項100】

第1のRNA i 薬は、5'末端でNAG37sに連結され、構造(NAG37)s-(in
 vAb)s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列
 番号252) を有するセンス鎖と、構造a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g
 A f a G f u c f c a s c (配列番号126) を有するアンチセンス鎖を含み、
 第2のRNA i 薬は、5'末端でNAG37sに連結され、構造(NAG37)s-(in
 vAb)s c g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列
 番号262) を有するセンス鎖と、構造u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c

10

20

30

40

50

C f u A f c A f g c s g (配列番号 140) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 99 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 101】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列番号 252) を有するセンス鎖と、構造 a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u C f c a s c (配列番号 126) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s (i n v A b) s g g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 248) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g s c s c (配列番号 137) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 99 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

10

【請求項 102】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s - (i n v A b) s g u g g a c u u C f U f C f u c a a u u u u c u s (i n v A b) (配列番号 252) を有するセンス鎖と、構造 a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u C f c a s c (配列番号 126) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 7) s (i n v A b) s g g c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 248) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 102) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 99 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

20

【請求項 103】

第 1 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 2 5) s - (i n v A b) s g u g g u g g A f C f U f u c u c u c a a u a u s u (i n v A b) (配列番号 235) を有するセンス鎖と、構造 u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c s u s u (配列番号 111) を有するアンチセンス鎖を含み、

第 2 の RNA i 薬は、5' 末端で N A G 3 7 s に連結され、構造 (N A G 3 1) s (i n v A b) s c u g u a g G f C f A f u a a a u u g g u a s (i n v A b) (配列番号 214) を有するセンス鎖と、構造 c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 107) を有するアンチセンス鎖を含む、請求項 83 ~ 99 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

30

【請求項 104】

前記組成物における前記第 1 の RNA i 薬と前記第 2 の RNA i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 5 : 1 である、請求項 83 ~ 103 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 105】

前記組成物における前記第 1 の RNA i 薬と前記第 2 の RNA i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 3 : 1 である、請求項 83 ~ 103 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 106】

前記組成物における前記第 1 の RNA i 薬と前記第 2 の RNA i 薬の比が約 1 : 1 ~ 約 2 : 1 である、請求項 83 ~ 103 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

40

【請求項 107】

1 つ又は複数の追加の治療を更に含む、請求項 83 ~ 106 のいずれか 1 項に記載の RNA i 薬。

【請求項 108】

前記 1 つ又は複数の追加の治療が、抗ウイルス治療を含む、請求項 107 に記載の RNA i 薬。

【請求項 109】

前記 1 つ又は複数の追加の治療が、ラミブジン、テノホビル、テノホビルアラフェナミド、テノホビルジソプロキシル、又はエンテカビルを含む、請求項 107 に記載の RNA

50

i 薬。

【請求項 1 1 0】

前記 1 つ又は複数の追加の治療がインターフェロンを含む、請求項 1 0 7 に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 1】

前記 1 つ又は複数の追加の治療がインターフェロンを含む、請求項 1 0 7 に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 2】

前記 1 つ又は複数の追加の治療が小分子薬、抗体、抗体フラグメント、又はワクチンを含む、請求項 1 0 7 に記載の R N A i 薬。

10

【請求項 1 1 3】

前記 R N A i 薬が、塩の形態である、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 4】

前記 R N A i 薬が、ナトリウム塩の形態である、請求項 1 ~ 2 2 , 及び 1 1 3 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 5】

前記 R N A i 薬が、水溶液に溶解されたナトリウム塩の形態である、請求項 1 ~ 2 2 , 1 1 3 及び 1 1 4 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 6】

前記 R N A i 薬が、凍結乾燥の形態である、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

20

【請求項 1 1 7】

前記 R N A i 薬が、リン酸緩衝生理食塩水で調製される、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の R N A i 薬。

【請求項 1 1 8】

前記第 1 の R N A i 薬及び前記第 2 の R N A i 薬が、それぞれ、塩の形態である、請求項 2 4 ~ 4 6 及び 4 8 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 1 9】

前記第 1 の R N A i 薬及び前記第 2 の R N A i 薬が、それぞれ、ナトリウム塩の形態である、請求項 2 4 ~ 4 6 、 4 8 ~ 5 6 及び 1 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

30

【請求項 1 2 0】

前記第 1 の R N A i 薬及び前記第 2 の R N A i 薬が、それぞれ、水溶液に溶解されたナトリウム塩の形態である、請求項 2 4 ~ 4 6 、 4 8 ~ 5 6 、 1 1 8 及び 1 1 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 2 1】

前記第 1 の R N A i 薬及び前記第 2 の R N A i 薬が、それぞれ、凍結乾燥の形態である、請求項 2 4 ~ 4 6 及び 4 8 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 2 2】

前記第 1 の R N A i 薬及び前記第 2 の R N A i 薬が、それぞれ、リン酸緩衝生理食塩水で調製される、請求項 2 4 ~ 4 6 及び 4 8 ~ 5 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

(関連出願の相互参照)

本出願は、米国仮特許出願第 6 2 / 5 4 0 , 6 3 9 号 (2 0 1 7 年 8 月 3 日) 、同第 6 2 / 5 3 4 , 7 3 3 号 (2 0 1 7 年 7 月 2 0 日) 、及び同第 6 2 / 3 7 0 , 7 5 4 号 (2 0 1 6 年 8 月 4 日) に対して優先権を主張し、これらそれぞれの内容全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

50

(発明の分野)

本明細書で開示されるのは、B型肝炎ウイルスの遺伝子発現を阻害するためのRNA干渉(RNAi)薬、HBV RNAi薬を含む組成物、及びその使用方法である。

【背景技術】

【0003】

B型肝炎ウイルス(HBV)は、厳密な肝臓指向性の二本鎖DNAを含むウイルスである。DNAは遺伝物質であるが、その複製周期には、プレゲノムRNAをDNAにコピーする逆転写工程が含まれる。B型肝炎ウイルスは、ヘパドナウイルスの1つのメンバーとして分類され、ヘパドナウイルス科のファミリーに属する。B型肝炎ウイルスを有する成人の一次感染は、臓器炎症症状、発熱、黄疸、及び血液中の肝臓トランスアミナーゼの増加を伴う急性肝炎を引き起こす。ウイルス感染を克服することができない患者は、長年にわたって慢性疾患が進行し、肝硬変や肝臓癌に至るリスクが高まる。B型肝炎ウイルス感染した母親から新生児への周産期感染も、慢性肝炎につながる。

10

【0004】

肝細胞により取り込まれると、そのヌクレオカプシドが核に移動し、DNAが放出される。ここでDNA鎖合成が完了し、隙間が補修されて、3.2 kbの共有結合閉環状(ccc)スーパーコイルDNAを生じる。このccc DNAは、5つの主要なウイルスmRNA(これらは長さ3.5、3.5、2.4、2.1、及び0.7 kbである)の転写のテンプレートとして作用する。全てのmRNAは5'末端がキャップされ、3'末端がポリアデニル化されている。5つのmRNA全ての間には、3'末端に配列重複がある。

20

【0005】

1つの3.5 kbのmRNAは、コアタンパク質及びポリメラーゼ生成のテンプレートとして作用する。また、同じ転写物がプレゲノム複製中間体として作用し、これによりウイルスのポリメラーゼがDNAへの逆転写を開始することができる。コアタンパク質は、ヌクレオカプシド形成のために必要となる。他の3.5 kbのmRNAは、分泌可能なe抗原(HBeAg)のプレコアをコードする。複製阻害剤が存在しない場合、血液中のe抗原の存在量は、肝臓におけるB型肝炎ウイルス複製と相関関係があり、疾患進行をモニターする重要な診断マーカーとなる。

【0006】

2.4 kb及び2.1 kbのmRNAは、ウイルスの大型、中型、及び小型の表面抗原の発現のための、オープンリーディングフレーム(「ORF」)のプレS1、プレS2及びSを擁している。S抗原は、感染性の、完全粒子と関連している。また、感染した患者の血液は、ゲノムDNA又はポリメラーゼを含まない、S抗原単独に由来する非感染性粒子も含む。これらの粒子の機能は完全には解明されていない。血液中の検出可能なS抗原の完全かつ持続的な枯渇は、B型肝炎ウイルスのクリアランスに対する信頼性のある指標と考えられる。

30

【0007】

0.7 kbのmRNAは、Xタンパク質をコードする。この遺伝子産物は、ウイルス遺伝子の効率的な転写のために重要であり、宿主遺伝子発現に対する転写活性化因子としても作用する。後者の活性は、肝臓癌の発達中の肝細胞形質転換に関して重要であると見られる。

40

【0008】

6か月以上にわたって血液中に検出可能なS抗原、e抗原、及び/又はウイルスDNAがある患者は、慢性的に感染していると見なされる。逆転写酵素活性の阻害剤としてのヌクレオシド類似体は典型的に、多くの患者に対して第1の治療オプションである。ラミブジン、テノホビル、及び/又はエンテカビルの投与は、肝機能の改善と、典型的に最も重要な利点と考えられる肝臓炎症の低減を伴って、時には検出不能なレベルまでB型肝炎ウイルス複製を抑制することが示されている。しかし、治療終了後に完全かつ持続的な寛解を達成する患者はわずかである。更に、B型肝炎ウイルスは、治療の持続期間が長くなるにつれて、薬剤耐性を生じる。これは特に、B型肝炎及びヒト免疫不全ウイルス(HIV

50

）に重感染した患者にとっては困難である。両方のウイルスがヌクレオシドアナログ薬（nucleoside analogue drug）に感受性であり、耐性を同時に生じる可能性がある。

【 0 0 0 9 】

第2の治療オプションは、インターフェロンの投与である。ここで、患者は、6か月間にわたって高用量のインターフェロンが投与される。アジア遺伝子型Bは、奏率が非常に低い。D型肝炎ウイルス（HDV）又はヒト免疫不全ウイルスとの重感染は、インターフェロン療法を完全に無効化することが示されている。激しい肝障害及び重い線維化状態がある患者は、インターフェロン療法には不適格となる。

【 0 0 1 0 】

特定のB型肝炎ウイルス特異的RNA干渉（RNAi）薬は、HBV遺伝子発現の発現を阻害することがこれまでに示されている。例えば、米国特許出願公開第2013/0005793号（Chin et al.）（この全体が参照により本明細書に組み込まれる）は、B型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための、特定の二本鎖リボ核酸（dsRNA）分子を開示している。

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

B型肝炎ウイルス（HBV）遺伝子の発現を選択的かつ効率的に阻害することができる、新しいB型肝炎ウイルス（HBV）特異的RNA干渉（RNAi）薬（本明細書においてのRNAi薬、RNAiトリガ、又はトリガとも記載される）が必要とされている。また、HBV感染の治療及びHBVに関連する疾患の予防のために、新しいHBV特異的RNAi薬を組み合わせることが必要とされている。

20

【 0 0 1 2 】

本明細書に記載されるのは、HBV遺伝子の発現を選択的かつ効率的に減少させることができるHBV遺伝子特異的RNAi薬である。記述されるHBV RNAi薬は、HBV感染の症状及び関連疾患の治療処置及び／又は予防のための方法に使用することができる。これには、慢性肝疾患／障害、炎症、線維化状態、増殖性疾患（肝細胞癌などの癌を含む）、D型肝炎ウイルス（HDV）感染、及び急性HBV感染が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、このHBV RNAi薬は、慢性HBV感染及び／又はHDV感染に関連する症状及び疾患の治療処置及び／又は予防のための方法に使用することができる。このような方法は、本明細書に記載の1つ又は複数のHBV RNAi薬を、対象（例えばヒト又は動物の対象）に投与することを含む。

30

【 0 0 1 3 】

また、本明細書中に記載されるのは、HBV遺伝子の発現を選択的かつ効率的に減少させることができる、1つ又は複数の開示されたHBV RNAi薬を含む組成物である。この1つ又は複数のHBV RNAi薬を含む組成物は、HBV感染に関連する症状及び疾患の治療及び／又は予防のために、対象（例えばヒト又は動物の対象）に投与することができる。

【 0 0 1 4 】

本明細書に開示されるHBV RNAi薬は、少なくとも1つのセンス鎖及び1つのアンチセンス鎖を含む。センス鎖とアンチセンス鎖とは、部分的に、実質的に、又は完全に、互いに対して相補的であり得る。本明細書に記載のRNAi薬のセンス鎖とアンチセンス鎖の長さは、それぞれ16～30ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は独立に17～26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は独立に19～26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は独立に21～26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は、同じ長さ又は異なる長さのいずれでもあり得る。本明細書に開示されるHBV RNAi薬は、既知のHBV血清型の大部分にわたって保存されている、HBVゲノム中の配列に少なくとも部分的

40

50

に相補的であるような、アンチセンス鎖配列を含むように設計されている。本明細書に記載のRNAi薬は、HBVを発現する細胞に送達されると、*in vivo*又は*in vitro*で、1つ又は複数のHBV遺伝子の発現を阻害する。

【0015】

HBV RNAi薬は、第1の配列を含むセンス鎖（パッセンジャー鎖とも呼ばれる）と、第2の配列を含むアンチセンス鎖（ガイド鎖とも呼ばれる）とを含む。本明細書に記載されるHBV RNAi薬のセンス鎖は、HBV mRNAにおける少なくとも16個の連続ヌクレオチドのヌクレオチド配列に対して少なくとも約85%の同一性を有する、コアストレッチを含む。いくつかの実施形態において、HBV mRNAにおける配列に対して少なくとも約85%の同一性を有する、センス鎖コアヌクレオチドストレッチは、16、17、18、19、20、21、22、又は23ヌクレオチド長である。HBV RNAi薬のアンチセンス鎖は、HBV mRNA及び対応するセンス鎖における配列に対して、少なくとも16個の連続ヌクレオチドのコアストレッチにわたって、少なくとも約85%の相補性を有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV mRNA又は対応するセンス鎖の配列に対して少なくとも約85%の相補性を有するアンチセンス鎖コアヌクレオチド配列は、16、17、18、19、20、21、22、又は23ヌクレオチド長である。

10

【0016】

HBV RNAi薬に用いることができるHBV RNAi薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖の例が、表3及び4に提供される。HBV RNAi薬デュプレックスの例が、表5に提供される。本明細書に開示されるHBV RNAi薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖からなる、又はこれらに含まれる、19ヌクレオチドのコアストレッチ配列の例が、表2に提供される。

20

【0017】

いくつかの実施形態において、1つ又は複数のHBV RNAi薬は、当該技術分野で周知の任意のオリゴヌクレオチド送達技術を使用して、標的細胞又は組織に送達される。核酸送達方法には、リボソーム内カプセル封入によるもの、イオントフォレシスによるもの、又は、他のピヒクル（例えばヒドロゲル、シクロデキストリン、生分解性ナノカプセル、及び生体接着性微小球）、タンパク質性ベクター、若しくはDynamic Polyconjugate (DPC) に組み込むことによるものが挙げられるが、これらに限定されない（例えば、国際公開第2000/053722号、同第2008/0022309号、同第2011/104169号、及び同第2012/083185号を参照、これらそれぞれが参照により本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬は、RNAi薬を標的化基に共有結合させることにより標的細胞又は組織に送達される。いくつかの実施形態において、この標的化基は、アシアロ糖タンパク質受容体 (ASGPr) リガンドなどの細胞受容体リガンドを含み得る。いくつかの実施形態において、ASGPrリガンドは、ガラクトース誘導体クラスターを含むか又はこれからなる。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、N - アセチル - ガラクトサミン三量体又はN - アセチル - ガラクトサミン四量体を含む。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、N - アセチル - ガラクトサミン三量体又はN - アセチル - ガラクトサミン四量体である。

30

40

【0018】

標的化基は、HBV RNAi薬のセンス鎖又はアンチセンス鎖の3'又は5'末端に連結し得る。いくつかの実施形態において、標的化基はセンス鎖の3'又は5'末端に連結される。いくつかの実施形態において、標的化基はセンス鎖の5'末端に連結される。いくつかの実施形態において、標的化基はリンカーを介してRNAi薬に連結される。

【0019】

標的化基は、リンカーあり又はなしで、表2、3、及び4に開示されるいずれかのセンス鎖及び/又はアンチセンス鎖の5'又は3'末端に連結され得る。リンカーは、標的化基あり又はなしで、表2、3、及び4に開示されるいずれかのセンス鎖及び/又はアンチセ

50

ンス鎖の 5' 又は 3' 末端に取り付けられ得る。

【0020】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるのは、表 5 に開示されるデュプレックス配列を有する 1 つ又は複数の HBV RNA i 薬を含む組成物である。

【0021】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるのは、異なるヌクレオチド配列を有する少なくとも 2 つの HBV RNA i 薬の組み合わせ又はカクテルを含む組成物である。いくつかの実施形態において、2 つ以上の異なる HBV RNA i 薬が、それぞれ別個かつ独立に標的化基に連結されている。いくつかの実施形態において、2 つ以上の異なる HBV RNA i 薬が、それぞれ、N - アセチル - ガラクトサミンからなる標的化基に連結されている。いくつかの実施形態において、2 つ以上の RNA i 薬が組成物に含まれる場合、この RNA i 薬のそれぞれが同じ標的化基に連結されている。いくつかの実施形態において、2 つ以上の RNA i 薬が組成物に含まれる場合、この RNA i 薬のそれぞれが、異なる標的化基（例えば異なる化学構造を有する標的化基）に連結されている。

10

【0022】

いくつかの実施形態において、標的化基は、追加のリンカーを使用することなしに、HBV RNA i 薬に連結されている。いくつかの実施形態において、標的化基は、HBV RNA i 薬への連結を促進するために予め存在するリンカーを有するよう設計される。いくつかの実施形態において、2 つ以上の RNA i 薬が組成物に含まれる場合、この 2 つ以上の RNA i 薬は、同じリンカーを用いて標的化基に連結され得る。いくつかの実施形態において、2 つ以上の RNA i 薬が組成物に含まれる場合、この 2 つ以上の RNA i 薬は、異なるリンカーを用いて標的化基に連結される。

20

【0023】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるのは、異なる配列を有する少なくとも 2 つの HBV RNA i 薬の組み合わせを含む組成物であり、この各 HBV RNA i 薬は、HBV 遺伝子の異なる位置又は異なる領域を標的とする。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるのは、少なくとも 2 つの HBV RNA i 薬の組み合わせを含む組成物であり、この各 HBV RNA i 薬は、異なる HBV 転写物を標的とするよう設計される（例えば、2 つの HBV RNA i 薬を含む組成物で、第 1 の HBV RNA i 薬は、HBV 遺伝子の S ORF に位置するあるヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含み、一方、第 2 の HBV RNA i 薬は、HBV 遺伝子の X ORF に位置するあるヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む）。本明細書で使用されるとき、S ORF に位置するヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む RNA i 薬は、配列番号 1 の HBV ゲノムの位置 1 ~ 1307 及び 3185 ~ 3221 の一部を標的とする。本明細書で使用されるとき、X ORF に位置するヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む RNA i 薬は、配列番号 1 の HBV ゲノムの位置 1308 ~ 1930 の一部を標的とする。

30

【0024】

HBV mRNA は多シストロン性であることが知られており、これにより、複数のポリペプチドが翻訳され、それぞれの mRNA が RNA 配列内で重複する。よって、HBV 遺伝子を標的とする単一の RNA i 薬で、大半の又は全ての HBV 転写物の阻害をもたらすことが可能になる。ただし、理論に拘束されるものではないが、HBV 遺伝子の異なる位置又は領域を標的とする 2 つ以上の HBV RNA i 薬を含む組成物は（特に、2 つ以上の HBV RNA i 薬で、一方の HBV RNA i 薬が S ORF を標的とし、第 2 の HBV RNA i 薬が X ORF を標的とする場合）、単一の HBV RNA i 薬のみを含む組成物に比べて付加的な利点を提供する可能性があることが仮定され、この利点には例えば、（a）全ての HBV ウイルス転写物が確実に標的となるようにすること（すなわち、3.5 kb プレゲノム RNA、3.5 kb プレコア mRNA、2.4 kb プレ S1 mRNA、2.1 kb プレ S2/S mRNA、0.7 kb X mRNA、並びに、組み込ま

40

50

れたHBV DNAから生成されるmRNAを発現する任意のS抗原)、(b)より大きな患者集団に潜在的に対処できるようにするため、遺伝子型の包括範囲を拡大するよう作用すること、及び/又は、(c) siRNA結合部位における突然変異によるウイルス耐性を潜在的に低減すること、が挙げられる。

【0025】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるのは、HBV RNAのS ORFを標的とする1つのHBV RNA i薬(すなわち、S転写物(S、プレS1、及びプレS2)、プレゲノムRNA(コア及びポリメラーゼ)、並びにHBVゲノムのプレコア転写物(HBeAg)を標的とするアンチセンス鎖を有するもの)と、HBV RNAのX ORFを標的とする1つのHBV RNA i薬(すなわち、HBVゲノムのX転写物、S転写物(S、プレS1、及びプレS2)、プレゲノムRNA(コア及びポリメラーゼ)、並びにHBVゲノムのプレコア転写物(HBeAg)を標的とするアンチセンス鎖を有するもの)との組み合わせを含む組成物である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物は、HBV遺伝子のS ORFを標的とする配列を含む少なくとも1つのHBV RNA i薬と、HBV遺伝子のX ORFを標的とする配列を含む第2のHBV RNA i薬とを含む。

10

【0026】

本明細書に開示されるのは、HBV遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、表3のいずれかの配列の配列を含むアンチセンス鎖を有する1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

20

【0027】

本明細書に開示されるのは、HBV遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、表4のいずれかの配列の配列を含むセンス鎖を有する1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

【0028】

本明細書に開示されるのは、HBV遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、表3のいずれかの配列の配列を含むアンチセンス鎖と、そのアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表4のいずれかの配列の配列を含むセンス鎖とを有する、1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

【0029】

本明細書に開示されるのは、HBV遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、表3のいずれかの配列の配列からなるアンチセンス鎖と、そのアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表4のいずれかの配列の配列からなるセンス鎖とを有する、1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

30

【0030】

本明細書に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、表5のデュプレックス構造を有する1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

【0031】

本明細書に開示されるのは、HBV感染の治療、又はHBV感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、表3のいずれかの配列の配列を含むアンチセンス鎖を有する1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

40

【0032】

本明細書に開示されるのは、HBV感染の治療、又はHBV感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、表4のいずれかの配列の配列を含むセンス鎖を有する1つ又は複数のHBV RNA i薬を投与することを含む。

【0033】

本明細書に開示されるのは、HBV感染の治療、又はHBV感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、表3のいずれかの配列の配列を含むアンチセンス鎖と、そのアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表4のいずれかの

50

配列の配列を含むセンス鎖とを有する、１つ又は複数のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬を投与することを含む。

【００３４】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ感染の治療、又はＨＢＶ感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、表３のいずれかの配列の配列からなるアンチセンス鎖と、そのアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表４のいずれかの配列の配列からなるセンス鎖とを有する、１つ又は複数のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬を投与することを含む。

【００３５】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ感染の治療、又はＨＢＶ感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、表５のデュプレックス構造を有する１つ又は複数のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬を投与することを含む。

10

【００３６】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、（ｉ）表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖を有するＨＢＶ ＲＮＡｉ薬と、（ｉｉ）表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖を有する第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬とを、投与することを含む。

【００３７】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ感染の治療、又はＨＢＶ感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、（ｉ）表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖を有するＨＢＶ ＲＮＡｉ薬と、（ｉｉ）表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖を有する第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬とを、投与することを含む。

20

【００３８】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ遺伝子の発現を阻害するための方法であり、この方法は、（ｉ）第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬であって、表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖と、その第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬のアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表２又は表４のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるセンス鎖とを有する、第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬と、（ｉｉ）第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬であって、表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖と、その第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬のアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表２又は表４のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるセンス鎖とを有する、第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬とを、投与することを含む。

30

【００３９】

本明細書に開示されるのは、ＨＢＶ感染の治療、又はＨＢＶ感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、（ｉ）第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬であって、表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖と、その第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬のアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表２又は表４のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるセンス鎖とを有する、第１のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬と、（ｉｉ）第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬であって、表２又は表３のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるアンチセンス鎖と、その第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬のアンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的な表２又は表４のいずれかの配列の配列を含むか又はこれらからなるセンス鎖とを有する、第２のＨＢＶ ＲＮＡｉ薬とを、投与することを含む。

40

【００４０】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるＨＢＶ ＲＮＡｉ薬は以下のものを含む：

a. 配列（５′ ３′）ＡＵＵＧＡＧＡＧＡＡＧＵＣＣＡＣＣＡＣ（配列番号７）から０個、１個、２個又は３個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、

50

配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U (配列番号 3 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

b . 配列 (5 ' 3 ') U U U G A G A G A A G U C C A C C A C (配列番号 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A A (配列番号 3 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

c . 配列 (5 ' 3 ') A A U U G A G A G A A G U C C A C C A (配列番号 1 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') U G G U G G A C U U C U C U C A A U U (配列番号 3 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

d . 配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A (配列番号 1 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') U G G U G G A C U U C U C U C A A U A (配列番号 4 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

e . 配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C (配列番号 1 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U C U (配列番号 4 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

f . 配列 (5 ' 3 ') U G A A A A U U G A G A G A A G U C C (配列番号 1 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U C A (配列番号 4 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

g . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C (配列番号 2 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 4 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

h . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C (配列番号 2 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 5 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

i . 配列 (5 ' 3 ') G A C C A A U U U A U G C C U A C A G (配列番号 2 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U C (配列番号 5 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

j . 配列 (5 ' 3 ') A A C C A A U U U A U G C C U A C A G (配列番号 2 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U U (配列番号 5 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

k . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G (配列番号 2 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 5 6) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は H B V R N A i 薬を含む。

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つ以上の H B V R N A i 薬を含み、第 1 の H B V R N A i 薬は：

i) 配列 (5 ' 3 ') A A U U G A G A G A A G U C C A C C A (配列番号 1 2) から

10

20

30

40

50

0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU (配列番号 39) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列 (5' 3') UAUUGAGAGAAAGUCCACCA (配列番号 13) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') UGGUGGACUUCUCUCAUA (配列番号 40) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含み、

第 2 の HBV RNAi 薬は：

i) 配列 (5' 3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 27) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUC (配列番号 54) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列 (5' 3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 28) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUU (配列番号 55) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

iii) 配列 (5' 3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 29) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUA (配列番号 56) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含む。

【0043】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における HBV 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つ以上の HBV RNAi 薬を含み、第 1 の HBV RNAi 薬は：

i) 配列 (5' 3') AGAAAAUUGAGAGAAAGUCC (配列番号 17) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GGACUUCUCUCAAUUUUCU (配列番号 44) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列 (5' 3') UGAAAAUUGAGAGAAAGUCC (配列番号 18) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GGACUUCUCUCAAUUUUCA (配列番号 45) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含み、

第 2 の HBV RNAi 薬は：

i) 配列 (5' 3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 27) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUC (配列番号 54) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列 (5' 3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 28) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUU (配列番号 55) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

iii) 配列 (5' 3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (配列番号 29) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') CUGUAGGC AUAAAUUGGUA (配列番号 56) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含む。

【0044】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つ以上のHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は：

i) 配列(5' 3') AAUUGAGAGAAAGUCCACCA(配列番号12)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU(配列番号39)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列(5' 3') UAUUGAGAGAAAGUCCACCA(配列番号13)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU(配列番号40)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含み、

第2のHBV RNA i薬は、HBV mRNAのX ORFの一部に少なくとも部分的に相補的な配列を有するアンチセンス鎖を含む。

【0045】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つ以上のHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は：

i) 配列(5' 3') AGAAAAUUGAGAGAAAGUCC(配列番号17)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') GGACUUCUCUCAAUUUUCU(配列番号44)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列(5' 3') UGAAAAUUGAGAGAAAGUCC(配列番号18)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') GGACUUCUCUCAAUUUUCA(配列番号45)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含み、

第2のHBV RNA i薬は、HBV mRNAのX ORFの一部に少なくとも部分的に相補的な配列を有するアンチセンス鎖を含む。

【0046】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つ以上のHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は、HBV mRNAのS ORFの一部に少なくとも部分的に相補的な配列を有するアンチセンス鎖を含み、また第2のHBV RNA i薬は：

i) 配列(5' 3') GACCAAUUUUAUGCCUACAG(配列番号27)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') CUGUAGGC AUAAA UUGGUC(配列番号54)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

ii) 配列(5' 3') AACCAAUUUUAUGCCUACAG(配列番号28)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') CUGUAGGC AUAAA UUGGUU(配列番号55)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

iii) 配列(5' 3') UACCAAUUUUAUGCCUACAG(配列番号29)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列(5' 3') CUGUAGGC AUAAA UUGGUA(配列番号56)から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

のいずれかを含む。

【0047】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i薬は以下のもの：

a. 配列(5' 3') UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCCUUAU(配列

10

20

30

40

50

番号 1 4 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

b . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G C C U (配列番号 1 5 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

c . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G C (配列番号 1 5 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

d . 配列 (5 ' 3 ') U G A A A A U U G A G A G A A G U C C U U (配列番号 1 5 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

e . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G U U (配列番号 1 5 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

f . 配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C G (配列番号 1 6 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

g . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号 1 6 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

h . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号 1 6 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

i . 配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C G A (配列番号 1 7 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

j . 配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

k . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号 1 7 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

l . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号 1 7 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

m . 配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A U U (配列番号 1 7 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

n . 配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C U U (配列番号 1 7 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

o . 配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C U U (配列番号 1 7 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

p . 配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C U U (配列番号 1 7 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

q . 配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C C (配列番号 1 8 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

10

20

30

40

50

r . 配列 (5 ' 3 ') U G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 8 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

s . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号 1 8 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

t . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号 1 8 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

u . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U C (配列番号 1 8 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は 10

v . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号 1 8 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

w . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号 1 8 6) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

x . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U (配列番号 1 8 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は 20

y . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C G (配列番号 1 8 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

z . 配列 (5 ' 3 ') A A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号 1 8 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

a a . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号 1 9 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は 30

b b . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号 1 9 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

c c . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C G (配列番号 1 9 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

d d . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C G (配列番号 1 9 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

e e . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G G (配列番号 1 9 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、 40

を含み、この H B V RNA i 薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的なセンス鎖を更に含む。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される H B V RNA i 薬は以下のもの：

a . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G C C U U A U (配列番号 1 4 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

b . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G C C U (配列番号 1 50

50) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

c. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G C (配列番号151) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

d. 配列(5' 3') U G A A A A U U G A G A G A A G U C C U U (配列番号152) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

e. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G U U (配列番号154) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

f. 配列(5' 3') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C G (配列番号160) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

g. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号162) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

h. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号163) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

i. 配列(5' 3') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C G A (配列番号170) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

j. 配列(5' 3') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号171) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

k. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号172) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

l. 配列(5' 3') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号173) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

m. 配列(5' 3') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A U U (配列番号174) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

n. 配列(5' 3') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C U U (配列番号175) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

o. 配列(5' 3') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C U U (配列番号178) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

p. 配列(5' 3') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C U U (配列番号179) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

q. 配列(5' 3') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C C (配列番号180) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

r. 配列(5' 3') U G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号181) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

10

20

30

40

50

s . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号 1 8 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

t . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号 1 8 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

u . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U C (配列番号 1 8 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

v . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C U U (配列番号 1 8 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は 10

w . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U U (配列番号 1 8 6) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

x . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C U (配列番号 1 8 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

y . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C G (配列番号 1 8 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は 20

z . 配列 (5 ' 3 ') A A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号 1 8 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

a a . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号 1 9 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

b b . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C U (配列番号 1 9 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は 30

c c . 配列 (5 ' 3 ') A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C G (配列番号 1 9 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、又は

d d . 配列 (5 ' 3 ') U C C A A U U U A U G C C U A C A G C C G (配列番号 1 9 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、又は

e e . 配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G G G (配列番号 1 9 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖、

を含み、この H B V RNA i 薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的なセンス鎖を更に含む。 40

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される H B V RNA i 薬は以下のもの：

i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f c c s u s u A u (配列番号 6 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f c s c s u (配列番号 6 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f 50

c A f g G f c c s u (配列番号 63) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

i v . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f s c (配列番号 64) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

v . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 68) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

v i . 配列 (5' 3') u s A f s c s c a a u U f u A f u G f c C f u a c a g c s c (配列番号 85) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

v i i . 配列 (5' 3') u s A f s u s u g a g A f g A f a G f u C f c a c c a c s g (配列番号 94) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

v i i i . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g A f g A f a G f u C f c A f c C f a C f g s a (配列番号 98) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

i x . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 102) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c u s u (配列番号 103) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x i . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c c s u (配列番号 104) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x i i . 配列 (5' 3') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c c u s u (配列番号 105) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x i i i . 配列 (5' 3') c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 107) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x i v . 配列 (5' 3') c P r p u s A f s u s U f g A f g A f g A f a G f u C f c A f c C f a c f s g (配列番号 108) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x v . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a u s u (配列番号 109) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x v i . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c s g (配列番号 110) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x v i i . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c s u s u (配列番号 111) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x v i i i . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c s g s a (配列番号 112) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x i x . 配列 (5' 3') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f a c u s u (配列番号 120) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

10

20

30

40

50

xx. 配列 (5' 3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (配列番号125) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、

xxi. 配列 (5' 3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (配列番号126) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxii. 配列 (5' 3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu (配列番号127) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxiii. 配列 (5' 3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc (配列番号128) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxiv. 配列 (5' 3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (配列番号129) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxv. 配列 (5' 3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (配列番号130) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxvi. 配列 (5' 3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (配列番号131) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxvii. 配列 (5' 3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (配列番号132) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxviii. 配列 (5' 3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (配列番号133) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxix. 配列 (5' 3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (配列番号134) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxx. 配列 (5' 3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (配列番号135) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxi. 配列 (5' 3') cPrpusAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsc (配列番号136) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxii. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsc (配列番号137) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxiii. 配列 (5' 3') cPrpusAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsc (配列番号138) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxiv. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsu (配列番号139) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxv. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsg (配列番号140) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

xxxvi. 配列 (5' 3') asAfsccsCfaAfuUfuAfuGfccCfuAfcAfgcsc (配列番号141) から0個、1個、2個又は3個のヌクレオチドが

10

20

30

40

50

異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x x x v i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f U f A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 1 4 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x x x v i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g C f s c (配列番号 1 4 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x x x i x . 配列 (5 ' 3 ') a s C f s c A f a U f u U f a U f g C f c U f a C f a G f c C f s u (配列番号 1 4 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x l . 配列 (5 ' 3 ') u s C f s c A f a U f u U f a U f g C f c U f a C f a G f c C f s u (配列番号 1 4 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x l i . 配列 (5 ' 3 ') a s C f s c A f a U f u U f a U f g C f c U f a C f a G f c c s g (配列番号 1 4 6) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x l i i . 配列 (5 ' 3 ') u s C f s c A f a U f u U f a U f g C f c U f a C f a G f c c s g (配列番号 1 4 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、又は

x l i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g g s g (配列番号 1 4 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個のヌクレオチドが異なる配列を含むアンチセンス鎖、

を含み、式中、a、g、c 及び u は 2' - O - メチル (2' - OMe) 修飾ヌクレオチド、A f、C f、G f、及び U f は 2' - フルオロ修飾ヌクレオチド、s はホスホロチオエートヌクレオシド間連結であり、残りのヌクレオチドモノマーはホスホジエステル結合により連結され、c P r p u は 5' - シクロプロピルホスホネート - 2' - O - メチル修飾ヌクレオチドであり、この HBV RNA i 薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的なセンス鎖を更に含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される HBV RNA i 薬は以下のもの：

i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f c c s u s u A u (配列番号 6 1) からなるアンチセンス鎖、又は

i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f c s c s u (配列番号 6 2) からなるアンチセンス鎖、又は

i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f c c s u (配列番号 6 3) からなるアンチセンス鎖、又は

i v . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g G f s c (配列番号 6 4) からなるアンチセンス鎖、又は

v . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A f c A f g u s u (配列番号 6 8) からなるアンチセンス鎖、又は

v i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s c a a u U f u A f u G f c C f u a c a g c s c (配列番号 8 5) からなるアンチセンス鎖、又は

v i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s u g a g A f g A f a G f u C f c a c c a c s g (配列番号 9 4) からなるアンチセンス鎖、又は

v i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g A f a G f u C f c A f c C f a C f g s a (配列番号 9 8) からなるアンチセンス鎖、又は

i x . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c s c (配列番号 1 0 2) からなるアンチセンス鎖、又は

x . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f g c u s u (配列番号 1 0 3) からなるアンチセンス鎖、又は

10

20

30

40

50

x i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A f
 g c c s u (配列番号 1 0 4) からなるアンチセンス鎖、又は
 x i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u u u a u G f c C f u A f c A
 f g c c u s u (配列番号 1 0 5) からなるアンチセンス鎖、又は
 x i i i . 配列 (5 ' 3 ') c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c
 C f u A f c A f g u s u (配列番号 1 0 7) からなるアンチセンス鎖、又は
 x i v . 配列 (5 ' 3 ') c P r p u s A f s u s U f g A f g A f g A f a G f u C
 f c A f c C f a C f s g (配列番号 1 0 8) からなるアンチセンス鎖、又は
 x v . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C f
 a u s u (配列番号 1 0 9) からなるアンチセンス鎖、又は
 x v i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C
 f a c s g (配列番号 1 1 0) からなるアンチセンス鎖、又は
 x v i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c
 C f a c s u s u (配列番号 1 1 1) からなるアンチセンス鎖、又は
 x v i i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f
 c C f a c s g s a (配列番号 1 1 2) からなるアンチセンス鎖、又は
 x i x . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s u s U f g A f g a g a a G f u C f c A f c C
 f a c u s u (配列番号 1 2 0) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x . 配列 (5 ' 3 ') a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f u
 C f c u s u (配列番号 1 2 5) からなるアンチセンス鎖、
 x x i . 配列 (5 ' 3 ') a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f
 u C f c a s c (配列番号 1 2 6) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x i i . 配列 (5 ' 3 ') a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G
 f u C f c a c u s u (配列番号 1 2 7) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x i i i . 配列 (5 ' 3 ') a s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a
 G f u C f c a c s c (配列番号 1 2 8) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x i v . 配列 (5 ' 3 ') u s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G
 f u C f c u s u (配列番号 1 2 9) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x v . 配列 (5 ' 3 ') u s G f s a s A f a A f u U f g A f g A f g A f a G f
 u C f c a s c (配列番号 1 3 0) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x v i . 配列 (5 ' 3 ') a s C f s c s A f a U f u U f a U f g C f c U f a C
 f a G f c u s u (配列番号 1 3 1) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x v i i . 配列 (5 ' 3 ') a s C f s c s A f a U f u U f a U f g C f c U f a
 C f a G f c c u s u (配列番号 1 3 2) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x v i i i . 配列 (5 ' 3 ') a s C f s c s A f a U f u U f a U f g C f c U f
 a C f a G f c c u s c (配列番号 1 3 3) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x i x . 配列 (5 ' 3 ') u s C f s c s A f a U f u U f a U f g C f c U f a C
 f a G f c u s u (配列番号 1 3 4) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x . 配列 (5 ' 3 ') u s C f s c s A f a U f u U f a U f g C f c U f a C f
 a G f c c u s u (配列番号 1 3 5) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x i . 配列 (5 ' 3 ') c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c
 C f u A f c A f g c s c (配列番号 1 3 6) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x i i . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u
 A f c A f g s c s c (配列番号 1 3 7) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x i i i . 配列 (5 ' 3 ') c P r p u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G
 f c C f u A f c A f g s c s c (配列番号 1 3 8) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x i v . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u
 A f c A f g c s u (配列番号 1 3 9) からなるアンチセンス鎖、又は
 x x x v . 配列 (5 ' 3 ') u s A f s c s C f a A f u U f u A f u G f c C f u A
 f c A f g c s g (配列番号 1 4 0) からなるアンチセンス鎖、又は

10

20

30

40

50

xxxvi. 配列 (5' 3') asAfsccsCfaAfuUfuAfuGfcCfu
 Af cAfgcsc (配列番号141) からなるアンチセンス鎖、又は
 xxxvii. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfcC
 fuAfcAfgusu (配列番号142) からなるアンチセンス鎖、又は
 xxxviii. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfcC
 fuAfcAfgCfsc (配列番号143) からなるアンチセンス鎖、又は
 xxxix. 配列 (5' 3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaC
 faGfcCfsu (配列番号144) からなるアンチセンス鎖、又は
 xl. 配列 (5' 3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaG
 fcCfsu (配列番号145) からなるアンチセンス鎖、又は
 xli. 配列 (5' 3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfa
 Gfccsg (配列番号146) からなるアンチセンス鎖、又は
 xlii. 配列 (5' 3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCf
 aGfccsg (配列番号147) からなるアンチセンス鎖、又は
 xliii. 配列 (5' 3') usAfsccsCfaAfuUfuAfuGfcCfu
 Af cAfggsg (配列番号148) からなるアンチセンス鎖、
 を含み、式中、a、g、c及びuは2'-O-メチル(2'-OMe)修飾ヌクレオチド
 、Af、Cf、Gf、及びUfは2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、sはホスホロチオエー
 トヌクレオシド間連結であり、残りのヌクレオチドモノマーはホスホジエステル結合によ
 り連結され、cPrpuは5'-シクロプロピルホスホネート-2'-O-メチル修飾ヌ
 レオチドであり、このHBV RNAi薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分
 的に相補的なセンス鎖を更に含む。

【0051】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNAi薬は以下のもの：

- a. 配列 (5' 3') UUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUT (配列番
号275) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス
鎖、又は
- b. 配列 (5' 3') UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列
番号276) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセン
ス鎖、又は
- c. 配列 (5' 3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (配列番号278
) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- d. 配列 (5' 3') CGUGGUGGACUUCUCUCAUU (配列番号285
) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- e. 配列 (5' 3') CGUGGUGGACUUCUCUCAUA (配列番号289
) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- f. 配列 (5' 3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列番号292) か
ら0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- g. 配列 (5' 3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列番号294
) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- h. 配列 (5' 3') UCGUGGUGGACUUCUCUCAUU (配列番号30
0) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- i. 配列 (5' 3') GUGGACUUCUCUCAUUUUUCU (配列番号302
) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- j. 配列 (5' 3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (配列番号30
3) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
- k. 配列 (5' 3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (配列番号3
04) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、
又は

- l. 配列 (5' 3') UGGUGGACUUCUCUCAUAUU (配列番号306

) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
 m . 配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0
 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は
 n . 配列 (5 ' 3 ') A A U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3
 0 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、
 又は

o . 配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 1 8) か
 ら 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

p . 配列 (5 ' 3 ') G G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 1
 9) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

q . 配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U U C A (配列番号 3 2 0) か
 ら 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

r . 配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C A (配列番号 3 2 1
) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

s . 配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2 2) か
 ら 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

t . 配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2 3)
 から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

u . 配列 (5 ' 3 ') G A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2
 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

v . 配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 2 5) か
 ら 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

w . 配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 2 6)
 から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

x . 配列 (5 ' 3 ') A G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 7
) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

y . 配列 (5 ' 3 ') C G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 8
) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

z . 配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U U (配列番号 3 2 9
) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

a a . 配列 (5 ' 3 ') A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 3
 0) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス
 鎖、又は

b b . 配列 (5 ' 3 ') A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 3
 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

c c . 配列 (5 ' 3 ') C G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 3
 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

d d . 配列 (5 ' 3 ') C G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 3
 3) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、又は

e e . 配列 (5 ' 3 ') C C C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 3
 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖、

を含み、この H B V RNA i 薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相
 補的なアンチセンス鎖を更に含む。

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される H B V RNA i 薬は以下のもの：

a . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U U G C C U G U A G G C A U A A A U U G G U A U T
 (配列番号 2 7 5) からなるセンス鎖、又は

b . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U A U A U G C C U G U A G G C A U A A A U U G G U
 A (配列番号 2 7 6) からなるセンス鎖、又は

c . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A U U (配列番

10

20

30

40

50

- 号 2 7 8) からなるセンス鎖、又は
 d . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C G U G G U G G A C U U C U C U C A A U U (配列番号 2 8 5) からなるセンス鎖、又は
 e . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A (配列番号 2 8 9) からなるセンス鎖、又は
 f . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 2 9 2) からなるセンス鎖、又は
 g . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 2 9 4) からなるセンス鎖、又は
 h . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U C G U G G U G G A C U U C U C U C A A U U (配列番号 3 0 0) からなるセンス鎖、又は
 i . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) からなるセンス鎖、又は
 j . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A U U (配列番号 3 0 3) からなるセンス鎖、又は
 k . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A U U (配列番号 3 0 4) からなるセンス鎖、又は
 l . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 6) からなるセンス鎖、又は
 m . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) からなるセンス鎖、又は
 n . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') A A U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 8) からなるセンス鎖、又は
 o . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 1 8) からなるセンス鎖、又は
 p . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 1 9) からなるセンス鎖、又は
 q . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G A C U U C U C U C A A U U U U C A (配列番号 3 2 0) からなるセンス鎖、又は
 r . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C A (配列番号 3 2 1) からなるセンス鎖、又は
 s . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2 2) からなるセンス鎖、又は
 t . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2 3) からなるセンス鎖、又は
 u . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 2 4) からなるセンス鎖、又は
 v . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 2 5) からなるセンス鎖、又は
 w . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 2 6) からなるセンス鎖、又は
 x . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') A G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 7) からなるセンス鎖、又は
 y . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 8) からなるセンス鎖、又は
 z . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U U (配列番号 3 2 9) からなるセンス鎖、又は
 a a . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 3 0) を含むセンス鎖、又は
 b b . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') A G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列

番号 3 3 1) からなるセンス鎖、又は

c c . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U (配列番号 3 3 2) からなるセンス鎖、又は

d d . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C G G C U G U A G G C A U A A A U U G G A (配列番号 3 3 3) からなるセンス鎖、又は

e e . 核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C C C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 3 4) からなるセンス鎖、

を含み、この H B V RNA i 薬は、各アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を更に含む。

【 0 0 5 3 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つの H B V RNA i 薬を含み、第1の H B V RNA i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C U U (配列番号 1 7 5) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、第2の H B V RNA i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G U U (配列番号 1 5 4) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 2 9 2) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つの H B V RNA i 薬を含み、第1の H B V RNA i 薬は、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C U U (配列番号 1 7 5) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) からなるセンス鎖を含み、第2の H B V RNA i 薬は、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G U U (配列番号 1 5 4) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 2 9 2) からなるセンス鎖を含む。

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つの H B V RNA i 薬を含み、第1の H B V RNA i 薬は、配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、第2の H B V RNA i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C G (配列番号 1 8 8) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 8) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つの H B V RNA i 薬を含み、第1の H B V RNA i 薬は、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) からなるセンス鎖を含み、第2の H B V RNA i 薬は、核酸塩基配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G

10

20

30

40

50

CCUACAGCG (配列番号188) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5' 3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列番号328) からなるセンス鎖を含む。

【0057】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は、配列 (5' 3') AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC (配列番号171) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (配列番号302) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、第2のHBV RNA i薬は、配列 (5' 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCC (配列番号162) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列番号294) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【0058】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は、核酸塩基配列 (5' 3') AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC (配列番号171) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5' 3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (配列番号302) からなるセンス鎖を含み、第2のHBV RNA i薬は、核酸塩基配列 (5' 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCC (配列番号162) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5' 3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (配列番号294) からなるセンス鎖を含む。

【0059】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は、配列 (5' 3') AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC (配列番号171) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (配列番号302) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、第2のHBV RNA i薬は、配列 (5' 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCC (配列番号162) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5' 3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU (配列番号307) から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【0060】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、第1のHBV RNA i薬は、核酸塩基配列 (5' 3') AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC (配列番号171) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5' 3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (配列番号302) からなるセンス鎖を含み、第2のHBV RNA i薬は、核酸塩基配列 (5' 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCC (配列番号162) からなるアンチセンス鎖、及び、核酸塩基配列 (5' 3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU (配列番号307) からなるセンス鎖を含む。

【0061】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、

センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに／あるいは、第1及び／又は第2のHBV RNA i薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第1のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）UAUUGAGAGAGAGUCCACCAU（配列番号175）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）GUGGUGGACUUCUCUCAUAUU（配列番号307）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第2のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）UACCAAUUUAUGCCUACAGUU（配列番号154）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）CUGUAGGCAUAAAUUGGUA（配列番号292）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【0062】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに／あるいは、第1及び／又は第2のHBV RNA i薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第1のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC（配列番号171）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）GUGGACUUCUCUCAUAUUUUCU（配列番号302）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第2のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）UACCAAUUUAUGCCUACAGCG（配列番号188）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA（配列番号328）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【0063】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに／あるいは、第1及び／又は第2のHBV RNA i薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第1のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC（配列番号171）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）GUGGACUUCUCUCAUAUUUUCU（配列番号302）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第2のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）UACCAAUUUAUGCCUACAGCC（配列番号162）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA（配列番号294）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【0064】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞におけるHBV遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2つのHBV RNA i薬を含み、センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに／あるいは、第1及び／又は第2のHBV RNA i薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第1のHBV RNA i薬は、配列（5' 3'）AGAAAAUUGAGAGAGAGUCCAC（配列番号171）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列（5' 3'）GUGGACUUCUCUCAUAUUUUCU（配列番号302）から0個、1個、2個又は3個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

3') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 2 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号 1 6 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含む。

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つの H B V R N A i 薬を含み、
10 センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに / あるいは、第 1 及び / 又は第 2 の H B V R N A i 薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第 1 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A U U G A G A G A A G U C C A C C A C U U (配列番号 1 7 5) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 2 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G U U (配列番号 1 5 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (20 配列番号 2 9 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 1 の H B V R N A i 薬及び第 2 の H B V R N A i 薬のセンス鎖は、N - アセチル - ガラクトサミンを含む標的化リガンドにコンジュゲートされる。

【 0 0 6 6 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つの H B V R N A i 薬を含み、
30 センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに / あるいは、第 1 及び / 又は第 2 の H B V R N A i 薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第 1 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 2 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C G (配列番号 1 8 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') C G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 3 2 8) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 1 の H B V R N A i 薬及び第 2 の H B V R N A i 薬のセンス鎖は、N - アセチル - ガラクトサミンを含む標的化リガンドにコンジュゲートされる。

【 0 0 6 7 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つの H B V R N A i 薬を含み、
40 センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに / あるいは、第 1 及び / 又は第 2 の H B V R N A i 薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第 1 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 2 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列 50

番号 1 6 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G G C U G U A G G C A U A A A U U G G U A (配列番号 2 9 4) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 1 の H B V R N A i 薬及び第 2 の H B V R N A i 薬のセンス鎖は、N - アセチル - ガラクトサミンを含む標的化リガンドにコンジュゲートされる。

【 0 0 6 8 】

いくつかの実施形態において、本発明に開示されるのは、細胞における H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であり、この組成物は、2 つの H B V R N A i 薬を含み、センス鎖内のヌクレオチドの全て又は実質的に全てが修飾されているか、並びに / あるいは、第 1 及び / 又は第 2 の H B V R N A i 薬の、アンチセンス鎖のヌクレオチド全て又は実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、この第 1 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') A G A A A A U U G A G A G A A G U C C A C (配列番号 1 7 1) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G A C U U C U C U C A A U U U U C U (配列番号 3 0 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 2 の H B V R N A i 薬は、配列 (5 ' 3 ') U A C C A A U U U A U G C C U A C A G C C (配列番号 1 6 2) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖、及び、配列 (5 ' 3 ') G U G G U G G A C U U C U C U C A A U A U U (配列番号 3 0 7) から 0 個、1 個、2 個又は 3 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むセンス鎖を含み、この第 1 の H B V R N A i 薬及び第 2 の H B V R N A i 薬のセンス鎖は、N - アセチル - ガラクトサミンを含む標的化リガンドにコンジュゲートされる。

【 0 0 6 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるのは、H B V 感染の治療、又は H B V 感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、これらを必要としている対象に、有効量の A D 0 4 8 7 2 及び有効量の A D 0 5 0 7 0 を投与することを含む。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 2 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 3 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 1 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 4 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 5 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される A D 0 4 8 7 2 対 A D 0 5 0 7 0 の比は、約 1 : 2 である。

【 0 0 7 0 】

いくつかの実施形態において、約 1 m g / k g (m p k) の A D 0 4 8 7 2 と約 1 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 1 . 5 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 5 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 2 . 0 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 0 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3 . 0 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 0 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3 . 2 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 0 . 8 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 2 . 7 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 3 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 4 . 0 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 0 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3 . 3 m g / k g の A D 0 4 8 7 2 と約 1 . 7 m g / k g の A D 0 5 0 7 0 が、これらを必要としてい

る対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 0.05 ~ 約 5 mg / kg の AD04872 と、約 0.05 ~ 約 5 mg / kg の AD05070 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 AD04872 と約 AD05070 とが、別々に投与される（例えば、別の注射内）。いくつかの実施形態において、AD04872 の各用量と、AD05070 の各用量が、一緒に投与される（例えば、同じ注射内）。いくつかの実施形態において、AD04872 の各用量と、AD05070 の各用量が、単一の医薬組成物に調製される。

【0071】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるのは、HBV 感染の治療、又は HBV 感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、これらを必要としている対象に、有効量の AD04872 及び有効量の AD04776 を投与することを含む。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 2 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 3 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 4 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 1 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 5 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04776 の比は、約 1 : 2 である。

【0072】

いくつかの実施形態において、約 1 mg / kg (mpk) の AD04872 と約 1 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 1.5 mg / kg の AD04872 と約 1.5 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 2.0 mg / kg の AD04872 と約 1.0 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3.0 mg / kg の AD04872 と約 1.0 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3.2 mg / kg の AD04872 と約 0.8 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 2.7 mg / kg の AD04872 と約 1.3 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 4.0 mg / kg の AD04872 と約 1.0 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 3.3 mg / kg の AD04872 と約 1.7 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約 0.05 ~ 約 5 mg / kg の AD04872 と、約 0.05 ~ 約 5 mg / kg の AD04776 が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、AD04872 と AD04776 の各用量が、別々に投与される（例えば、別の注射内）。いくつかの実施形態において、AD04872 と AD04776 の各用量が、一緒に投与される（例えば、同じ注射内）。いくつかの実施形態において、AD04872 と AD04776 の各用量が、単一の医薬組成物に調製される。

【0073】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるのは、HBV 感染の治療、又は HBV 感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、これらを必要としている対象に、有効量の AD04872 及び有効量の AD04982 を投与することを含む。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04982 の比は、約 2 : 1 である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与される AD04872 対 AD04982 の比は、約 3 :

1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04872対AD04982の比は、約4:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04872対AD04982の比は、約1:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04872対AD04982の比は、約5:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04872対AD04982の比は、約1:2である。

【0074】

いくつかの実施形態において、約1mg/kg (mpk)のAD04872と約1mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約1.5mg/kgのAD04872と約1.5mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約2.0mg/kgのAD04872と約1.0mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約3.0mg/kgのAD04872と約1.0mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約3.2mg/kgのAD04872と約0.8mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約2.7mg/kgのAD04872と約1.3mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約4.0mg/kgのAD04872と約1.0mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約3.3mg/kgのAD04872と約1.7mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約0.05~約5mg/kgのAD04872と、約0.05~約5mg/kgのAD04982が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、AD04872とAD04982の各用量が、別々に投与される(例えば、別の注射内)。いくつかの実施形態において、AD04872とAD04982の各用量が、一緒に投与される(例えば、同じ注射内)。いくつかの実施形態において、AD04872とAD04982の各用量が、単一の医薬組成物に調製される。

【0075】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるのは、HBV感染の治療、又はHBV感染によって生じる疾患若しくは症状の予防の方法であり、この方法は、これらを必要としている対象に、有効量のAD04580及び有効量のAD04585を投与することを含む。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約2:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約3:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約4:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約5:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約1:1である。いくつかの実施形態において、これらを必要としている対象に投与されるAD04580対AD04585の比は、約1:2である。いくつかの実施形態において、約1mg/kg (mpk)のAD04580と約1mg/kgのAD04585が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約1.5mg/kgのAD04580と約1.5mg/kgのAD04585が、これらを必要としている対象に投与される。いくつかの実施形態において、約0.05~約5mg/kgのAD04580と、約0.05~約5mg/kgのAD04585が、これらを必要としている対象に投与される。

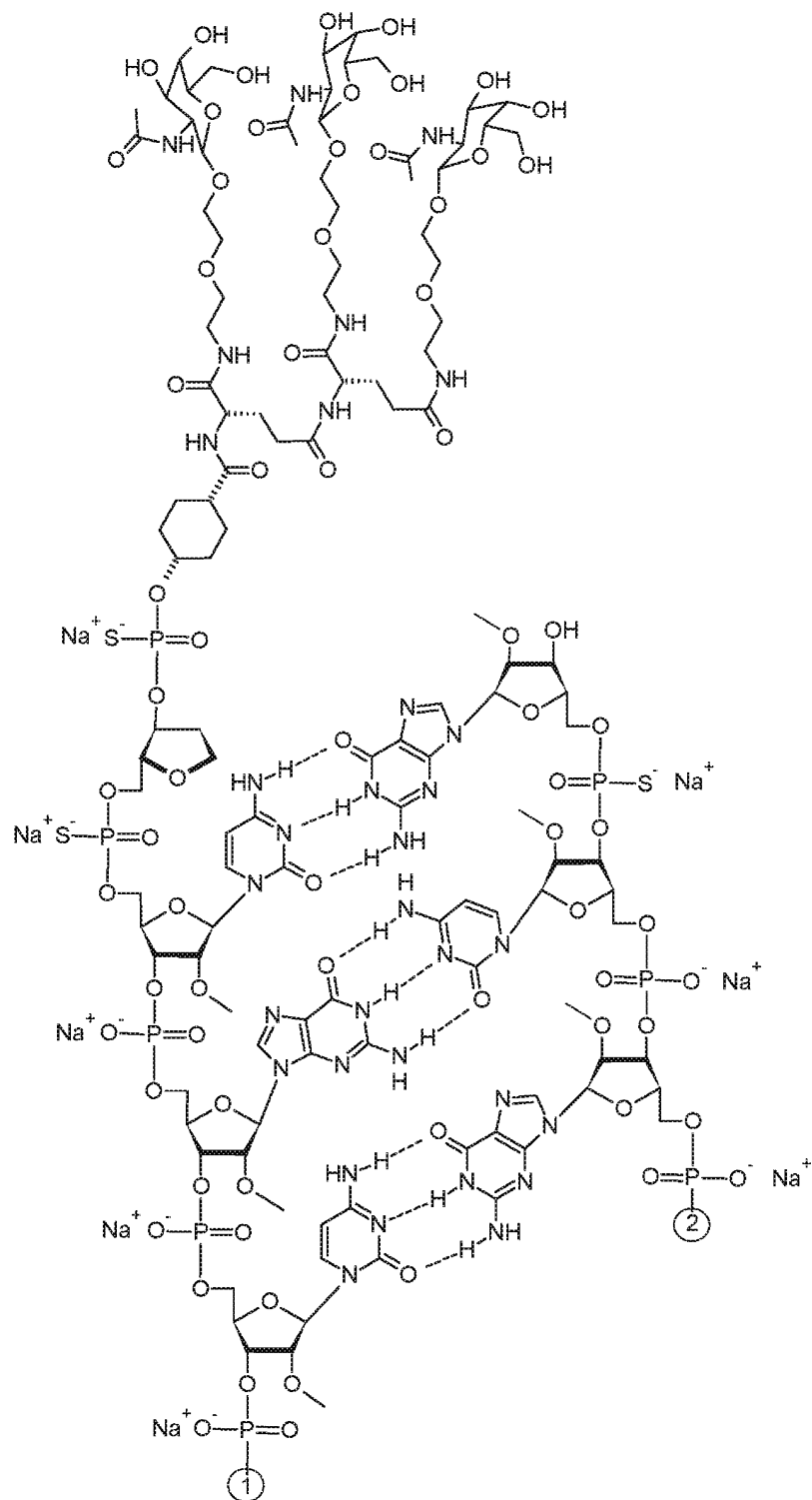
【0076】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i薬は、以下に示

す構造を有するナトリウム塩として示される (N A G 3 7) s に連結した A D 0 5 0 7 0 からなるか又はこれを含む：

【 0 0 7 7 】

【 化 1 】



【 0 0 7 8 】

10

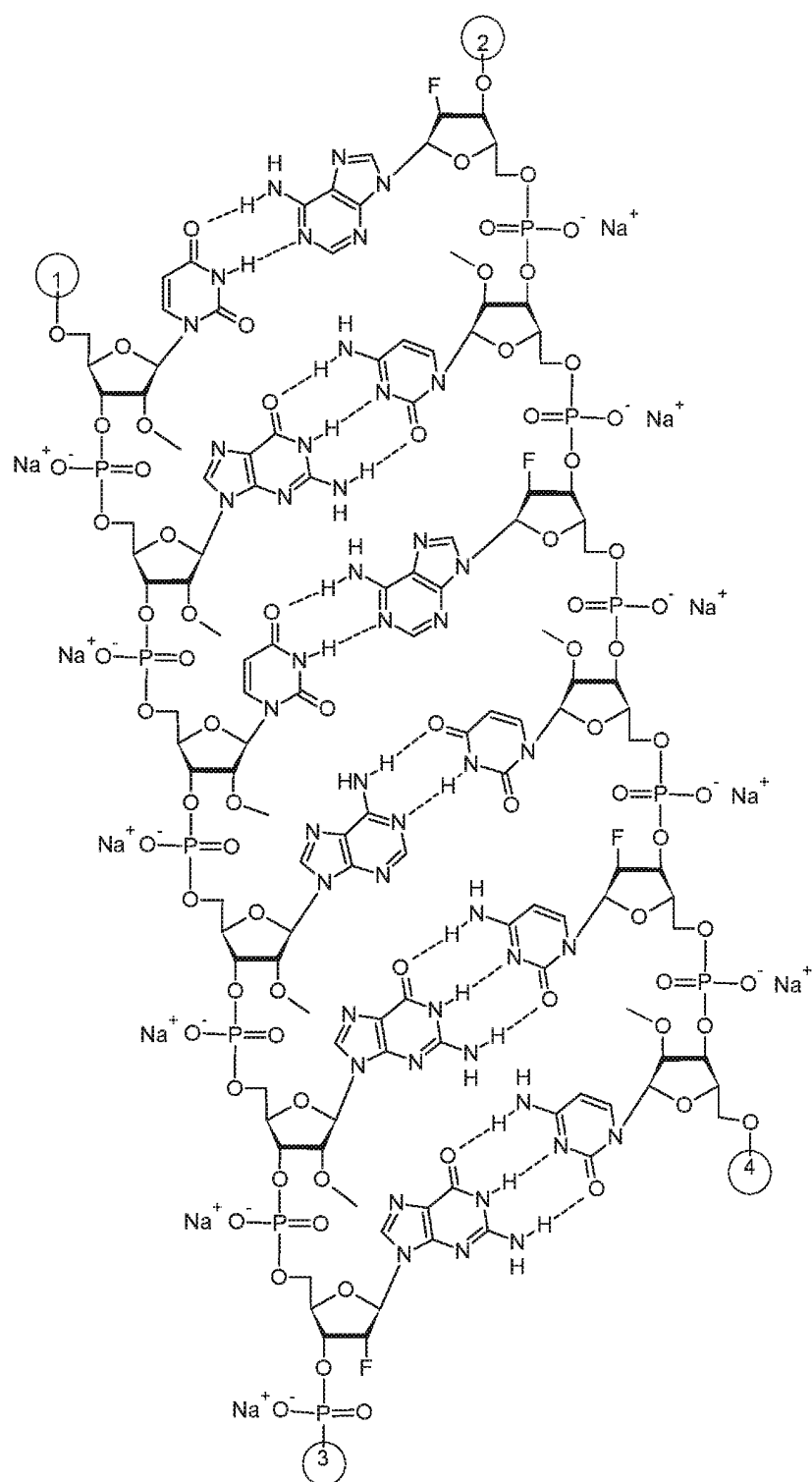
20

30

40

50

【化 2】



【 0 0 7 9 】

10

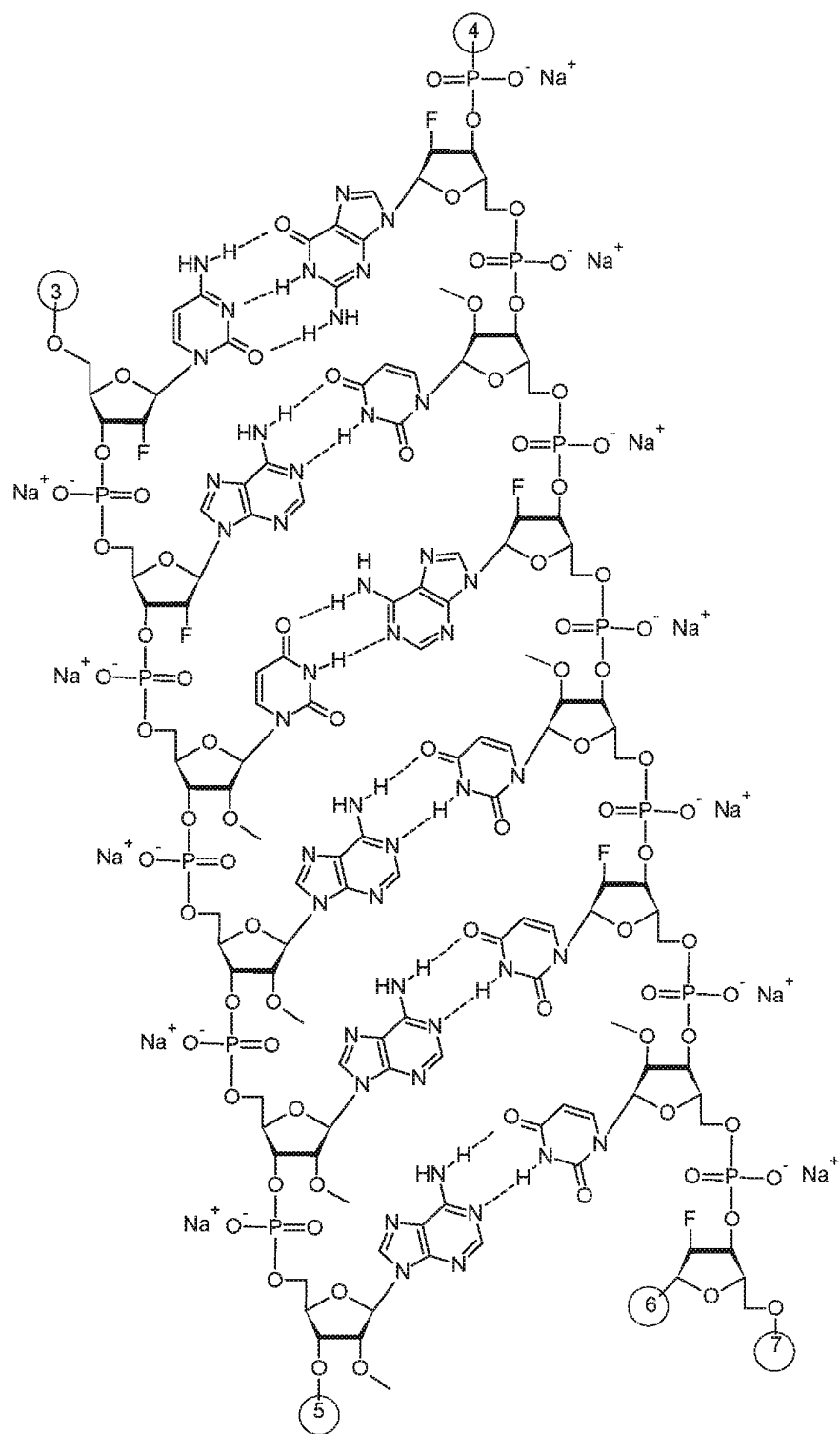
20

30

40

50

【化 3】



10

20

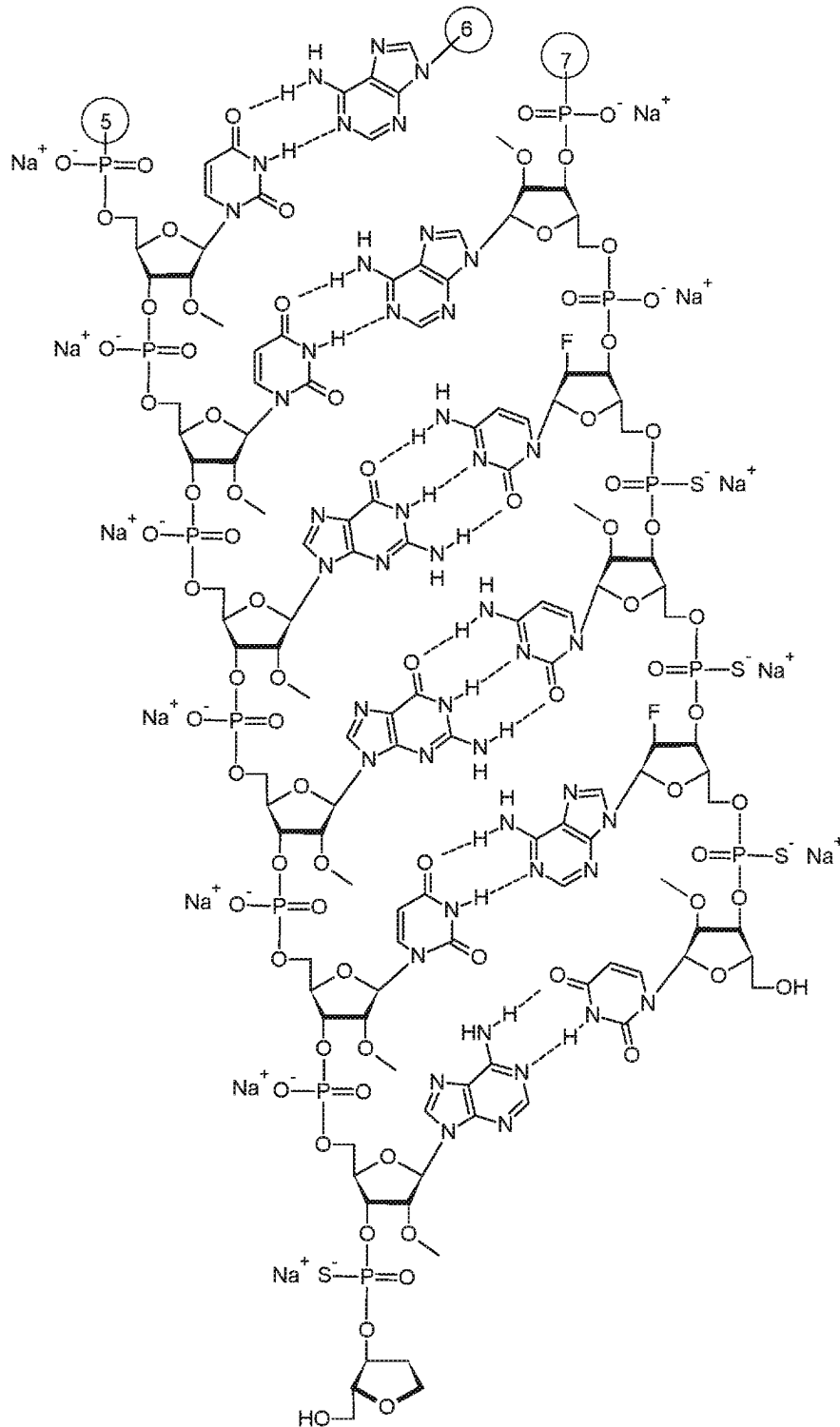
30

40

【 0 0 8 0 】

50

【化 4】



【 0 0 8 1 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNAi薬は、以下に示す構造を有するナトリウム塩として示される(NAG25)sに連結したAD05070からなるか又はこれを含む：

【 0 0 8 2 】

10

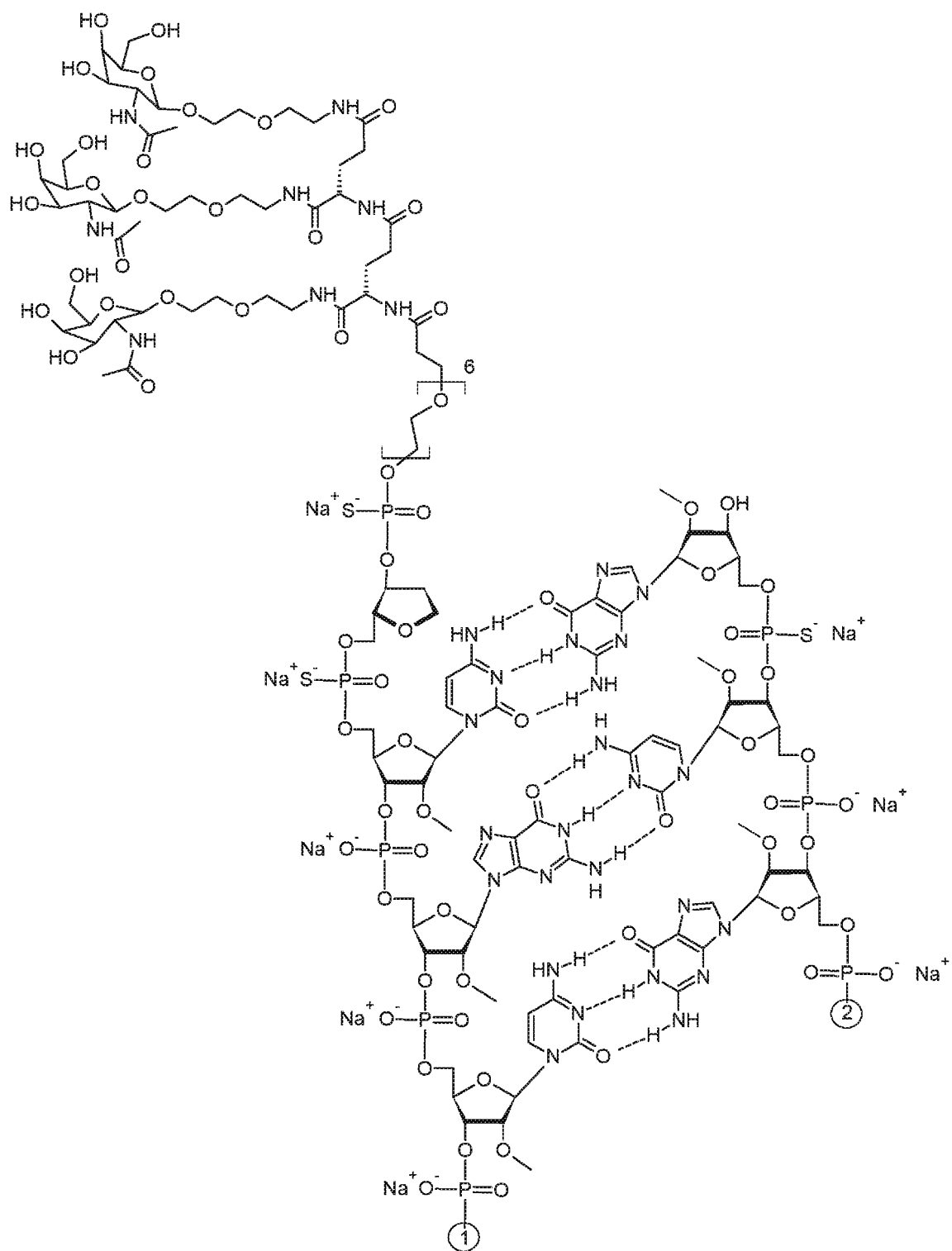
20

30

40

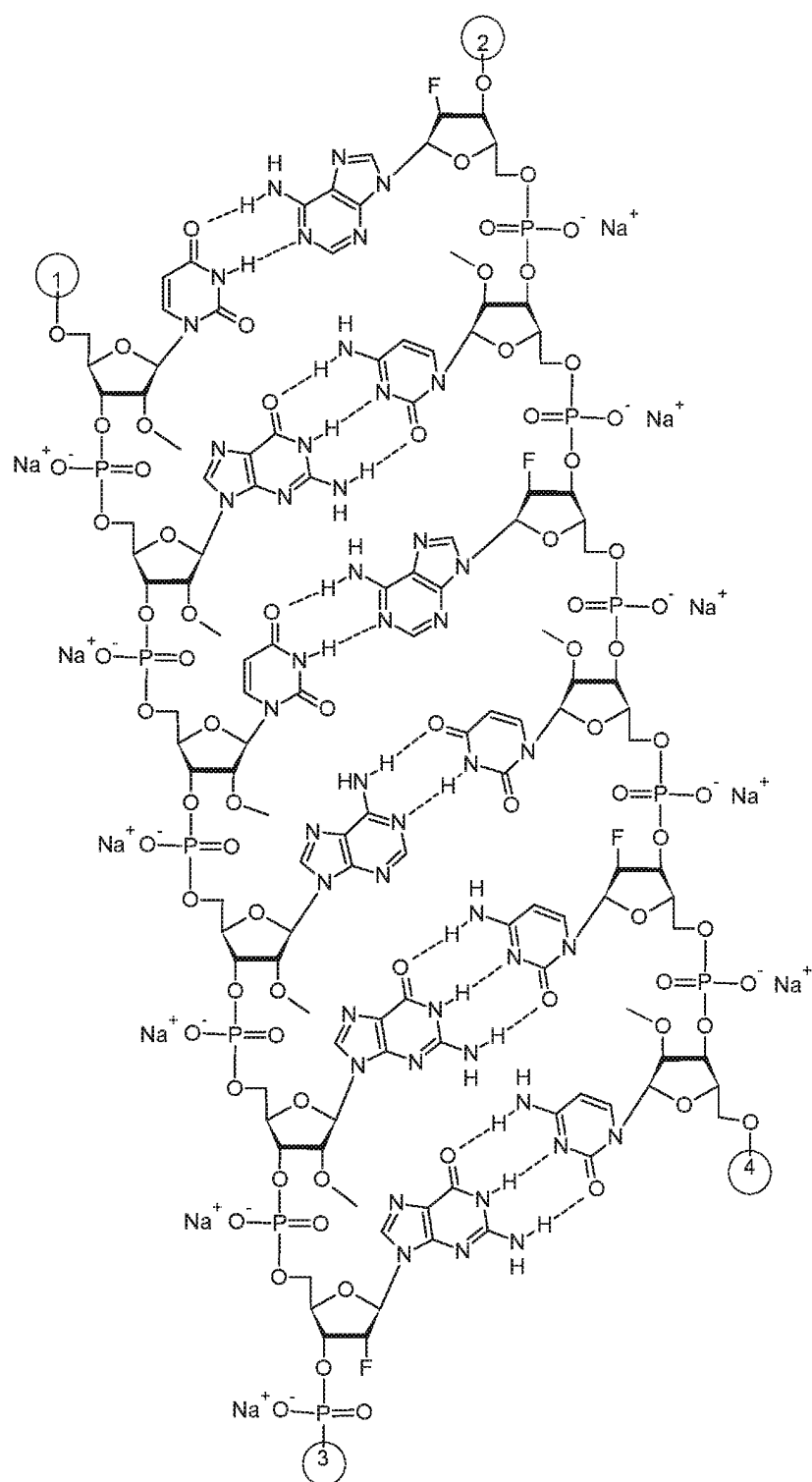
50

【化 5】



【 0 0 8 3 】

【化 6】



【 0 0 8 4 】

10

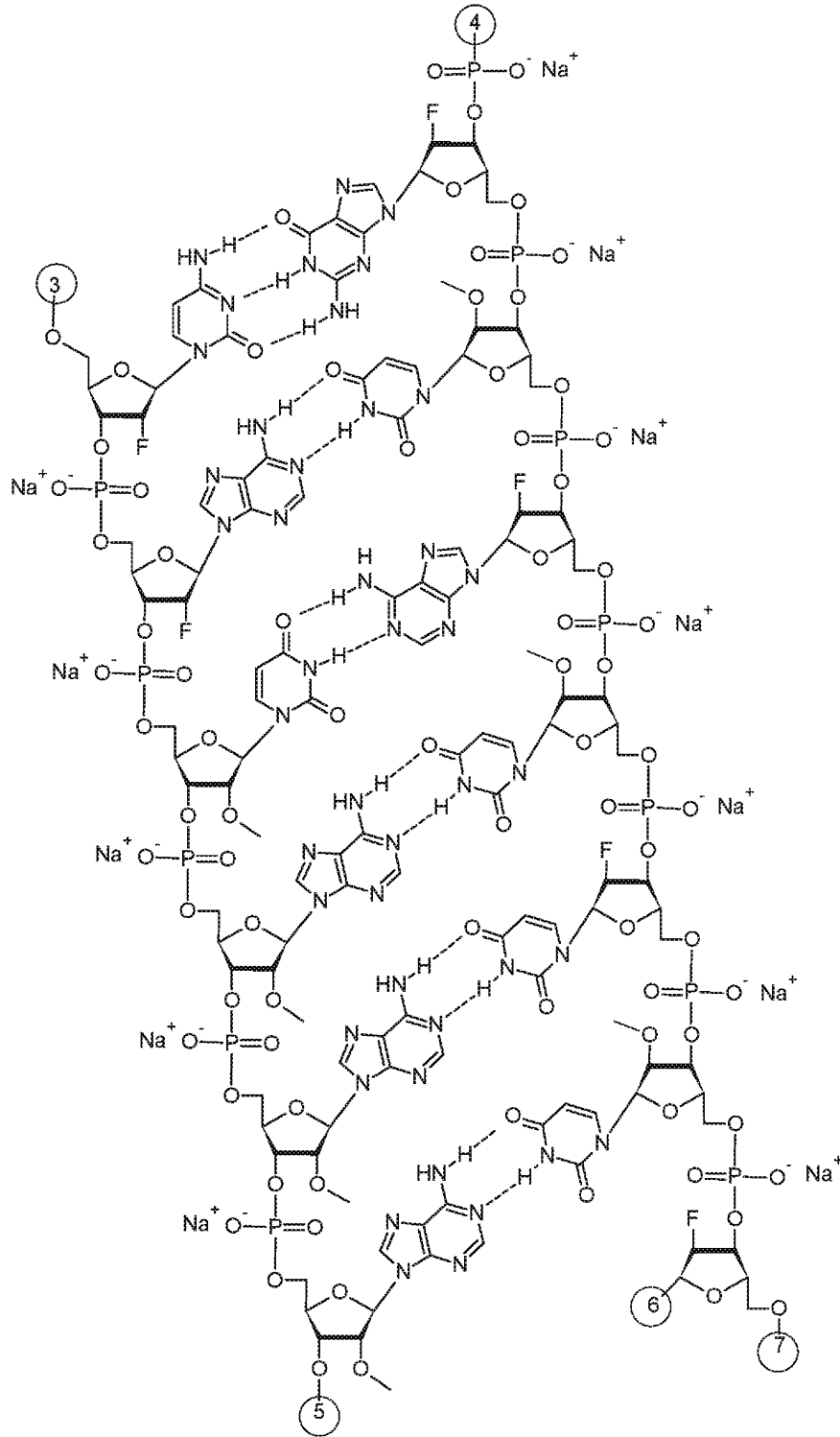
20

30

40

50

【化 7】



【 0 0 8 5 】

10

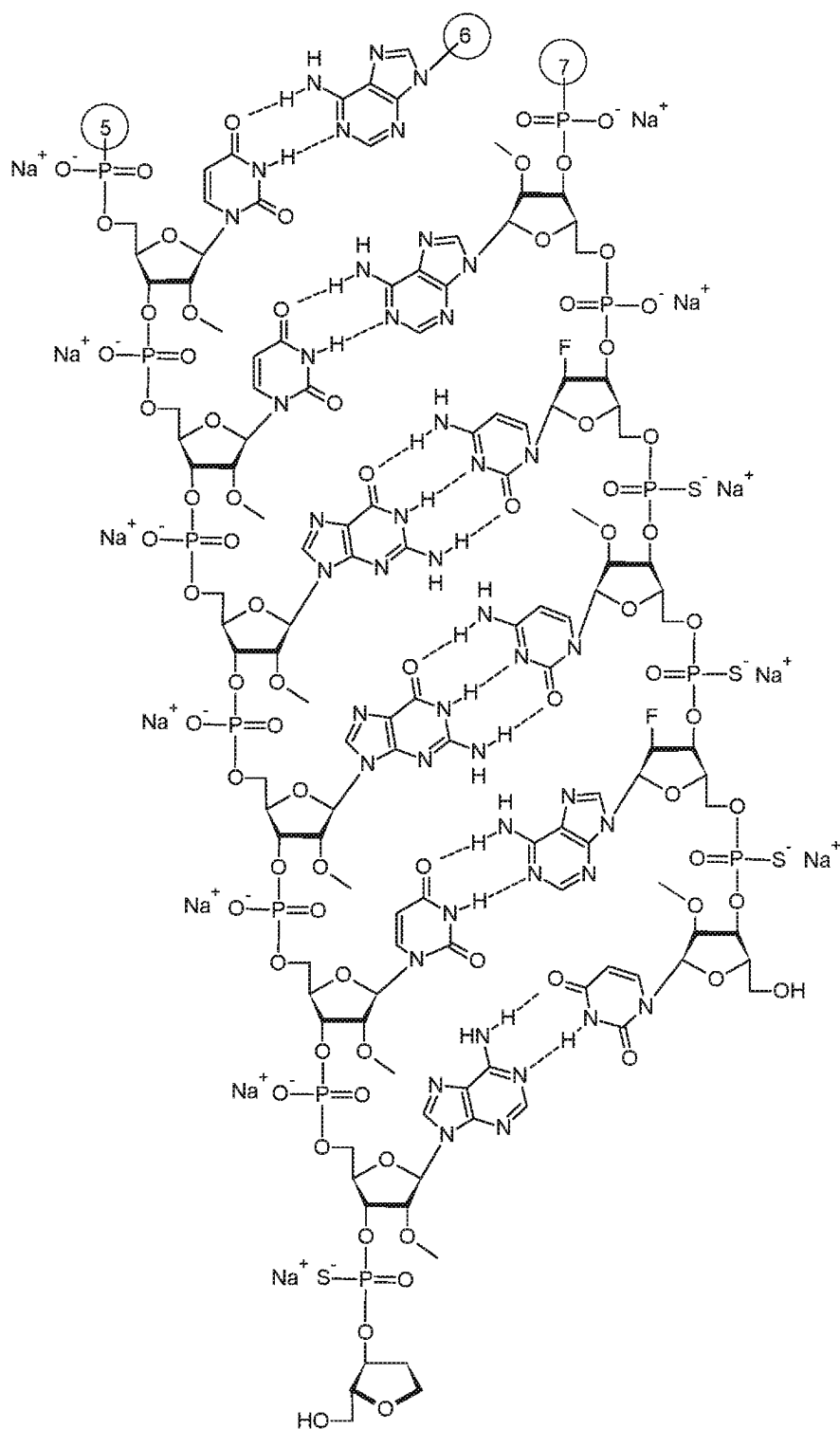
20

30

40

50

【化 8】



10

20

30

40

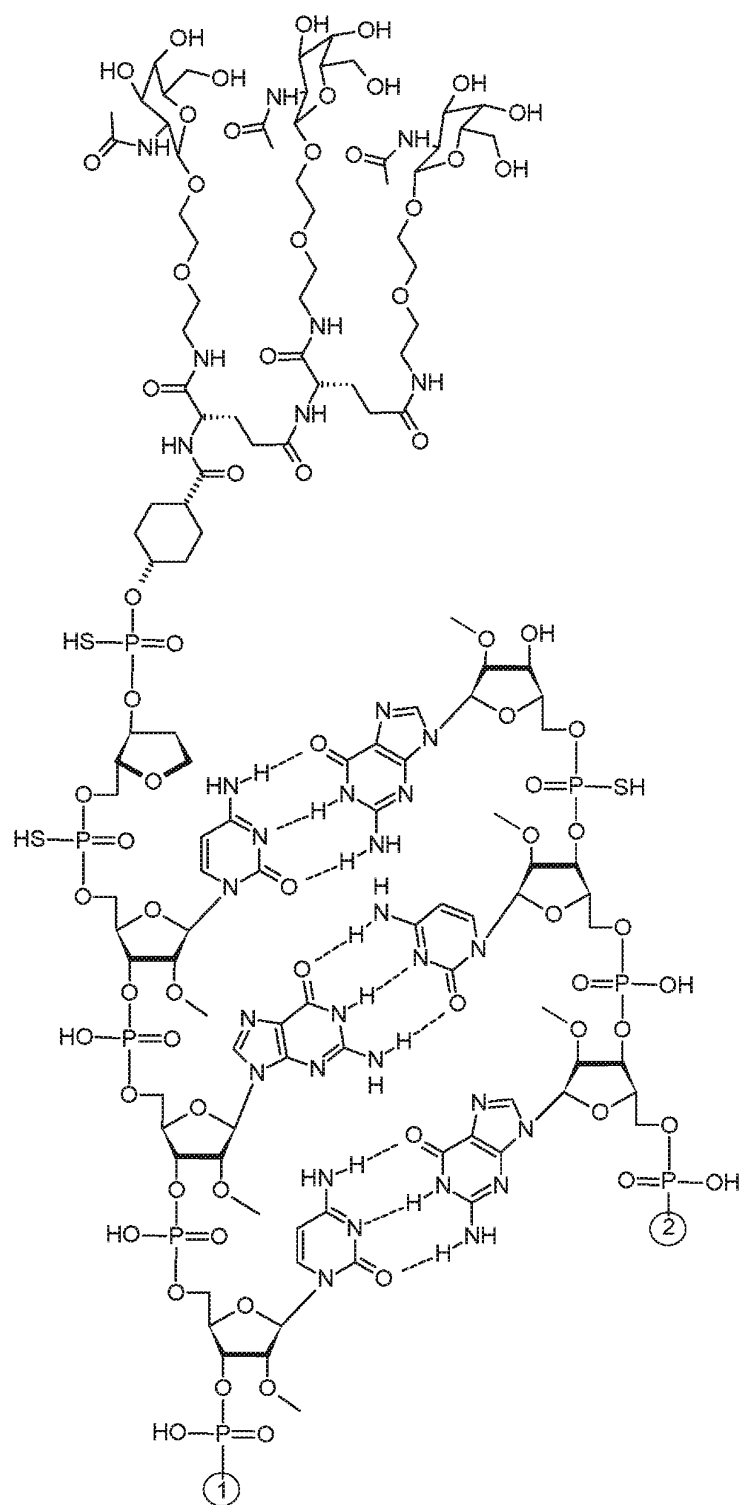
【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有する遊離酸として示される(NAG 3 7) s に連結したAD 0 5 0 7 0 からなるか又はこれを含む：

【 0 0 8 7 】

50

【化 9】



【 0 0 8 8 】

10

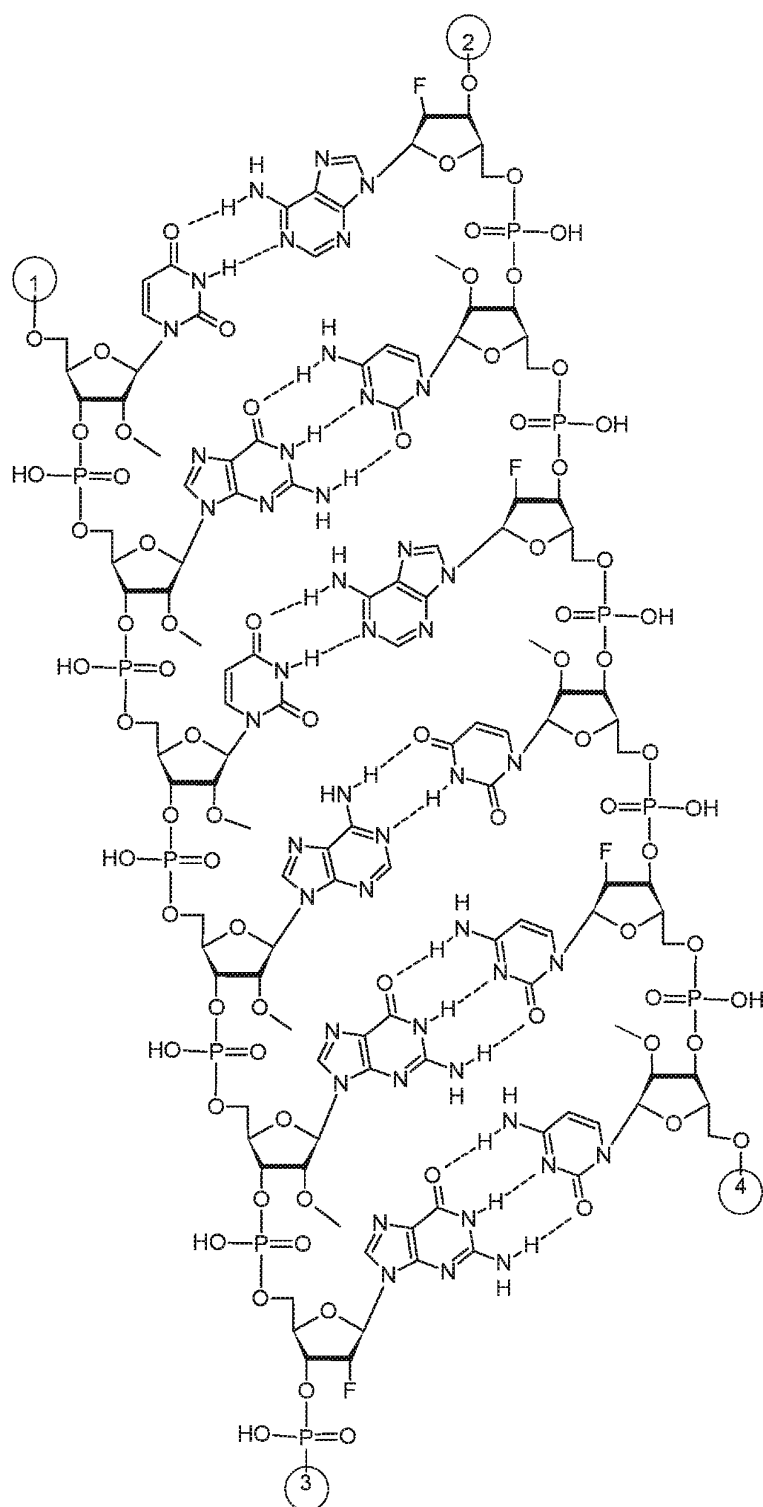
20

30

40

50

【化 1 0】



【 0 0 8 9 】

10

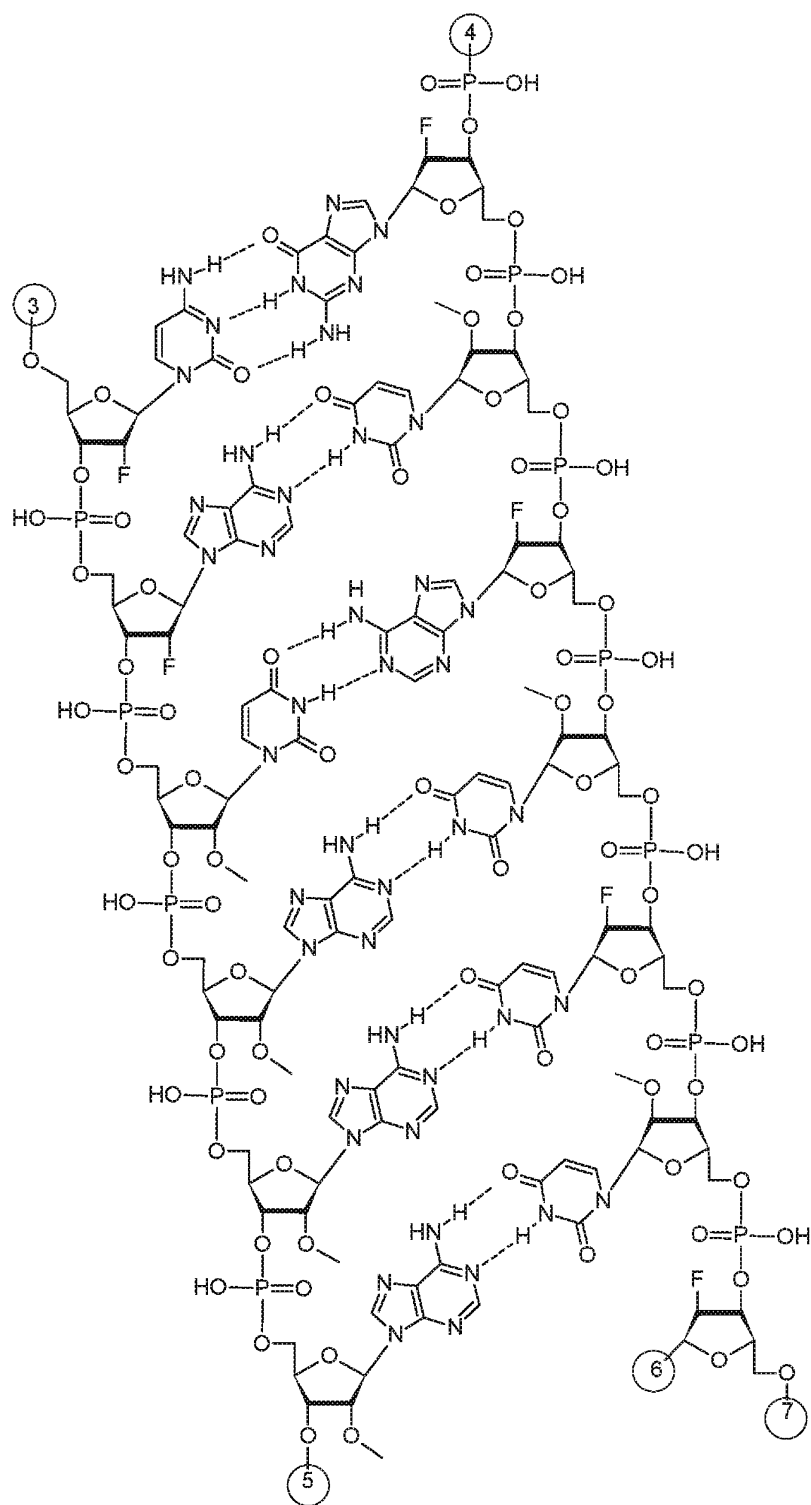
20

30

40

50

【化 1 1】



10

20

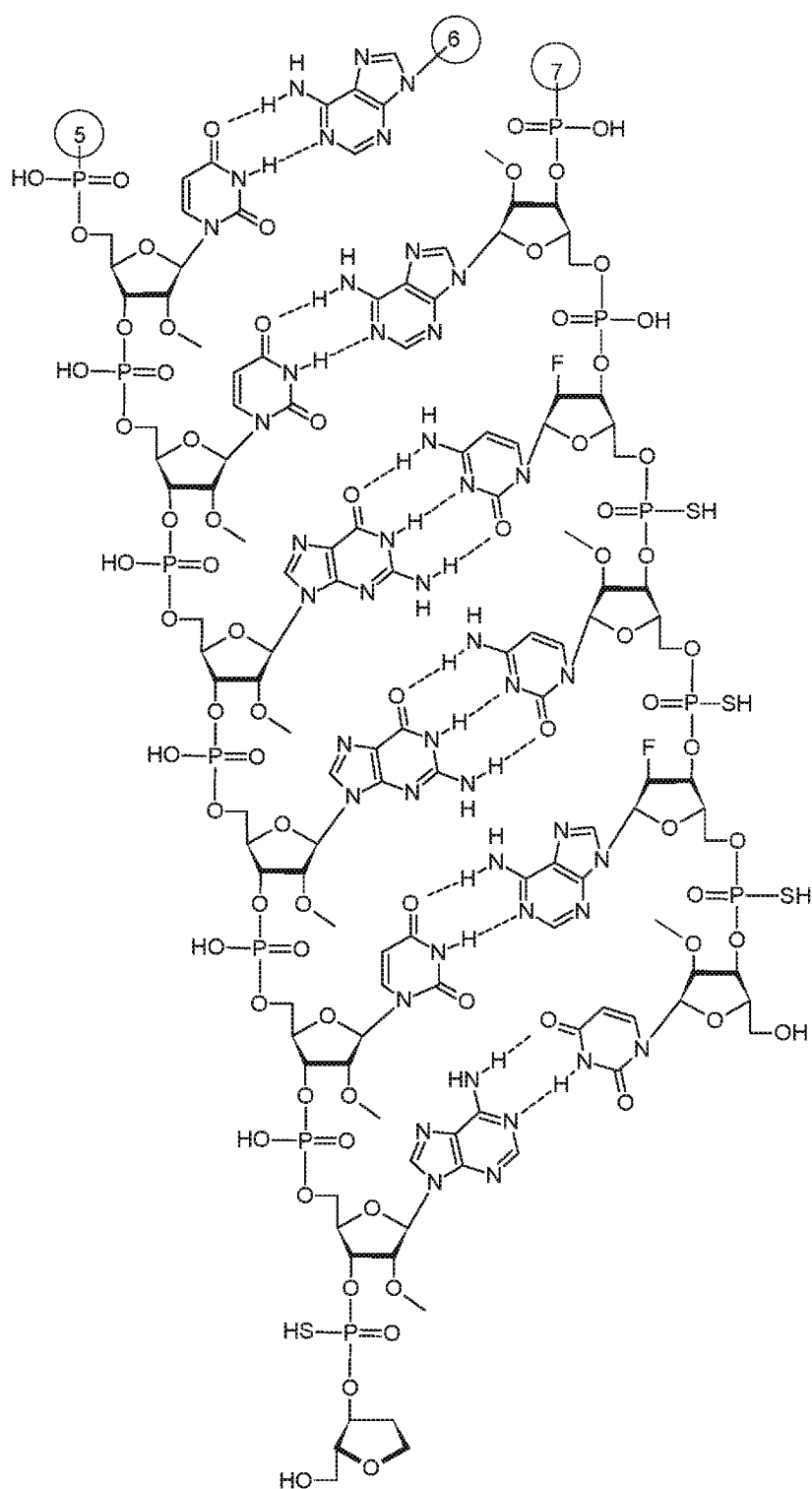
30

40

【 0 0 9 0 】

50

【化 1 2】



10

20

30

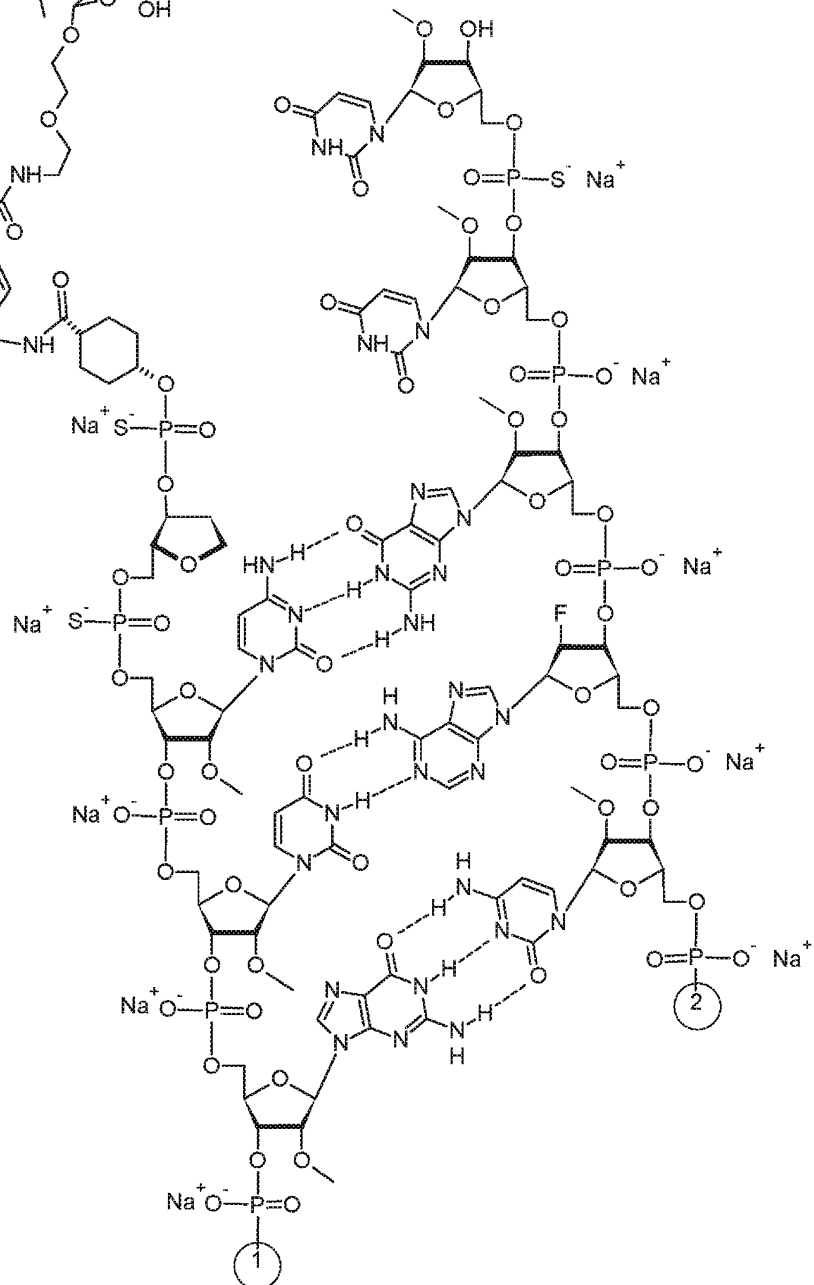
40

【 0 0 9 1】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有するナトリウム塩として示される(NAG 3 1) s に連結したAD 0 4 5 8 0 からなるか又はこれを含む：

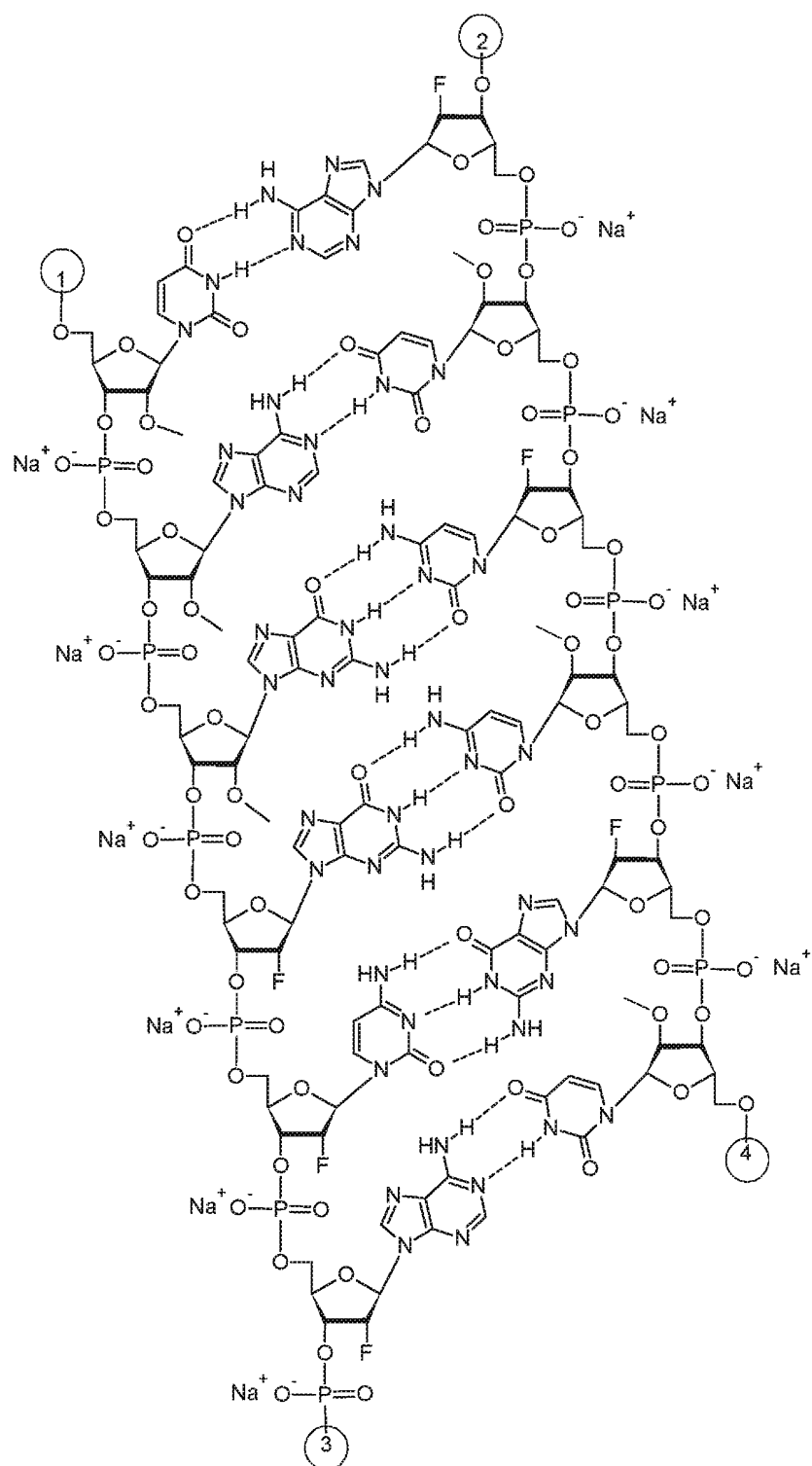
【 0 0 9 2】

50



【 0 0 9 3 】

【化 1 4】



【 0 0 9 4 】

10

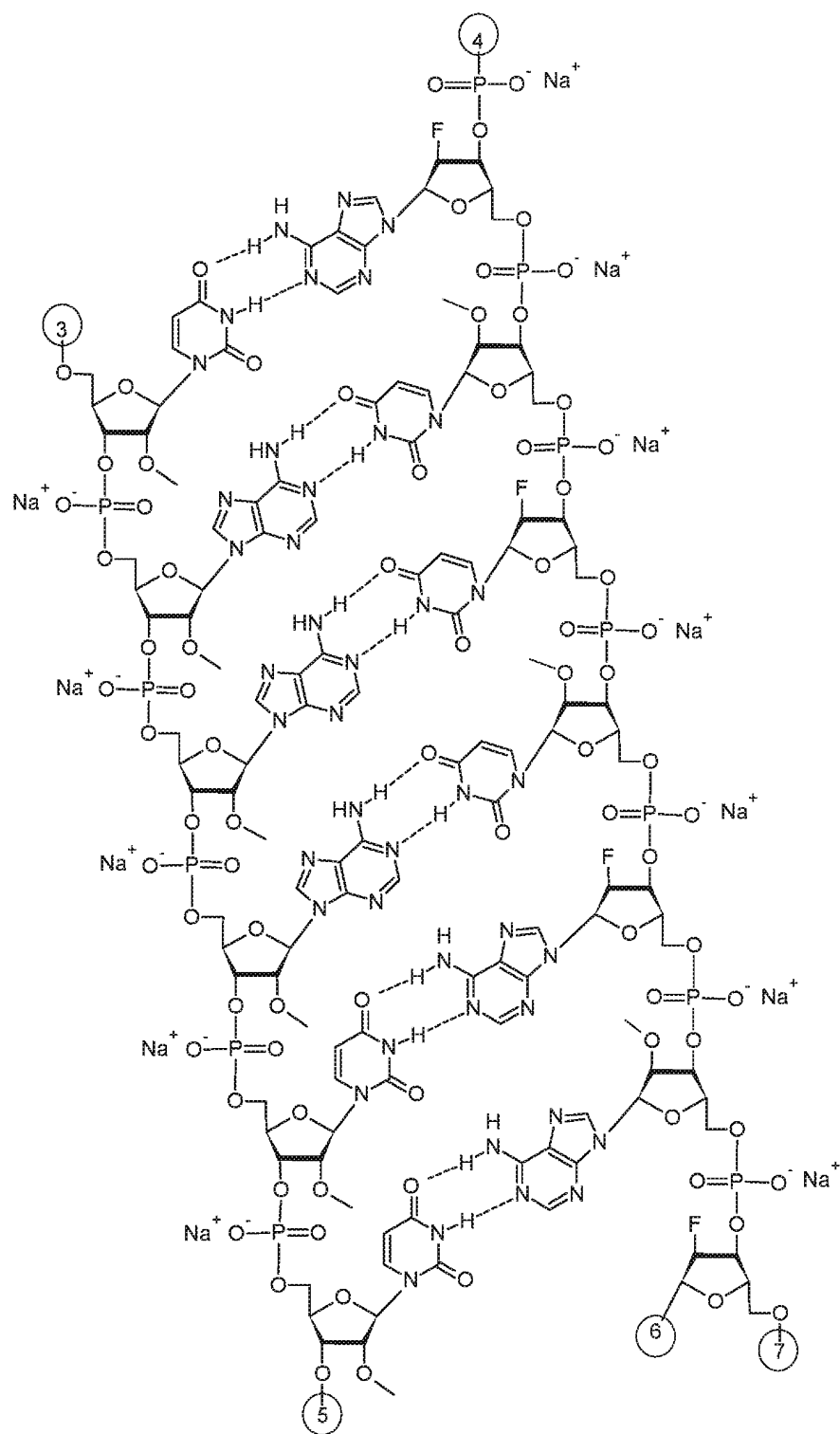
20

30

40

50

【化 1 5】



10

20

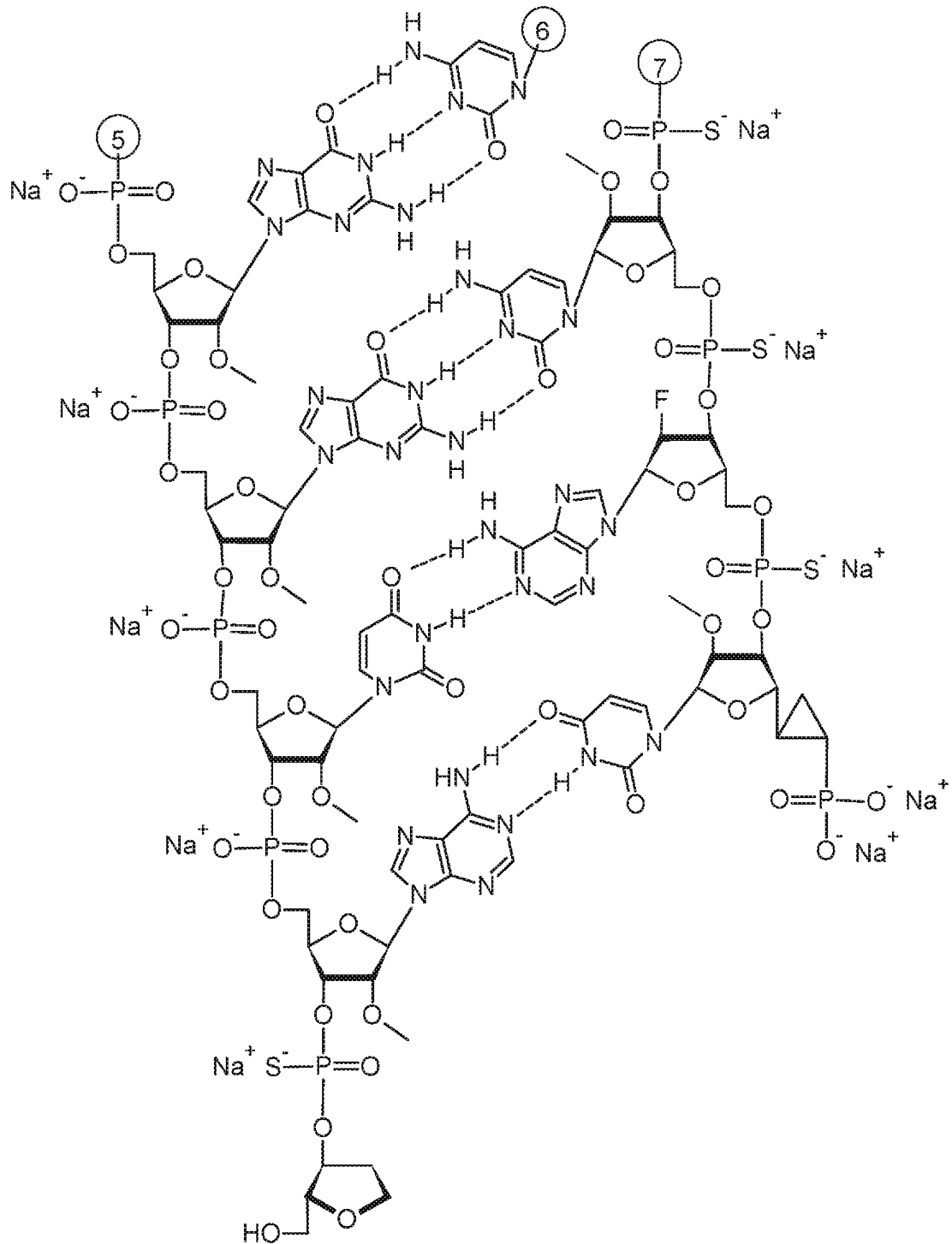
30

40

【 0 0 9 5 】

50

【化 1 6】



【 0 0 9 6】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有するナトリウム塩として示される (NAG 25) s に連結したAD04585からなるか又はこれを含む：

【 0 0 9 7】

10

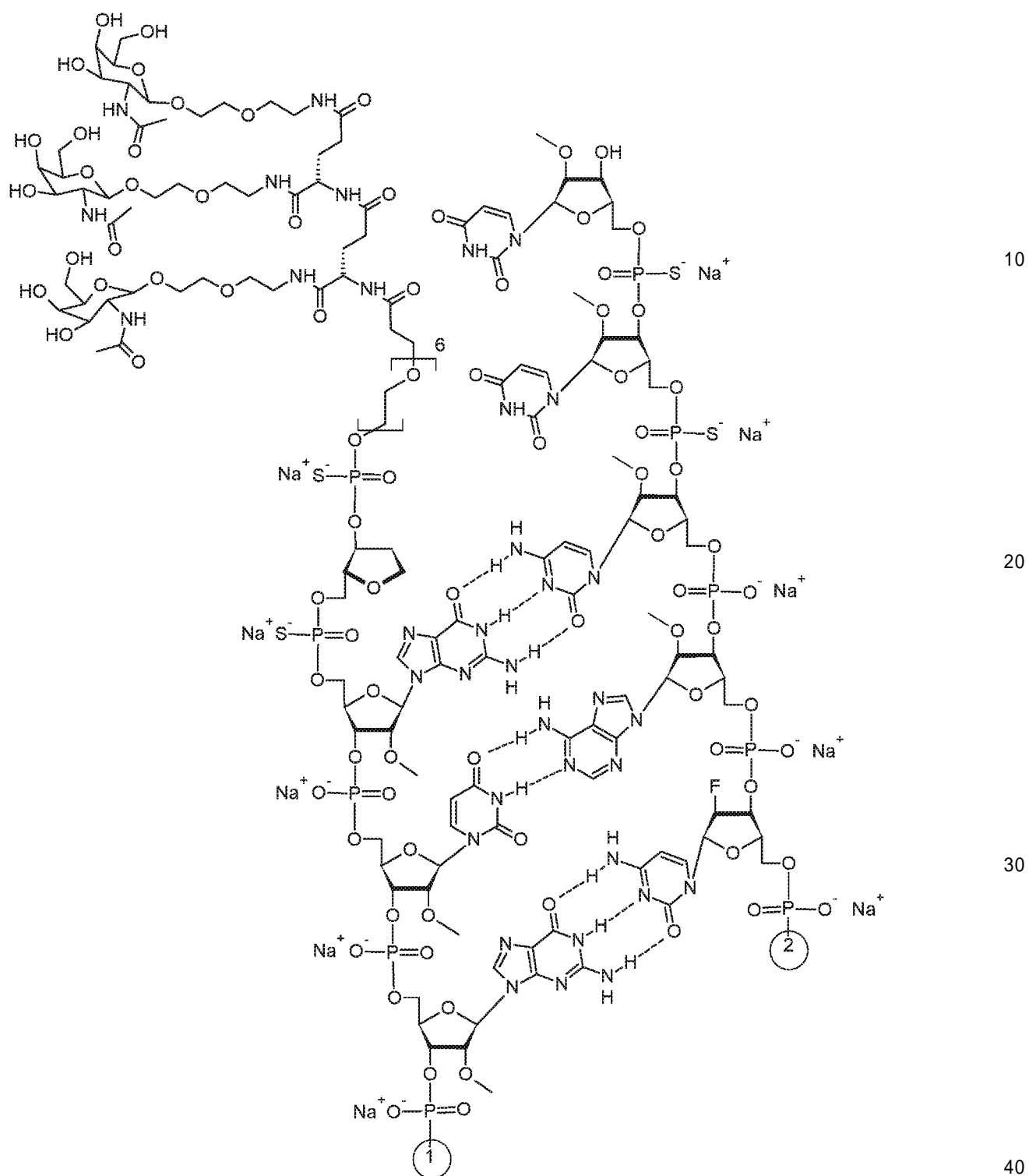
20

30

40

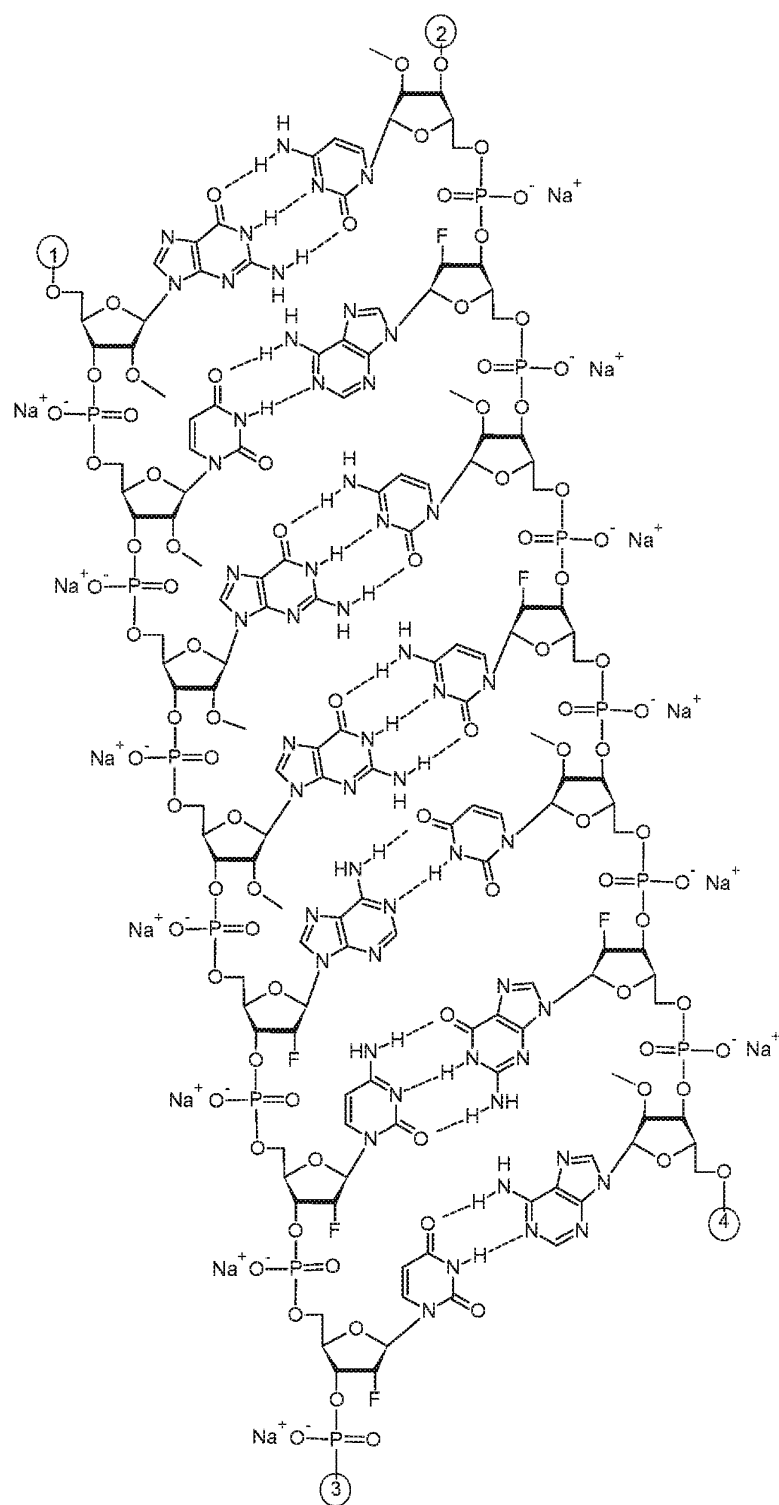
50

【化 1 7】



【 0 0 9 8 】

【化 1 8】



【 0 0 9 9 】

10

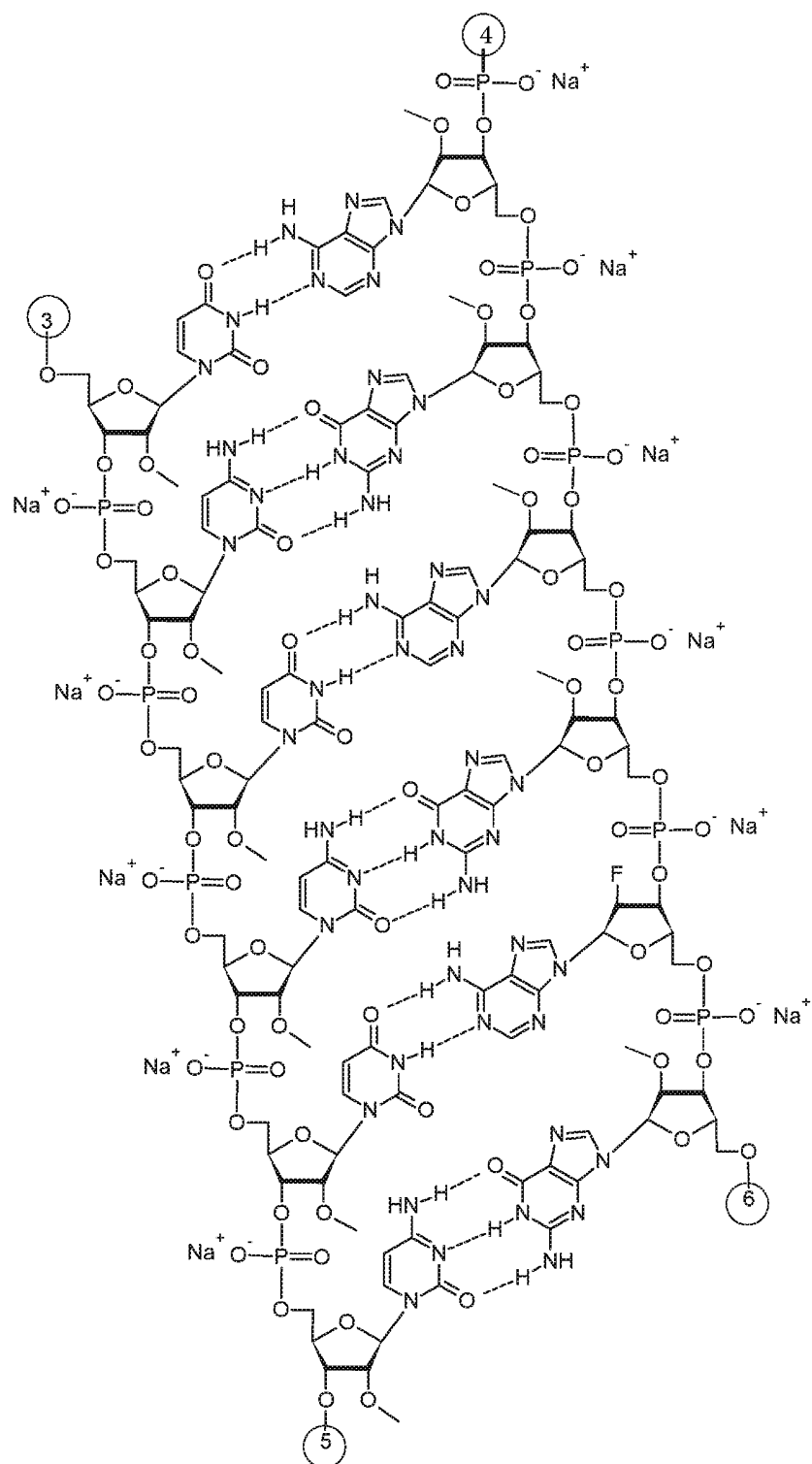
20

30

40

50

【化 1 9】



【 0 1 0 0 】

10

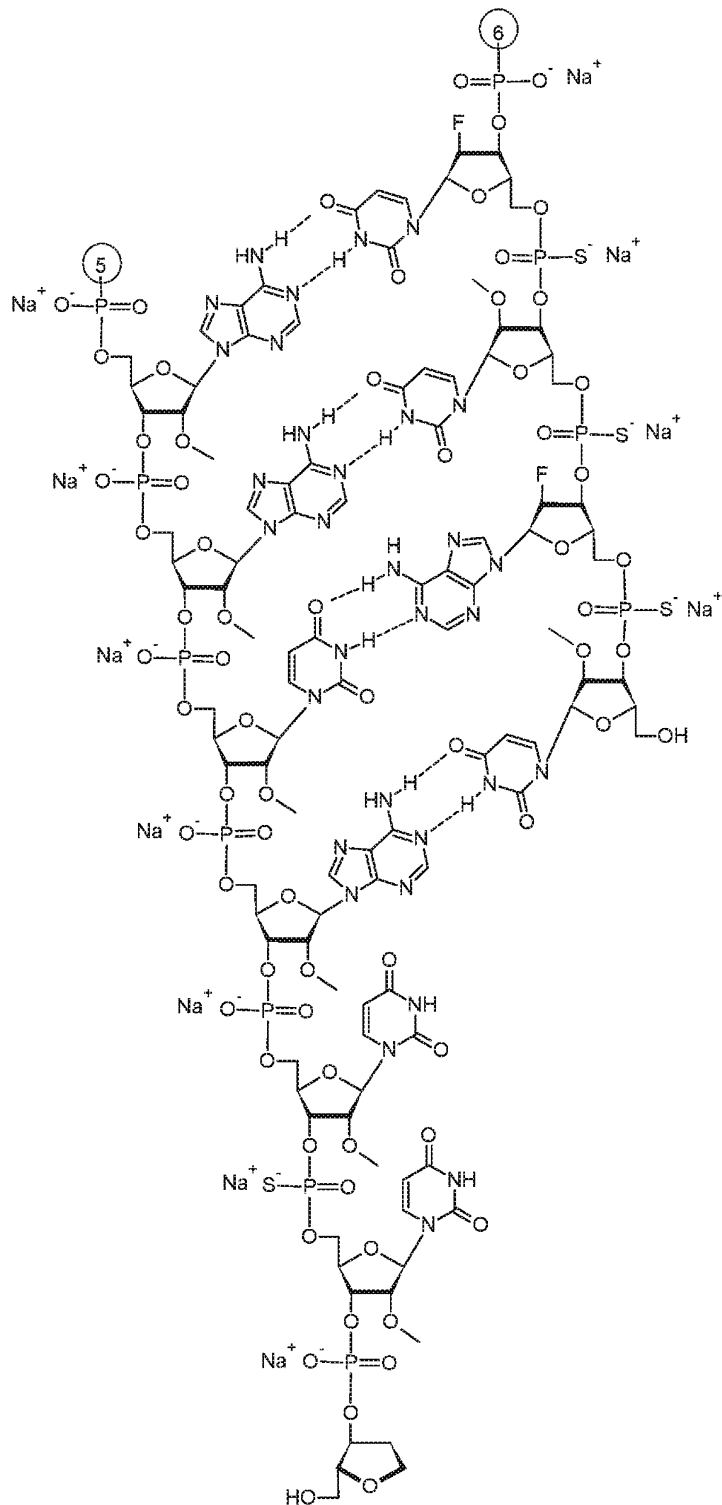
20

30

40

50

【化 2 0】



10

20

30

40

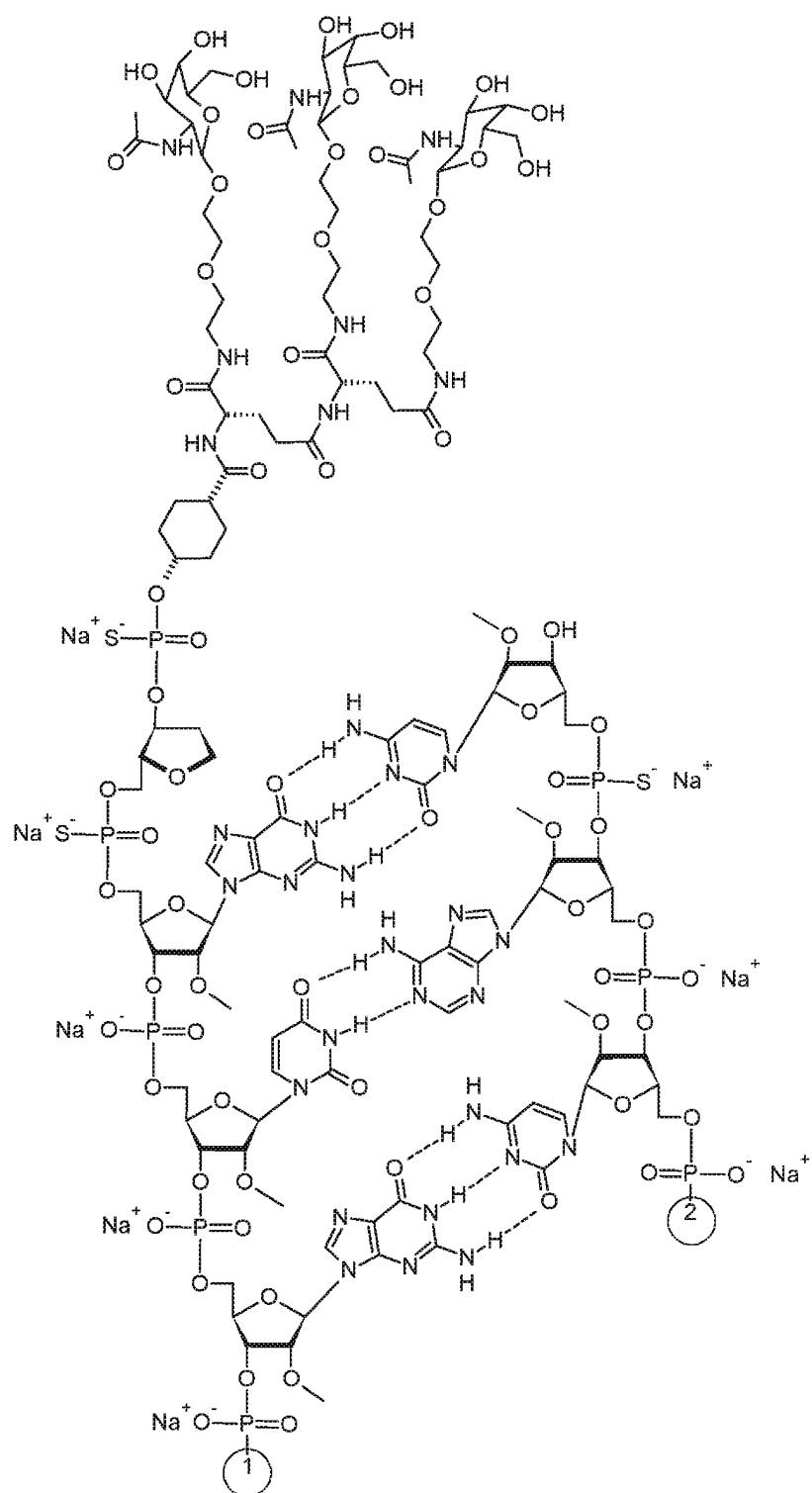
【 0 1 0 1】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有するナトリウム塩として示される(NAG37)sに連結したAD04872からなるか又はこれを含む：

【 0 1 0 2】

50

【化 2 1】



【 0 1 0 3 】

10

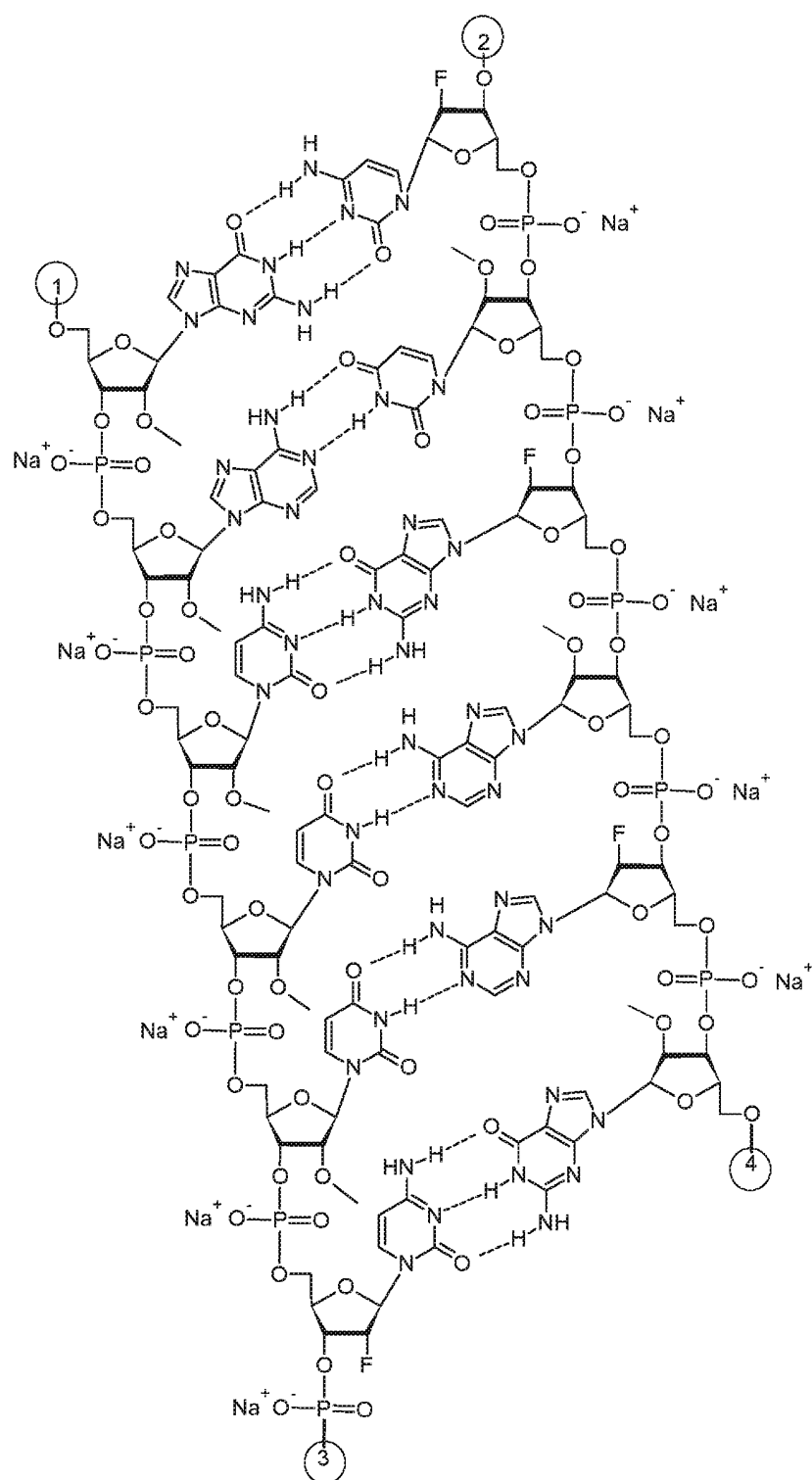
20

30

40

50

【化 2 2】



【 0 1 0 4 】

10

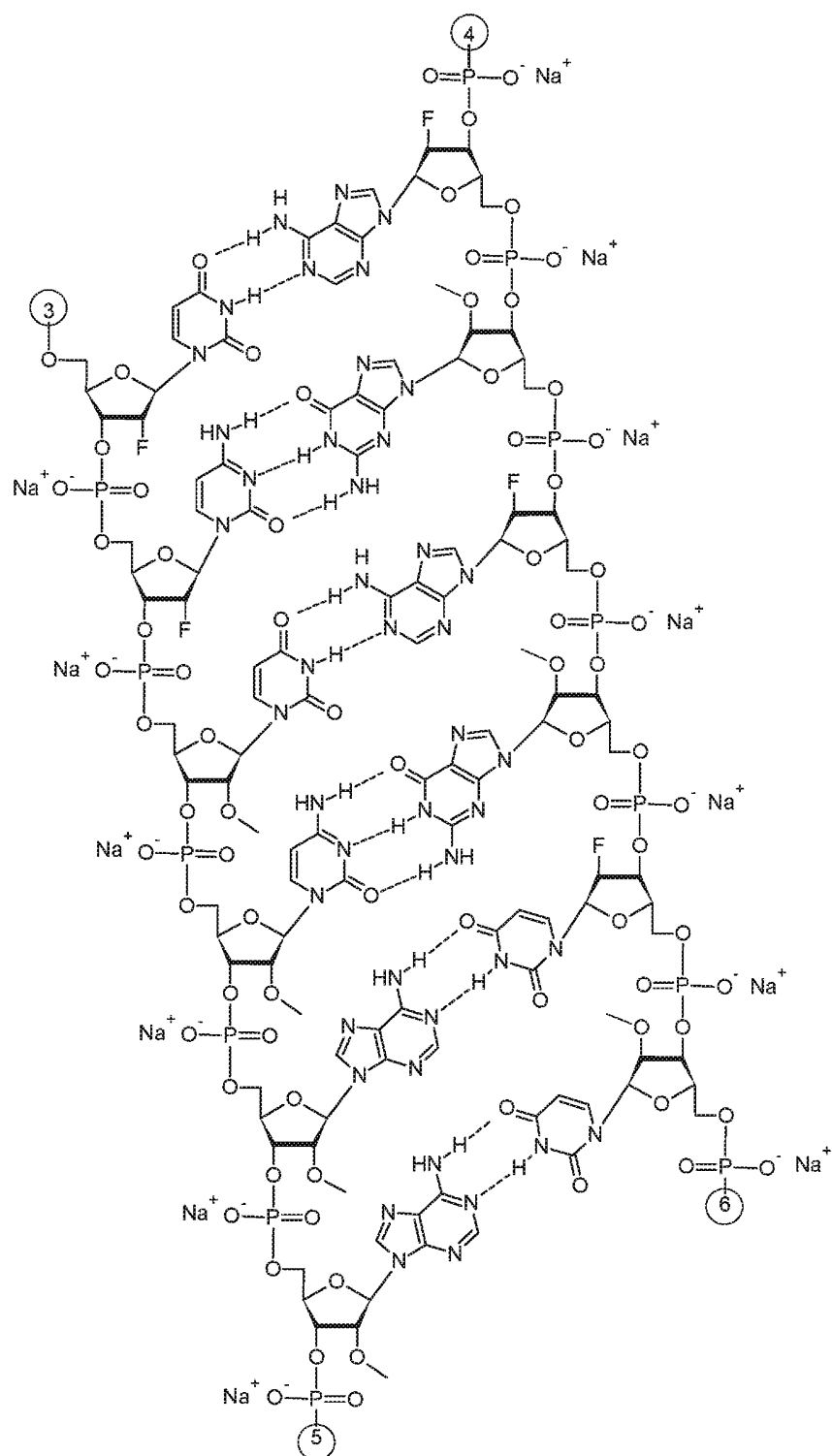
20

30

40

50

【化 2 3】



【 0 1 0 5】

10

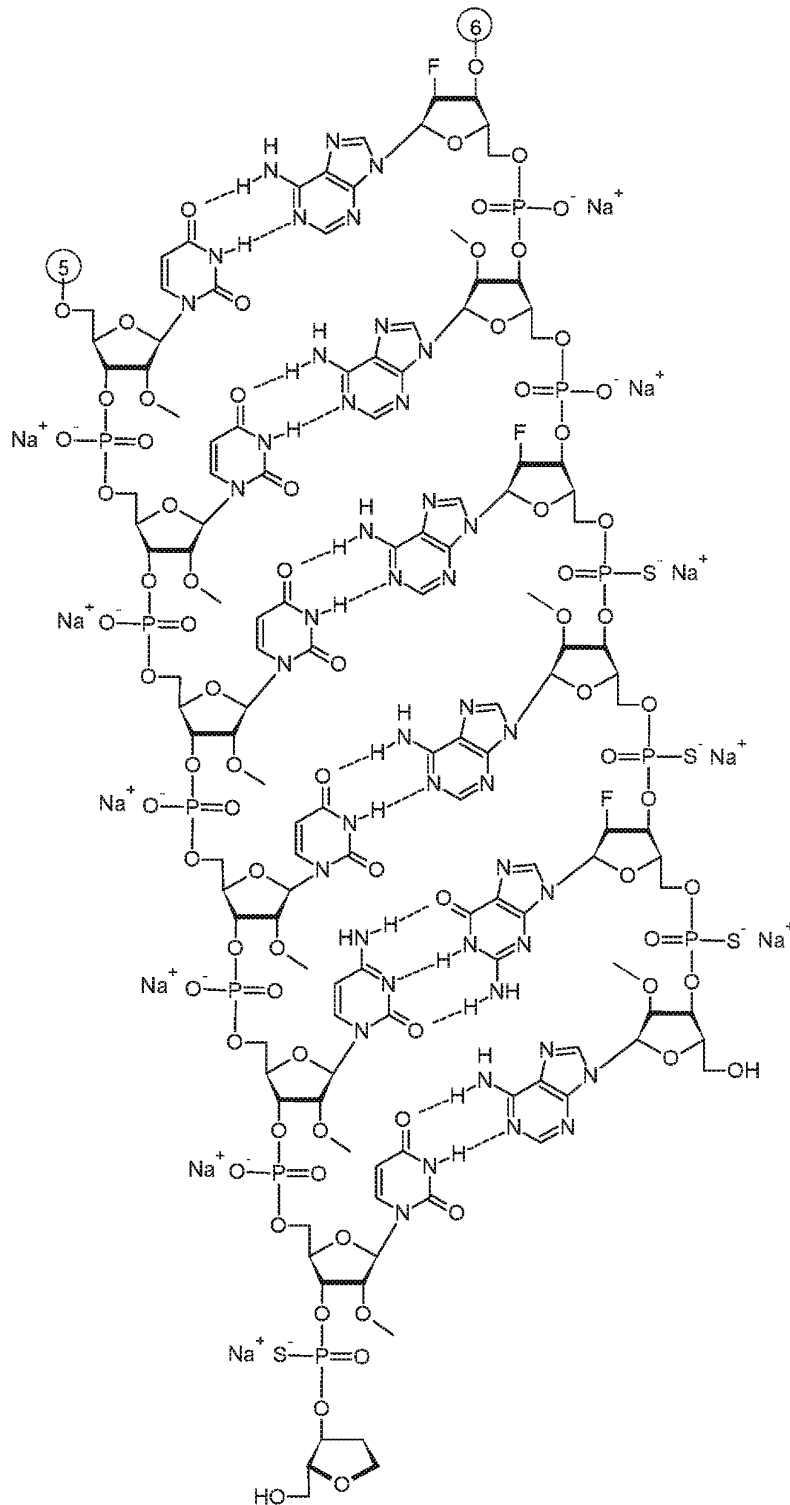
20

30

40

50

【化 2 4】



【 0 1 0 6】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有するナトリウム塩として示される(NAG 25) s に連結したAD 0 4 8 7 2 からなるか又はこれを含む：

【 0 1 0 7】

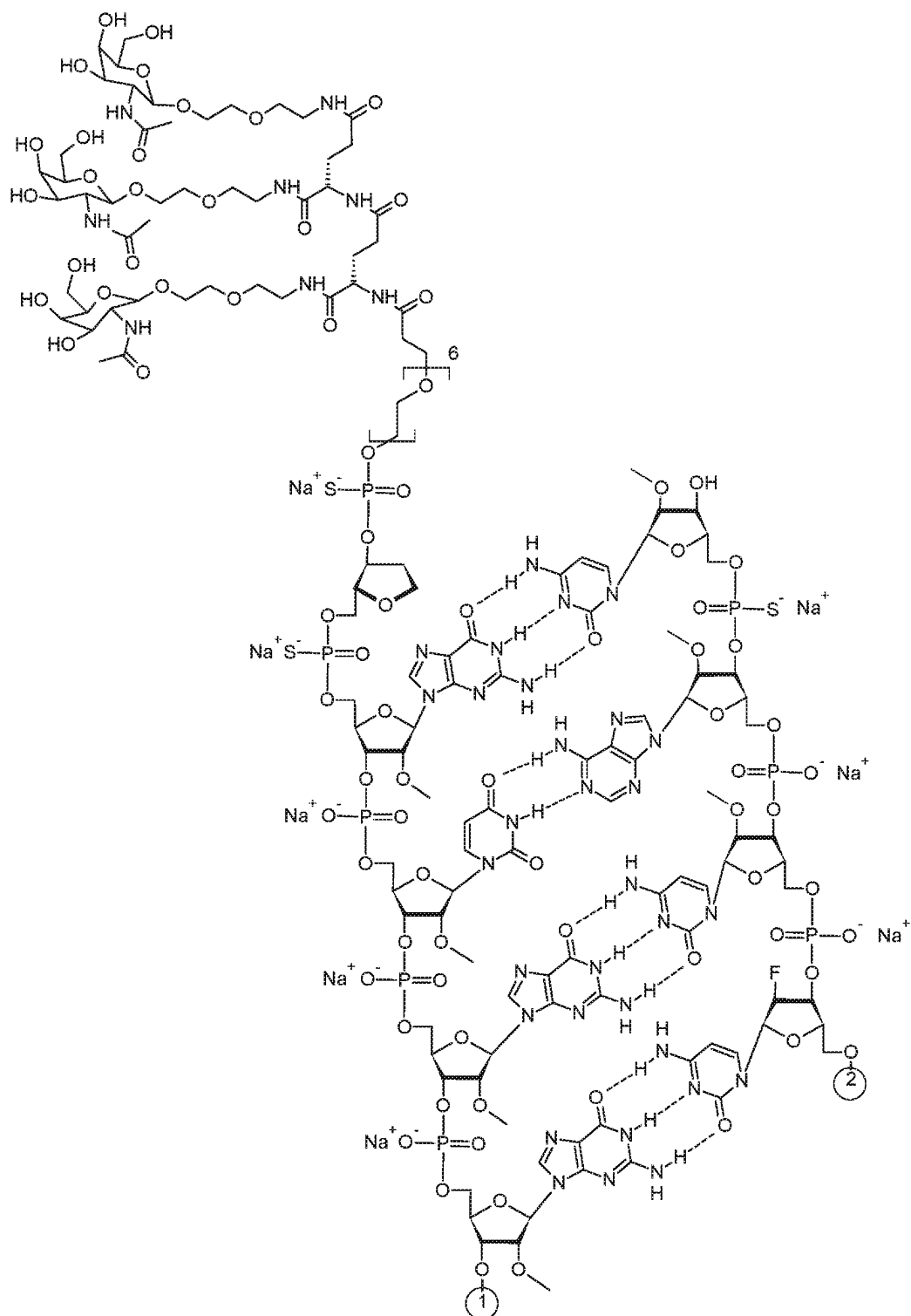
10

20

30

40

【化 2 5】



【 0 1 0 8 】

10

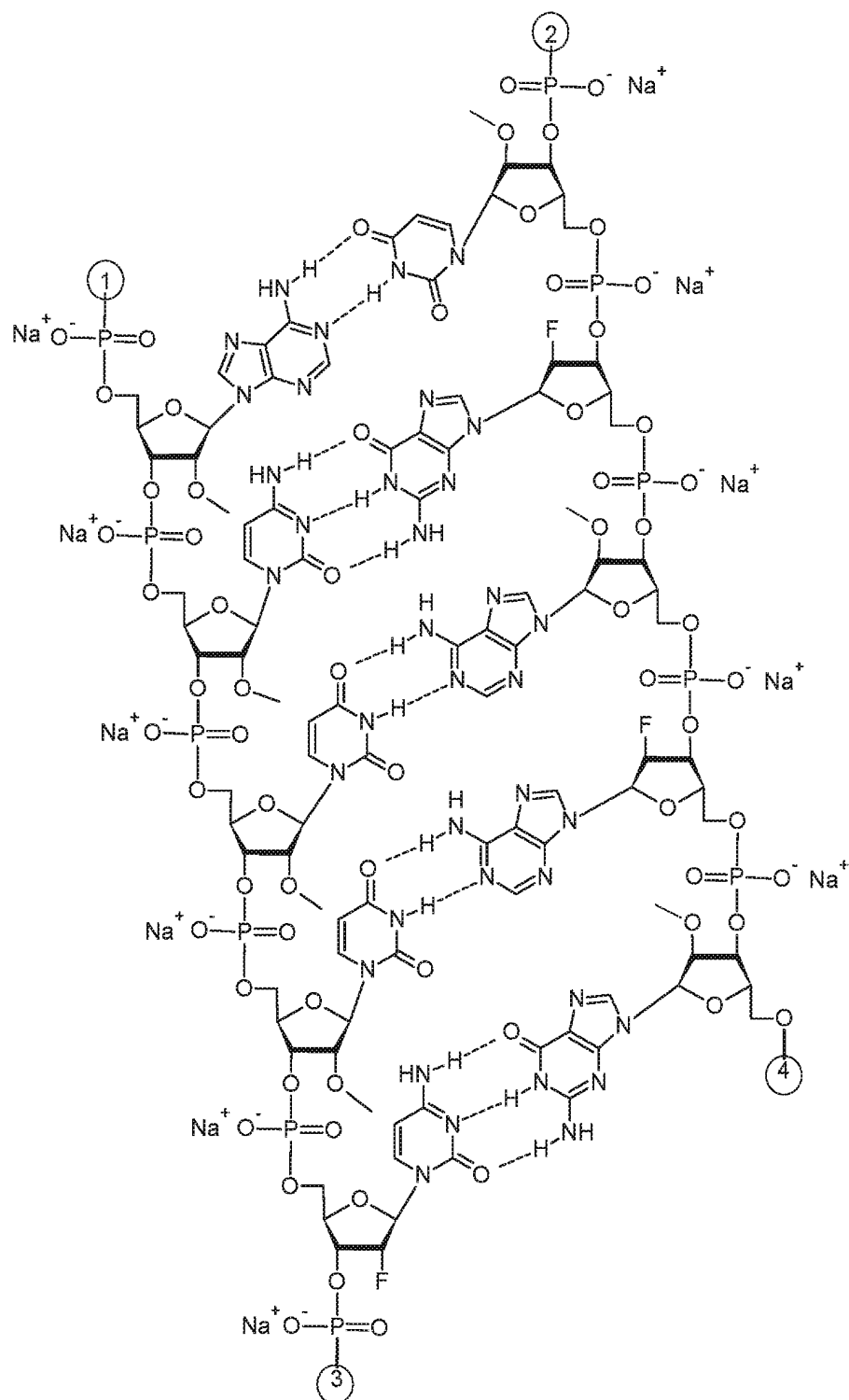
20

30

40

50

【化 2 6】



【 0 1 0 9 】

10

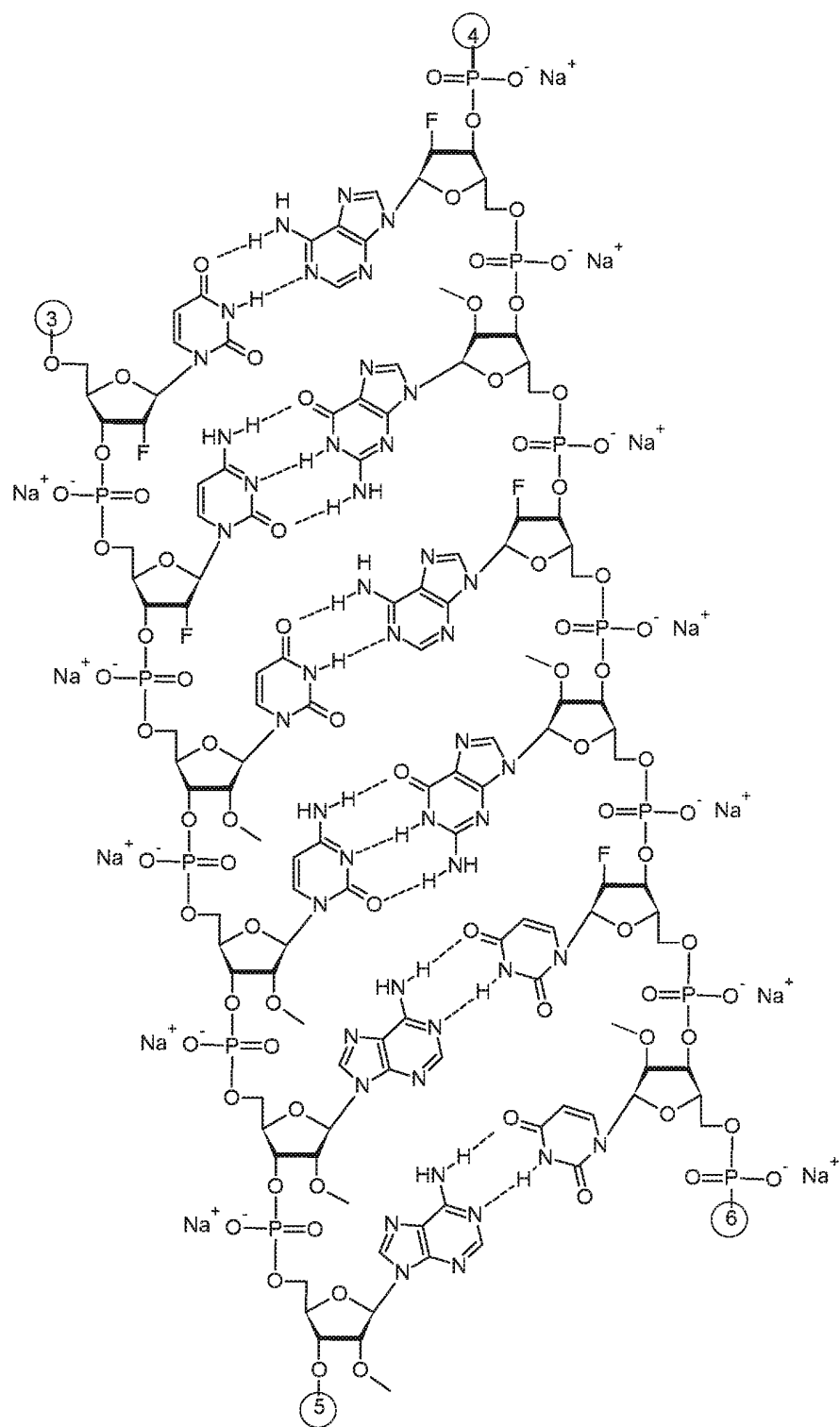
20

30

40

50

【化 2 7】



10

20

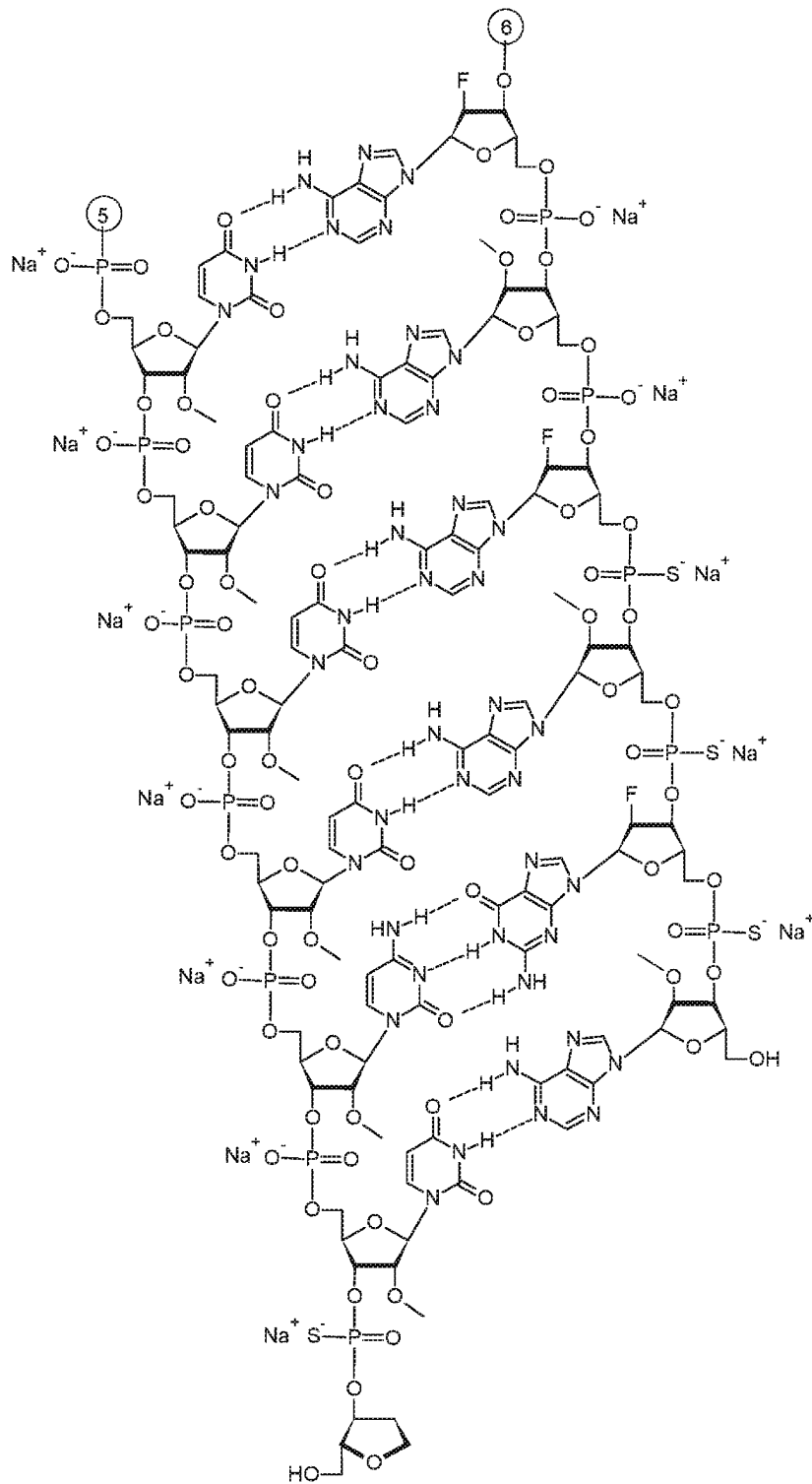
30

40

【 0 1 1 0 】

50

【化 2 8】



【 0 1 1 1】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、以下に示す構造を有する遊離酸として示される(NAG 3 7) s に連結したAD 0 4 8 7 2 からなるか又はこれを含む:

【 0 1 1 2】

10

20

30

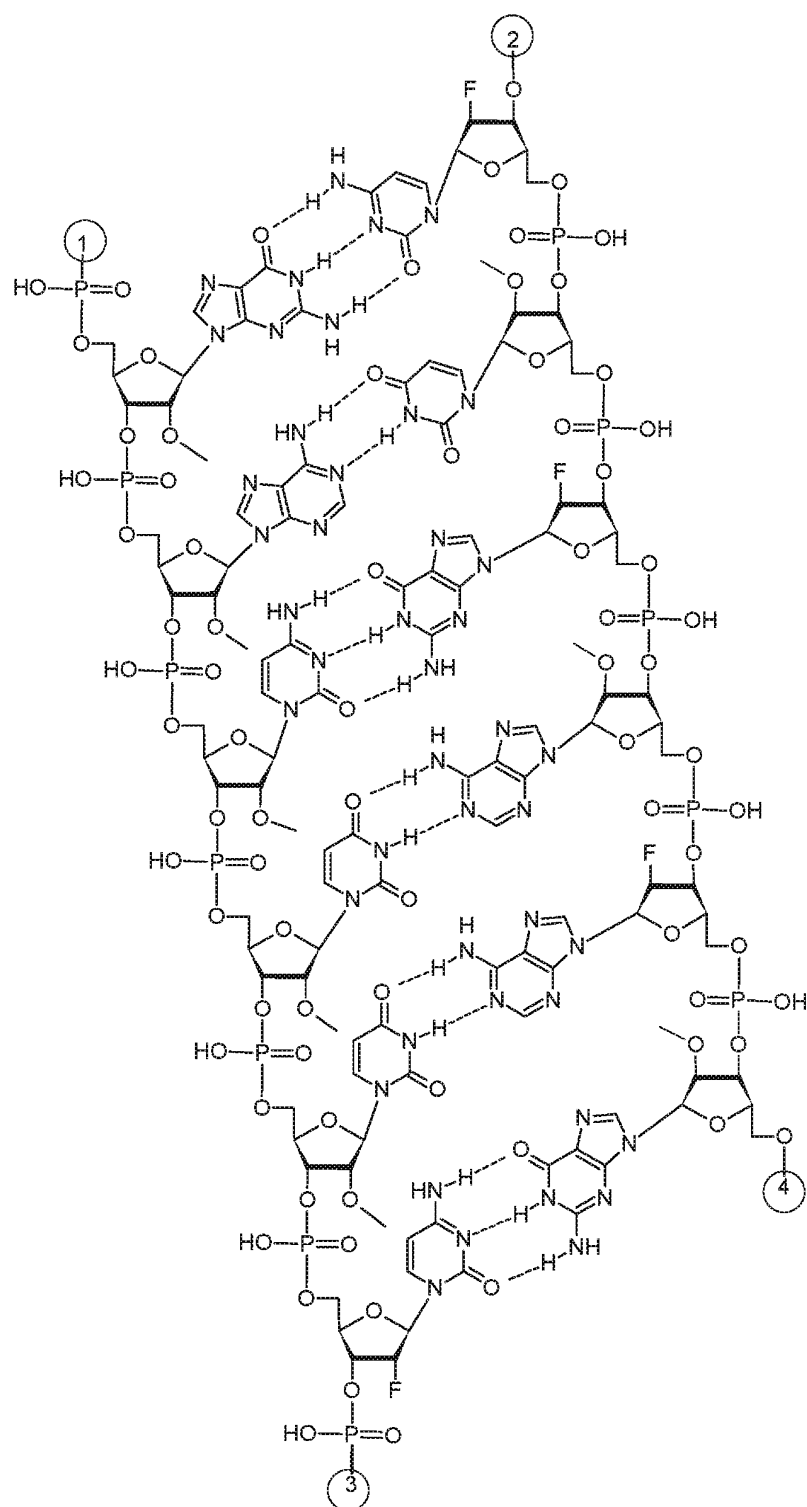
40

50

The chemical structure is a complex nucleoside derivative. It features a central purine core with multiple sugar and phosphate attachments. A cyclohexyl group is attached to the purine via a phosphate linkage. The structure is labeled with (1) and (2) indicating specific components.

【 0 1 1 3 】

【化 3 0】



10

20

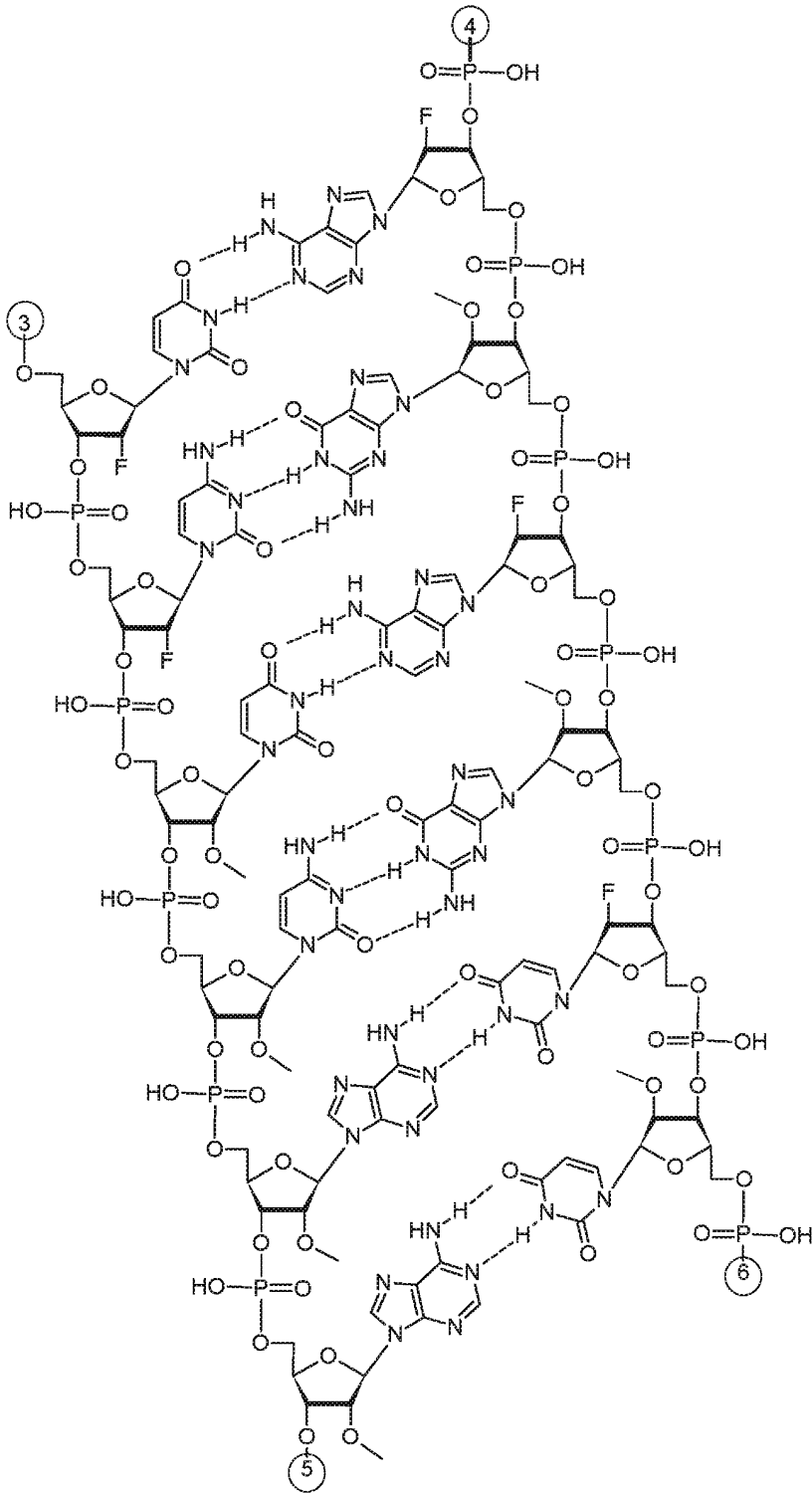
30

40

【 0 1 1 4】

50

【化 3 1】



【 0 1 1 5 】

10

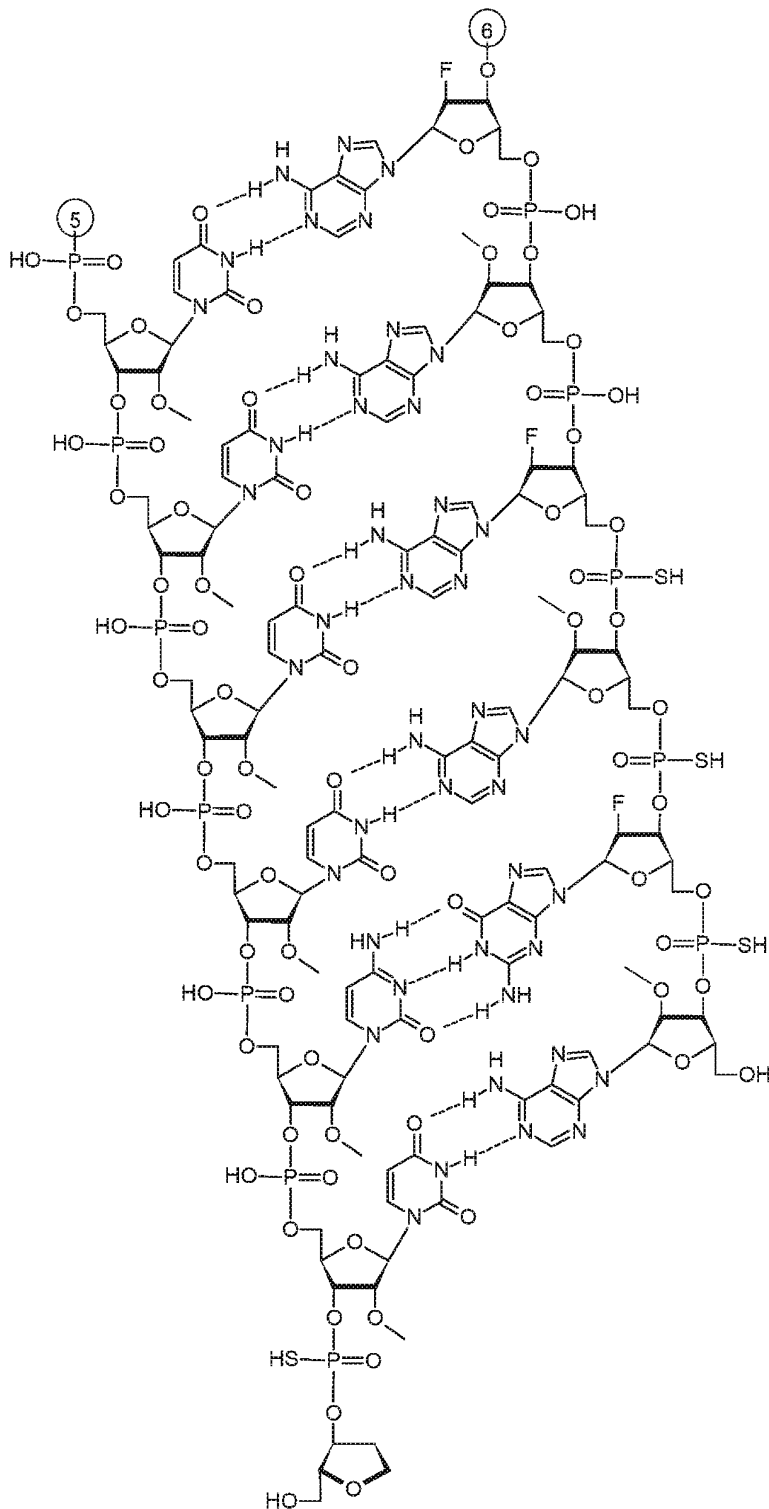
20

30

40

50

【化 3 2】



10

20

30

40

【0116】

いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNA i 薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の（すなわち、第2、第3などの）治療と組み合わせられる。第2の治療は、別のHBV RNA i 薬であり得る（例えば、HBVゲノムの別の配列を標的とするHBV RNA i 薬）。追加の治療は更に、小分子薬、抗体、抗体フラグメント、及び/又はワクチンであり得る。HBV RNA i 薬は、1つ又は複数の追加の治療を伴っても伴わなくても、1つ又は複数の賦形剤と組み合わせて、医薬組成物を形成することができる。

【0117】

50

いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の治療と組み合わせられ、この追加の治療はヌクレオシド阻害剤又はヌクレオチド阻害剤である。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の治療と組み合わせられ、この追加の治療はエンテカビル、テノホビル、テノホビルアラフェナミド、テノホビルジソプロキシル、ラミブジン、又はその他の抗ウイルス治療である。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の治療と組み合わせられ、この追加の治療はインターフェロンである。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の治療と組み合わせられ、この追加の治療はインターフェロンである。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加のHBV治療と組み合わせられ、この追加の治療はHBVワクチンである。

10

【0118】

いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は所望により、1つ又は複数の追加の治療と、単一の用量形態に組み合わせられる（すなわち、単回注射に含まれるカクテル）。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は、1つ又は複数の所望による追加の治療とは別個に投与され得る。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は、皮下注射経路で、これらを必要としている対象に投与され、かつ、1つ又は複数の所望による追加の治療は経口投与され、これらは合わせて、HBV感染に関連する疾患及び状態のための治療レジメンを提供する。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬（複数可）は、皮下注射経路で、これらを必要としている対象に投与され、かつ、1つ又は複数の所望による追加の治療は、別の皮下注射経路で投与される。

20

【0119】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるのは、HBV RNAi薬を*in vivo*で肝細胞に送達するための組成物であって、この組成物は、標的化基にコンジュゲート又は連結されたHBV RNAi薬を含む。いくつかの実施形態において、この標的化基はアシアロ糖タンパク質受容体リガンドである。いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬を*in vivo*で肝細胞に送達するための組成物が記述され、この組成物は、N-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドに連結されたHBV RNAi薬を含む。

30

【0120】

いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬の1つ又は複数が、製薬的に許容される担体又は希釈剤中で哺乳類に投与される。いくつかの実施形態において、この哺乳類はヒトである。

【0121】

B型肝炎ウイルスRNAi薬（複数可）の使用は、HBV感染に関連する疾患／障害の治療的処置及び／又は予防的処置のための方法を提供する。記載されているHBV RNAi薬は、RNA干渉を媒介して、B型肝炎ウイルスの複製及び／又は病原に必要な1つ又は複数の遺伝子の発現を阻害する。特に、例えば、HBV RNAi薬は、細胞、組織、又は哺乳類における、ウイルスポリメラーゼ、コアタンパク質、表面抗原、e抗原、及び／又はXタンパク質を阻害し得る。HBV RNAi薬は、HBV感染の治療に使用することができる。HBV RNAi薬は更に、HBV感染に関連する慢性肝疾患／障害、炎症、線維化状態、及び増殖性疾患（癌など）の治療又は予防に使用することができる。いくつかの実施形態において、この方法は更に、対象におけるD型肝炎ウイルス（HDV）の治療を含む。そのような方法は、HBVに感染しているヒト又は動物に対して、HBV RNAi薬を投与することを含む。更に、HBV RNAi薬を肝細胞に*in vivo*で送達するための組成物が記述される。

40

【0122】

1つ又は複数のHBV RNAi薬を含む医薬組成物は、局所的又は全身的治疗が望ま

50

しいかどうかに応じて、数多くの方法で投与することができる。投与は、静脈内投与、動脈内投与、皮下投与、腹腔内投与、真皮下投与（例えば、インプラントされたデバイスを介して）、及び実質内投与であり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、皮下注射によって投与される。

【0123】

記載されているHBV RNAi薬及び/又は組成物は、HBV感染の治療処置、又は、HBV感染に起因する疾患若しくは状態の治療処置のための方法に使用することができる。このような方法には、本明細書に記載のHBV RNAi薬を、対象（例えばヒト又は動物の対象）に投与することが挙げられる。

【0124】

本明細書で使用されるとき、用語「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は、連結されたヌクレオシドのポリマーを意味し、このそれぞれが独立に修飾又は非修飾であり得る。

【0125】

本明細書で使用されるとき、「RNAi薬」又は「RNAiトリガ」は、配列特異的な方法で標的メッセンジャーRNA（mRNA）のmRNA転写物の翻訳を遅延又は阻害することができる、RNA又はRNA様（例えば、化学修飾RNA）オリゴヌクレオチド分子を含む組成物を意味する。本明細書で使用されるとき、RNAi薬は、RNA干渉メカニズム（すなわち、哺乳類細胞のRNA干渉経路機構（RNA誘導サイレンシング複合体、RISC）との相互作用によりRNA干渉を引き起こす）を介して、あるいは任意の代替的なメカニズム（複数可）又は経路（複数可）によって、作用し得る。RNAi薬という語は、本明細書で使用されるとき、主にRNA干渉メカニズムを介して作用すると考えられるが、本開示のRNAi薬は、いかなる特定の経路又は作用メカニズムにも拘束されるものではなく、またこれらに制限されるものではない。本明細書に開示されるRNAi薬はセンス鎖及びアンチセンス鎖を含み、これには、短干渉RNA（siRNA）、二本鎖RNA（dsRNA）、マイクロRNA（miRNA）、短ヘアピンRNA（shRNA）、及びダイサー基質が挙げられるがこれらに制限されない。本明細書に記載のRNAi薬のアンチセンス鎖は、標的となるmRNAに少なくとも部分的に相補的である。RNAi薬は、修飾ヌクレオチド及び/又は1つ若しくは複数の非ホスホジエステル結合を含み得る。

【0126】

本明細書で使用されるとき、所与の遺伝子の発現に関する用語「サイレンス」、「低減」、「阻害」、「ダウンレギュレーション」又は「ノックダウン」とは、その遺伝子の発現が、遺伝子から転写されたRNAのレベル、あるいは、その遺伝子が転写される細胞、細胞群、組織、臓器、又は対象において、mRNAから翻訳されたポリペプチド、タンパク質又はタンパク質サブユニットのレベルによって測定される際、その細胞、細胞群、組織、臓器、又は対象が、本明細書に記載されるRNAi薬などのオリゴマー化合物で治療されたときに、そのように治療されていない第2の細胞、細胞群、組織、臓器、又は対象に比べて、低減されていることを意味する。

【0127】

本明細書で使用されるとき、用語「配列」又は「ヌクレオチド配列」は、核酸塩基又はヌクレオチドの連続又は順序を意味し、標準命名法を用いて文字の連続で記述される。

【0128】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオチド塩基」又は「核酸塩基」は、複素環式ピリミジン又はプリン化合物であり、これは全ての核酸の標準構成要素であり、ヌクレオチド（アデニン（A）、グアニン（G）、シトシン（C）、チミン（T）、及びウラシル（U））を形成する塩基を含む。核酸塩基は更に修飾されてよく、これには、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、無差別塩基（promiscuous base）、サイズ拡大塩基、及びフッ素化塩基が挙げられるがこれらに限定されない。

【0129】

本明細書で使用されるとき、別途記載のない限り、用語「相補的」とは、第1のヌクレオチド配列（例えば、RNAi薬のセンス鎖又は標的mRNA）について第2のヌクレオチド配列（例えば、RNAi薬のアンチセンス鎖又は単鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド）との関連で記述するのに使用されるとき、第1のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドが、第2のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドと、特定の条件下において、ハイブリダイズ（哺乳類生理学的条件下（又は類似のin vitro条件下）において塩基対水素結合を形成）して、デュプレックス又は二重らせん構造を形成できることを意味する。相補的配列には、ワトソンクリック塩基対又は非ワトソンクリック塩基対が含まれ、また、少なくとも上記のハイブリダイゼーション要件が充足される限りにおいて、天然ヌクレオチド若しくは修飾ヌクレオチド又はヌクレオチド模倣体が含まれる。配列同一性又は相補性は、修飾に依存しない。例えば、a及びA fはU（又はT）に対して相補的であり、同一性又は相補性を判定する目的ではAと同一である。

10

【0130】

本明細書で使用されるとき、「完璧に相補的」又は「完全に相補的」とは、第1のポリヌクレオチドの連続配列中の塩基の全て（100%）が、第2のポリヌクレオチドの連続配列中の同じ数の塩基にハイブリダイズすることを意味する。連続配列は、第1又は第2のヌクレオチド配列の全部又は一部を含み得る。

【0131】

本明細書で使用されるとき、「部分的に相補的」とは、ハイブリダイズした核酸塩基配列の対において、第1のポリヌクレオチドの連続配列中の塩基の、全てではないが少なくとも70%が、第2のポリヌクレオチドの連続配列中の同じ数の塩基にハイブリダイズすることを意味する。

20

【0132】

本明細書で使用されるとき、「実質的に相補的」とは、ハイブリダイズした核酸塩基配列の対において、第1のポリヌクレオチドの連続配列中の塩基の、全てではないが少なくとも約85%が、第2のポリヌクレオチドの連続配列中の同じ数の塩基にハイブリダイズすることを意味する。用語「相補的」、「完全に相補的」、及び「実質的に相補的」は、本明細書において、二本鎖RNAi薬のセンス鎖とアンチセンス鎖との間、RNAi薬のアンチセンス鎖と標的mRNAの配列との間、又は、単鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドと標的mRNAの配列との間でマッチする塩基に関して使用され得る。

30

【0133】

本明細書で使用されるとき、用語「実質的に同一」又は「実質的に同一性」は、核酸配列に適用される際、核酸配列が、参照配列と比較して、少なくとも約85%以上、好ましくは少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含むことを意味する。配列同一性の百分率は、比較ウィンドウにわたって2つの最適に揃えられた配列を比較することによって決定される。この百分率は、同じ核酸塩基が両方の配列に生じる位置の数を求めることにより、一致した位置の数を得て、一致した位置の数をウィンドウ内の位置の総数で割り、その結果に100を掛けて配列同一性の割合（%）を得ることによって計算される。本明細書に開示される発明は、例えば表2、3、及び4において本明細書に開示されるヌクレオチド配列と実質的に同一なヌクレオチド配列を包含する。いくつかの実施形態において、本明細書に開示される配列は、例えば表1、2、3及び4において本明細書に開示される配列と、正確に同一であるか、又は少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%同一である。

40

【0134】

本明細書で使用されるとき、用語「治療する」、「治療」、及び同様の語は、対象における疾患又は状態の1つ又は複数の症状の回数、重篤度、及び/又は頻度の軽減又は緩和を提供するために行われる方法又は工程を意味する。

【0135】

50

本明細書で使用されるとき、オリゴマー化合物に関して「細胞に導入する」という語句は、このオリゴマー化合物を細胞内に機能的に送達することを意味する。「機能的に送達」という語句は、オリゴマー化合物が期待される生物学的活性（遺伝子発現の配列特異的阻害）を有することを可能にする手段で、細胞内にそのオリゴマー化合物を送達することを意味する。

【0136】

別途記載のない限り、記号

【0137】

【化33】



10

の使用は、本明細書で使用されるとき、本明細書に記載される本発明の範囲に従ってそこに連結され得る任意の基（複数可）を意味する。

【0138】

本明細書で使用されるとき、用語「異性体」は、同一の分子式を有するが、それらの原子の結合の性質又は配列が異なるか、又は空間における原子の配置が異なる、化合物を意味する。空間におけるその原子の配置において異なる異性体を、「立体異性体」と呼ぶ。互いの鏡像ではない立体異性体を、「ジアステレオマー」と呼び、重ね合わせられない鏡像である立体異性体を、「エナンチオマー」又は時に光学異性体と呼ぶ。4つの非同置換基に結合した炭素原子は、「キラル中心」と呼ばれる。

20

【0139】

本明細書で使用されるとき、特定のコンフォメーションを有するものとして構造中で特定されている場合を除き、非対称中心が存在し、よってエナンチオマー、ジアステレオマー、又はその他の立体異性配置が生じるような各構造について、本明細書に開示される各構造は、そのような可能な異性体全てを表わすことが意図され、これにはその光学的に純粋な形態及びラセミ体が含まれる。例えば、本明細書に開示される構造は、ジアステレオマーの混合物、並びに単独の立体異性体を包含することが意図される。

【0140】

本出願の請求項に使用されるとき、「からなる」という語句は、請求項に特定されていない要素、工程、又は成分を除外する。本出願の請求項に使用されるとき、「から本質的になる」という語句は、特定される材料又は工程、並びに、請求される特許の基本的かつ新しい特徴（複数可）に実質的に影響しないものに、特許請求の範囲を制限する。

30

【0141】

本明細書に開示される化合物及び組成物は、その化合物又は組成物が置かれている環境に応じて、特定の原子（例えば、N、O、又はS原子）をプロトン化状態又は脱プロトン化状態で有し得ることが、当業者には容易に理解され評価されるであろう。したがって、本明細書で使用されるとき、本明細書に開示される構造は、特定の官能基（例えば、OH、SH、又はNH）がプロトン化又は脱プロトン化し得ることが想定される。本明細書の開示は、当業者には容易に理解され得るように、環境（例えばpH）に基づくプロトン化の状態にかかわらず、開示された化合物及び組成物を包含することが意図される。

40

【0142】

特に定義されない限り、本明細書で用いる技術的及び科学的な用語は全て、当業者によって共通に解釈されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されているものと同様又は同等の方法及び材料を本発明を実施又は試験するために使用することが可能であるが、好適な方法及び材料を以下に記載する。本明細書において言及される出版物、特許出願、特許、及びその他の参考文献は全て、その全体が参照により組み込まれるものとする。矛盾がある場合には、定義を含め、本明細書が適用される。加えて、材料、方法、及び実施例は、単に例示的なものであり、限定することを意図するものではない。

【0143】

50

本発明の他の特徴及び利点は、以下の「発明を実施するための形態」、並びに特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

【発明を実施するための形態】

【0144】

本明細書に記述されるのは、B型肝炎ウイルス(HBV)の発現を阻害するためのRNAi薬である(本明細書においてHBV RNAi薬又はHBV RNAiトリガと呼ばれる)。各HBV RNAi薬は、センス鎖及びアンチセンス鎖を含む。センス鎖とアンチセンス鎖はそれぞれ、16~30ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ、17~26ヌクレオチド長であり得る。センス鎖及びアンチセンス鎖は、同じ長さ又は異なる長さのいずれでもあり得る。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ独立に17~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ独立に17~21ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が、それぞれ21~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は約19ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は約21ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は約21ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は約23ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が、それぞれ26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、RNAi薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ独立に17、18、19、20、21、22、23、24、25、又は26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、二本鎖RNAi薬は、約16、17、18、19、20、21、22、23又は24ヌクレオチドのデュプレックス長を有する。センス鎖とアンチセンス鎖との間の、完全又は実質的に相補性の領域は、典型的に15~25(例えば、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25)ヌクレオチド長であり、これは、アンチセンス鎖の5'末端位置又はその近くに生じる(例えば、この領域は、アンチセンス鎖の5'末端から、完全又は実質的に相補的でない0、1、2、3、又は4個のヌクレオチドによって隔てられていてよい)。

【0145】

センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ、核酸塩基16~23個の長さであるコアストレッチ配列を含む。アンチセンス鎖コアストレッチ配列は、HBV mRNA標的に存在するヌクレオチド配列(時に例えば、標的配列と呼ばれる)に対して、100%(完全に)相補的又は少なくとも約85%(実質的に)相補的である。センス鎖コアストレッチ配列は、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列に対して100%(完全に)相補的又は少なくとも約85%(実質的に)相補的であり、よって、センス鎖コアストレッチ配列は、HBV mRNA標的に存在するヌクレオチド配列(標的配列)に対して、完全に同一又は少なくとも約85%同一である。センス鎖コアストレッチ配列は、対応するアンチセンスコア配列と同じ長さであってよく、又は異なる長さであってもよい。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖コアストレッチ配列は、16、17、18、19、20、21、22、又は23ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖コアストレッチ配列は、16、17、18、19、20、21、22、又は23ヌクレオチド長である。

【0146】

HBV RNAi薬を形成するのに使用されるセンス鎖及びアンチセンス鎖ヌクレオチド配列の実施例が、表3及び4に提供される。表3及び4のヌクレオチド配列を含むRNAi薬デュプレックスの実施例が、表5に提供される。

【0147】

HBV RNAi薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖がアニーリングしてデュプレックスを形成する。HBV RNAi薬のセンス鎖とアンチセンス鎖とは、部分的に、実質的に、又は完全に、互いに対して相補的であり得る。相補的デュプレックス領域において、センス鎖コアストレッチ配列は、アンチセンスコアストレッチ配列に対して、少なくとも約

85%相補的、又は100%相補的である。いくつかの実施形態において、センス鎖コアストレッチ配列は、アンチセンス鎖コアストレッチ配列の対応する16、17、18、19、20、又は21個のヌクレオチド配列に対して、少なくとも約85%又は100%相補的な、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、又は少なくとも21個のヌクレオチドの配列を含む(すなわち、HBV RNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖コアストレッチ配列は、少なくとも85%の塩基が対になった、又は100%の塩基が対になった、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、又は少なくとも21個のヌクレオチド領域を有する)。

【0148】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表2又は表3のいずれかのアンチセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬のセンス鎖は、表2又は表4のいずれかのセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。

【0149】

本明細書に記載されるHBV RNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖の長さは、独立に16~30ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は独立に17~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖は19~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、記載されるRNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖は独立に17、18、19、20、21、22、23、24、25、又は26ヌクレオチド長である。センス鎖及びアンチセンス鎖は、同じ長さ又は異なる長さのいずれでもあり得る。いくつかの実施形態において、センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は23ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は21ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は22ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は21ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は21ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は21ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態において、センス鎖は19ヌクレオチド長、アンチセンス鎖は21ヌクレオチド長である。

【0150】

センス鎖及び/又はアンチセンス鎖は、任意にかつ独立に、コア配列の3'末端、5'末端、又は3'末端と5'末端の両方に、追加の1、2、3、4、5、又は6個のヌクレオチド(延長部)を含み得る。アンチセンス鎖の追加のヌクレオチドがある場合は、HBV mRNAの対応する配列に対して相補的であってもよく、また相補的でなくてもよい。センス鎖の追加のヌクレオチドがある場合は、HBV mRNAの対応する配列に対して同一であってもよく、また同一でなくてもよい。アンチセンス鎖の追加のヌクレオチドがある場合は、対応するセンス鎖の追加のヌクレオチドがある場合、これに対して相補的であってもよく、また相補的でなくてもよい。

【0151】

本明細書で使用されるとき、延長部は、センス鎖コアストレッチ配列及び/又はアンチセンス鎖コアストレッチ配列の5'及び/又は3'末端に、1、2、3、4、5、又は6個のヌクレオチドを含む。センス鎖の延長部ヌクレオチドは、対応するアンチセンス鎖のヌクレオチド(コアストレッチ配列ヌクレオチド、又は延長部ヌクレオチドのいずれか)に対して、相補的であってもよく、また相補的でなくてもよい。逆に、アンチセンス鎖の延長部ヌクレオチドは、対応するセンス鎖のヌクレオチド(コアストレッチ配列ヌクレオチド、又は延長部ヌクレオチドのいずれか)に対して、相補的であってもよく、また相補的でなくてもよい。いくつかの実施形態において、RNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖の両方が、3'及び5'延長部を含む。いくつかの実施形態において、一方の鎖の1つ又は複数の3'延長部ヌクレオチドは、他方の鎖の1つ又は複数の5'延長部ヌクレオチドと、塩基対となる。他の実施形態において、一方の鎖の1つ又は複数の3'延長部ヌクレオチ

10

20

30

40

50

ドは、他方の鎖の1つ又は複数の5'延長部ヌクレオチドと、塩基対とはならない。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、3'延長部を有するアンチセンス鎖と、5'延長部を有するセンス鎖とを有する。

【0152】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1、2、3、4、5、又は6ヌクレオチド長の3'延長部を有するアンチセンス鎖を含む。他の実施形態において、HBV RNA i 薬は、1、2、又は3ヌクレオチド長の3'延長部を有するアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、1つ又は複数のアンチセンス鎖延長部ヌクレオチドは、ウラシル又はチミジンヌクレオチド、又は、対応するHBV mRNA配列に対して相補的なヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、3'アンチセンス鎖延長部は、AUA、UGC UU、CUG、UG、UGCC、CUGCC、CGU、CUU、UGCCU A、CUGCCU、UGCCU、UGAUU、GCCUAU、T、TT、U、UU（それぞれ5' 3'で記載）を含むか又はこれらからなるが、これらに限定されない。

10

【0153】

いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖の3'末端は、追加の塩基脱落ヌクレオシド(Ab)を含み得る。いくつかの実施形態において、Ab又はAbAbが、アンチセンス鎖の3'末端に追加され得る。

【0154】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1、2、3、4、又は5ヌクレオチド長の5'延長部を有するアンチセンス鎖を含む。他の実施形態において、HBV RNA i 薬は、1又は2ヌクレオチド長の5'延長部を有するアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、1つ又は複数のアンチセンス鎖延長部ヌクレオチドは、対応するHBV mRNA配列に対して相補的なウラシル又はチミジンヌクレオチド又はヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、5'アンチセンス鎖延長部は、UA、TU、U、T、UU、TT、CUC（それぞれ5' 3'で記載）を含むか又はこれらからなるが、これらに限定されない。アンチセンス鎖は、記述される5'アンチセンス鎖延長部（存在する場合）と組み合わせて、上述の3'延長部のいずれかの者を有し得る。

20

【0155】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1、2、3、4、又は5ヌクレオチド長の3'延長部を有するセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、1つ又は複数のセンス鎖延長部ヌクレオチドは、アデノシン、ウラシル、又はチミジンヌクレオチド、ATジヌクレオチド、又はHBV mRNA配列のヌクレオチドに対応するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、3'センス鎖延長部は、T、UT、TT、UU、UUT、TTT、又はTTTT（それぞれ5' 3'で記載）を含むか又はこれらからなるが、これらに限定されない。

30

【0156】

いくつかの実施形態において、センス鎖の3'末端は、追加の塩基脱落ヌクレオシドを含み得る。いくつかの実施形態において、UUA b、UA b、又はAbが、センス鎖の3'末端に追加され得る。いくつかの実施形態において、センス鎖の3'末端に追加された1つ又は複数の塩基脱落ヌクレオシドが、逆向きになり得る(invAb)。いくつかの実施形態において、1つ又は複数の逆向き塩基脱落ヌクレオシドが、標的化リガンドと、RNA i 薬のセンス鎖の核酸塩基配列との間に挿入され得る。いくつかの実施形態において、1つ又は複数の逆向き塩基脱落ヌクレオシドを、RNA i 薬のセンス鎖の末端（複数可）位置又はその近くに含めることによって、RNA i 薬の活性強化又は他の望ましい特性が可能になり得る。

40

【0157】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1、2、3、4、5、又は6ヌクレオチド長の5'延長部を有するセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、1つ又は複数のセンス鎖延長部ヌクレオチドは、ウラシル又はアデノシンヌクレオチド、又はHBV mRNA配列のヌクレオチドに対応するヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態

50

において、センス鎖 5' 延長部は、CA、AUAGGC、AUAGG、AUAG、AUA、A、AA、AC、GCA、GGCA、GGC、UAUCA、UAUC、UCA、UAU、U、UU（それぞれ 5' - 3' で記載）であり得るが、これらに限定されない。センス鎖は、3' 延長部及び/又は 5' 延長部を有し得る。

【0158】

いくつかの実施形態において、センス鎖の 5' 末端は、追加の塩基脱落ヌクレオシド (Ab) 又は複数の塩基脱落ヌクレオシド (AbAb) を含み得る。いくつかの実施形態において、センス鎖の 5' 末端に追加された 1 つ又は複数の塩基脱落ヌクレオシドが、逆向きになり得る (invAb)。いくつかの実施形態において、1 つ又は複数の逆向き塩基脱落ヌクレオシドが、標的化リガンドと、RNAi 薬のセンス鎖の核酸塩基配列との間に挿入され得る。いくつかの実施形態において、1 つ又は複数の逆向き塩基脱落ヌクレオシドを、RNAi 薬のセンス鎖の末端（複数可）位置又はその近くに含めることによって、RNAi 薬の活性強化又は他の望ましい特性が可能になり得る。

【0159】

HBV RNAi 薬を形成するのに使用されるヌクレオチド配列の実施例が、表 3 及び 4 に提供される。いくつかの実施形態において、HBV RNAi 薬のアンチセンス鎖は、表 3 の配列のいずれかのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNAi 薬のアンチセンス鎖は、表 3 の配列のいずれかの 1 - 17、2 - 15、2 - 17、1 - 18、2 - 18、1 - 19、2 - 19、1 - 20、2 - 20、1 - 21、2 - 21、1 - 22、2 - 22、1 - 23、2 - 23、1 - 24、2 - 24、1 - 25、2 - 25、1 - 26、又は 2 - 26 のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNAi 薬のセンス鎖は、表 4 の配列のいずれかのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNAi 薬のセンス鎖は、表 4 の配列のいずれかの 1 - 18、1 - 19、1 - 20、1 - 21、1 - 22、1 - 23、1 - 24、1 - 25、1 - 26、2 - 19、2 - 20、2 - 21、2 - 22、2 - 23、2 - 24、2 - 25、2 - 26、3 - 20、3 - 21、3 - 22、3 - 23、3 - 24、3 - 25、3 - 26、4 - 21、4 - 22、4 - 23、4 - 24、4 - 25、4 - 26、5 - 22、5 - 23、5 - 24、5 - 25、5 - 26、6 - 23、6 - 24、6 - 25、6 - 26、7 - 24、7 - 25、7 - 25、8 - 25、8 - 26 のヌクレオチド配列を含む。

【0160】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される RNAi 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖は、同じヌクレオチド数を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される RNAi 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖は、異なるヌクレオチド数を含む。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のセンス鎖の 5' 末端及びアンチセンス鎖の 3' 末端は、平滑末端を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のセンス鎖の 3' 末端及びアンチセンス鎖の 5' 末端は、平滑末端を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬の両端は、平滑末端を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のいずれの末端も平滑末端ではない。本明細書で使用されるとき、平滑末端とは、RNAi 薬の二本鎖の端で、2 本のアニーリングされた鎖の末端ヌクレオチドが相補的である（相補的塩基対を形成している）ことを意味する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のセンス鎖の 5' 末端及びアンチセンス鎖の 3' 末端は、フレイド末端 (frayed end) を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のセンス鎖の 3' 末端及びアンチセンス鎖の 5' 末端は、フレイド末端を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬の両端は、フレイド末端を形成する。いくつかの実施形態において、RNAi 薬のいずれの端も、フレイド末端ではない。本明細書で使用されるとき、フレイド末端とは、RNAi 薬の二本鎖の端で、2 本のアニーリングされた鎖の末端ヌクレオチドが対を形成する（すなわちオーバーハングを形成しない）が、相補的ではない（すなわち、非相補的対を形成する）ことを意味する。本明細書で使用されるとき、オーバーハングとは、二本鎖 RNAi 薬の一方の鎖の末端にある、1 つ又は複数の非対ヌクレオチドのストレッチである。非対ヌクレオチドは、センス鎖上又はアンチセンス鎖上にあってよく、3' 又は 5' オーバーハン

グのいずれかを形成する。いくつかの実施形態において、RNAi薬は、平滑末端及びフレイド末端、平滑末端及び5'オーバーハング末端、平滑末端及び3'オーバーハング末端、フレイド末端及び5'オーバーハング末端、フレイド末端及びa3'オーバーハング末端、2つの5'オーバーハング末端、2つの3'オーバーハング末端、5'オーバーハング末端及び3'オーバーハング末端、2つのフレイド末端、又は2つの平滑末端を含む。

【0161】

ヌクレオチド塩基（核酸塩基）は、複素環式ピリミジン又はプリン化合物であり、これは全ての核酸の構成要素であり、アデニン（A）、グアニン（G）、シトシン（C）、チミン（T）、及びウラシル（U）を含む。本明細書で使用されるとき、用語「ヌクレオチド」は、修飾ヌクレオチド（例えば、ヌクレオチド模倣体、塩基脱落部位（Ab）、又は代理置換部分）を含み得る。修飾ヌクレオチドは、様々なポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド構造体を使用されるとき、化合物の血清安定性を高めると同時に、細胞中でその化合物の活性を維持することができ、更に、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド構造体の投与時に、ヒト体内でのインターフェロン活性を活性化する可能性を最小限に抑えることができる。

【0162】

いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬は、塩、混合塩、又は遊離酸として調製又は提供される。いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬はナトリウム塩として調製される。このような形態は、本明細書で開示される本発明の範囲内である。

【0163】

修飾ヌクレオチド

いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬は、1つ又は複数の修飾ヌクレオチドを含む。本明細書で使用されるとき、「修飾ヌクレオチド」は、リボヌクレオチド（2'-ヒドロキシルヌクレオチド）以外の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50%（例えば、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、又は100%）のヌクレオチドが、修飾ヌクレオチドである。本明細書で使用されるとき、修飾ヌクレオチドには、デオキシリボヌクレオチド、ヌクレオチド模倣体、塩基脱落ヌクレオチド（本明細書においてAbと表わされる）、2'-修飾ヌクレオチド、3'-3'連結（逆向き）ヌクレオチド（本明細書においてinvdN、invN、invn、invAbと表わされる）、非天然塩基含有ヌクレオチド、架橋ヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA）、2',3'-secoヌクレオチド模倣体（アンロックト核酸塩基類似体、本明細書においてNUNA又はNUNAと表わされる）、ロックトヌクレオチド（本明細書においてNLNA又はNLNAと表わされる）、3'-O-メトキシ（2'ヌクレオシド間連結）ヌクレオチド（本明細書において3'-OMeNと表わされる）、2'-F-アラビノヌクレオチド（本明細書においてNfANA又はNfANAと表わされる）、5'-Me、2'-フルオロヌクレオチド（本明細書において5Me-Nfと表わされる）、モルホリノヌクレオチド、ビニルホスホネートデオキシリボヌクレオチド（本明細書においてvpdNと表わされる）、ビニルホスホネート含有ヌクレオチド、及びシクロプロピルホスホネート含有ヌクレオチド（cPrpN）が挙げられるがこれらに限定されない。2'-修飾ヌクレオチド（すなわち、糖五員環の2'位置にヒドロキシル基以外の基があるヌクレオチド）には、2'-O-メチルヌクレオチド（本明細書においてヌクレオチド配列中で小文字の「n」と表わされる）、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオチド（本明細書においてNf、また2'-フルオロヌクレオチドと表わされる）、2'-デオキシヌクレオチド（本明細書においてdNと表わされる）、2'-メトキシエチル（2'-O-2'-メトキシエチル）ヌクレオチド（本明細書においてNM又は2'-MOEと表わされる）、2'-アミノヌクレオチド、及び2'-アルキルヌクレオチドが挙げられるがこれらに限定されない。所与の化合物中の全ての位置を均一に修飾する必要はない。逆に、複数の修飾を、単一のHBV RNAi薬、又は更にはその単一のヌクレオチド中に組み込むことができる。HBV RNAi薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖は、当該技術分野で周知の方法

10

20

30

40

50

により、合成及び／又は修飾することができる。あるヌクレオチドでの修飾は、別のヌクレオチドでの修飾とは無関係である。

【 0 1 6 4 】

修飾核酸塩基には、合成及び天然のヌクレオ塩基が含まれ、これには、5 - 置換ピリミジン、6 - アザピリミジン及びN - 2、N - 6及びO - 6置換プリン、(例えば、2 - アミノプロピルアデニン、5 - プロピニルウラシル、又は5 - プロピニルシトシン)、5 - メチルシトシン(5 - me - 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、アデニン及びグアニンの6 - アルキル(例えば、6 - メチル、6 - エチル、6 - イソプロピル、又は6 - n - ブチル)誘導体、アデニン及びグアニンの2 - アルキル(例えば、2 - メチル、2 - エチル、2 - イソプロピル、又は2 - n - ブチル)及びその他のアルキル誘導体、2 - チオウラシル、2 - チオチミン、2 - チオシトシン、5 - ハロウラシル、シトシン、5 - プロピニルウラシル、5 - プロピニルシトシン、6 - アゾウラシル、6 - アゾシトシン、6 - アゾチミン、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 - スルフヒドリル、8 - チオアルキル、8 - ヒドロキシル及び他の8 - 置換アデニン及びグアニン、5 - ハロ(例えば、5 - プロモ)、5 - トリフルオロメチル、及び他の5 - 置換ウラシル及びシトシン、7 - メチルグアニン及び7 - メチルアデニン、8 - アザグアニン及び8 - アザアデニン、7 - デアザグアニン、7 - デアザアデニン、3 - デアザグアニン、及び3 - デアザアデニンが挙げられる。

【 0 1 6 5 】

いくつかの実施形態において、RNAi薬の全て又は実質的に全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。本明細書で使用されるとき、実質的に全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドであるRNAi薬は、リボヌクレオチドとなるセンス鎖及びアンチセンス鎖の両方において、4個以下の(すなわち、0、1、2、3、又は4個の)ヌクレオチドを有するRNAi薬である。本明細書で使用されるとき、実質的に全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドであるセンス鎖は、リボヌクレオチドとなるセンス鎖において、2つ以下の(すなわち、0、1、又は2個の)修飾ヌクレオチドを有するセンス鎖である。本明細書で使用されるとき、実質的に全てのヌクレオチドが修飾ヌクレオチドであるアンチセンス鎖は、リボヌクレオチドとなるセンス鎖において、2つ以下の(すなわち、0、1、又は2個の)修飾ヌクレオチドを有するアンチセンス鎖である。いくつかの実施形態において、RNAi薬の1つ又は複数のヌクレオチドがリボヌクレオチドである。

【 0 1 6 6 】

修飾ヌクレオシド間連結

いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬の1つ又は複数のヌクレオチドは、非標準的な連結又は骨格鎖により連結している(すなわち、修飾ヌクレオシド間連結又は修飾骨格鎖)。いくつかの実施形態において、修飾ヌクレオシド間連結は、リン酸塩非含有の共有結合ヌクレオシド間連結である。修飾ヌクレオシド間連結又は骨格鎖には、5' - ホスホロチオエート基(本明細書において小文字の「s」と表わされる)、キラルホスホロチオエート、チオホスフェート、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、アルキルホスホネート(例えば、メチルホスホネート又は3' - アルキレンホスホネート)、キラルホスホネート、ホスフィネート、ホスホロアミダート(例えば、3' - アミノホスホロアミダート、アミノアルキルホスホロアミダート、又はチオノホスホロアミダート)、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、モルホリノ連結、通常の3' - 5'連結を有するボラノホスフェート、ボラノホスフェートの2' - 5'連結類似体、又は逆向きの極性を有するボラノホスフェート(隣接するヌクレオシド対単位が、3' - 5'対5' - 3'、又は2' - 5'対5' - 2')が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、修飾ヌクレオシド間連結又は骨格鎖は、リン原子を有さない。リン原子を有さない修飾ヌクレオシド間連結には、短鎖アルキル又はシクロアルキル糖間連結、混合ヘテロ原子及びアルキル又はシクロアルキル糖間連結、あるいは、1つ又は複数の短鎖ヘテロ原子又は複素環式糖間連結が挙げら

れるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、修飾ヌクレオシド間骨格鎖には、シロキサン骨格鎖、スルフィド骨格鎖、スルホキシド骨格鎖、スルホン骨格鎖、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格鎖、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格鎖、アルケン含有骨格鎖、スルファメート骨格鎖、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格鎖、スルホネート及びスルホンアミド骨格鎖、アミド骨格鎖、及びN、O、S、及びC H₂成分を有するその他の骨格鎖が挙げられるがこれらに限定されない。

【0167】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のセンス鎖は、1、2、3、4、5、又は6個のホスホロチオエート連結を含み得、HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は1、2、3、4、5、又は6個のホスホロチオエート連結を含み得、又は、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が独立に1、2、3、4、5、又は6個のホスホロチオエート連結を含み得る。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のセンス鎖は、1、2、3、又は4個のホスホロチオエート連結を含み得、HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は1、2、3、又は4個のホスホロチオエート連結を含み得、又は、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が独立に1、2、3、又は4個のホスホロチオエート連結を含み得る。

10

【0168】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のセンス鎖は、少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の3'末端から位置1~3のヌクレオチド間にある。いくつかの実施形態において少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の5'末端から位置1~3、2~4、3~5、4~6、4~5、又は6~8のヌクレオチド間にある。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。いくつかの実施形態において、この4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の5'末端から位置1~3のヌクレオチド間、及び、5'末端から位置19~21、20~22、21~23、22~24、23~25、又は24~26のヌクレオチド間にある。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、センス鎖に少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結と、アンチセンス鎖に3つ又は4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結とを含む。

20

【0169】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1つ又は複数の修飾ヌクレオチド、及び1つ又は複数の修飾ヌクレオシド間連結を含む。いくつかの実施形態において、2'-修飾ヌクレオシドは、修飾ヌクレオシド間連結と組み合わせられる。

30

【0170】

HBV RNA i 薬

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬は、下記の表1に示すHBVゲノムの位置にある又はその近くにあるHBV遺伝子を標的とする。いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表1に開示される標的HBV 19-mer配列に対して完全に、実質的に、又は少なくとも部分的に相補的なコアストレッチ配列を含む。

40

【0171】

【表 1】

表 1. HBV RNA i 薬のための例示的な 19-mer HBV cDNA 標的配列 (B型肝炎ウイルス (サブタイプ ADW2) から採取、遺伝子型 A、完全ゲノム GenBank AM282986.1 (配列番号 1))。

配列番号	HBV 19-mer 標的配列 (5'→3')	ゲノム 配列番号 1 の 位置	標的の HBV 遺伝子の 領域
2	GTGGTGGACTTCTCTCAAT	256-274	S ORF
3	TGGTGGACTTCTCTCAATT	257-275	S ORF
4	GGAATTCTCTCAATTTTCT	261-279	S ORF
5	GCTGTAGGCATAAATTGGT	1780-1798	X ORF
6	CTGTAGGCATAAATTGGTC	1781-1799	X ORF

10

【0172】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、アンチセンス鎖 (5' 3') の位置 19 が、表 1 に開示される 19-mer 標的配列の位置 1 と塩基対を形成することができるアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、アンチセンス鎖 (5' 3') の位置 1 が、表 1 に開示される 19-mer 標的配列の位置 19 と塩基対を形成することができるアンチセンス鎖を含む。

20

【0173】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、アンチセンス鎖 (5' 3') の位置 2 が、表 1 に開示される 19-mer 標的配列の位置 18 と塩基対を形成することができるアンチセンス鎖を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、アンチセンス鎖 (5' 3') の位置 2 ~ 18 が、表 1 に開示される 19-mer 標的配列の位置 18 ~ 2 に位置する各相補的塩基それぞれと塩基対を形成することができるアンチセンス鎖を含む。

【0174】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、以下の表 2 に示すコア 19-mer スクレオチド配列を含む。

30

【0175】

40

50

【表 2】

表 2. HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖及びセンス鎖コアストレッチ配列
(N=任意のヌクレオチド)。

配列番号	アンチセンス配列 (5'→3') (19-mer)	配列番号	センス配列 (5'→3') (19-mer)	ゲノム 配列番号1の 位置
7	AUUGAGAGAAGUCCACCAC	34	GUGGUGGACUUCUCUCAAU	256-274
8	UUUGAGAGAAGUCCACCAC	35	GUGGUGGACUUCUCUCAA	256-274
9	AUUGAGAGAAGUCCACCAN	36	NUGGUGGACUUCUCUCAAU	256-274
10	UUUGAGAGAAGUCCACCAN	37	NUGGUGGACUUCUCUCAA	256-274
11	NUUGAGAGAAGUCCACCAN	38	NUGGUGGACUUCUCUCAAN	256-274
12	AAUUGAGAGAAGUCCACCA	39	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	257-275
13	UAUUGAGAGAAGUCCACCA	40	UGGUGGACUUCUCUCAUA	257-275
14	AAUUGAGAGAAGUCCACCN	41	NGGUGGACUUCUCUCAAUU	257-275
15	UAUUGAGAGAAGUCCACCN	42	NGGUGGACUUCUCUCAUA	257-275
16	NAUUGAGAGAAGUCCACCN	43	NGGUGGACUUCUCUCAUN	257-275
17	AGAAAAUUGAGAGAAGUCC	44	GGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
18	UGAAAAUUGAGAGAAGUCC	45	GGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279
19	AGAAAAUUGAGAGAAGUCN	46	NGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
20	UGAAAAUUGAGAGAAGUCN	47	NGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279
21	NGAAAAUUGAGAGAAGUCN	48	NGACUUCUCUCAAUUUUCN	261-279
22	ACCAAUUUUAUGCCUACAGC	49	GCUGUAGGCAUAAAUUGGU	1780-1798
23	UCCAAUUUAUGCCUACAGC	50	GCUGUAGGCAUAAAUUGGA	1780-1798
24	ACCAAUUUUAUGCCUACAGN	51	NCUGUAGGCAUAAAUUGGU	1780-1798
25	UCCAAUUUAUGCCUACAGN	52	NCUGUAGGCAUAAAUUGGA	1780-1798
26	NCCAAUUUAUGCCUACAGN	53	NCUGUAGGCAUAAAUUGGN	1780-1798
27	GACCAAUUUUAUGCCUACAG	54	CUGUAGGCAUAAAUUGGUC	1781-1799
28	AACCAAUUUUAUGCCUACAG	55	CUGUAGGCAUAAAUUGGUU	1781-1799
29	UACCAAUUUUAUGCCUACAG	56	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	1781-1799
30	GACCAAUUUUAUGCCUACAN	57	NUGUAGGCAUAAAUUGGUC	1781-1799
31	AACCAAUUUUAUGCCUACAN	58	NUGUAGGCAUAAAUUGGUU	1781-1799
32	UACCAAUUUUAUGCCUACAN	59	NUGUAGGCAUAAAUUGGUA	1781-1799
33	NACCAAUUUUAUGCCUACAN	60	NUGUAGGCAUAAAUUGGUN	1781-1799

【0176】

表 2 のヌクレオチド配列を含むか又はこれらからなる HBV RNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖は、修飾ヌクレオチド又は非修飾ヌクレオチドであり得る。いくつかの実施形態において、表 2 のヌクレオチド配列を含むか又はこれらからなるセンス鎖配列及びアンチセンス鎖配列を有する HBV RNA i 薬は、全て又は実質的に全て修飾ヌクレオチドである。

【0177】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表 2 のいずれかのアンチセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。いくつかの実施形態において、本明細書に開示される HBV RNA i 薬のセンス鎖は、表 2 のいずれかのセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。

【0178】

修飾 HBV RNA i 薬アンチセンス鎖配列、並びにその基盤となる非修飾配列が、表 3 に提供される。修飾 HBV RNA i 薬のセンス鎖、並びにその基盤となる非修飾配列が、表 4 に提供される。HBV RNA i 薬の形成において、表 3 及び 4 に列記されてい

る非修飾配列のそれぞれにおける各ヌクレオチドが、修飾ヌクレオチドであり得る。

【 0 1 7 9 】

本明細書で使用されるとき（表 3 及び 4 を含む）、修飾ヌクレオチド、標的化基、及び連結基を示すのに、下記の命名法が使用される。当業者には容易に理解され得るように、配列により別途記載のない限り、オリゴヌクレオチド中に存在するとき、モノマーは 5' - 3' - ホスホジエステル結合により相互に連結される。

A = アデノシン - 3' - ホスフェート

C = シチジン - 3' - ホスフェート

G = グアノシン - 3' - ホスフェート

U = ウリジン - 3' - ホスフェート

10

n = 任意の 2' - OMe 修飾ヌクレオチド

a = 2' - O - メチルアデノシン - 3' - ホスフェート

as = 2' - O - メチルアデノシン - 3' - ホスホロチオエート

c = 2' - O - メチルシチジン - 3' - ホスフェート

cs = 2' - O - メチルシチジン - 3' - ホスホロチオエート

g = 2' - O - メチルグアノシン - 3' - ホスフェート

gs = 2' - O - メチルグアノシン - 3' - ホスホロチオエート

t = 2' - O - メチル - 5 - メチルウリジン - 3' - ホスフェート

ts = 2' - O - メチル - 5 - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート

u = 2' - O - メチルウリジン - 3' - ホスフェート

20

us = 2' - O - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート

Nf = 任意の 2' - フルオロ修飾ヌクレオチド

Af = 2' - フルオロアデノシン - 3' - ホスフェート

Afs = 2' - フルオロアデノシン - 3' - ホスホロチオエート

Cf = 2' - フルオロシチジン - 3' - ホスフェート

Cfs = 2' - フルオロシチジン - 3' - ホスホロチオエート

Gf = 2' - フルオログアノシン - 3' - ホスフェート

Gfs = 2' - フルオログアノシン - 3' - ホスホロチオエート

Tf = 2' - フルオロ - 5' - メチルウリジン - 3' - ホスフェート

Tfs = 2' - フルオロ - 5' - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート

30

Uf = 2' - フルオロウリジン - 3' - ホスフェート

Ufs = 2' - フルオロウリジン - 3' - ホスホロチオエート

dN = 任意の 2' - デオキシリボヌクレオチド

dT = 2' - デオキシチミジン - 3' - ホスフェート

NUNA = 2' , 3' - secoヌクレオチド模倣体（アンロックト核酸塩基類似体）

NLNA = ロックトヌクレオチド

NfANA = 2' - F - アラビノヌクレオチド

NM = 2' - メトキシエチルヌクレオチド

AM = 2' - メトキシエチルアデノシン - 3' - ホスフェート

AMS = 2' - メトキシエチルアデノシン - 3' - ホスホロチオエート

40

TM = 2' - メトキシエチルチミジン - 3' - ホスフェート

TMS = 2' - メトキシエチルチミジン - 3' - ホスホロチオエート

R = リピトール

(invdN) = 任意の逆向きデオキシリボヌクレオチド（3' - 3' 連結ヌクレオチド）

(invAb) = 逆向き（3' - 3' 連結）塩基脱落デオキシリボヌクレオチド、表 6 参照

(invAbs) = 逆向き（3' - 3' 連結）塩基脱落デオキシリボヌクレオチド - 5' -

ホスホロチオエート、表 6 参照

(invn) = 任意の逆向き 2' - OMeヌクレオチド（3' - 3' 連結ヌクレオチド）

s = ホスホロチオエート連結

vpdN = ビニルホスホネートデオキシリボヌクレオチド

50

(5 M e - N f) = 5 ' - M e 、 2 ' - フルオロヌクレオチド

c P r p = シクロプロピルホスホネート、表 6 参照

e p T c P r = 表 6 参照

e p T M = 表 6 参照

【 0 1 8 0 】

当業者には、所与のオリゴヌクレオチド配列の 3 ' 末端にある末端ヌクレオチドは典型的に、e x v i v o でホスフェート部分の代わりに、所与のモノマーのそれぞれの 3 ' 位置に、ヒドロキシル (- O H) 基を有することが容易に理解されよう。よって例えば、上記 A D 0 5 0 7 0 の構造表示に示されているように、A M 0 6 6 0 6 - A S のアンチセンス鎖の 3 ' 末端にある「 g 」修飾ヌクレオチドは、3 ' 位置にあるヒドロキシル基を有する。本明細書に開示される H B V R N A i 薬、及び H B V R N A i 薬の組成物の記述には、本明細書で別途記載のない限り、当業者によるそのような理解が使用される。

【 0 1 8 1 】

標的化基及び連結基には、(P A Z)、(N A G 1 3)、(N A G 1 3) s、(N A G 1 8)、(N A G 1 8) s、(N A G 2 4)、(N A G 2 4) s、(N A G 2 5)、(N A G 2 5) s、(N A G 2 6)、(N A G 2 6) s、(N A G 2 7)、(N A G 2 7) s、(N A G 2 8)、(N A G 2 8) s、(N A G 2 9)、(N A G 2 9) s、(N A G 3 0)、(N A G 3 0) s、(N A G 3 1)、(N A G 3 1) s、(N A G 3 2)、(N A G 3 2) s、(N A G 3 3)、(N A G 3 3) s、(N A G 3 4)、(N A G 3 4) s、(N A G 3 5)、(N A G 3 5) s、(N A G 3 6)、(N A G 3 6) s、(N A G 3 7)、(N A G 3 7) s、(N A G 3 8)、(N A G 3 8) s、(N A G 3 9)、(N A G 3 9) s が挙げられ、これらの化学構造は表 6 に提供される。各センス鎖及び / 又はアンチセンス鎖は、上記の任意の標的化基又は連結基、並びに他の標的化基又は連結基を有し得、これらは配列の 5 ' 及び / 又は 3 ' 末端にコンジュゲートされる。

【 0 1 8 2 】

【表 3 - 1】

表 3. H B V R N A i 薬のアンチセンス鎖配列。

AS 鎖 ID	修飾配列 (5' → 3')	配列番号	非修飾配列 (5' → 3')	配列番号
AM03508-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfoccsusuAu	61	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUUUAU	149
AM04441-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfoccsu	62	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCCU	150
AM04442-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfoccsu	63	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCCU	150
AM04443-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc	64	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM04661-AS	usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu	65	UGUGAAGGGAAGUGCACACUU	152
AM04768-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfocscscgc	66	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM04769-AS	vpusAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfocscscgc	67	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM05011-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggusu	68	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05012-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsc	69	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05013-AS	vpusAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc	70	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05014-AS	vpusAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggusu	71	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05052-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfsa	72	AUUGAGAGAAGUCCACCACGA	155
AM05053-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfsa	73	AUUGAGAGAAGUCCACCACGA	155
AM05054-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	74	AUUGAGAGAAGUCCACCACUU	156
AM05055-AS	vpusUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfsa	75	UUUGAGAGAAGUCCACCACGA	157
AM05056-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfsg	76	AAUUGAGAGAAGUCCACCACG	158
AM05057-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfscg	77	AAUUGAGAGAAGUCCACCACG	158
AM05058-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfausu	78	AAUUGAGAGAAGUCCACCAUU	159
AM05060-AS	vpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfsg	79	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05351-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsu	80	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGU	161
AM05608-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsusu	81	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05609-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	82	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05610-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusu	83	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05611-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc	84	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05612-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc	85	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05613-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc	86	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05614-AS	usAfsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc	87	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05618-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	88	AUUGAGAGAAGUCCACCACUU	156
AM05621-AS	usUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	89	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM05623-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcggsusu	90	AUUGAGAGAAGUCCACCACGGUU	166

【 0 1 8 3 】

【表 3 - 2】

(表 3 の続き)

AS 鎖ID	修飾配列 (5' → 3')	配列番号	非修飾配列 (5' → 3')	配列番号
AM05626-AS	asUfsusgagaGfaAfgUfcCfaccacggusu	91	AUUGAGAGAAGUCCACCACGGUU	166
AM05628-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcgagsu	92	AUUGAGAGAAGUCCACCACGAGU	167
AM05631-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	93	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05632-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfaccacs	94	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05633-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsgusu	95	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	168
AM05634-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfaccacgasg	96	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM05635-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsgasg	97	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM05637-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsgsa	98	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05638-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfaccacs	99	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05747-AS	asGfsasAfaAfuugagAfgAfaGfuCfcAfc	100	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	171
AM05849-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgusu	101	UACCAAUUUUUGCCUACAGUU	154
AM05850-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgcsc	102	UACCAAUUUUUGCCUACAGCC	162
AM05851-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgcusu	103	UACCAAUUUUUGCCUACAGCUU	172
AM05852-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgccsu	104	UACCAAUUUUUGCCUACAGCCU	173
AM05853-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgccusu	105	UACCAAUUUUUGCCUACAGCCUU	163
AM05854-AS	usAfsusCfaAfuuuuauGfcCfuAfcAfgccusc	106	UACCAAUUUUUGCCUACAGCCUC	164
AM05855-AS	cPrpusAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu	107	UACCAAUUUUUGCCUACAGUU	154
AM05860-AS	cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	108	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05862-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu	109	UAUUGAGAGAAGUCCACCAU	174
AM05863-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacs	110	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05864-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu	111	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM05865-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacs	112	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05867-AS	vpusAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfaCfsg	113	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05873-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcusu	114	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM05874-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgsa	115	UUUGAGAGAAGUCCACCACGA	167
AM05875-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgusu	116	UUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	176
AM05876-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgasg	117	UUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	177
AM05877-AS	cPrpusUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	118	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM06074-AS	cPrpusAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu	119	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06142-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsu	120	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175

【 0 1 8 4 】

【表 3 - 3】

(表 3 の続き)

AS 鎖ID	修飾配列 (5' → 3')	配列番号	非修飾配列 (5' → 3')	配列番号
AM06143-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu	121	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	168
AM06144-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfaccuus (invAb)	122	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06145-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacs	123	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM06222-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfacsu	124	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06281-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu	125	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU	178
AM06282-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc	126	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	171
AM06283-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu	127	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACUU	179
AM06284-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc	128	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACC	180
AM06285-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu	129	UGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU	152
AM06286-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc	130	UGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	181
AM06299-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu	131	ACCAAUUUUUGCCUACAGCUU	182
AM06300-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu	132	ACCAAUUUUUGCCUACAGCCUU	183
AM06301-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc	133	ACCAAUUUUUGCCUACAGCCUC	184
AM06302-AS	usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu	134	UCCAAUUUUUGCCUACAGCUU	185
AM06303-AS	usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu	135	UCCAAUUUUUGCCUACAGCCUU	186
AM06463-AS	cPrpusAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	136	UACCAAUUUUUGCCUACAGCC	162
AM06464-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	137	UACCAAUUUUUGCCUACAGCC	162
AM06465-AS	cPrpusAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	138	UACCAAUUUUUGCCUACAGCC	162
AM06604-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu	139	UACCAAUUUUUGCCUACAGCU	187
AM06606-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg	140	UACCAAUUUUUGCCUACAGCG	188
AM06608-AS	asAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	141	AACCAAUUUUUGCCUACAGCC	189
AM06611-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu	142	UACCAAUUUUUGCCUACAGUU	154
AM06612-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfc	143	UACCAAUUUUUGCCUACAGCC	162
AM06614-AS	asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfu	144	ACCAAUUUUUGCCUACAGCCU	190
AM06616-AS	usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfu	145	UCCAAUUUUUGCCUACAGCCU	191
AM06618-AS	asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg	146	ACCAAUUUUUGCCUACAGCCG	192
AM06620-AS	usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg	147	UCCAAUUUUUGCCUACAGCCG	193
AM06751-AS	usAfsusCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg	148	UACCAAUUUUUGCCUACAGGG	194

【 0 1 8 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4. HBV RNA i 薬のセンス鎖配列。

鎖ID	修飾配列 (5' → 3')	配列番号	非修飾配列 (5' → 3')	配列番号
AM04444-SS	(NAG25)uusgscugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invdT)	195	UUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUT	275
AM04445-SS	(NAG25)uauausgscugugagGfCfAfuaaaauuggu (invdA)	196	UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	276
AM04767-SS	(NAG25)gsggagsgcugugagGfCfAfuaaaauuggTM (invdA)	197	GCGGAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGTA	277
AM05010-SS	(NAG25)scsugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	198	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM05015-SS	(NAG25)sgsccugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	199	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05016-SS	(NAG25)sgsccugugagGfCfAfuaaaauuggus (invdA)	200	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05017-SS	(NAG25)sgsccugugagGfCfAfuaaaauugguAMs (invAb)	201	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05018-SS	(NAG25)sgsccugugagGfCfAfuaaaauuggTMAMs (invAb)	202	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGTA	280
AM05019-SS	(NAG25)sasacugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	203	AACUGUAGGCAUAAAUUGGUA	281
AM05034-SS	(NAG25)suscgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	204	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	282
AM05046-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	205	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05047-SS	(NAG25)suscgugugGfAfcfuucucucuaAMTMs (invAb)	206	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAT	284
AM05048-SS	(NAG25)scsugugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	207	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	285
AM05049-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	208	AAUGGUGGACUUCUCUCAAUU	286
AM05050-SS	(NAG25)scsugugugGfAfcfuucucucuaTMTMs (invAb)	209	CGUGGUGGACUUCUCUCAATT	287
AM05051-SS	(NAG25)sgsgacucucGfCfAfuuuuuucuaas (invAb)	210	GGACUUCUCUCAUUAUUUGUA	288
AM05063-SS	(NAG25)scsugugugGfAfcfuucucucuaas (invAb)	211	CGUGGUGGACUUCUCUCAUA	289
AM05064-SS	(NAG25)suscgugugGfAfcfuucucucuaas (invAb)	212	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAA	290
AM05346-SS	(NAG31)sasccugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	213	ACCGUAGGCAUAAAUUGGUA	291
AM05347-SS	(NAG31)s (invAb)scugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	214	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05606-SS	(NAG25)s (invAb)scugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	215	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05607-SS	(NAG37)s (invAb)scugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	216	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05615-SS	(NAG25)s (invAb)sacugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	217	ACUGUAGGCAUAAAUUGGUA	293
AM05616-SS	(NAG25)sgsgcugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	218	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	294
AM05617-SS	(NAG37)sasagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	219	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05620-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucucuaas (invAb)	220	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAA	295
AM05622-SS	(NAG25)scsccgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	221	CCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	296
AM05624-SS	(NAG25)s (invAb)sccgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	222	CCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	296

【 0 1 8 6 】

【表 4 - 2】

(表 4 の続き)

鎖ID	修飾配列 (5' → 3')	配列番号	非修飾配列 (5' → 3')	配列番号
AM05627-SS	(NAG25)scsccgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	223	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	297
AM05629-SS	(NAG25)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	224	GUGGUGGACUUCUCUCAAU	298
AM05630-SS	(NAG25)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	225	GUGGUGGACUUCUCUCAAUU	299
AM05636-SS	(NAG25)suscgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	226	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	300
AM05639-SS	(NAG25)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	227	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	301
AM05640-SS	(NAG37)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	228	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	301
AM05746-SS	(NAG25)sgsuggacucGfCfAfuuuuuucus (invAb)	229	GUGGACUUCUCUCAUUAUUUCU	302
AM05856-SS	(NAG25)s (invAb)scugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	230	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM05857-SS	(NAG25)s (invAb)sgcugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	231	GUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	303
AM05858-SS	(NAG25)s (invAb)sggcugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	232	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	304
AM05859-SS	(NAG25)s (invAb)saacugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	233	AACUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	305
AM05868-SS	(NAG25)s (invAb)ugugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	234	UGGUGGACUUCUCUCAAUUU	306
AM05869-SS	(NAG25)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	235	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	307
AM05870-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	236	AAUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	308
AM05871-SS	(NAG25)scsugugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	237	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	309
AM05872-SS	(NAG31)scsugugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	238	CGUGGUGGACUUCUCUCAUA	289
AM05879-SS	(NAG25)s (invAb)saagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	239	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05880-SS	(NAG25)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	240	GUGGUGGACUUCUCUCAAUU	310
AM05881-SS	(NAG25)s (invAb)scgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	241	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	311
AM05882-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	242	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	312
AM05883-SS	(NAG25)suscgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	243	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	313
AM06146-SS	(NAG37)s (invAb)sgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	244	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	307
AM06147-SS	(NAG37)s (invAb)scgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	245	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	309
AM06148-SS	(NAG37)s (invAb)scucgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	246	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAUA	314
AM06149-SS	(NAG37)s (invAb)scucgugugGfAfcfuucucucuaus (invAb)	247	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	315
AM06150-SS	(NAG37)s (invAb)sggcugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	248	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	294
AM06151-SS	(NAG37)s (invAb)sgagcugugagGfCfAfuaaaauugguas (invAb)	249	GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	316
AM06152-SS	(NAG37)s (invAb)sgagcugugagGfCfAfuaaaauugguauus (invAb)	250	GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	317

【 0 1 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

(表 4 の続き)

鎖ID	修飾配列 (5'→3')	配列番号	非修飾配列 (5'→3')	配列番号
AM06287-SS	(NAG37)s(invAb)sggacuuCfUfCfcauuuuucus(invAb)	251	GGACUUCUCUCAUUUUUCU	318
AM06288-SS	(NAG37)s(invAb)sguggacuuCfUfCfcauuuuucus(invAb)	252	GUGGACUUCUCUCAUUUUUCU	302
AM06289-SS	(NAG37)s(invAb)sggugacuuCfUfCfcauuuuucus(invAb)	253	GGUGGACUUCUCAUUUUUCU	319
AM06290-SS	(NAG37)s(invAb)sggacuuCfUfCfcauuuuucus(invAb)	254	GGACUUCUCUCAUUUUUCA	320
AM06291-SS	(NAG37)s(invAb)sggugacuuCfUfCfcauuuuucas(invAb)	255	GUGGACUUCUCUCAUUUUUCA	321
AM06304-SS	(NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfaaaaauggus(invAb)	256	GCUGUAGGCAUAAAUUGGU	322
AM06305-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfaaaaauggus(invAb)	257	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGU	323
AM06306-SS	(NAG37)s(invAb)sgaggcuguaGfGfCfaaaaauggus(invAb)	258	GAGGCGUAGGCAUAAAUUGGU	324
AM06307-SS	(NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfaaaaauggas(invAb)	259	GCUGUAGGCAUAAAUUGGA	325
AM06308-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfaaaaauggas(invAb)	260	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGA	326
AM06603-SS	(NAG37)s(invAb)sagcuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	261	AGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	327
AM06605-SS	(NAG37)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	262	CCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328
AM06607-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	263	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUU	329
AM06609-SS	(NAG37)s(invAb)scuguaGfCfAfuaaaaugguasus(invAb)	264	CUGUAGGCAUAAAUUGGAU	278
AM06610-SS	(NAG37)s(invAb)scuGfuAfgGfCfAfuAfuUfgGfuasuus(invAb)	265	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAU	278
AM06613-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfaaaaauggus(invAb)	266	AGGCGUGUAGGCAUAAAUUGGU	330
AM06615-SS	(NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfaaaaauggas(invAb)	267	AGGCGUGUAGGCAUAAAUUGGA	331
AM06617-SS	(NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfaaaaauggus(invAb)	268	CGGCGUGUAGGCAUAAAUUGGU	332
AM06619-SS	(NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfaaaaauggas(invAb)	269	CGGCGUGUAGGCAUAAAUUGGA	333
AM06750-SS	(NAG37)s(invAb)scoccuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	270	CCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	334
AM06752-SS	(NAG37)csgcuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	271	CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328
AM06753-SS	(NAG37)ccscuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	272	CCUGUAGGCAUAAAUUGGA	334
AM06776-SS	(NAG25)s(invAb)sggacuuCfUfCfcauuuuucus(invAb)	273	GUGGACUUCUCUCAUUUUUCU	302
AM06777-SS	(NAG25)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaaaaugguas(invAb)	274	CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328

10

【 0 1 8 8 】

本明細書に記載のHBV RNA i 薬は、センス鎖でアンチセンス鎖をアニーリングすることによって形成される。表4に記載される配列を含むセンス鎖は、表3に記載される配列を含む任意のアンチセンス鎖に対し、この2つの配列が、連続する16、17、18、19、20、又は21個のヌクレオチド配列にわたって少なくとも約85%の相補性の領域を有する限りにおいて、ハイブリダイズさせることができる。

【 0 1 8 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表3のいずれかのアンチセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるHBV RNA i 薬のセンス鎖は、表4のいずれかのセンス鎖配列から、0、1、2、又は3個のヌクレオチドが異なる。

【 0 1 9 0 】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表 3 の配列のいずれかのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表 3 の配列のいずれかの 1 - 17、2 - 17、1 - 18、2 - 18、1 - 19、2 - 19、1 - 20、2 - 20、1 - 21、2 - 21、1 - 22、2 - 22、1 - 23、2 - 23、1 - 24、2 - 24、1 - 25、2 - 25、1 - 26、又は 2 - 26 (5' 末端 3' 末端) のヌクレオチド配列を含む。

【 0 1 9 1 】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のセンス鎖は、表 4 の配列のいずれかのヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬のセンス鎖は、表 4 の配列のいずれかの 1 - 17、2 - 17、3 - 17、4 - 17、1 - 18、2 - 18、3 - 18、4 - 18、1 - 19、2 - 19、3 - 19、4 - 19、1 - 20、2 - 20、3 - 20、4 - 20、1 - 21、2 - 21、3 - 21、4 - 21、1 - 22、2 - 22、3 - 22、4 - 22、1 - 23、2 - 23、3 - 23、4 - 23、1 - 24、2 - 24、3 - 24、4 - 24、1 - 25、2 - 25、3 - 25、4 - 25、1 - 26、2 - 26、3 - 26、又は 4 - 26 (5' 末端 3' 末端) のヌクレオチド配列を含む。

【 0 1 9 2 】

本明細書に開示されるHBV RNA i薬について、アンチセンス鎖の位置1（5'末端3'末端）のヌクレオチドは、HBV遺伝子に対して完全に相補的であってもよいし、H

B V 遺伝子に対して非相補的であってもよい。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖の位置 1 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチドは、U、A、又は d T である。いくつかの実施形態において、アンチセンス鎖の位置 1 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチドは、センス鎖と、A : U 又は U : A 塩基対を形成する。

【 0 1 9 3 】

いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬のアンチセンス鎖は、表 3 のいずれかのアンチセンス鎖配列の、2 - 1 8 又は 2 - 1 9 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、H B V RNA i のセンス鎖は、表 4 のセンス鎖配列のいずれかの、1 - 1 7 又は 1 - 1 8 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチド配列を含む。

10

【 0 1 9 4 】

いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、(i) 表 3 のいずれかのアンチセンス鎖配列の、2 - 1 8 又は 2 - 1 9 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖と、(i i) 表 4 のセンス鎖配列のいずれかの、1 - 1 7 又は 1 - 1 8 (5 ' 末端 3 ' 末端) のヌクレオチド配列を含むセンス鎖とを含む。

【 0 1 9 5 】

表 4 に記載される配列を含むセンス鎖は、表 3 に記載される配列を含む任意のアンチセンス鎖に対し、この 2 つの配列が、連続する 1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、又は 2 1 個のヌクレオチド配列にわたって少なくとも約 8 5 % の相補性の領域を有する限りににおいて、ハイブリダイズさせることができる。代表的な配列対が、表 5 に示すデュプレックス I D 番号に例示されている。

20

【 0 1 9 6 】

いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すデュプレックス I D 番号の任意のものを含む。いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すいずれかのデュプレックス I D 番号からなる。いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すいずれかのデュプレックス I D 番号のセンス鎖及び / 又はアンチセンス鎖ヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すいずれかのデュプレックス I D 番号のセンス鎖及び / 又はアンチセンス鎖ヌクレオチド配列と、標的化基及び / 又は連結基 (この標的化基及び / 又は連結基は、センス鎖又はアンチセンス鎖に共有結合連結 (すなわちコンジュゲート) している) とを含む。いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すいずれかのデュプレックス I D 番号のセンス鎖及び / 又はアンチセンス鎖の修飾ヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、本明細書に示すいずれかのデュプレックス I D 番号のセンス鎖及び / 又はアンチセンス鎖の修飾ヌクレオチド配列と、標的化基及び / 又は連結基 (この標的化基及び / 又は連結基は、センス鎖又はアンチセンス鎖に共有結合連結している) とを含む。

30

【 0 1 9 7 】

いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、表 5 のいずれかのアンチセンス鎖 / センス鎖デュプレックスのヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖及びセンス鎖を含み、更に、アシアロ糖タンパク質受容体リガンド標的化基を含む。

40

【 0 1 9 8 】

いくつかの実施形態において、H B V RNA i 薬は、表 5 のいずれかのデュプレックスのいずれかのアンチセンス鎖及び / 又はセンス鎖ヌクレオチド配列のヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖及びセンス鎖を含み、更に、(P A Z)、(N A G 1 3)、(N A G 1 3) s、(N A G 1 8)、(N A G 1 8) s、(N A G 2 4)、(N A G 2 4) s、(N A G 2 5)、(N A G 2 5) s、(N A G 2 6)、(N A G 2 6) s、(N A G 2 7)、(N A G 2 7) s、(N A G 2 8)、(N A G 2 8) s、(N A G 2 9)、(N A G 2 9) s、(N A G 3 0)、(N A G 3 0) s、(N A G 3 1)、(N A G 3 1) s、(N A G 3 2)、(N A G 3 2) s、(N A G 3 3)、(N A G 3 3) s、(N A G 3 4)、(N A G 3 4) s、(N A G 3 5)、(N A G 3 5) s、(N A G 3 6)、(N A G

50

36) s、(NAG37)、(NAG37) s からなる群から選択される標的化基を含む。
【0199】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、表5のいずれかのデュプレックスのアンチセンス鎖及びセンス鎖ヌクレオチド配列の修飾ヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖及びセンス鎖を含む。

【0200】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、表5のいずれかのデュプレックスのいずれかのアンチセンス鎖及び/又はセンス鎖ヌクレオチド配列の修飾ヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖及びセンス鎖を含み、更に、アシアロ糖タンパク質受容体リガンド標的化基を含む。

10

【0201】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、表5のいずれかのデュプレックスを含む。

【0202】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、表5のいずれかのデュプレックスからなる。

【0203】

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 5. HBV RNA i 薬デュプレックスの例。

デュプレックス ID	アンチセンス鎖 ID	センス鎖 ID	デュプレックス ID	アンチセンス鎖 ID	センス鎖 ID
AD03498	AM03508-AS	AM04445-SS	AD04415	AM05011-AS	AM05615-SS
AD03499	AM04441-AS	AM04444-SS	AD04416	AM05609-AS	AM05616-SS
AD03500	AM04442-AS	AM04444-SS	AD04417	AM05610-AS	AM05616-SS
AD03501	AM04443-AS	AM04444-SS	AD04418	AM05611-AS	AM05616-SS
AD03738	AM04768-AS	AM04767-SS	AD04419	AM05612-AS	AM05616-SS
AD03739	AM04769-AS	AM04767-SS	AD04420	AM05613-AS	AM05616-SS
AD03967	AM04443-AS	AM05010-SS	AD04421	AM05614-AS	AM05616-SS
AD03968	AM05011-AS	AM05010-SS	AD04422	AM05054-AS	AM05617-SS
AD03969	AM04443-AS	AM05015-SS	AD04423	AM05618-AS	AM05046-SS
AD03970	AM05011-AS	AM05019-SS	AD04425	AM05621-AS	AM05620-SS
AD03971	AM05012-AS	AM05015-SS	AD04426	AM05623-AS	AM05622-SS
AD03972	AM04443-AS	AM05016-SS	AD04427	AM05623-AS	AM05624-SS
AD03973	AM04443-AS	AM05017-SS	AD04428	AM05626-AS	AM05622-SS
AD03974	AM04443-AS	AM05018-SS	AD04429	AM05626-AS	AM05624-SS
AD03975	AM05013-AS	AM05015-SS	AD04430	AM05628-AS	AM05627-SS
AD03976	AM05014-AS	AM05019-SS	AD04431	AM05054-AS	AM05629-SS
AD03977	AM05013-AS	AM05017-SS	AD04432	AM05054-AS	AM05630-SS
AD03978	AM05013-AS	AM04444-SS	AD04433	AM05631-AS	AM05048-SS
AD04001	AM05052-AS	AM05034-SS	AD04434	AM05632-AS	AM05048-SS
AD04002	AM05053-AS	AM05034-SS	AD04435	AM05633-AS	AM05048-SS
AD04003	AM05054-AS	AM05046-SS	AD04436	AM05635-AS	AM05048-SS
AD04004	AM05052-AS	AM05047-SS	AD04437	AM05634-AS	AM05048-SS
AD04005	AM05055-AS	AM05064-SS	AD04438	AM05637-AS	AM05636-SS
AD04006	AM05056-AS	AM05048-SS	AD04439	AM05638-AS	AM05636-SS
AD04007	AM05057-AS	AM05048-SS	AD04440	AM05058-AS	AM05639-SS
AD04008	AM05058-AS	AM05049-SS	AD04441	AM05057-AS	AM05639-SS
AD04009	AM05056-AS	AM05050-SS	AD04442	AM05057-AS	AM05640-SS
AD04010	AM05060-AS	AM05063-SS	AD04511	AM05747-AS	AM05746-SS
AD04176	AM05351-AS	AM05346-SS	AD04570	AM05011-AS	AM05856-SS
AD04177	AM04443-AS	AM05347-SS	AD04571	AM05849-AS	AM05856-SS
AD04178	AM05011-AS	AM05347-SS	AD04572	AM05850-AS	AM05856-SS
AD04412	AM05011-AS	AM05606-SS	AD04573	AM05851-AS	AM05857-SS
AD04413	AM05011-AS	AM05607-SS	AD04574	AM05852-AS	AM05857-SS
AD04414	AM05608-AS	AM05606-SS	AD04575	AM05853-AS	AM05858-SS

【 0 2 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

(表 5 の続き)

デュプレックス ID	アンチセンス鎖 ID	センス鎖 ID	デュプレックス ID	アンチセンス鎖 ID	センス鎖 ID
AD04576	AM05854-AS	AM05858-SS	AD04823	AM05609-AS	AM06150-SS
AD04577	AM05011-AS	AM05859-SS	AD04871	AM06281-AS	AM06287-SS
AD04578	AM05850-AS	AM05858-SS	AD04872	AM06282-AS	AM06288-SS
AD04579	AM05014-AS	AM05347-SS	AD04873	AM06283-AS	AM06288-SS
AD04580	AM05855-AS	AM05347-SS	AD04874	AM06284-AS	AM06289-SS
AD04581	AM05860-AS	AM05063-SS	AD04875	AM06285-AS	AM06290-SS
AD04583	AM05862-AS	AM05868-SS	AD04876	AM06286-AS	AM06291-SS
AD04584	AM05863-AS	AM05868-SS	AD04881	AM06299-AS	AM06304-SS
AD04585	AM05864-AS	AM05869-SS	AD04882	AM06300-AS	AM06305-SS
AD04586	AM05865-AS	AM05869-SS	AD04883	AM06301-AS	AM06306-SS
AD04587	AM05862-AS	AM05870-SS	AD04884	AM06302-AS	AM06307-SS
AD04588	AM05863-AS	AM05871-SS	AD04885	AM06303-AS	AM06308-SS
AD04590	AM05867-AS	AM05063-SS	AD04962	AM05864-AS	AM06146-SS
AD04591	AM05860-AS	AM05872-SS	AD04963	AM05855-AS	AM05607-SS
AD04592	AM05054-AS	AM05879-SS	AD04981	AM06463-AS	AM06150-SS
AD04593	AM05873-AS	AM05880-SS	AD04982	AM06464-AS	AM06150-SS
AD04594	AM05874-AS	AM05880-SS	AD04983	AM06465-AS	AM06150-SS
AD04595	AM05875-AS	AM05881-SS	AD05069	AM06604-AS	AM06603-SS
AD04596	AM05876-AS	AM05881-SS	AD05070	AM06606-AS	AM06605-SS
AD04597	AM05873-AS	AM05882-SS	AD05071	AM06608-AS	AM06607-SS
AD04598	AM05874-AS	AM05883-SS	AD05072	AM05011-AS	AM06609-SS
AD04599	AM05877-AS	AM05620-SS	AD05073	AM06611-AS	AM06610-SS
AD04734	AM06074-AS	AM05869-SS	AD05074	AM06612-AS	AM06150-SS
AD04771	AM06142-AS	AM06146-SS	AD05075	AM06614-AS	AM06613-SS
AD04772	AM06143-AS	AM06147-SS	AD05076	AM06616-AS	AM06615-SS
AD04773	AM06144-AS	AM06146-SS	AD05077	AM06618-AS	AM06617-SS
AD04774	AM06145-AS	AM06148-SS	AD05078	AM06620-AS	AM06619-SS
AD04775	AM06145-AS	AM06149-SS	AD05147	AM06751-AS	AM06750-SS
AD04776	AM05850-AS	AM06150-SS	AD05148	AM06606-AS	AM06752-SS
AD04777	AM05854-AS	AM06151-SS	AD05149	AM06751-AS	AM06753-SS
AD04778	AM05854-AS	AM06152-SS	AD05164	AM06282-AS	AM06776-SS
AD04822	AM06222-AS	AM06146-SS	AD05165	AM06606-AS	AM06777-SS

【 0 2 0 5 】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、塩、混合塩、又は遊離酸として調製又は提供される。本明細書に記載の RNA i 薬は、HBV 遺伝子を発現する細胞に送達されると、*in vivo* で、1 つ又は複数の HBV 遺伝子の発現を阻害又はノックダウンする。

【 0 2 0 6 】

標的化基、連結基、及び送達ビヒクル

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、1 つ又は複数の非ヌクレオチド基にコンジュゲートされており、これには標的化基、連結基、送達ポリマー、又は送達ビヒクルが挙げられるがこれらに限定されない。この非ヌクレオチド基は、RNA i 薬の標的化、送達又は接合を増強することができる。表 6 には、標的化基及び連結基の例が提供されている。非ヌクレオチド基は、センス鎖及び / 又はアンチセンス鎖のいずれかの 3' 及び / 又は 5' 末端に共有結合連結され得る。いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬は、センス鎖の 3' 及び / 又は 5' 末端に連結された非ヌクレオチド基を含む。いくつ

かの実施形態において、非ヌクレオチド基は、HBV RNA i 薬のセンス鎖の5'末端に連結される。非ヌクレオチド基は、リンカー/連結基を介して、直接又は間接的にRNA i 薬に連結され得る。いくつかの実施形態において、非ヌクレオチド基は、動揺性、分割化能、又は反転可能な結合又はリンカーを介して、RNA i 薬に連結される。

【0207】

いくつかの実施形態において、非ヌクレオチド基は、RNA i 薬又はコンジュゲート（これに非ヌクレオチド基が取り付けられて、細胞特異的若しくは組織特異的な分布と、コンジュゲートの細胞特異的取り込みとを改善する）の薬物動態又は体内分布特性を向上させる。いくつかの実施形態において、非ヌクレオチド基は、RNA i 薬のエンドサイトーシスを向上させる。

【0208】

標的化基又は標的化部分は、それが取り付けられたコンジュゲートの細胞特異的分布及び細胞特異的取り込みを改善して、コンジュゲートの薬物動態又は体内分布特性を向上させる。標的化基は、一価、二価、三価、四価、又はそれ以上の価数を有し得る。代表的な標的化基には、細胞表面分子に親和性を有する化合物、細胞受容体リガンド、ハプテン、抗体、モノクローナル抗体、抗体フラグメント、及び細胞表面分子に親和性を有する抗体模倣体が挙げられるがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、標的化基は、リンカー（例えば、PEGリンカー、又は1つ、2つ、若しくは3つの塩基脱落及び/又はリピトール（塩基脱落リボース）基）を用いて、RNA i 薬に連結される。いくつかの実施形態において、標的化基はガラクトース誘導体クラスターを含む。

【0209】

本明細書に記載されるHBV RNA i 薬は、5'末端に反応性基（例えばアミン基）を有するよう合成され得る。この反応性基は、その後、当該技術分野で典型的な方法を使用して、標的化部分を取り付けるのに使用することができる。

【0210】

いくつかの実施形態において、標的化基はアシアロ糖タンパク質受容体リガンドを含む。いくつかの実施形態において、アシアロ糖タンパク質受容体リガンドは、1つ又は複数のガラクトース誘導体を含むか又はこれらからなる。本明細書で使用されるとき、ガラクトース誘導体という用語は、ガラクトースと、アシアロ糖タンパク質受容体に対する親和性がガラクトース以上である親和性を有するガラクトース誘導体との、両方を含む。ガラクトース誘導体には、ガラクトース、ガラクトサミン、N-ホルミルガラクトサミン、N-アセチル-ガラクトサミン、N-プロピオニル-ガラクトサミン、N-n-ブタノイル-ガラクトサミン、及びN-イソ-ブタノイルガラクトース-アミン（例えば、Iobst, S. T. and Drickamer, K. J. B. C. 1996, 271, 6686を参照）が挙げられるがこれらに限定されない。肝臓に対するオリゴヌクレオチド及び他の分子の*in vivo*標的化に有用な、ガラクトース誘導体、及びガラクトース誘導体のクラスターは、当該技術分野で周知である（例えば、Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611~620; Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939~945を参照）。ガラクトース誘導体は、肝細胞の表面上に発現されているアシアロ糖タンパク質受容体（ASGPr）に対する結合を介して、*in vivo*で、肝細胞に対し分子を標的化するのに使用されている。ASGPrリガンドがASGPr（複数可）に結合することによって、肝細胞に対する細胞特異的標的化と、分子の肝細胞へのエンドサイトーシスとが促進される。ASGPrリガンドは、単量体（例えば、単一のガラクトース誘導体を有する）、又は多量体（例えば、複数のガラクトース誘導体を有する）であり得る。ガラクトース誘導体又はガラクトース誘導体クラスターは、当該技術分野で周知の方法を使用して、RNA i ポリヌクレオチドの3'又は5'末端に取り付けることができる。標的化基（例えばガラクトース誘導体クラスター）の調製は、例えば、米国特許出願第15/452,324号及び同第15/452,423号に記述されており、これらの両方の内容全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【 0 2 1 1 】

本明細書で使用されるとき、ガラクトース誘導体クラスターは、2～4つの末端ガラクトース誘導体を有する分子を含む。末端ガラクトース誘導体は、そのC-1炭素を介して分子に取り付けられる。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体三量体である（三分枝型ガラクトース誘導体、又は三価ガラクトース誘導体とも呼ばれる）。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターはN-アセチル-ガラクトサミンを含む。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは3つのN-アセチル-ガラクトサミンを含む。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体四量体である（四分枝型ガラクトース誘導体、又は四価ガラクトース誘導体とも呼ばれる）。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは4つのN-アセチル-ガラクトサミンを含む。

10

【 0 2 1 2 】

本明細書で使用されるとき、ガラクトース誘導体三量体は、それぞれ中心分岐点に連結された3つのガラクトース誘導体を含む。本明細書で使用されるとき、ガラクトース誘導体四量体は、それぞれ中心分岐点に連結された4つのガラクトース誘導体を含む。ガラクトース誘導体は、糖のC-1炭素を介して中心分岐点に取り付けられ得る。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体は、リンカー又はスペーサーを介して分岐点に連結される。いくつかの実施形態において、リンカー又はスペーサーは、例えばPEG基などの、可撓性の親水性スペーサーである（例えば、米国特許第5,885,968号; B i e s s e n e t a l . J . M e d . C h e m . 1 9 9 5 V o l . 3 9 p . 1 5 3 8 ~ 1 5 4 6 を参照）。いくつかの実施形態において、PEGスペーサーはPEG₃スペーサーである。この分岐点は、3つのガラクトース誘導体の取り付けが可能であり、更に、RNAi薬に分岐点を取り付けることが可能であるような、任意の小分子であり得る。分岐点基の例は、ジリジン又はジグルタミン酸塩である。分岐点のRNAi薬への取り付けは、リンカー又はスペーサーを介して行うことができる。いくつかの実施形態において、リンカー又はスペーサーは、可撓性の親水性スペーサー（例えばPEGスペーサーが挙げられるがこれらに限定されない）を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、剛性のリンカー（例えば環状基）を含む。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体は、N-アセチル-ガラクトサミンを含むか又はこれからなる。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体四量体からなり、これは例えば、N-アセチル-ガラクトサミン四量体であり得る。

20

30

【 0 2 1 3 】

いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬を*in vivo*で肝細胞に送達するための医薬組成物が記述される。このような医薬組成物には、例えば、ガラクトース誘導体クラスターにコンジュゲートされたHBV RNAi薬が含まれ得る。いくつかの実施形態において、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体三量体（これは例えば、N-アセチル-ガラクトサミン三量体であり得る）、又はガラクトース誘導体四量体（これは例えば、N-アセチル-ガラクトサミン四量体であり得る）からなる。

【 0 2 1 4 】

標的化基には、(PAZ)、(NAG13)、(NAG13)s、(NAG18)、(NAG18)s、(NAG24)、(NAG24)s、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(NAG39)、及び(NAG39)sが挙げられるがこれらに限定されない。他の標的化基（ガラクトースクラスター標的化リガンドを含む）は当該技術分野で周知である。

40

【 0 2 1 5 】

50

いくつかの実施形態において、連結基がRNAi薬にコンジュゲートされる。この連結基は、標的化基又は送達ポリマー又は送達ビヒクルに対する薬物の共有結合連結を促進する。連結基は、RNAi薬のセンス鎖又はアンチセンス鎖の3'又は5'末端に連結することができる。いくつかの実施形態において、連結基はRNAi薬のセンス鎖に連結する。いくつかの実施形態において、連結基は、RNAi薬のセンス鎖の5'又は3'末端にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態において、連結基は、RNAi薬のセンス鎖の5'末端にコンジュゲートされる。連結基の例としては、反応性基（例えば一次アミン及びアルキン）、アルキル基、塩基脱落ヌクレオシド、リビトール（塩基脱落リボース）、及び/又はPEG基が挙げられるがこれらに限定されない。

【0216】

リンカー又は連結基は、1つ又は複数の共有結合によって、対象の1つの化学基（RNAi薬など）又はセグメントを、対象の別の化学基（例えば標的化基又は送達ポリマー）又はセグメントに連結する、2つの原子間の接続である。動揺性連結は、動揺性結合を含む。連結は、2つの結合原子間の距離を増大させるスペーサーを任意に含むことができる。スペーサーは、この連結に可撓性及び/又は長さを更に付加することができる。スペーサーには、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、アラルキル基、アラルケニル基、及びアラルキニル基が挙げられ得るがこれらに限定されない。このそれぞれが1つ又は複数のヘテロ原子、複素環、アミノ酸、ヌクレオチド、及び糖類を含み得る。スペーサー基は当該技術分野で周知であり、上述のリストは本明細書の範囲を制限することを意味するものではない。

【0217】

表3及び4に記載されているHBV RNAi薬のヌクレオチド配列は、修飾か非修飾かを問わず、3'又は5'標的化基及び/又は連結基を含み得る。3'又は5'標的化基及び/又は連結基を含む表3及び4に記載されているHBV RNAi薬いずれかの配列のものが、代替的に、3'又は5'標的化基及び/又は連結基を含まなくてもよく、あるいは、表3に示されるものを含むがこれらに限定されない別の3'又は5'標的化基及び/又は連結基を含んでもよい。表5に記載されているいずれかのHBV RNAi薬デュプレックスが、修飾か非修飾かを問わず、標的化基及び/又は連結基を更に含んでもよく、これには、表3に示されているものが含まれるがこれらに限定されず、更に、この標的化基又は連結基は、HBV RNAi薬デュプレックスのセンス鎖又はアンチセンス鎖のいずれかの3'又は5'末端に取り付けられ得る。

【0218】

表6には、標的化基及び連結基の例が提供されている。表4は、5'又は3'末端に連結される標的化基又は連結基を有するHBV RNAi薬のセンス鎖の、いくつかの実施形態を提供する。

【0219】

10

20

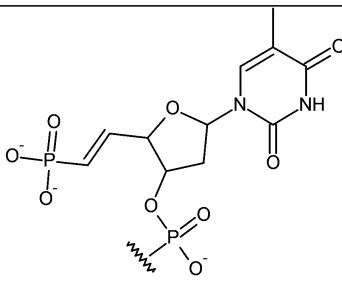
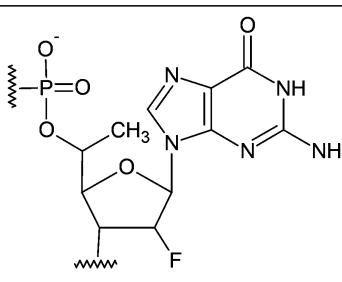
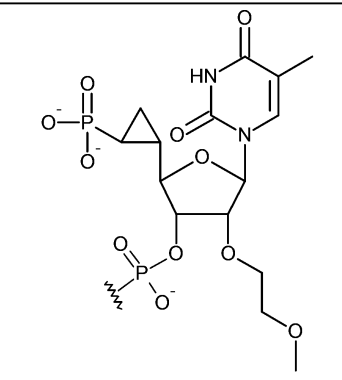
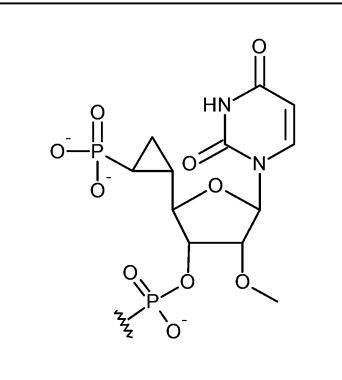
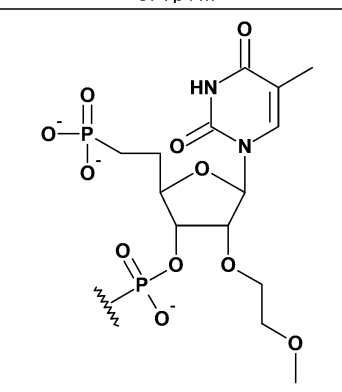
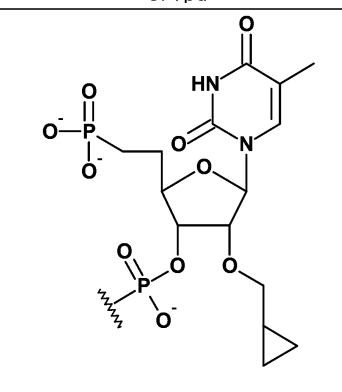
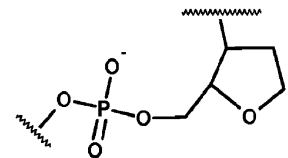
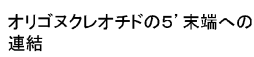
30

40

50

【表 6 - 1】

表 6. 種々の修飾ヌクレオチド、標的化基、及び連結基を示す構造

 <p>vpdT</p>	 <p>5Me-Gf</p>
 <p>cPrpTM</p>	 <p>cPrpu</p>
 <p>epTM</p>	 <p>epTcPr</p>
<p>オリゴヌクレオチドの内部に位置する場合:</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>オリゴヌクレオチドの3' 末端への連結</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>オリゴヌクレオチドの5' 末端への連結</p> </div> </div> <p style="text-align: center;">(invAb)</p>	

【 0 2 2 0 】

10

20

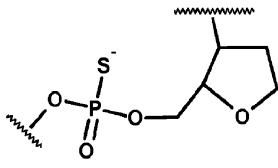
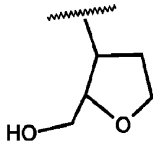
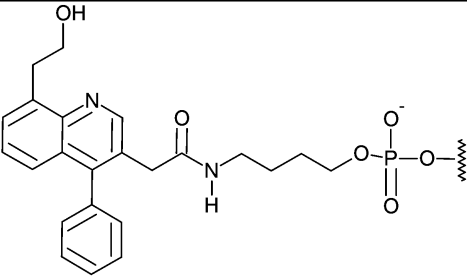
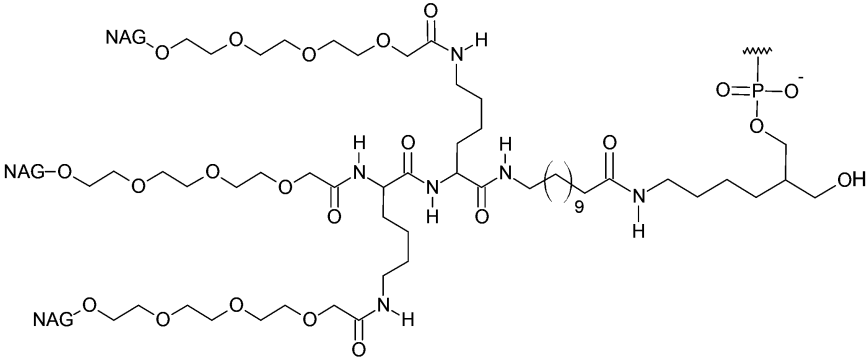
30

40

50

【表 6 - 2】

(表 6 の続き)

<p>オリゴヌクレオチドの内部に位置する場合：</p> <p>オリゴヌクレオチドの5' 末端への連結</p>  <p>オリゴヌクレオチドの3' 末端への連結</p> <p>(invAb)s</p>	10
<p>オリゴヌクレオチドの3' 末端に位置する場合：</p> <p>オリゴヌクレオチドの5' 末端への連結</p>  <p>(invAb)</p>	20
 <p>(PAZ)</p>	30
 <p>(NAG13)</p>	40

【 0 2 2 1 】

(表 6 の続き)



【 0 2 2 2 】

【表 6 - 4】

(表 6 の続き)

<p>(NAG24)</p>	10
<p>(NAG24)_s</p>	20
<p>(NAG25)</p>	30

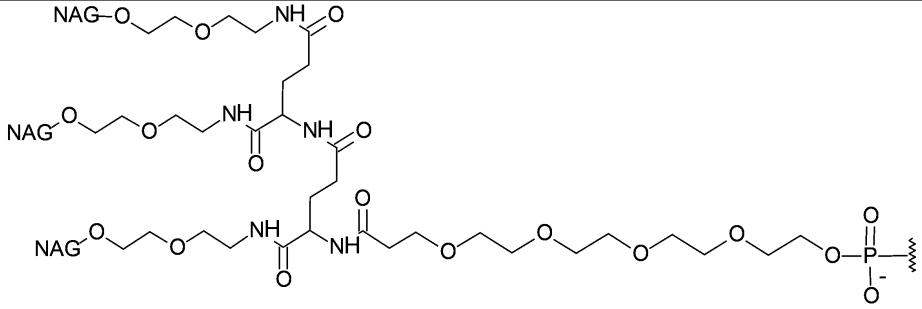
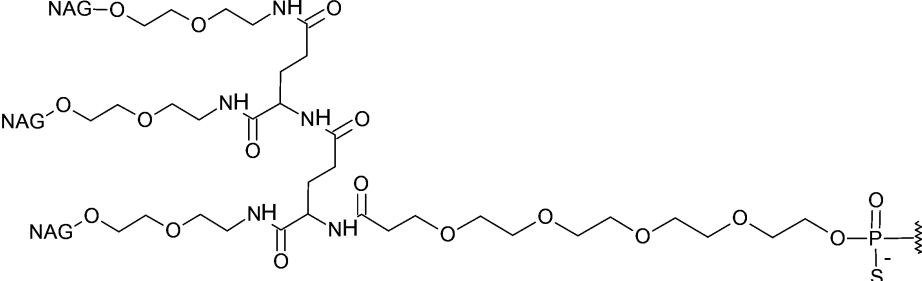
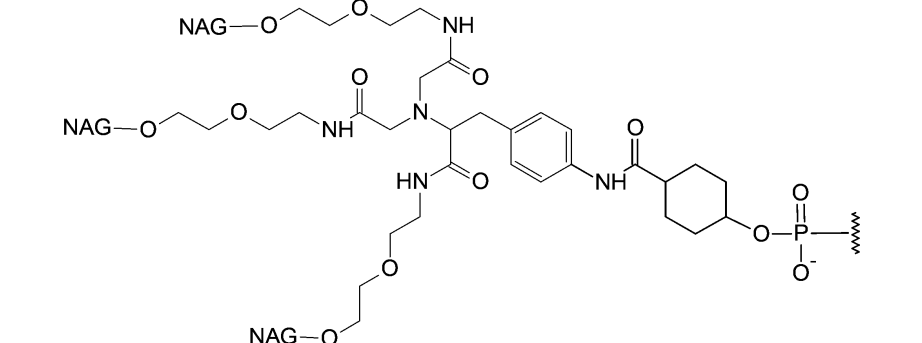
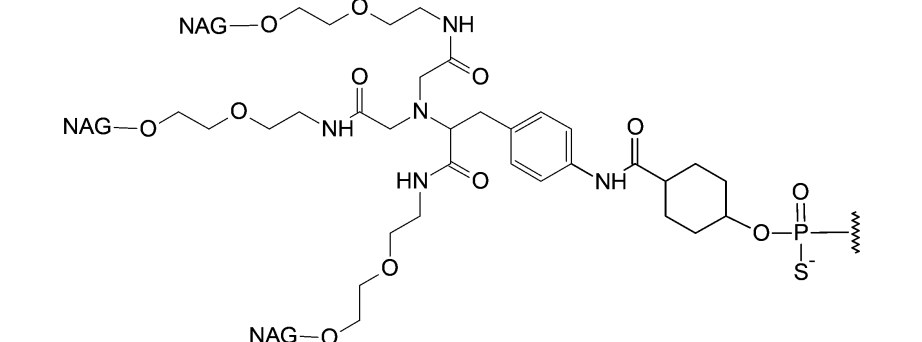
40

【 0 2 2 3 】

50

【表 6 - 6】

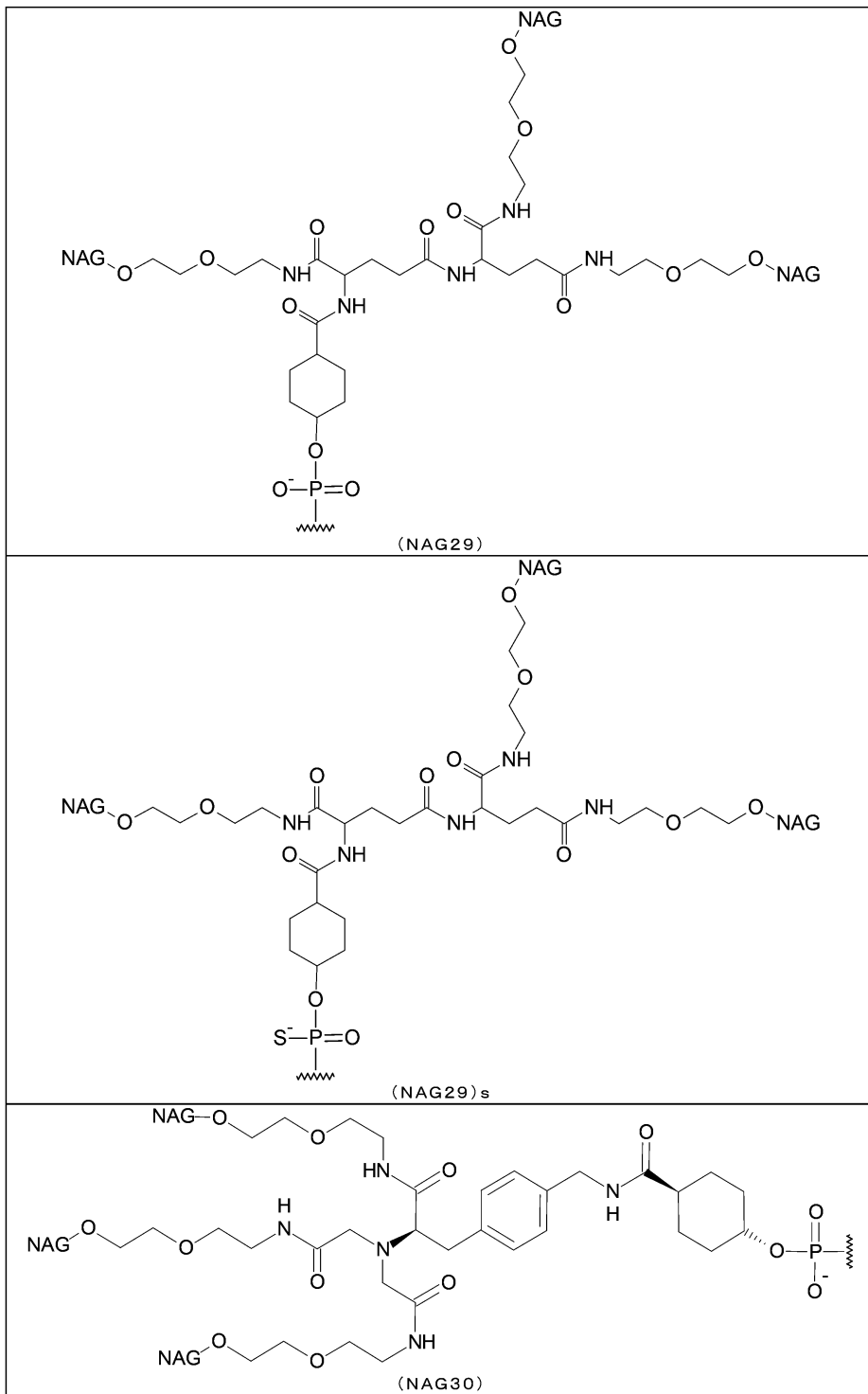
(表 6 の続き)

 <p>(NAG27)</p>	10
 <p>(NAG27)s</p>	20
 <p>(NAG28)</p>	30
 <p>(NAG28)s</p>	40

【 0 2 2 5 】

【表 6 - 7】

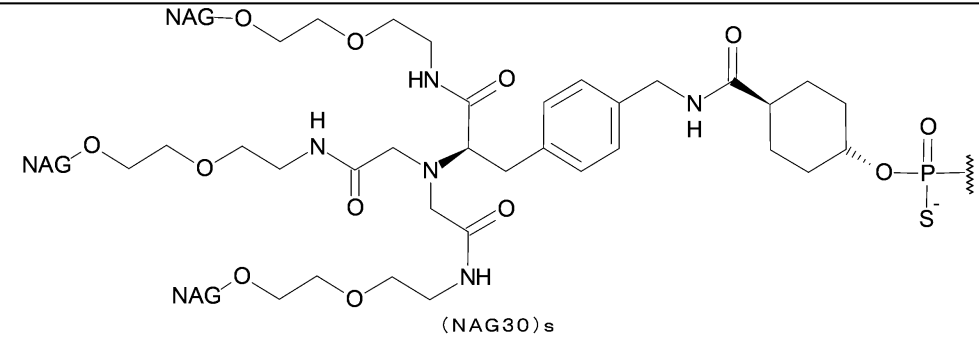
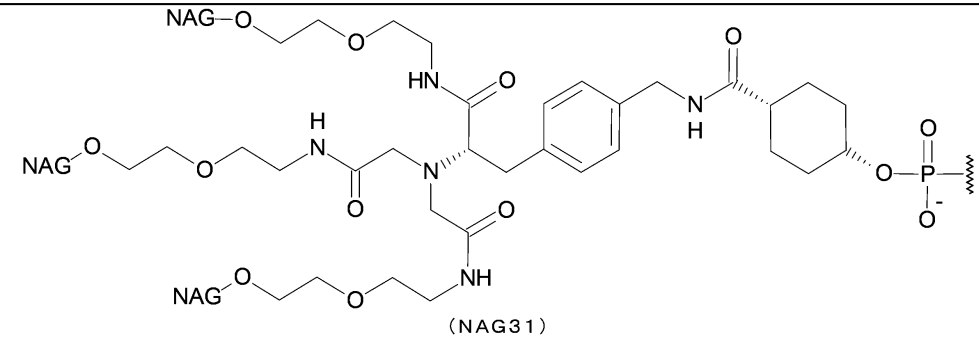
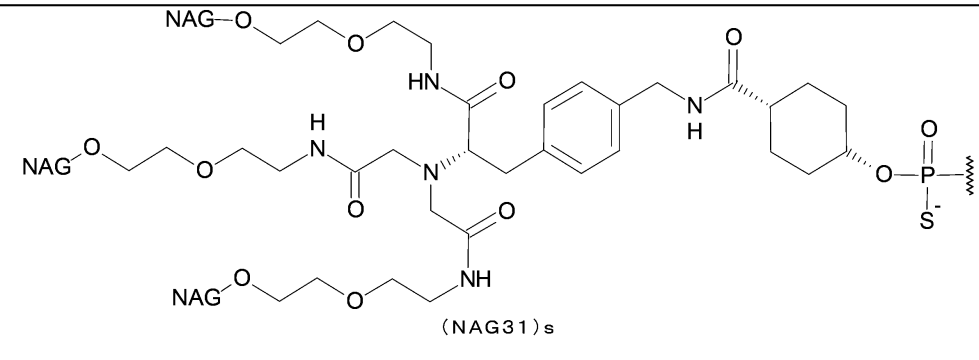
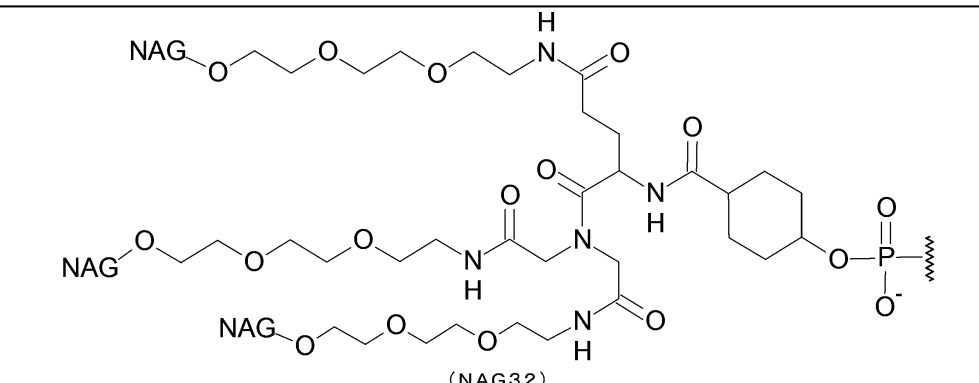
(表 6 の続き)



【 0 2 2 6 】

【表 6 - 8】

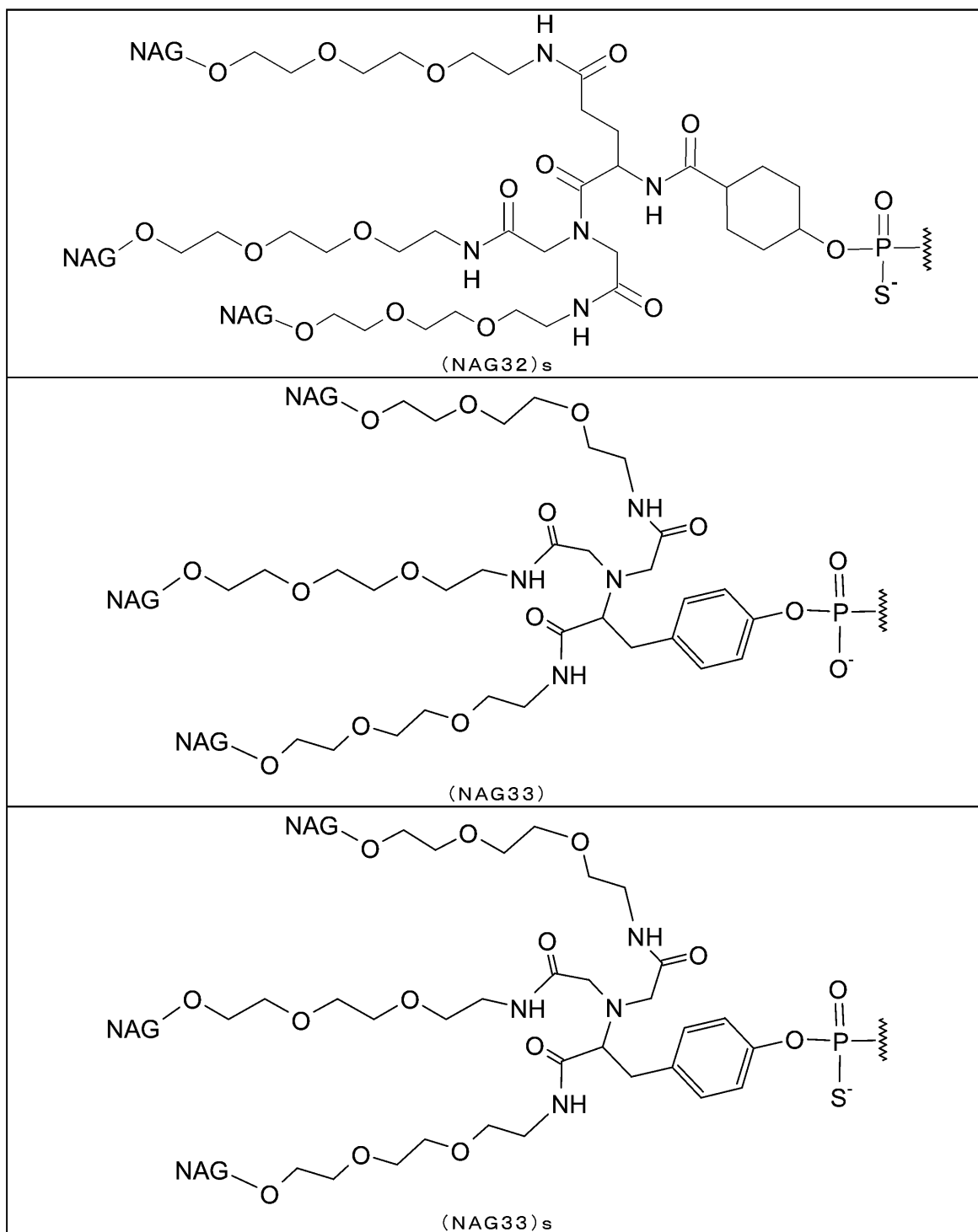
(表 6 の続き)

 <p>(NAG30)_s</p>	10
 <p>(NAG31)</p>	20
 <p>(NAG31)_s</p>	30
 <p>(NAG32)</p>	40

【 0 2 2 7 】

【表 6 - 9】

(表 6 の続き)



10

20

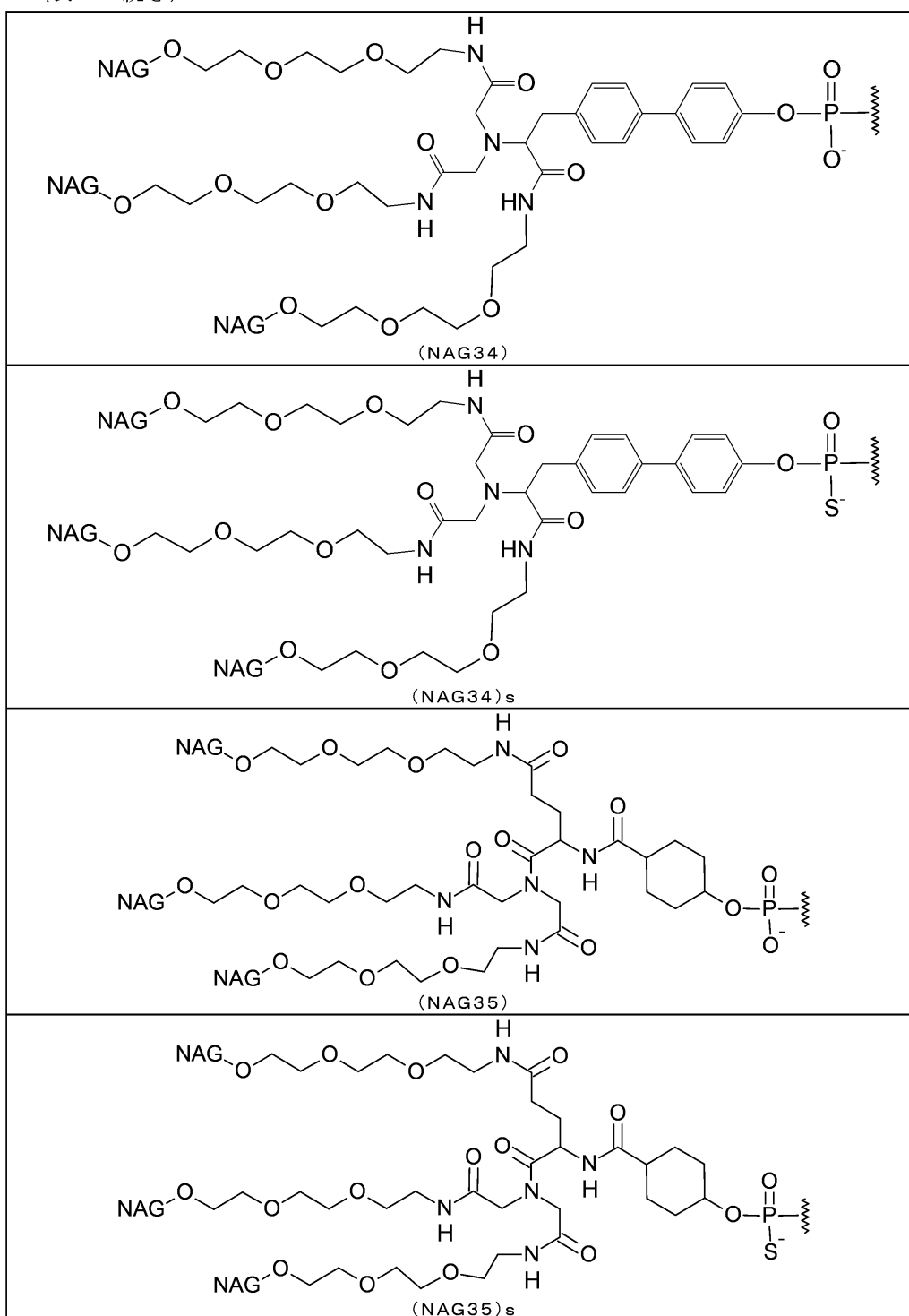
30

40

【 0 2 2 8 】

【表 6 - 1 0】

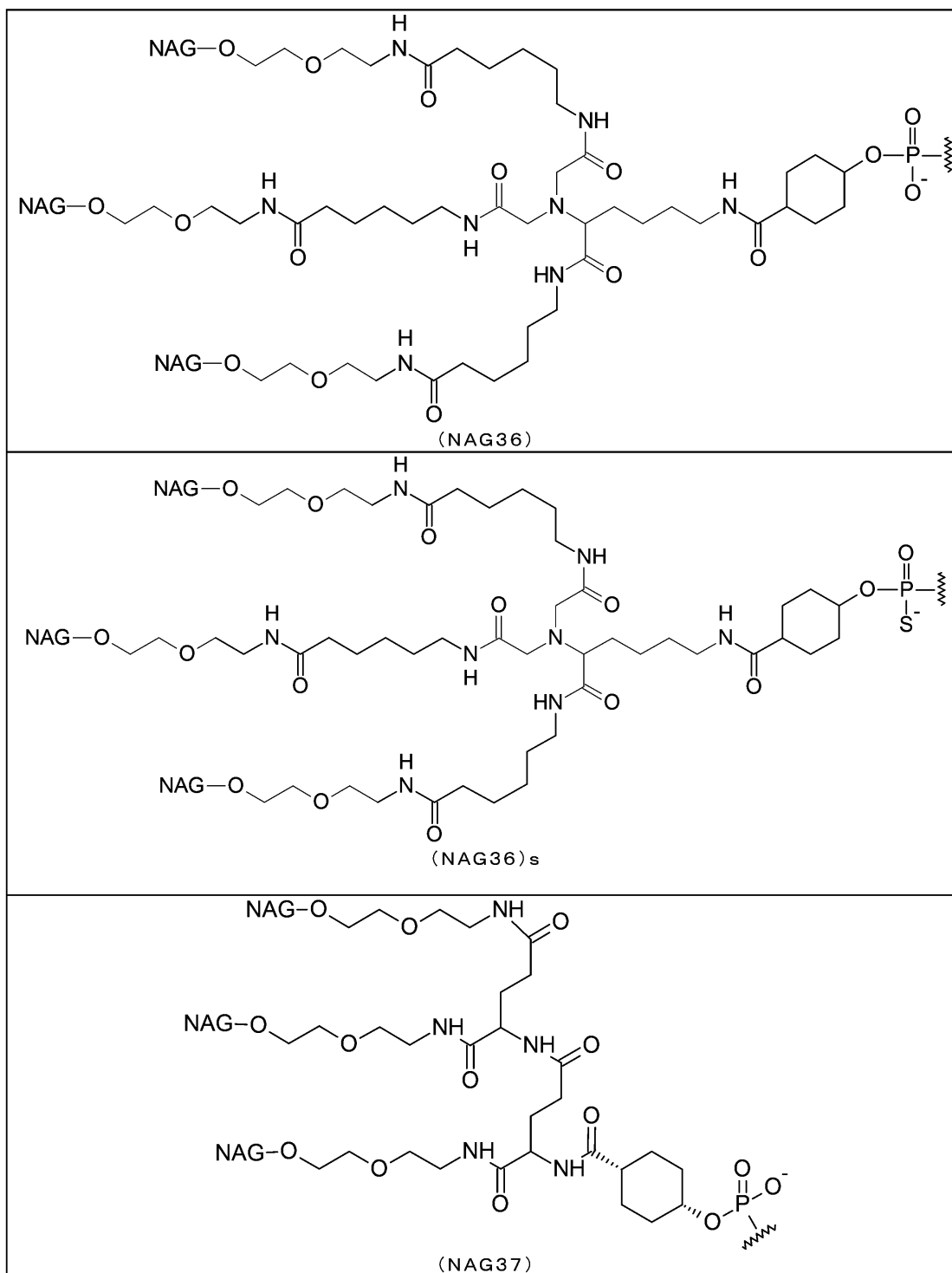
(表 6 の続き)



【 0 2 2 9】

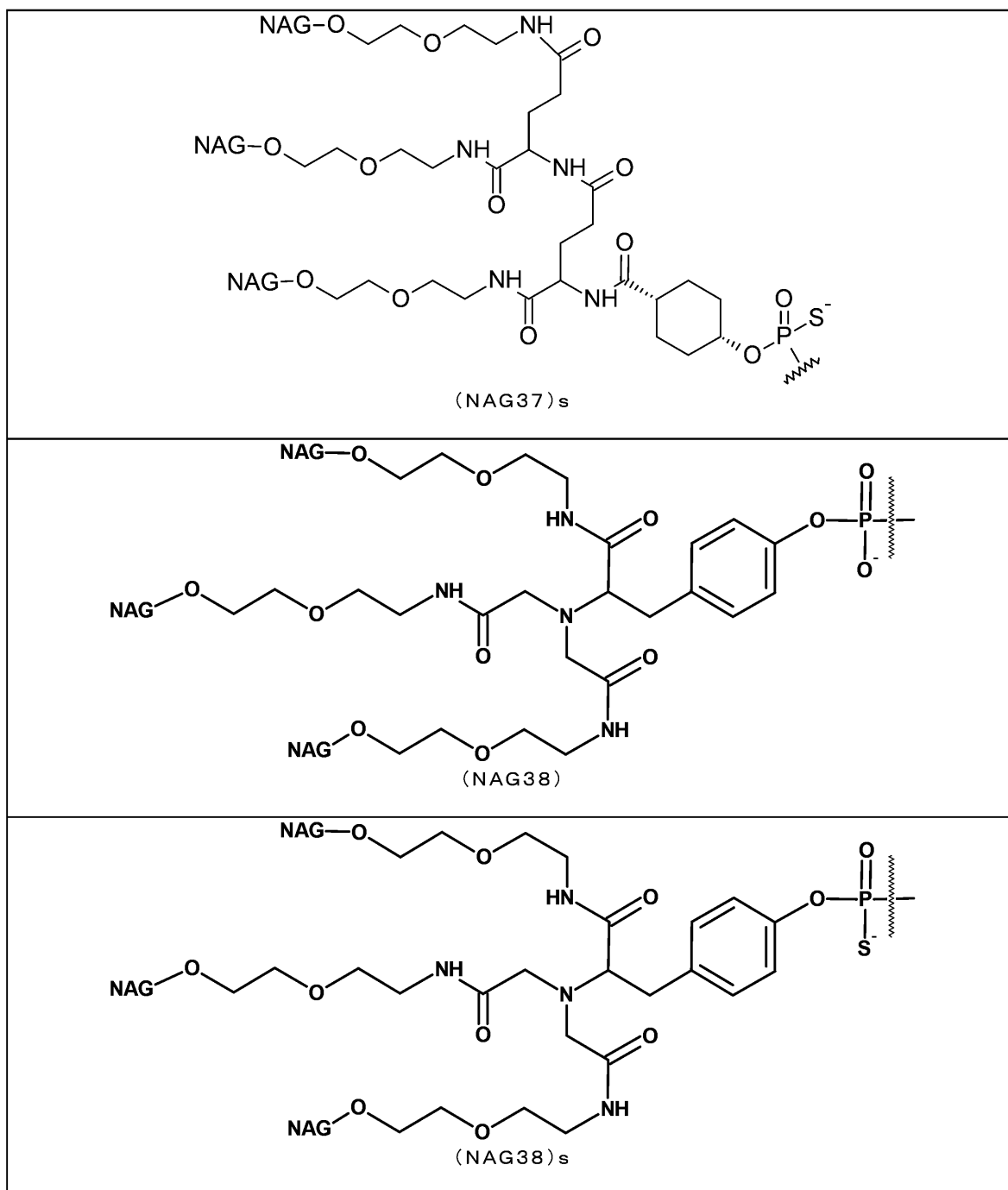
【表 6 - 1 1】

(表 6 の続き)



【 0 2 3 0 】

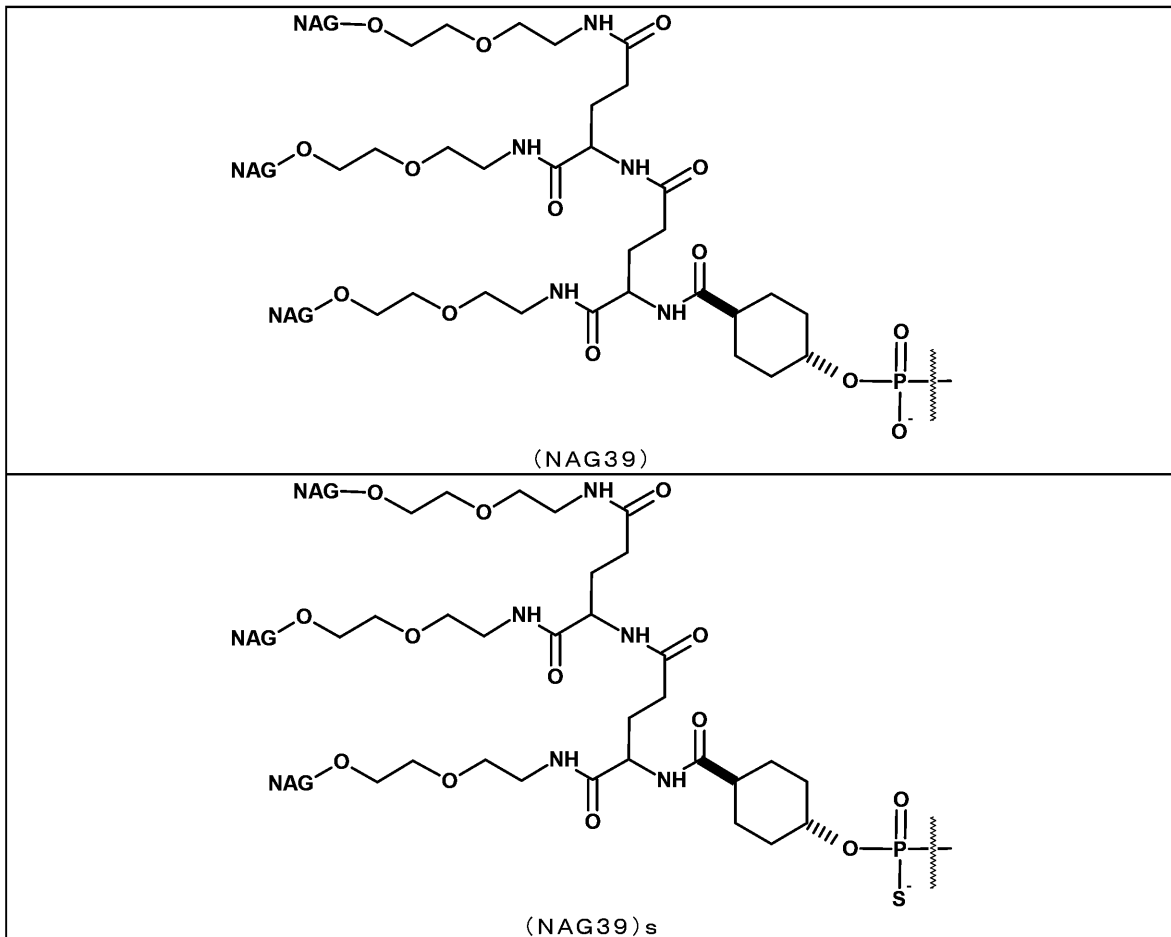
【表 6 - 1 2】
(表 6 の続き)



【 0 2 3 1 】

【表 6 - 1 3】

(表 6 の続き)

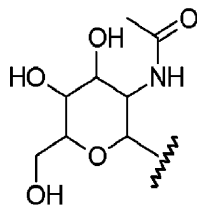


【 0 2 3 2】

表 6 における上記構造の各々において、上記構造及び本明細書に提供される記述の観点で、当業者には理解されるように、NAGは、取り付けられるN - アセチル - ガラクトサミン又は他のASGP rリガンドを含む。例えば、いくつかの実施形態において、表 6 に提供される構造のNAGは、次の構造で表される：

【 0 2 3 3】

【化 3 4】



(N-アセチル-ガラクトサミン)

【 0 2 3 4】

各(NAGx)は、ホスフェート基を介して(例えば(NAG25)、(NAG30)、及び(NAG31)のように)、又はホスホロチオエート基を介して(例えば(NAG25)s、(NAG29)s、(NAG30)s、(NAG31)s、又は(NAG37)sのように)、又は別の連結基を介して、HBV RNA i薬に取り付けることができる。

【 0 2 3 5】

10

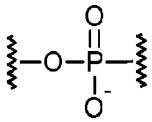
20

30

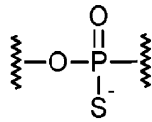
40

50

【化 3 5】



ホスフェート基



ホスホロチオエート基

【0 2 3 6】

当該技術分野で周知の他の連結基を用いてもよい。

【0 2 3 7】

送達ビヒクル

いくつかの実施形態において、細胞又は組織に RNA i 薬を送達するために、送達ビヒクルを使用することができる。送達ビヒクルは、細胞又は組織への RNA i 薬の送達を改善する化合物である。送達ビヒクルには、ポリマー（例えば、両親媒性ポリマー、膜活性ポリマー）、ペプチド、メリチンペプチド、メリチン様ペプチド（MLP）、脂質、可逆性修飾ポリマー又はペプチド、又は可逆性修飾膜活性ポリアミンを挙げることができ、又はこれらからなるが、これらに限定されない。

【0 2 3 8】

いくつかの実施形態において、RNA i 薬は、脂質、ナノ粒子、ポリマー、リボソーム、ミセル、DPC、又は当該技術分野で利用可能な他の送達システムと組み合わせることができる。RNA i 薬は更に、標的化基、脂質（コレステロール及びコレステリル誘導体を含むがこれらに限定されない）、ナノ粒子、ポリマー、リボソーム、ミセル、DPC（例えば国際公開第 2 0 0 0 / 0 5 3 7 2 2 号、同第 2 0 0 8 / 0 0 2 2 3 0 9 号、同第 2 0 1 1 / 1 0 4 1 6 9 号、及び同第 2 0 1 2 / 0 8 3 1 8 5 号、同第 2 0 1 3 / 0 3 2 8 2 9 号、同第 2 0 1 3 / 1 5 8 1 4 1 号を参照；これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる）、又は当該技術分野で利用可能な他の送達システムに化学的にコンジュゲートされ得る。

【0 2 3 9】

医薬組成物及び製剤

本明細書で開示される HBV RNA i 薬は、医薬組成物又は製剤として調製され得る。いくつかの実施形態において、医薬組成物には、少なくとも 1 つの HBV RNA i 薬が含まれる。これらの医薬組成物は、標的細胞内、細胞群、組織、又は生体内の標的 mRNA の発現を阻害するのに特に有用である。この医薬組成物は、標的 mRNA のレベルを低下又は標的遺伝子の発現を阻害することにより助けが得られるであろう疾患又は障害を有する対象を治療するために使用することができる。この医薬組成物は、標的 mRNA のレベルを低下又は標的遺伝子の発現を阻害することにより助けが得られるであろう疾患又は障害の発症リスクがある対象を治療するために使用することができる。一実施形態において、本方法は、本明細書に記載される、標的化リガンドに連結された HBV RNA i 薬を、治療対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、1 つ又は複数の製薬的に許容される賦形剤（ビヒクル、担体、希釈剤、及び / 又は送達ポリマーを含む）が、HBV RNA i 薬を含む医薬組成物に添加されて、ヒトへの *in vivo* 送達に適した医薬製剤が形成される。

【0 2 4 0】

本明細書で開示される HBV RNA i 薬を含む医薬組成物及び方法は、本明細書に記載された HBV RNA i 薬の治療有効量を対象に投与することを含み、細胞、細胞群、細胞群、組織又は対象における標的 mRNA のレベルを減少させることができ、これにより対象の標的 mRNA の発現を阻害することができる。

【0 2 4 1】

いくつかの実施形態において、HBV RNA i 薬を含む記載されている医薬組成物は、HBV 感染に係る臨床症状を治療又は管理するために使用される。いくつかの実施形態において、治療的又は予防的に有効な量の 1 つ又は複数の医薬組成物が、このような

10

20

30

40

50

治療、予防又は管理を必要とする対象に投与される。いくつかの実施形態において、開示されているいずれかのHBV RNAi薬の投与を使用して、対象における疾患の症状の数、重篤度、及び/又は頻度を減少させることができる。

【0242】

HBV RNAi薬を含む、記載された医薬組成物は、HBV mRNAの発現を減少又は阻害することにより助けが得られるであろう疾患又は障害を有する対象における少なくとも1つの症状を治療するために使用することができる。いくつかの実施形態において、対象には、HBV RNAi薬を含む1つ又は複数の医薬組成物の治療有効量が投与され、これにより症状を治療する。他の実施形態において、対象に、予防的有効量の1つ又は複数のHBV RNAi薬を投与することによって、少なくとも1つの症状を予防する。

10

【0243】

投与経路は、HBV RNAi薬を身体に接触させる経路である。一般に、哺乳類の治療のための薬物及び核酸の投与方法は、当該技術分野で周知であり、本明細書に記載される組成物の投与に適用することができる。本明細書に開示されるHBV RNAi薬は、特定の経路に適切に合わせた、調製の任意の好適な経路を介して投与することができる。これにより、本明細書に記載される医薬組成物は、例えば、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、関節内、又は腹腔内などの注射により投与することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される医薬組成物は、皮下注射を介して投与される。

【0244】

本明細書に記載のHBV RNAi薬を含む医薬組成物は、当該技術分野で周知のオリゴヌクレオチド送達技術を用いて、細胞、細胞群、腫瘍、組織、又は対象に送達することができる。一般に、核酸分子を送達するための当該技術分野で知られる任意の好適な方法(in vitro又はin vivo)が、本明細書に記載の組成物と共に使用するために適合され得る。例えば、送達は、局所的投与(例えば直接注射、植え込み、局所投与)、全身投与、皮下投与、静脈内、腹腔内、又は非経口的経路によるものであってよく、これには、頭蓋内(例えば、心室内、実質内、及び髄腔内)、筋肉内、経皮的、気道(エアロゾル)、鼻、口腔、直腸、又は局所(頬側及び舌下を含む)投与が挙げられる。特定の実施形態において、この組成物は皮下又は静脈内の注入又は注射によって投与される。

20

【0245】

したがって、いくつかの実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、1つ又は複数の製薬的に許容される賦形剤を含み得る。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の医薬組成物は、対象に投与するために製剤することができる。

30

【0246】

本明細書で使用されるとき、医薬組成物又は医薬品には、薬理的有効量の少なくとも1つの記載される治療用化合物と、1つ又は複数の製薬的に許容される賦形剤とが含まれる。製薬的に許容される賦形剤(賦形剤)とは、薬物送達システムに意図的に含まれる原薬(API、治療用製品、例えばHBV RNAi薬)以外の物質である。賦形剤は、意図された用量で治療効果を発揮しないか、発揮することが意図されていないものである。賦形剤は、a)製造中に薬物送達システムの処理を助けるよう、b)APIの安定性、生物学的利用能、又は患者の受容性を保護、支援、又は強化するよう、c)製品識別を補助する、及び/又は、d)保管時又は使用時の、全体的な安全性、有効性、APIの送達の他の属性を強化するよう、作用し得る。製薬的に許容される賦形剤は、不活性物質であってよく、また不活性物質でなくてもよい。

40

【0247】

賦形剤としては、吸収促進剤、抗付着剤、抗泡剤、抗酸化剤、結合剤、緩衝剤、担体、コーティング剤、着色剤、送達促進剤、送達ポリマー、デキストラン、デキストロース、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、増量剤、充填剤、香料剤、滑剤、保湿剤、潤滑剤、油類、ポリマー、防腐剤、生理食塩水、塩、溶媒、糖、懸濁剤、持続的放出マトリックス、甘味料、増粘剤、張性剤、ビヒクル、撥水剤、及び湿潤剤が挙げられるがこれらに限定されない。

【0248】

50

注射による使用に適した医薬組成物には、滅菌水溶液（水溶性の場合）又は分散液、及び滅菌注射溶液又は分散液の即時調製用の滅菌粉末が含まれる。静脈内投与用では、適当な担体として、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF社、ニュージャージー州パーシッパニー）、又はリン酸緩衝生理食塩水が挙げられる。組成物は製造及び保存条件下で安定であるべきであり、細菌及び真菌類などの微生物の汚染作用に対抗して保存されるべきである。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの適当な混合物を含んだ溶媒又は分散媒であってよい。例えばレシチンなどのコーティングの使用により、分散液の場合には必要な粒径の維持により、また、界面活性剤の使用により、適正な流動性を保つことができる。多くの場合、組成物中に、例えば糖類、マンニトール、ソルビトールなどの多価アルコール、及び塩化ナトリウムなどの等張剤を含むことが好ましい。組成物中に、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンなどの吸収を遅らせる物質を含有させることによって、注射用組成物の長期的な吸収をもたらすことができる。

10

【0249】

滅菌注入用溶液は、必要量の活性化合物を、必要に応じて上記に列挙した成分の1つ又は組み合わせと共に適切な溶媒に添加した後、濾過による滅菌を行うことにより調製することができる。一般に分散液は、活性化合物を基本の分散媒及び上記に挙げた必要な他の成分を含有する滅菌賦形剤に組み込むことにより調製される。滅菌注射溶液の調製用の滅菌粉末の場合、調製の方法には、予め滅菌濾過されたその溶液から有効成分及び任意の更なる所望の成分の粉末を生じる真空乾燥及び凍結乾燥が挙げられる。

20

【0250】

関節内投与に適した製剤は、例えば水性微結晶懸濁液の形態などの、微結晶形態であり得る薬物の滅菌水性調製物の形態であり得る。リポソーム製剤又は生分解性ポリマー系も、関節内及び眼内投与の両方のための薬剤を投与するのに使用することができる。

【0251】

活性化合物は、インプラント及びマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤などの、化合物が身体から速やかに排出されるのを防ぐ担体と共に、調製することができる。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸などの生分解性の生体適合性ポリマーを使用することができる。かかる製剤の調製方法は当業者には明らかであろう。リポソーム懸濁液も、薬学的に許容される担体として使用することができる。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるような当業者には周知の方法に従って調製することができる。

30

【0252】

HBV RNA i 薬は、投与を容易とし、用量を均一とするために投与単位形態として製剤化することができる。投与単位形態とは、治療対象のための単位投与量として適した物理的に異なる単位を指し、各単位には、要求される医薬担体と関連して所望の治療効果を生じるように計算された活性化合物の所定量が含まれる。本開示の投与単位形態に対する仕様は、活性化合物の固有の特性と、達成されるべき治療効果と、個々における治療のためにそのような活性化合物を配合する当分野で固有の制限、によって決定され、直接依存する。

40

【0253】

医薬組成物は、医薬組成物において一般に見られる他の付加的成分を含むことができる。このような付加的成分には、かゆみ止め、皮膚収斂剤、局所麻酔薬、又は抗炎症剤（例えば、抗ヒスタミン薬、ジフェンヒドラミンなど）が挙げられるがこれらに限定されない。また、本明細書で定義されるRNA i 薬を発現する又は含む細胞、組織又は単離された器官を、「医薬組成物」として使用され得ることも想到される。本明細書で使用されるとき、「薬理学的有効量」、「治療有効量」又は単に「有効量」とは、薬理学的、治療的、又は予防的結果を生じるRNA i 薬の量である。

【0254】

50

一般に、活性化合物の有効量は、約 0.1 ~ 約 100 mg / 体重 kg / 日、例えば、約 1.0 ~ 約 50 mg / 体重 kg / 日の範囲にある。いくつかの実施形態において、活性化合物の有効量は、1回の投与当たり約 0.25 ~ 約 5 mg / 体重 kg の範囲にある。いくつかの実施形態において、活性成分の有効量は、1回の投与当たり約 0.5 ~ 約 3 mg / 体重 kg の範囲にある。投与量は、患者の全体的な健康状態、送達される化合物の相対的な生物学的効力、薬物の製剤形態、製剤における賦形剤の存在及び種類、並びに投与経路などの不確定要素に依存する可能性が高い。また、投与される初期投与量は、望ましい血液レベル又は組織レベルを急速に達成するために上記の上限レベルを超えて増加させることができ、又は、初期投与量は最適よりもう少し少なくすることができる、理解されよう。

10

【0255】

疾患の治療のため、又は疾患の治療のための医薬品又は組成物の形成のために、HBV RNAi薬を含む本明細書に記述される医薬組成物は、賦形剤又は第2の治療薬若しくは治療（第2の又は他のRNAi薬、小分子薬、抗体、抗体フラグメント、及び/又はワクチンが挙げられるがこれらに限定されない）と組み合わせることができる。

【0256】

記述されるHBV RNAi薬は、製薬的に許容される賦形剤又はアジュバントに添加された場合、キット、容器、パック、又はディスペンサにパッケージ化することができる。本明細書に記載の医薬組成物は、予め充填されたシリンジ又はバイアルにパッケージ化されていてもよい。

20

【0257】

治療と発現阻害の方法

本明細書に開示されるHBV RNAi薬は、化合物を投与することにより助けが得られるであろう疾患又は障害を有する対象（例えば、ヒト又は哺乳類）を治療するために使用することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に開示されるRNAi薬は、HBV mRNAの発現を低減又は阻害することにより助けが得られるであろう疾患又は障害を有する対象（例えば、ヒト）を治療するために使用することができる。対象には、任意の1つ又は複数のRNAi薬の治療有効量が投与される。対象は、ヒト、患者、又はヒト患者であり得る。対象は、成人、青年、小児、乳児であり得る。HBV RNAi薬を含む記述される医薬組成物は、疾患の治療処置のための方法を提供するのに使用することができる。このような方法は、本明細書に記載される医薬組成物をヒト又は動物に投与することを含む。

30

【0258】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるHBV RNAi薬は、HBVに感染した対象を治療するのに使用される。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬は、HBV感染を有する対象における少なくとも1つの症状を治療するのに使用される。対象には、任意の1つ又は複数の記述されるRNAi薬の治療有効量が投与される。

【0259】

いくつかの実施形態において、対象は、HBV感染及びHDV感染の両方を有する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるHBV RNAi薬は、HBVとHDVの両方に感染した対象を治療するのに使用される。いくつかの実施形態において、記載されているHBV RNAi薬は、HBV又はHDV感染を有する対象における少なくとも1つの症状を治療するのに使用される。対象には、任意の1つ又は複数の記述されるRNAi薬の治療有効量が投与される。

40

【0260】

いくつかの実施形態において、HBV RNAi薬は、対象がHBVに感染している臨床症状を治療又は管理するために使用される。対象には、本明細書に記載の1つ又は複数のHBV RNAi薬又はHBV RNAi薬含有組成物の治療量又は有効量が投与される。いくつかの実施形態において、本方法は、本明細書に記載のHBV RNAi薬を含

50

む組成物を、治療対象に投与することを含む。

【0261】

いくつかの実施形態において、記述されるHBV RNAi薬が投与される対象におけるHBV遺伝子の遺伝子発現レベル及び/又はmRNAレベルは、HBV RNAi薬を投与される前の対象、又はHBV RNAi薬を投与されていない対象に比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超、低減される。対象における遺伝子発現レベル及び/又はmRNAレベルは、対象の細胞、細胞群、及び/又は組織において低減され得る。いくつかの実施形態において、記述されるHBV RNAi薬が投与される対象におけるHBV遺伝子の発現タンパク質レベルは、HBV RNAi薬を投与される前の対象、又はHBV RNAi薬を投与されていない対象に比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超、低減される。対象内のタンパク質レベルは、対象の細胞、細胞群、組織、血液、及び/又はその他の体液において低減され得る。例えば、いくつかの実施形態において、記述されるHBV RNAi薬が投与される対象におけるB型肝炎表面抗原(HBsAg)の量又はレベルは、HBV RNAi薬を投与される前の対象、又はHBV RNAi薬を投与されていない対象に比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超、低減される。いくつかの実施形態において、記述されるHBV RNAi薬が投与される対象におけるB型肝炎e抗原(HBeAg)の量又はレベルは、HBV RNAi薬を投与される前の対象、又はHBV RNAi薬を投与されていない対象に比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超、低減される。いくつかの実施形態において、記述されるHBV RNAi薬が投与される対象における血清HBV DNAの量又はレベルは、HBV RNAi薬を投与される前の対象、又はHBV RNAi薬を投与されていない対象に比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は99%超、低減される。血清HBV DNAの存在、HBV遺伝子発現、HBV mRNA、又はHBVタンパク質の量若しくはレベルの低減は、当該技術分野で周知の方法により評価され得る。HBV mRNAの量若しくはレベル、発現タンパク質の量若しくはレベル、及び/又は血清HBV DNAの量若しくはレベルにおける低減若しくは減少は、本明細書において総称的に、HBVの低減若しくは減少、又は、HBV発現の阻害若しくは低減と呼ばれる。

【0262】

細胞及び組織と非ヒト生物

本明細書に記載のHBV RNAi薬の少なくとも1つを含む細胞、組織、及び非ヒト生物が想到される。この細胞、組織、又は非ヒト生物は、細胞、組織、又は非ヒト生物に対してRNAi薬を送達することにより生成される。

【0263】

ここで、上述の実施形態及び項目が、以下の非限定的な実施例で例示される。

【実施例】

【0264】

実施例1．HBV RNAi薬の合成

以下の手順に従って、表5に示すHBV RNAi薬デュプレックスを合成した。

A．合成。オリゴヌクレオチド合成に使用される固相上のホスホロアミダイト技術に基

づいて、HBV RNA i 薬のセンス鎖及びアンチセンス鎖を合成した。規模に応じて、MerMade96E（登録商標）（Bioautomation）、a MerMade12（登録商標）（Bioautomation）、又はOP Pilot 100（GE Healthcare）が使用された。制御された多孔質ガラス（CPG、500又は600、Prime Synthesis、Aston、PA、USAから入手）でできた固体支持体上で、合成を実施した。全てのRNA及び2'修飾ホスホロアミダイトは、Thermo Fisher Scientific（Milwaukee、WI、USA）から購入した。具体的には、以下の2'-O-メチルホスホロアミダイトが使用された：（5'-O-ジメトキシトリチル-N⁶-（ベンゾイル）-2'-O-メチル-アデノシン-3'-O-（2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルアミノ）ホスホロアミダイト、5'-O-ジメトキシ-トリチル-N⁴-（アセチル）-2'-O-メチル-シチジン-3'-O-（2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピル-アミノ）ホスホロアミダイト、（5'-O-ジメトキシトリチル-N²-（イソブチリル）-2'-O-メチル-グアノシン-3'-O-（2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルアミノ）ホスホロアミダイト、及び5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-ウリジン-3'-O-（2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルアミノ）ホスホロアミダイト。2'-デオキシ-2'-フルオロ-ホスホロアミダイトは、2'-O-メチルアミダイトと同じ保護基を有していた。塩基脱落（3'-O-ジメトキシトリチル-2'-デオキシリボース-5'-O-（2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルアミノ）ホスホロアミダイトは、ChemGenes（Wilmington、MA、USA）から購入した。ホスホロアミダイトを含む標的化リガンドを、無水ジクロロメタン又は無水アセトニトリル（50mM）に溶かし、一方、他の全てのアミダイトは無水アセトニトリル（50mM）に溶かし、分子ふるい（3）を加えた。5-ベンジルチオ-1H-テトラゾール（BTT、アセトニトリル中250mM）又は5-エチルチオ-1H-テトラゾール（ETT、アセトニトリル中250mM）を、活性化剤溶液として使用した。結合時間は12分間（RNA）、15分間（標的化リガンド）、90秒間（2'OMe）、及び60秒間（2'F）であった。ホスホロチオエート連結を導入するために、3-フェニル1,2,4-ジチアゾリン-5-オン（POS、PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USAから入手）の無水アセトニトリル中100mM溶液を用いた。

B．支持体結合オリゴマーの切断及び脱保護。固相合成を完了させた後、乾燥させた固体支持体を、水中40重量%メチルアミンと、28%水酸化アンモニウム溶液（Aldrich）との体積1：1の溶液で、1.5時間30℃で処理した。この溶液を蒸発させ、固体残留物を水中で再構成した（下記参照）。

C．精製。TSK gel Super Q-5PW 13µmカラム及びShimadzu LC-8システムを用いて、アニオン交換HPLCにより粗オリゴマーを精製した。緩衝液Aは、20mM Tris、5mM EDTA、pH9.0であり、20%アセトニトリルを含有していた。緩衝液Bは、緩衝液Aと同じものに、1.5M塩化ナトリウムを加えたものであった。260nmでUVトレースが記録された。適切な分画をプールしてから、Sephadex G-25 fineを詰めたGE Healthcare XK 26/40カラムを用いて、サイズ排除HPLCに通し、濾過DI水又は100mM重炭酸アンモニウム（pH 6.7）及び20%アセトニトリルをランニング緩衝液として用いた。

D．アニーリング。相補的鎖を、1×リン酸塩緩衝生理食塩水（Corning、Cellgro）中の等モル量のRNA溶液（センス及びアンチセンス）を合わせて混合し、RNA i 薬を形成した。一部のRNA i 薬を凍結乾燥し、-15～-25℃で保管した。1×リン酸塩緩衝生理食塩水中でUV-Visスペクトロメーターを用いて溶液吸光度を測定することによりデュプレックス濃度を求めた。次に、260nmでの溶液吸光度に換算係数及び希釈係数を掛けて、デュプレックス濃度を求めた。特に明記しない限り、換算係数は全て0.037mg/（mL・cm）であった。いくつかの実験において、実験的に求められた吸光係数から換算係数を計算した。

10

20

30

40

50

【0265】

実施例2．pHBVモデルマウス。

【0266】

6～8週齢の雌のNOD．CB17-Prkdcscid/NcrCr1(NOD-SCID)マウスを一時的にin vivoでMC-HBV1.3によりトランスフェクトした。これは、流体力学的尾静脈注射(Yang PL et al. "Hydrodynamic injection of viral DNA: a mouse model of acute hepatitis B virus infection," PNAS USA 2002 Vol. 99: p. 13825～13830)により、HBV RNA i 薬又は対照の投与の30～45日前に投与された。MC-HBV1.3は、プラスミド誘導ミニサークルであり、これは、プラスミドpHBV1.3及びHBV1.3.32トランスジェニックマウス(GenBankアクセッション番号V01460)におけるものと同じ末端重複ヒトB型肝炎ウイルス配列HBV1.3を含む(Guidotti LG et al., "High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice," J Virol 1995 Vol. 69, p6158～6169)。5又は10μgのMC-HBV1.3のリンゲル溶液を、動物の体重の10%の合計体積、マウスの尾静脈に注射して、慢性HBV感染のpHBVモデルを形成した。前述のように、27ゲージ針で5～7秒間かけて溶液を注射した(Zhang G et al., "High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injection of naked plasmid DNA," Human Gene Therapy 1999 Vol. 10, p1735～1737)。投与前(投与前1日目、-1日目、又は-2日目のいずれか)に、B型肝炎表面抗原(HBsAg)の血清中HBsAg発現レベルをELISAにより測定し、マウスを平均HBsAg発現レベルに従ってグループ分けした。

【0267】

分析：HBV RNA i 薬投与前後の様々な時点で、血清HBsAg、血清HBeAg、血清HBV DNA、又は肝臓HBV RNAを測定することができる。HBV発現レベルは、投与前発現レベルと、リン酸緩衝生理食塩水(「PBS」)を注射された対照マウスとに対して正規化された。

【0268】

i) 血清採取：マウスを2～3%イソフルランで麻酔し、顎下領域から血清分離管(Sarstedt AG & Co., Numbrecht, Germany)に血液試料を採取した。血液を周囲温度に20分間置いて凝固させた。この管を8,000×gで3分間遠心分離し、血清を分離して、4℃で保管した。

【0269】

ii) 血清B型肝炎表面抗原(HBsAg)レベル：血清を採取し、脱脂粉乳5%を含むPBSで10～8000倍に希釈した。10μg HBsAg発現プラスミドpRc/CMV-HBs(Aldevron, Fargo, ND)でトランスフェクトしたICRマウス(Harlan Sprague Dawley)の血清から、脱脂乳溶液で希釈した二次HBsAg標準を調製した。HBsAgレベルを、GS HBsAg EIA 3.0キット(Bio-Rad Laboratories, Inc., Redmond, WA)を用いて、メーカーによる記述に従って測定した。遺伝子組換えHBsAgタンパク質(aywサブタイプ、これもPBS中脱脂乳で希釈)を、一次標準として使用した(Aldevron)。

【0270】

MC-HBV1.3における処置に関連しない低下を説明するために、各動物のHBsAg発現は、PBSが注射されたマウス対照群に対して正規化された。最初に、ある時点における各動物のHBsAgレベルを、その動物の処置前発現レベルで割って、「処置前に対して正規化された」発現の比率を求めた。次いで、個々の動物の「処置前に対して正

10

20

30

40

50

規化された」比を、正常なPBS対照群における全マウスの平均の「処置前に対して正規化された」比で割ることにより、特定の時点での発現を対照群に対して正規化した。

【0271】

iii) 血清B型肝炎e抗原(HBeAg)レベル：5%脱脂粉乳で4~20倍に希釈した血清を使用し、メーカー(DiaSorin)の記述されているようにHBeAg酵素結合免疫アッセイ(ELISA)でHBeAg分析を実施した。抗原の量を、アッセイの直線範囲で測定し、HBeAgタンパク質標準(Fitzgerald Industries International, catalog # 30-AH18, Acton, MA)に対して定量した。

【0272】

MC-HBV1.3における処置に関連しない低下を説明するために、各動物のHBeAg発現は、PBSが注射されたマウス対照群に対して正規化された。血清中のHBeAgを評価するために、HBeAgを、プールされた群又はサブ群の血清試料から分析する。最初に、各プールされた群又はサブ群のHBeAgレベルを、同じ群又はサブ群の処置前発現レベルで割って、「処置前に対して正規化された」発現比を求めた。特定の時点での発現が、対照群に対して正規化された。これは、群又はサブ群の「処置前に対して正規化された」比を、正常なPBS対照群の全試料の平均の「処置前に対して正規化された」比で割ることにより得られた。

【0273】

iv) 血清HBV DNAレベル：群又はサブ群のマウスから得た等体積の血清を最終体積100µLまでプールした。QIAamp MinElute Virus Spin Kit(Qiagen, Valencia, CA)を用い、メーカーの説明に従って、DNAを血清試料から分離した。各試料に0.9%滅菌生理食塩水を添加して、最終体積200µLとした。血清試料を、緩衝液及びプロテアーゼの入った管に加えた。少量のDNAの単離を補助するため、担体RNAを添加した。1ngのpHCR/UbC-SEAPプラスミドDNA(Wooddell CI, et al.「Long-term RNA interference from optimized siRNA expression constructs in adult mice.」Biochem Biophys Res Commun(2005)334, 117~127)を、回収対照として加えた。15分間56℃でインキュベートした後、エタノールで核酸を溶解液から沈殿させ、溶液全体をカラムに通した。洗浄後、試料を50µLの緩衝液AVEに溶出させた。

【0274】

pHBVマウスモデル血清から分離されたDNAのHBVゲノムのコピー数をqPCRにより測定した。S遺伝子(GenBank登録番号V01460の塩基353-777)内のHBVゲノムの短いセグメントをコードするプラスミドpSEAP-HBV353-777を使用して、6つの対数標準曲線を作成した。pHCR/UbC-SEAPの検出に基づき、平均から2標準偏差下のDNAの回収率を有する試料は省いた。TaqMan化学系プライマー及びfluor/ZEN/IBFQ付きプローブを利用する。

【0275】

7500 Fast又はStepOne Plus Real-Time PCRシステム(Life Technologies)でqPCRアッセイを実施した。血清中のHBV DNAを評価するために、プールされた群の血清試料から、一重又は二重精製工程でDNAを単離した。HBV DNA及び回収対照プラスミドの定量を、3回実施されたqPCR反応により測定した。HBV及びpHCR/UbC-SEAPを定量するプローブを、各反応に含めた。

【0276】

実施例3. pHBVモデルマウスにおけるHBV RNA i薬

上述の実施例2に記載のpHBVマウスモデルを使用した。1日目、各マウスに、リン酸緩衝生理食塩水(「PBS」)中に配合されたHBV RNA i薬2mg/kg(mpk)を含有する200µLの単回皮下注射、又は、対照として使用されるHBV RNA

10

20

30

40

50

i 薬を含まないリン酸緩衝生理食塩水 200 μ L の単回皮下注射を投与した。各 HBV RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。試験される HBV RNA i 薬には、以下の表 7 に示すデュプレックス数を有するものが含まれた。注射を、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）で行った。各群で 3 匹のマウスを試験した（ $n = 3$ ）。

【0277】

8 日目、15 日目、22 日目、及び 29 日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原（HBsAg）レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【0278】

【表 7】

表 7. 実施例 3 の HBV RNA i 薬投与後の pHBV マウスにおける、処置前及び PBS 対照に対して正規化された平均 HBsAg レベル（標準偏差は（+/-）として示される）。

群	8 日目	15 日目	22 日目	29 日目
PBS	1.000 \pm 0.185	1.000 \pm 0.288	1.000 \pm 0.540	1.000 \pm 0.326
AD04178	0.164 \pm 0.043	0.206 \pm 0.044	0.293 \pm 0.050	0.348 \pm 0.099
AD04579	0.083 \pm 0.028	0.099 \pm 0.022	0.112 \pm 0.022	0.138 \pm 0.056
AD04580	0.048 \pm 0.007	0.073 \pm 0.012	0.085 \pm 0.012	0.126 \pm 0.014
AD04570	0.241 \pm 0.076	0.294 \pm 0.071	0.276 \pm 0.068	0.474 \pm 0.092
AD04572	0.190 \pm 0.040	0.279 \pm 0.011	0.323 \pm 0.049	0.441 \pm 0.046
AD04573	0.333 \pm 0.143	0.505 \pm 0.106	0.361 \pm 0.060	0.444 \pm 0.068
AD04574	0.291 \pm 0.032	0.650 \pm 0.056	0.388 \pm 0.048	0.485 \pm 0.070
AD04575	0.397 \pm 0.189	0.514 \pm 0.234	0.574 \pm 0.204	0.689 \pm 0.207
AD04419	0.262 \pm 0.038	0.174 \pm 0.042	0.258 \pm 0.064	0.311 \pm 0.089
AD04578	0.210 \pm 0.056	0.235 \pm 0.033	0.298 \pm 0.035	0.336 \pm 0.049

【0279】

RNA i 薬 AD04178、AD04579、AD04580、AD04570、AD04572、AD04573、AD04574、AD04575、AD04419、及び AD04578 をそれぞれ、上述の表 1 及び 2 に示すように、HBV ゲノムの位置 1781 ~ 1789 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。HBV RNA i 薬はそれぞれ、測定された全時点にわたって、PBS 対照に比べて HBsAg の実質的な減少を示した。例えば、AD04580 は、処置前及び PBS 対照に対して正規化されたとき、8 日目で S 抗原レベルが 95 % 超の減少を示した（0.048 \pm 0.007 HBsAg レベル）。

【0280】

加えて、血清 HBV DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、8、15、22、29、36、43 及び 50 日目に採取された血清試料の PBS、AD04579、及び AD04580 群について測定した。各群からの血清をプールし、重複分離で血清から DNA を単離した。データを以下の表に示す：

【0281】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8. 実施例 3 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
PBS	1.0000±0.1185	1.0000±0.0591	1.0000±0.0322	1.0000±0.0597
AD04579	0.1541±0.0070	0.1776±0.0027	0.1810±0.0450	0.3738±0.0302
AD04580	0.0921±0.0253	0.0869±0.0117	0.1444±0.0755	0.0950±0.0026
群	36日目	43日目	50日目	
PBS	1.0000±0.1625	1.0000±0.0055	1.0000±0.1484	
AD04579	0.9670±0.1247	0.7643±0.1334	0.6299±0.1319	
AD04580	0.4949±0.0096	0.4350±0.0344	0.6819±0.0266	

10

【0282】

表 8 のデータは、調べた RNA i 薬の両方とも、P B S 群に比べて H B V DNA レベルを実質的に低下させ、A D 0 4 5 8 0 は最下値で 1 ログのノックダウンよりもわずかに上回る達成を示した (例えば、15 日目で 0.0869 ± 0.0117 平均血清 DNA レベル)。

20

【0283】

実施例 4. p H B V モデルマウスにおける H B V RNA i 薬

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。1 日目、各マウスに、リン酸緩衝生理食塩水 (「P B S」) 中に配合された H B V RNA i 薬 $2 \text{ mg} / \text{kg}$ (mpk) を含有する $200 \mu\text{L}$ の単回皮下投与、又は、対照として使用される H B V RNA i 薬を含まないリン酸緩衝生理食塩水 $200 \mu\text{L}$ の単回皮下投与を行った。各 H B V RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。投与される H B V RNA i 薬には、以下の表 9 に示されるものが含まれた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間 (すなわち皮下注射) に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した ($n = 3$)。

30

【0284】

8 日目、15 日目、22 日目、及び 29 日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原 (H B s A g) レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【0285】

40

50

【表 9】

表 9. 実施例 4 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
PBS	1.000±0.085	1.000±0.235	1.000±0.171	1.000±0.099
AD04010	0.229±0.141	0.165±0.091	0.142±0.085	0.116±0.076
AD04581	0.379±0.042	0.221±0.066	0.135±0.040	0.112±0.050
AD04591	0.285±0.101	0.145±0.064	0.086±0.024	0.081±0.026
AD04434	0.295±0.041	0.191±0.008	0.147±0.016	0.187±0.049
AD04583	0.488±0.018	0.545±0.037	0.511±0.086	0.663±0.112
AD04584	0.392±0.136	0.337±0.073	0.364±0.075	0.515±0.155
AD04585	0.099±0.016	0.042±0.014	0.030±0.009	0.044±0.014
AD04586	0.222±0.056	0.107±0.034	0.074±0.016	0.106±0.039
AD04588	0.255±0.065	0.205±0.021	0.185±0.021	0.207±0.024
AD04438	0.265±0.106	0.113±0.045	0.091±0.031	0.130±0.038

10

【0286】

RNA i 薬 AD04010、AD04581、AD04591、AD04434、AD04583、AD04584、AD04585、AD04586、AD04588、及び AD04438 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 257 ~ 275 の S オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。上記の表 9 に示す H B V RNA i 薬はそれぞれ、測定された全時点にわたって、P B S 対照と比較して、H B s A g の実質的な減少を示した。例えば、AD04585 は 8 日目で約 90 % の H B s A g 減少、15 日目、で 95 % の減少、22 日目で 97 % の減少、及び 29 日目で 95 % の減少を示した。

20

【0287】

加えて、血清 H B V DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、8、15、22、29、36、43 及び 50 日目に採取された血清試料の P B S 及び AD04585 群について測定した。各群からの血清をプールし、重複分離で血清から DNA を単離した。データを以下の表に示す：

30

【0288】

【表 10】

表 10. 実施例 4 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
PBS	1.000±0.248	1.000±0.089	1.000±0.195	1.000±0.180
AD04585	0.901±0.183	0.225±0.003	0.187±0.023	0.191±0.004
群	36日目	43日目	50日目	
PBS	1.000±0.018	1.000±0.033	1.000±0.778	
AD04585	0.209±0.017	0.171±0.019	0.305±0.010	

40

【0289】

表 10 に示すデータは、H B V RNA i 薬 AD04585 が、P B S 群に比べて、H B V DNA レベルの減少をもたらしたことを示している。

50

【 0 2 9 0 】

実施例 5 . p H B V モデルマウスにおける H B V R N A i 薬の用量応答及び組み合わせ。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 1 1 に示すものを含む様々な群に分けられ、マウスには表 1 1 に示す投与レジメンに従って 2 0 0 μ L 皮下注射が行われた。

【 0 2 9 1 】

【表 1 1】

表 1 1 . 実施例 5 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS (RNAi薬なし)	1 日目に単回注射
B	3. 0mg/kg AD04585	1 日目に単回注射
C	3. 0mg/kg AD04585	1 日目、8 日目、及び 15 日目に注射 (すなわち、週 1 回の注射を 3 回)
D	3. 0mg/kg AD04580	1 日目に単回注射
E	3. 0mg/kg AD04580	1 日目、8 日目、及び 15 日目に注射 (すなわち、週 1 回の注射を 3 回)
F	1. 0mg/kg AD4585 + 1. 0mg/kg AD04580	1 日目に注射、及び 22 日目にもう 1 回注射
G	1. 0mg/kg AD4585 + 1. 0mg/kg AD04580	1 日目、8 日目、15 日目、及び 43 日目に注射
H	1. 5mg/kg AD4585 + 1. 5mg/kg AD04580	1 日目、22 日目、及び 43 日目に注射
I	1. 5mg/kg AD4585 + 1. 5mg/kg AD04580	1 日目、8 日目、15 日目、及び 43 日目に注射

10

20

【 0 2 9 2 】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 1 1 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V R N A i 薬、又は対照として H B V R N A i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V R N A i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5 ' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間 (すなわち皮下注射) に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した (n = 3)。

30

【 0 2 9 3 】

8 日目、1 5 日目、2 2 日目、2 9 日目、3 6 日目、4 3 日目、5 0 日目、及び 5 7 日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原 (H B s A g) レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【 0 2 9 4 】

40

50

【表 1 2】

表 1 2. 実施例 5 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A	1.000±0.162	1.000±0.138	1.000±0.083	1.000±0.204
B	0.060±0.015	0.010±0.003	0.006±0.002	0.007±0.002
C	0.087±0.014	0.004±0.001	0.001±0.0003	0.0002±0.0001
D	0.026±0.009	0.035±0.013	0.037±0.014	0.046±0.006
E	0.023±0.005	0.002±0.001	0.001±0.0003	0.001±0.0004
F	0.063±0.046	0.083±0.051	0.086±0.016	0.027±0.006
G	0.062±0.011	0.022±0.008	0.009±0.003	0.008±0.002
H	0.055±0.015	0.062±0.002	0.072±0.013	0.011±0.001
I	0.031±0.006	0.008±0.001	0.003±0.0004	0.003±0.0003
群	36日目	43日目	50日目	57日目
A	1.000±0.211	1.000±0.189	1.000±0.179	1.000±0.062
B	0.013±0.005	0.027±0.004	0.026±0.004	0.057±0.012
C	0.001±0.0002	0.002±0.001	0.008±0.004	0.020±0.015
D	0.116±0.019	0.214±0.056	0.263±0.046	0.404±0.030
E	0.003±0.0001	0.007±0.001	0.012±0.002	0.033±0.011
F	0.029±0.003	0.065±0.005	0.064±0.004	0.161±0.033
G	0.014±0.008	0.039±0.011	0.018±0.008	0.046±0.008
H	0.017±0.005	0.039±0.008	0.007±0.001	0.013±0.003
I	0.007±0.001	0.020±0.002	0.005±0.001	0.011±0.002

【0 2 9 5】

H B V RNA i 薬 A D 0 4 5 8 0 及び A D 0 4 5 8 5 はそれぞれ、測定された全時点にわたって、H B s A g P B S 対照と比較して、個々に H B s A g の低下を示した。更に、A D 0 4 5 8 5 及び A D 0 4 5 8 0 の併用処置も、H B V ゲノムの異なる領域を標的とした上述の実施例に示されているように、測定された全時点にわたって、P B S 対照と比較して、H B s A g の低下を示した。

【0 2 9 6】

加えて、血清 H B V DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、8、15、22、29 及び 36 日目に採取された血清試料の表 1 1 の群のそれぞれについて測定した。各群からの血清をプールし、重複反応で血清から DNA を単離した。データを以下の表に示す：

【0 2 9 7】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表 1 3. 実施例 5 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A	1.000±0.063	1.000±0.059	1.000±0.372	1.000±0.237
B	0.267±0.003	0.043±0.016	0.038±0.008	0.044±0.004
C	0.236±0.016	0.023±0.001	0.004±0.001	0.002±0.000
D	0.058±0.016	0.085±0.017	0.252±0.071	0.217±0.009
E	0.056±0.002	0.0009±0.0004	0.0005±0.0002	0.003±0.002
F	0.298±0.013	0.351±0.032	0.823±0.127	0.217±0.007
G	0.276±0.035	0.112±0.020	0.061±0.002	0.073±0.002
H	0.232±0.012	0.213±0.028	0.403±0.047	0.079±0.005
I	0.092±0.026	0.055±0.000	0.002±0.003	0.010±0.004
群	36日目			
A	1.000±0.024			
B	0.046±0.007			
C	0.003±0.000			
D	0.319±0.034			
E	0.002±0.000			
F	0.122±0.004			
G	0.047±0.006			
H	0.056±0.003			
I	0.021±0.007			

【0 2 9 8】

表 1 3 のデータは、試験された RNA i 薬が、個別及び組み合わせの両方とも、P B S 群に比べて、H B V DNA レベルの減少をもたらしたことを示している。再投与又は投与量の増加は、更なる H B V DNA の減少をもたらした。

【0 2 9 9】

実施例 6 . p H B V マウスにおける H B V RNA i 薬：用量応答及び併用試験。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 1 4 に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表 1 4 に示す投与レジメンに従って、単回 2 0 0 μ L 皮下注射を投与した。

【0 3 0 0】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表 1 4. 実施例 6 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS (RNAi薬なし)	1 日目に単回注射
B	4. 0mg/kg AD04981	1 日目に単回注射
C	1. 0mg/kg AD04981	1 日目に単回注射
D	2. 0mg/kg AD04981	1 日目に単回注射
E	1. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
F	2. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
G	3. 0mg/kg AD04872	1 日目に単回注射
H	3. 0mg/kg AD04872 + 1. 0mg/kg AD04981	1 日目に単回注射
I	3. 0mg/kg AD04872 + 1. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
J	3. 0mg/kg AD04872 2. 0mg/kg AD04981	1 日目に単回注射

10

【 0 3 0 1】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 1 4 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V RNA i 薬、又は対照として H B V RNA i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した（ $n = 3$ ）。

20

【 0 3 0 2】

投与前の - 1 日目、及び次いで 8 日目、1 5 日目、2 2 日目、2 9 日目、及び 3 6 日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 H B s A g レベルを測定した。実験のデータを以下の表 1 5 に示す。平均 H B s A g は、H B s A g の正規化された平均値を反映している：

30

【 0 3 0 3】

40

50

【表 15】

表 15. 実施例 6 の H B V R N A i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル（標準偏差は（+／-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目
A	1.000±0.068	1.000±0.183	1.000±0.181
B	0.085±0.020	0.068±0.005	0.089±0.014
C	0.283±0.039	0.343±0.055	0.436±0.004
D	0.161±0.052	0.137±0.036	0.190±0.068
E	0.182±0.040	0.233±0.023	0.436±0.029
F	0.078±0.024	0.093±0.015	0.167±0.028
G	0.066±0.030	0.013±0.002	0.010±0.002
H	0.033±0.012	0.016±0.005	0.020±0.005
I	0.040±0.011	0.028±0.003	0.032±0.007
J	0.035±0.010	0.019±0.002	0.021±0.001
群	29日目	36日目	
A	1.000±0.032	1.000±0.141	
B	0.148±0.016	0.194±0.047	
C	0.622±0.041	0.741±0.132	
D	0.234±0.055	0.280±0.071	
E	0.623±0.116	0.782±0.114	
F	0.259±0.014	0.368±0.068	
G	0.010±0.003	0.009±0.004	
H	0.022±0.005	0.024±0.009	
I	0.065±0.014	0.087±0.015	
J	0.031±0.0001	0.044±0.002	

【0304】

試験された H B V R N A i 薬は、測定された全時点にわたって、P B S 対照に比べて H B s A g の減少を示した。更に、A D 0 4 8 7 2（表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 2 6 1 ~ 2 7 9 の S O R F に対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む）と、A D 0 4 9 8 1 又は A D 0 4 9 6 3 のいずれか（この両方とも、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 1 7 8 1 ~ 1 7 9 9 の X O R F に対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む）との併用処置は、実施例 6 の群 H、I、及び J に示されており、これらは、2 つの R N A i 薬（一方は H B V ゲノムの S O R F を標的とし、他方は H B V ゲノムの X O R F を標的とするもの）の併用処置が、同様に、測定された全時点にわたって、P B S 対照に比べて H B s A g の減少を示した。

【0305】

加えて、血清 B 型肝炎 e 抗原（H B e A g）レベルもまた評価した。それぞれの群のマウスから得た試料を最初にプールし、結果として得られた血清試料を一重項状態でアッセイを行った。実験のデータを以下の表に示す：

【0306】

10

20

30

40

50

【表 1 6】

表 1 6. 実施例 6 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B e A g レベル。

群	8日目	15日目	22日目	29日目	36日目
A	1. 000	1. 000	1. 000	0. 183	1. 000
B	0. 138	0. 180	0. 274	0. 005	0. 089
C	0. 316	0. 376	0. 588	0. 055	0. 436
D	0. 167	0. 250	0. 262	0. 036	0. 190
E	0. 301	0. 327	0. 447	0. 023	0. 436
F	0. 167	0. 172	0. 305	0. 015	0. 167
G	0. 275	0. 135	0. 158	0. 002	0. 010
H	0. 080	0. 053	0. 094	0. 005	0. 020
I	0. 165	0. 124	0. 185	0. 003	0. 032
J	0. 120	0. 057	0. 101	0. 002	0. 021

10

【 0 3 0 7】

表 1 6 に示すように、A D 0 4 8 7 2 (H B V ゲノムの S ORF を標的とする) と、A D 0 4 9 8 1 又は A D 0 4 9 6 3 (両方とも H B V ゲノムの X ORF を標的とする) のいずれかとの組み合わせは、A D 0 4 8 7 2 単独投与に比べて、H B e A g レベルの更なる減少を示した。

20

【 0 3 0 8】

実施例 7. p H B V マウスにおける H B V RNA i 薬：追加用量応答及び併用試験。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 1 7 に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表 1 7 に示す投与レジメンに従って、単回 2 0 0 μ L 皮下注射を投与した。

【 0 3 0 9】

【表 1 7】

表 1 7. 実施例 7 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS (RNAi薬なし)	1日目に単回注射
B	4. 0mg/kg AD04776	1日目に単回注射
C	1. 0mg/kg AD04982	1日目に単回注射
D	2. 0mg/kg AD04982	1日目に単回注射
E	1. 0mg/kg AD04776	1日目に単回注射
F	2. 0mg/kg AD04776	1日目に単回注射
G	3. 0mg/kg AD04872	1日目に単回注射
H	3. 0mg/kg AD04872 + 1. 0mg/kg AD04982	1日目に単回注射
I	3. 0mg/kg AD04872 + 2. 0mg/kg AD04982	1日目に単回注射

30

【 0 3 1 0】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 1 7 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V RNA i 薬、又は対照として H B V RNA i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間 (すなわち皮下注射) に行った。 - 1 日目及び 8 日目に、各群で 4 匹のマウスを試験し (n = 4)、次いで、各群で 1 匹のマウスを安楽死させ、組織学的評

40

50

価を行った。22日目及び29日目に、各群で3匹のマウスを試験した（ $n = 3$ ）。

【0311】

投与前の-1日目、及び次いで8日目、15日目、22日目、及び29日目に血清を採取し、上述の実施例2に示す手順に従って、血清B型肝炎表面抗原（HBsAg）レベルを測定した。実験のデータを以下の表18に示す：

【0312】

【表18】

表18．実施例7のHBV RNAi薬投与後のpHBVマウスにおける、処置前（-1日目）及びPBS対照に対して正規化された平均HBsAgレベル（標準偏差は（+/-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A	1.000±0.347	1.000±0.278	1.000±0.194	1.000±0.318
B	0.117±0.069	0.085±0.039	0.148±0.045	0.198±0.049
C	0.519±0.058	0.375±0.012	0.422±0.046	0.525±0.037
D	0.342±0.062	0.255±0.046	0.272±0.122	0.314±0.068
E	0.279±0.057	0.245±0.032	0.374±0.121	0.304±0.035
F	0.224±0.018	0.161±0.009	0.310±0.016	0.482±0.053
G	0.029±0.010	0.005±0.001	0.004±0.001	0.006±0.001
H	0.016±0.005	0.004±0.001	0.010±0.006	0.015±0.008
I	0.026±0.012	0.008±0.001	0.010±0.002	0.015±0.005

【0313】

試験されたHBV RNAi薬は、測定された全時点にわたって、PBS対照に比べてHBsAgの減少を示した。

【0314】

加えて、血清B型肝炎e抗原（HBeAg）レベルもまた評価した。それぞれの群のマウスから得た試料を最初にプールし、結果として得られた血清試料を一重項状態でアッセイを行った。実験のデータを以下の表に示す：

【0315】

【表19】

表19．実施例7のHBV RNAi薬投与後のpHBVマウスにおける、処置前及びPBS対照に対して正規化された平均HBeAgレベル。

群	8日目	15日目	22日目	29日目	36日目
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.193	0.213	0.260	0.307	0.464
C	0.471	0.424	0.562	0.513	0.705
D	0.335	0.310	0.411	0.442	0.500
E	0.381	0.368	0.355	0.564	0.483
F	0.275	0.255	0.370	0.495	0.449
G	0.323	0.218	0.205	0.250	0.190
H	0.124	0.102	0.099	0.156	0.156
I	0.081	0.059	0.045	0.063	0.086

【0316】

10

20

30

40

50

【表 20】

表 19-1. 実施例 7 の HBV RNAi 薬投与後の pHBV マウスにおける、
処置前及び PBS 対照に対して正規化された平均 HBeAg
ノックダウン倍率 (fold knockdown)。

群	8日目 (倍率KD)	15日目 (倍率KD)	22日目 (倍率KD)	29日目 (倍率KD)	36日目 (倍率KD)
A	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
B	5.2	4.7	3.8	3.3	2.2
C	2.1	2.4	1.8	2.0	1.4
D	3.0	3.2	2.4	2.3	2.0
E	2.6	2.7	2.8	1.8	2.1
F	3.6	3.9	2.7	2.0	2.2
G	3.1	4.6	4.9	4.0	5.3
H	8.1	9.8	10.1	6.4	6.4
I	12.3	17.0	22.3	15.7	11.6

10

【0317】

表 19-1 は、HBeAg と対照とを比較したノックダウン倍率を反映する。これは、
対照 (PBS) 群の正規化 HBeAg レベル / それぞれの RNAi 薬 (複数可) 群の正規
化 HBeAg レベル (すなわち、1.000 / HBeAg レベル) として計算される。表
19-1 に示すデータは、AD04872 (上述のように、HBV ゲノムの位置 261 ~
279 の S ORF に対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む) と
、AD04982 (HBV ゲノムの位置 1781 ~ 1799 の X ORF に対して少なく
とも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む) との組み合わせは、個々の RNAi 薬
単独投与に比べて、HBeAg レベルの更なる減少を示した (例えば、表 19 及び 19-
1 の群 H 及び I を参照)。更に、この実施例からのデータは、AD04872 と AD04
982 との組み合わせが、AD04872 及び AD04982 を個別に投与した場合の H
BeAg の減少倍率 (fold decrease) の合計よりも、更に大きな HBeAg 減少倍率を
もたらしたことを示している。例えば、群 I (3.0 mg / kg AD04872 + 2.
0 mg / kg AD04982 の投与) は 15 日目に HBeAg の減少倍率が 17.0 で
あり、これは、群 G (3.0 mg / kg AD04872) の減少倍率 4.6 と、群 D (2.
0 mg / kg AD04982) の減少倍率 3.2 との和よりも大きい。

20

30

【0318】

更に、血清 HBV DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、-1、8、
15、22、29、及び 36 日目に採取された血清試料の表 17 の群のそれぞれについて
測定した。血清 HBV DNA が、各時点で各動物から単離された。データを以下の表に
示す：

【0319】

40

50

【表 2 1】

表 2 0 . 実施例 7 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル（標準偏差は（+ / -）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A	1. 000±0. 493	1. 000±0. 358	1. 000±0. 424	1. 000±0. 387
B	0. 224±0. 150	0. 263±0. 185	0. 335±0. 204	0. 449±0. 108
C	0. 358±0. 207	0. 428±0. 073	0. 433±0. 220	0. 474±0. 090
D	0. 516±0. 163	0. 523±0. 264	0. 244±0. 123	0. 241±0. 085
E	0. 601±0. 388	0. 319±0. 125	0. 279±0. 138	0. 506±0. 525
F	0. 363±0. 128	0. 374±0. 197	0. 275±0. 146	0. 385±0. 141
G	0. 071±0. 032	0. 022±0. 009	0. 015±0. 015	0. 025±0. 005
H	0. 069±0. 070	0. 018±0. 014	0. 019±0. 020	0. 022±0. 001
I	0. 044±0. 024	0. 033±0. 016	0. 017±0. 012	0. 022±0. 014
群	36日目			
A	1. 000±0. 326			
B	0. 603±0. 068			
C	0. 509±0. 163			
D	0. 543±0. 079			
E	0. 444±0. 407			
F	0. 721±0. 043			
G	0. 058±0. 030			
H	0. 047±0. 021			
I	0. 058±0. 051			

【 0 3 2 0 】

表 2 0 のデータは、試験された R N A i 薬が、個別及び組み合わせの両方とも、P B S 群に比べて、H B V DNA レベルの減少をもたらしたことを示しており、A D 0 4 8 7 2 (S O R F を標的とする) と A D 0 4 9 8 2 (X O R F を標的とする) との組み合わせが、同量の A D 0 4 8 7 2 単独と同程度に、血清 H B V DNA を低下させたことを更に示している。

【 0 3 2 1 】

実施例 8 . p H B V マウスにおける H B V RNA i 薬 : 更なる用量応答及び併用試験。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 2 1 に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表 2 1 に示す投与レジメンに従って、単回 2 0 0 μ L 皮下注射を投与した。

【 0 3 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

表 2 1. 実施例 8 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン	動物の数(n)
1	PBS(RNAi薬なし)	1日目に単回注射	4
2A	4.0mg/kg AD04872+ 1.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
2B	4.0mg/kg AD04872+ 1.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
3A	3.3mg/kg AD04872+ 1.7mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
3B	3.3mg/kg AD04872+ 1.7mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
4A	3.2mg/kg AD04872+ 0.8mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
4B	3.2mg/kg AD04872+ 0.8mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
5A	2.7mg/kg AD04872+ 1.3mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
5B	2.7mg/kg AD04872+ 1.3mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
6A	4.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
6B	4.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
7A	1.7mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
7B	1.7mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
8A	0.8mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
8B	0.8mg/kg AD05070	1日目に単回注射	4
9	1.7mg/kg AD05148	1日目に単回注射	4
10	2.7mg/kg AD04872	1日目に単回注射	3
11	1.7mg/kg AD05147	1日目に単回注射	3
12	4.0mg/kg AD04872	1日目に単回注射	3
13	1.7mg/kg AD05149	1日目に単回注射	3

【0 3 2 3】

加えて、マウスは下記のスケジュールに従って安楽死させる予定である：

- ・ 1 1日目：群 2 A、3 A、4 A、5 A、6 A、7 A 及び 8 A のマウス 2 匹、及び群 9 のマウス 1 匹を安楽死。
- ・ 1 4日目：群 2 A、3 A、4 A、5 A、6 A、7 A、及び 8 A のマウス 2 匹を安楽死。
- ・ 2 1日目：群 2 B、3 B、4 B、5 B、6 B、7 B、及び 8 B のマウス 2 匹を安楽死。
- ・ 2 8日目：群 1、2 B、3 B、4 B、5 B、6 B、7 B、及び 8 B のマウス 2 匹、及び群 1 0 及び 1 2 の全てのマウス（4 匹）を安楽死。

【0 3 2 4】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 2 1 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V R N A i 薬、又は対照として H B V R N A i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V R N A i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。上記の表 1 4 に示すように、各群の 4 匹のマウスを試験し（n = 4）、ただし群 1 0、1 1、1 2 及び 1 3 については 3 匹のマウスを試験した（n = 3）。

【0 3 2 5】

投与前の - 1 日目、及び次いで 8 日目、1 4 日目、2 1 日目、及び 2 8 日目に血清を採

取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原 (H B s A g) レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【 0 3 2 6 】

【表 2 3】

表 2 2 . 実施例 8 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル (標準偏差は (+ / -) として示される)。

群番号	8日目	14日目	21日目	28日目
1	1. 000±0. 089	1. 000±0. 087	1. 000±0. 132	1. 000±0. 138
2A	0. 009±0. 003	0. 005±0. 001		
2B	0. 006±0. 003	0. 002±0. 001	0. 004±0. 001	0. 005±0. 001
3A	0. 032±0. 021	0. 009±0. 004		
3B	0. 028±0. 027	0. 008±0. 006	0. 012±0. 005	0. 015±0. 005
4A	0. 036±0. 020	0. 012±0. 006		
4B	0. 029±0. 025	0. 010±0. 008	0. 015±0. 005	0. 022±0. 004
5A	0. 027±0. 014	0. 008±0. 002		
5B	0. 027±0. 013	0. 007±0. 003	0. 019±0. 004	0. 031±0. 005
6A	0. 058±0. 035	0. 069±0. 039		
6B	0. 117±0. 058	0. 079±0. 047	0. 145±0. 082	0. 135±0. 061
7A	0. 189±0. 100	0. 084±0. 029		
7B	0. 099±0. 010	0. 147±0. 025	0. 267±0. 048	0. 345±0. 063
8A	0. 355±0. 099	0. 366±0. 069		
8B	0. 271±0. 058	0. 334±0. 060	0. 464±0. 055	0. 624±0. 053
9	0. 239±0. 148	0. 179±0. 127	0. 309±0. 213	0. 345±0. 225
10	0. 018±0. 009	0. 005±0. 003	0. 005±0. 002	0. 007±0. 003
11	0. 129±0. 068	0. 138±0. 060	0. 239±0. 092	0. 315±0. 119
12	0. 033±0. 022	0. 002±0. 001	0. 002±0. 001	0. 002±0. 0004
13	0. 200±0. 093	0. 239±0. 114	0. 367±0. 123	0. 477±0. 125

【 0 3 2 7 】

試験された H B V RNA i 薬は、単独と組み合わせの両方において、測定された全時点にわたって、P B S 対照に比べて H B s A g の実質的な減少を示した。

【 0 3 2 8 】

実施例 9 . RNA i 薬の送達。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。1 日目、各マウスに、リン酸緩衝生理食塩水 (「 P B S 」) 中に配合された H B V RNA i 薬 1 0 m g / k g (m p k) を含有する 2 0 0 μ L の単回皮下注射、又は、対照として使用される H B V RNA i 薬を含まないリン酸緩衝生理食塩水 2 0 0 μ L の単回皮下注射を投与した。試験される H B V RNA i 薬には、以下の表 2 3 に示すデュプレックス数を有するものが含まれた。これらはそれぞれ、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5 ' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間 (すなわち皮下注射) に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した (n = 3)。

【 0 3 2 9 】

投与前、及び次いで 8 日目、1 5 日目、2 2 日目、及び 2 9 日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原 (H B s A g) レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【 0 3 3 0 】

【表 2 4】

表 2 3．実施例 9 の H B V R N A i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル（標準偏差は（+／-）として示される）。

RNAi薬	最下値での血清中HBsAg (正規化分画)	最下値での%KD	最下値の日
PBS	1. 000	該当なし	該当なし
AD03498	0. 087±0. 016	91. 3%	8
AD03499	0. 069±0. 011	93. 1%	15
AD03500	0. 095±0. 031	90. 5%	8
AD03501	0. 046±0. 020	95. 4%	15

10

【0 3 3 1】

上記の表 2 3 に示す H B V R N A i 薬はそれぞれ、H B V ゲノムの位置 1 7 8 1 ~ 1 7 9 9 で X O R F に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含んでいた。各 R N A i 薬が、P B S 対照に比べて有意なノックダウンを示した。

【0 3 3 2】

実施例 1 0 . p H B V マウスにおける H B V R N A i 薬：更なる併用試験。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 2 4 に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表 2 4 に示す投与レジメンに従って、単回 2 0 0 μ L 皮下注射を投与した。

20

【0 3 3 3】

【表 2 5】

表 2 4．実施例 1 0 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS群I(RNAi薬なし)	1日目及び22日目に単回注射
B	PBS群II(RNAi薬なし)	1日目及び22日目に単回注射
C	3. 0mg/kg AD04585	1日目、22日目、50日目、及び64日目に単回注射
D	3. 0mg/kg AD04771	1日目及び22日目に単回注射
E	3. 0mg/kg AD04580	1日目、22日目、50日目、及び64日目に単回注射
F	3. 0mg/kg AD04776	1日目及び22日目に単回注射
G	1. 5mg/kg AD04585 + 1. 5mg/kg AD04580	1日目、22日目、50日目、及び64日目に単回注射
H	1. 5mg/kg AD04771 + 1. 5mg/kg AD04776	1日目及び22日目に単回注射
I	2. 0mg/kg AD04771 + 1. 0mg/kg AD04776	1日目及び22日目に単回注射
J	2. 25mg/kg AD04771 + 0. 75mg/kg AD04776	1日目及び22日目に単回注射

30

40

【0 3 3 4】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 2 4 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V R N A i 薬、又は対照として H B V R N A i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V R N A i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5 ' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した（n = 3）。

【0 3 3 5】

50

血清を、投与前、及び - 1 日目、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、36 日目、43 日目、50 日目、57 日目、及び 64 日目に採取した。血清 B 型肝炎表面抗原 (HBsAg) レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、測定した。実験のデータを以下に示す：

【0336】

【表 26】

表 25. 実施例 10 の HBV RNAi 薬投与後の pHBV マウスにおける、処置前及び PBS 対照 (群 A を対照として使用) に対して正規化された平均 HBsAg レベル (標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8 日目	15 日目	22 日目
A	1.000±0.146	1.000±0.095	1.000±0.202
B	0.931±0.161	1.091±0.156	1.132±0.259
C	0.071±0.050	0.031±0.022	0.024±0.013
D	0.134±0.035	0.130±0.024	0.119±0.028
E	0.015±0.001	0.041±0.012	0.087±0.015
F	0.197±0.081	0.308±0.138	0.476±0.156
G	0.029±0.015	0.069±0.029	0.094±0.016
H	0.191±0.057	0.315±0.094	0.420±0.126
I	0.153±0.050	0.194±0.076	0.233±0.116
J	0.155±0.059	0.177±0.067	0.316±0.117
群	29 日目	36 日目	43 日目
A	1.000±0.182	1.000±0.287	1.000±0.298
B	1.417±0.414	1.166±0.248	
C	0.007±0.005	0.004±0.003	0.006±0.001
D	0.048±0.023	0.036±0.020	0.052±0.027
E	0.014±0.006	0.021±0.011	0.026±0.011
F	0.246±0.081	0.244±0.097	0.179±0.061
G	0.023±0.009	0.027±0.009	0.037±0.013
H	0.200±0.080	0.185±0.081	0.194±0.055
I	0.141±0.082	0.133±0.051	0.151±0.082
J	0.133±0.064	0.102±0.039	0.129±0.050
群	50 日目	57 日目	64 日目
A	1.000±0.296	1.000±0.394	1.000±0.395
B			
C	0.015±0.0001	0.002±0.001	0.004±0.001
D			
E	0.052±0.015	0.009±0.002	0.018±0.007
F			
G	0.076±0.020	0.012±0.003	0.020±0.007
H			
I			
J			

【0337】

HBV RNAi 薬 AD04585 及び AD04771 を、表 1 及び 2 に示すように、HBV ゲノムの位置 257 ~ 275 の S オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。HBV RNAi 薬 A

D 0 4 5 8 0 及び A D 0 4 7 7 6 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 1 7 8 1 ~ 1 7 9 9 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。試験された H B V R N A i 薬は、単独と組み合わせの両方において、測定された全時点にわたって、P B S 対照に比べて H B s A g の減少を示した。それぞれの後続の用量が、H B s A g 低減の最下値を更に低下させた。
【 0 3 3 8 】

加えて、血清 H B V D N A レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、- 1、8、15、22、29、及び 36、43 及び 50 日目に採取された血清試料の、表 2 4 の群 C (3 . 0 m g / k g A D 0 4 5 8 5)、群 E (3 . 0 m g / k g A D 0 4 5 8 0)、及び群 G (1 . 5 m g / k g A D 0 4 5 8 5 + 1 . 5 m g / k g A D 0 4 5 8 0) について測定した。血清 H B V D N A が、これらの時点のそれぞれで各動物から単離された。データを以下の表に示す：

【 0 3 3 9 】

【表 2 7】

表 2 6 . 実施例 1 0 の H B V R N A i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照 (P B S 群 A 及び B の両方) に対して正規化された平均血清 H B V D N A レベル (標準偏差は (+ / -) として示される) 。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A/B (PBS)	1. 000±0. 316	1. 000±0. 427	1. 000±0. 428	1. 000±0. 475
C	0. 172±0. 151	0. 142±0. 079	0. 252±0. 132	0. 072±0. 086
E	0. 024±0. 015	0. 042±0. 037	0. 449±0. 184	0. 053±0. 048
G	0. 093±0. 053	0. 083±0. 037	0. 370±0. 153	0. 211±0. 060
群	36日目	43日目	50日目	
A/B (PBS)	1. 000±0. 623	1. 000±0. 532	1. 000±0. 532	
C	0. 044±0. 020	0. 104±0. 033	0. 156±0. 016	
E	0. 012±0. 004	0. 061±0. 031	0. 161±0. 019	
G	0. 048±0. 022	0. 147±0. 010	0. 295±0. 041	

【 0 3 4 0 】

表 2 6 のデータは、試験された H B V R N A i 薬が、個別及び組み合わせの両方とも、P B S 群に比べて、H B V D N A レベルの減少をもたらしたことを示している。

【 0 3 4 1 】

実施例 1 1 . p H B V マウスにおける H B V R N A i 薬：併用試験。

上述の実施例 2 に記載の p H B V マウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 2 7 に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表 2 7 に示す投与レジメンに従って、単回 2 0 0 μ L 皮下注射を投与した。

【 0 3 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 8】

表 2 7. 実施例 1 1 の p H B V マウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS (RNAi薬なし)	1 日目に単回注射
B	3. 0mg/kg AD04962	1 日目に単回注射
C	3. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
D	1. 5mg/kg AD04962 + 1. 5mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
E	2. 0mg/kg AD04962 + 1. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
F	2. 25mg/kg AD04962 + 0. 75mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
G	1. 5mg/kg AD04962 + 1. 5mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
H	3. 0mg/kg AD04962 + 3. 0mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
I	1. 5mg/kg AD04962 + 1. 5mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
J	4. 5mg/kg AD04962 + 4. 5mg/kg AD04963	1 日目に単回注射
K	3. 0mg/kg AD04872	1 日目に単回注射
L	3. 0mg/kg AD04882	1 日目に単回注射
M	3. 0mg/kg AD04885	1 日目に単回注射

【 0 3 4 3】

各マウスに 2 0 0 μ L の単回皮下投与が行われた。これには、表 2 4 に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量の H B V RNA i 薬、又は対照として H B V RNA i 薬を含まない 2 0 0 μ L のリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各 H B V RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。各群で 3 匹のマウスを試験した（ $n = 3$ ）。

【 0 3 4 4】

投与前の - 1 日目、及び次いで 8 日目、1 5 日目、2 2 日目、2 9 日目、及び 3 6 日目に血清を採取し（ただし群 L（A D 0 4 8 8 2）及び群 M（A D 0 4 8 8 5）を除く）、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原（H B s A g）レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【 0 3 4 5】

10

20

30

40

50

【表 2 9】

表 2 8. 実施例 1 1 の H B V R N A i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g (標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目
A	1.000±0.048	1.000±0.144	1.000±0.083
B	0.125±0.025	0.083±0.014	0.063±0.016
C	0.019±0.005	0.035±0.008	0.052±0.009
D	0.054±0.013	0.079±0.009	0.108±0.021
E	0.099±0.025	0.098±0.053	0.142±0.050
F	0.070±0.015	0.103±0.036	0.140±0.020
G	0.041±0.021	0.012±0.008	0.021±0.013
H	0.020±0.006	0.044±0.010	0.062±0.019
I	0.077±0.017	0.019±0.004	0.004±0.001
J	0.012±0.002	0.021±0.001	0.032±0.002
K	0.045±0.014	0.013±0.005	0.008±0.005
L	0.106±0.020	0.176±0.044	0.215±0.082
M	0.275±0.029	0.378±0.080	0.572±0.043
群	29日目	36日目	
A	1.000±0.209	1.000±0.270	
B	0.079±0.020	0.096±0.007	
C	0.087±0.014	0.164±0.026	
D	0.176±0.014	0.292±0.030	
E	0.223±0.082	0.373±0.150	
F	0.213±0.020	0.328±0.034	
G	0.031±0.013	0.078±0.064	
H	0.97±0.028	0.160±0.060	
I	0.008±0.001	0.002±0.0003	
J	0.044±0.008	0.069±0.009	
K	0.011±0.007	0.011±0.009	
L	0.299±0.009		
M	0.792±0.057		

【0 3 4 6】

R N A i 薬 A D 0 4 9 6 2 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 2 5 7 ~ 2 7 5 の S オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。R N A i 薬 A D 0 4 8 7 2 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 2 6 1 ~ 2 7 9 の S オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。R N A i 薬 A D 0 4 9 6 3 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 1 7 8 1 ~ 1 7 9 9 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。R N A i 薬 A D 0 4 8 8 2 及び A D 0 4 8 8 5 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 1 7 8 0 ~ 1 7 9 8 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。上記の表 9 に示す H B V R N A i 薬はそれぞれ、測定された全時点にわたって、個別と組み合わせの両方で、P B S 対照と比較して、H B s A g の減少を示した。再投与により、H B s A g の更なる低下が得られた。

【 0 3 4 7 】

加えて、群 L 及び M を除く全ての群について、血清 B 型肝炎 e 抗原 (H B e A g) レベルもまた評価した。それぞれの群のマウスから得た試料を最初にプールし、結果として得られた血清試料を一重項状態でアッセイを行った。実験のデータを以下の表に示す：

【 0 3 4 8 】

【表 3 0 】

表 2 9 . 実施例 1 1 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B e A g レベル。

群	8日目	22日目	29日目	36日目
A	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000
B	0. 425	0. 291	0. 371	0. 365
C	0. 152	0. 170	0. 328	0. 356
D	0. 266	0. 249	0. 456	0. 440
E	0. 278	0. 295	0. 589	0. 561
F	0. 306	0. 291	0. 718	0. 522
G	0. 183	0. 138	0. 291	0. 249
H	0. 091	0. 131	0. 315	0. 238
I	0. 183	0. 052	0. 069	0. 036
J	0. 089	0. 114	0. 190	0. 236
K	0. 458	0. 172	0. 322	0. 207

10

20

【 0 3 4 9 】

更に、血清 H B V DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、8、15、22、及び 29 日目に採取された血清試料の表 2 7 の群のそれぞれについて測定した。血清 H B V DNA が、各時点で各動物から単離された。データを以下の表に示す：

【 0 3 5 0 】

【表 3 1 】

表 3 0 . 実施例 7 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル (標準偏差は (+ / -) として示される)。

30

群	8日目	15日目	22日目	29日目
A	1. 000±0. 232	1. 000±0. 463	1. 000±0. 272	1. 000±0. 205
B	0. 577±0. 219	0. 222±0. 064	0. 196±0. 055	0. 261±0. 117
C	0. 165±0. 051	0. 070±0. 042	0. 142±0. 105	0. 228±0. 174
D	0. 343±0. 125	0. 307±0. 091	0. 300±0. 092	0. 356±0. 032
E	0. 262±0. 033	0. 216±0. 018	0. 227±0. 028	0. 279±0. 090
F	0. 320±0. 134	0. 332±0. 208	0. 344±0. 209	0. 338±0. 211
G	0. 231±0. 036	0. 034±0. 024	0. 069±0. 039	0. 077±0. 020
H	0. 229±0. 101	0. 155±0. 121	0. 148±0. 079	0. 215±0. 035
I	0. 281±0. 129	0. 109±0. 071	0. 023±0. 019	0. 011±0. 009
J	0. 078±0. 050	0. 061±0. 020	0. 074±0. 029	0. 056±0. 030
K	0. 314±0. 064	0. 119±0. 043	0. 076±0. 067	0. 078±0. 095
L	0. 295±0. 077	0. 305±0. 101	0. 213±0. 088	0. 186±0. 084
M	0. 515±0. 247	0. 505±0. 293	0. 488±0. 318	0. 478±0. 267

40

【 0 3 5 1 】

表 3 0 のデータは、試験された RNA i 薬が、個別及び組み合わせの両方とも、P B S 群に比べて、H B V DNA レベルの減少をもたらしたことを示している。再投与により

50

、HBV DNAの更なる低下が得られた。

【0352】

実施例12．pHBVマウスにおけるHBV RNAi薬。

上述の実施例2に記載のpHBVマウスモデルを使用した。マウスは、以下の表31に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表31に示す投与レジメンに従って、単回200μL皮下注射を投与した。

【0353】

【表32】

表31．実施例12のpHBVマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
A	PBS(RNAi薬なし)	1日目に単回注射
B	2.0mg/kg AD04871	1日目に単回注射
C	2.0mg/kg AD04872	1日目に単回注射
D	2.0mg/kg AD04874	1日目に単回注射
E	2.0mg/kg AD04875	1日目に単回注射
F	2.0mg/kg AD04876	1日目に単回注射
G	2.0mg/kg AD04881	1日目に単回注射
H	2.0mg/kg AD04883	1日目に単回注射
I	2.0mg/kg AD04884	1日目に単回注射

10

20

【0354】

各マウスに200μLの単回皮下投与が行われた。これには、表24に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200μLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間(すなわち皮下注射)に行った。各群で3匹のマウスを試験した(n=3)。

【0355】

血清を、投与前、次いで8日目、15日目、及び22日目に採取した。群A(PBS)、群B(2.0mg/kg AD04871)、群C(2.0mg/kg AD04872)、群D(2.0mg/kg AD04874)、群E(2.0mg/kg AD04875)、及び群F(2.0mg/kg AD04876)は更に、29日目、36日目、43日目、及び50日目に血清を採取した。血清B型肝炎表面抗原(HBsAg)レベルを、上述の実施例2に示す手順に従って、測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【0356】

30

40

50

【表 3 3】

表 3 2. 実施例 1 2 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8 日目	15 日目	22 日目	29 日目
A	1. 000±0. 132	1. 000±0. 089	1. 000±0. 080	1. 000±0. 098
B	0. 102±0. 034	0. 041±0. 021	0. 049±0. 033	0. 048±0. 031
C	0. 153±0. 064	0. 064±0. 032	0. 063±0. 034	0. 042±0. 017
D	0. 123±0. 022	0. 049±0. 017	0. 039±0. 010	0. 023±0. 001
E	0. 190±0. 075	0. 094±0. 038	0. 107±0. 061	0. 081±0. 051
F	0. 190±0. 031	0. 076±0. 035	0. 084±0. 038	0. 049±0. 024
G	0. 159±0. 047	0. 216±0. 057	0. 235±0. 151	
H	0. 508±0. 078	0. 666±0. 131	0. 543±0. 048	
I	0. 279±0. 087	0. 357±0. 078	0. 614±0. 156	
群	36 日目	43 日目	50 日目	
A	1. 000±0. 065	1. 000±0. 242	1. 000±0. 224	
B	0. 054±0. 038	0. 064±0. 030	0. 092±0. 025	
C	0. 049±0. 017	0. 054±0. 015	0. 085±0. 010	
D	0. 037±0. 004	0. 037±0. 010	0. 065±0. 012	
E	0. 126±0. 077	0. 125±0. 063	0. 170±0. 079	
F	0. 089±0. 044	0. 082±0. 034	0. 115±0. 028	
G				
H				
I				

【 0 3 5 7】

H B V RNA i 薬 A D 0 4 8 7 1、A D 0 4 8 7 2、A D 0 4 8 7 4、A D 0 4 8 7 5、及び A D 0 4 8 7 6 を、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 2 6 1 ~ 2 7 9 の S オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するようにそれぞれ設計した。これらの H B V RNA i 薬のそれぞれが、P B S 対照に比べて実質的な H B s A g 低下を示した。例えば、A D 0 4 8 7 1 (群 B)、A D 0 4 8 7 2 (群 C) 及び A D 0 4 8 7 4 (群 D)、及び A D 0 4 8 7 6 (群 F) それぞれの単回投与量 2 m g / k g では、対照に比べて、1 5 日目 ~ 4 3 日目に測定された各時点において、H B s A g が 9 0 % 超の低下を示した。H B V RNA i 薬 A D 0 4 8 8 1、A D 0 4 8 8 3、A D 0 4 8 8 4 をそれぞれ、表 1 及び 2 に示すように、H B V ゲノムの位置 1 7 8 0 ~ 1 7 9 8 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。

【 0 3 5 8】

実施例 1 3 . X 領域ノックアウトモデルマウスにおける H B V RNA i 薬の用量応答及び組み合わせ。

H B V m R N A の S O R F に位置する領域に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む RNA i 薬と、H B V m R N A の X O R F に位置する領域に少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含む第 2 の RNA i 薬との組み合わせの影響を評価する別の手段として、表 1 及び 2 に示すように位置 1 7 8 0 及び 1 7 8 1 を標的とする H B V RNA i 薬に対して、結合部位をノックアウトした H B V ゲノムを含むプラスミドを生成した (以下、X 領域ノックアウトマウスと呼ぶ)。このモデルは、これらの RNA i 薬の結合部位内で、p H B V 1 . 3 プラスミドの 1 0 個の塩基を突然変異させること

によって生成された。HBV mRNAの残りの部分（S領域を含む）は機能的なままであった。よって、このHBVマウスモデルにおいて、本明細書に開示されるHBVゲノムの位置1780及び1781を標的とするアンチセンス鎖を有するHBV RNAi薬を含めると、発現のサイレンシングに関して無効となることが期待される。

【0359】

マウスは、以下の表33に示すものを含む様々な群に分けられ、マウスには以下の表に示す投与レジメンに従って200 µL皮下注射が行われた。

【0360】

【表34】

表33. 実施例13のX領域ノックアウトマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン	動物の数(n)
1	PBS(RNAi薬なし)	1日目に単回注射	4
2	2.0mg/kg AD04585+ 1.0mg/kg AD04963	1日目に単回注射	4
3	2.0mg/kg AD04872+ 1.0mg/kg AD04963	1日目に単回注射	4
4	2.5mg/kg AD04585+ 0.5mg/kg AD04963	1日目に単回注射	4
5	2.5mg/kg AD04872+ 0.5mg/kg AD04963	1日目に単回注射	4
6	3.0mg/kg AD04963	15日目に単回注射	1

【0361】

各マウスに200 µLの単回皮下投与が行われた。これには、表33に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200 µLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。各群で3匹のマウスを試験した（n=3）。

【0362】

5日目、8日目、15日目、22日目、及び29日目に血清を採取し、上述の実施例2に示す手順に従って、血清B型肝炎表面抗原（HBsAg）レベルを測定した。更に36日目及び43日目に、群1～5について血清を採取した。実験のデータを以下の表34に示す：

【0363】

10

20

30

40

50

【表 3 5】

表 3 4 . 実施例 1 3 の H B V RNA i 薬投与後の X 領域ノックアウトマウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g (標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	15日目	22日目
1	1.000±0.186	1.000±0.165	1.000±0.132
2	0.061±0.034	0.041±0.035	0.030±0.015
3	0.020±0.011	0.007±0.003	0.003±0.002
4	0.063±0.039	0.022±0.011	0.029±0.013
5	0.027±0.014	0.003±0.003	0.001±0.001
6	0.948	1.360	1.652
	29日目	36日目	43日目
1	1.000±0.059	1.000±0.044	1.000±0.045
2	0.051±0.029	0.062±0.029	
3	0.004±0.003	0.008±0.003	0.018±0.007
4	0.040±0.022	0.061±0.030	
5	0.002±0.001	0.003±0.002	0.014±0.006
6	1.831		

10

20

【0 3 6 4】

予想されたように、群 6 (3.0 mg/kg の H B V RNA i 薬 A D 0 4 9 6 3 の単回投与量であり、H B V ゲノムの位置 1 7 8 1 ~ 1 7 9 9 の X オープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む) は、H B s A g のノックダウンをもたらすことができなかった。加えて、群 2 ~ 5 のそれぞれが、P B S 対照に比べて実質的な H B s A g のノックダウンをもたらし、群 3 及び群 5 の両方は、最下値 (22 日目) で H B s A g の 2 ログ超の低下を示した。

【0 3 6 5】

実施例 1 4 . X 領域ノックアウトモデルマウスにおける H B V RNA i 薬の用量応答及び組み合わせ。

上述の実施例 1 3 に記載の X 領域ノックアウトマウスモデルを使用した。マウスは、以下の表 3 1 に示すものを含む様々な群に分けられ、各マウスには、表 3 5 に示す投与レジメンに従って、単回 200 µL 皮下注射を投与した。

【0 3 6 6】

【表 3 6】

表 3 5 . 実施例 1 4 の X 領域ノックアウトマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
1	PBS (RNAi薬なし)	1 日目に単回注射
2	2.0 mg/kg AD04872	1 日目に単回注射
3	2.0 mg/kg AD04872 + 0.7 mg/kg AD05070	1 日目に単回注射
4	2.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 日目に単回注射
5	2.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD05070	1 日目に単回注射

40

【0 3 6 7】

各マウスに 200 µL の単回皮下投与が行われた。これには、表 3 5 に示されるように

50

、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200μLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。表35に示す各群で3匹のマウスを試験した（n=3）。

【0368】

1日目（投与前）、8日目、15日目、22日目、及び29日目に血清を採取し、上述の実施例2に示す手順に従って、血清B型肝炎表面抗原（HBsAg）レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

【0369】

【表37】

表36．実施例14のX領域ノックアウトマウスにおける、処置前及びPBS対照に対して正規化された平均HBsAgレベル。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
1	1.000±0.120	1.000±0.255	1.000±0.224	1.000±0.143
2	0.104±0.104	0.009±0.009	0.005±0.004	0.005±0.003
3	0.076±0.041	0.010±0.009	0.006±0.005	0.005±0.005
4	0.036±0.008	0.002±0.001	0.001±0.001	0.002±0.001
5	0.019±0.017	0.003±0.002	0.003±0.001	0.004±0.000

【0370】

表36は、単独で投与されたHBV RNAi薬AD04872、並びに、AD04872（HBVゲノムの位置261～279のSオープンリーディングに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む）とAD05070（HBVゲノムの位置1781～1799のXオープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む）との組み合わせが、測定された各時点にわたって、PBS対照に比べてHBsAgの有意なノックダウンをもたらしたことを示している。このX領域ノックアウトモデルにおける突然変異した標的部位に対するHBV RNAi薬AD05070を0.7mg/kg～2mg/kg追加した場合、2mg/kg HBV RNAi薬AD04872の活性を低下させなかった。

【0371】

加えて、上述の実施例2に示す手順に従って、8、15、及び22日目に採取された血清試料で血清HBV DNAレベルを測定した。各群からの血清をプールし、一重項状態で血清からDNAを単離した。データを以下の表に示す：

【0372】

【表38】

表37．実施例14のHBV RNAi薬投与後のX領域ノックアウトマウスにおける、処置前及びPBS対照に対して正規化された平均血清HBV DNAレベル（標準偏差は（+/-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目
1	1.000±0.007	1.000±0.011	1.000±0.066
2	0.225±0.019	0.022±0.001	0.036±0.001
3	0.151±0.002	0.029±0.001	0.042±0.003
4	0.140±0.006	0.016±0.000	0.018±0.000
5	0.069±0.002	0.018±0.003	0.043±0.002

【0373】

このX領域ノックアウトモデルにおける突然変異した標的部位に対するHBV RNAi薬AD05070を0.7mg/kg～2mg/kg追加した場合、2mg/kg HBV RNAi薬AD04872の活性を低下させなかった。

【0374】

実施例15. pHBVマウスにおけるHBV RNAi薬。

上述の実施例2に記載のpHBVマウスモデルを使用した。マウスは、以下の表38に示すものを含む様々な群に分けられ、各マウスには、表38に示す投与レジメンに従って、単回200μL皮下注射を投与した。

【0375】

【表39】

表38. 実施例15のpHBVマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
1	PBS(RNAi薬なし)	1日目に単回注射
2	2.0mg/kg AD04776	1日目に単回注射
3	2.0mg/kg AD05069	1日目に単回注射
4	2.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射
5	2.0mg/kg AD05071	1日目に単回注射
6	2.0mg/kg AD05073	1日目に単回注射
7	2.0mg/kg AD05074	1日目に単回注射
8	2.0mg/kg AD05075	1日目に単回注射
9	2.0mg/kg AD05076	1日目に単回注射
10	2.0mg/kg AD05077	1日目に単回注射
11	2.0mg/kg AD05078	1日目に単回注射
12	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD04776	1日目に単回注射
13	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05069	1日目に単回注射
14	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射
15	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05071	1日目に単回注射
16	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05073	1日目に単回注射
17	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05074	1日目に単回注射
18	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05075	1日目に単回注射
19	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05076	1日目に単回注射
20	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05077	1日目に単回注射
21	3.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD05078	1日目に単回注射

【0376】

各マウスに200μLの単回皮下投与が行われた。これには、表38に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200μLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間(すなわち皮下注射)に行った。各群で3匹のマウスを試験した(

n = 3)。

【 0 3 7 7 】

血清を、投与前の - 1 日目、次いで 8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、36 日目、43 日目、及び 50 日目に採取した。血清 B 型肝炎表面抗原 (HBsAg) レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、測定した。実験のデータを以下の表 39 に示す。平均 HBsAg は、HBsAg の正規化された平均値を反映している：

【 0 3 7 8 】

【表 40】

表 39. 実施例 15 の HBV RNA i 薬投与後の pHBV マウスにおける、処置前及び PBS 対照に対して正規化された平均 HBsAg。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
1	1.000±0.119	1.000±0.047	1.000±0.080	1.000±0.027
2	0.339±0.076	0.414±0.126	0.385±0.067	0.450±0.075
3	0.240±0.096	0.361±0.078	0.446±0.073	0.508±0.114
4	0.081±0.026	0.127±0.031	0.223±0.057	0.330±0.112
5	0.452±0.020	0.431±0.126	0.373±0.079	0.383±0.080
6	0.375±0.181	0.632±0.192	0.463±0.117	0.567±0.159
7	0.325±0.032	0.438±0.125	0.393±0.056	0.443±0.096
8	0.155±0.031	0.322±0.019	0.333±0.077	0.463±0.043
9	0.245±0.063	0.467±0.090	0.477±0.045	0.562±0.049
10	0.120±0.062	0.173±0.029	0.289±0.019	0.331±0.042
11	0.128±0.042	0.172±0.046	0.179±0.015	0.215±0.049
12	0.040±0.015	0.014±0.004	0.014±0.006	0.015±0.004
13	0.050±0.020	0.015±0.011	0.017±0.008	0.022±0.009
14	0.020±0.011	0.011±0.006	0.015±0.006	0.023±0.004
15	0.043±0.005	0.013±0.005	0.010±0.002	0.011±0.004
16	0.021±0.017	0.008±0.004	0.012±0.003	0.011±0.001
17	0.032±0.011	0.009±0.003	0.007±0.002	0.008±0.0003
18	0.023±0.014	0.010±0.006	0.009±0.006	0.009±0.004
19	0.025±0.006	0.010±0.004	0.009±0.002	0.010±0.003
20	0.061±0.013	0.027±0.006	0.020±0.003	0.029±0.006
21	0.061±0.050	0.013±0.010	0.012±0.005	0.018±0.006
群	36日目	43日目	50日目	
1	1.000±0.031	1.000±0.114	1.000±0.112	
2	0.617±0.116	0.643±0.154	0.665±0.199	
3	0.638±0.067	0.743±0.015	0.792±0.115	
4	0.472±0.121	0.515±0.126	0.689±0.167	
5	0.591±0.159	0.604±0.086	0.709±0.115	
6	0.717±0.136	0.686±0.194	0.781±0.301	
7	0.586±0.069	0.775±0.143	0.747±0.095	
8	0.666±0.066	0.803±0.096	0.856±0.180	
9	0.801±0.047	0.667±0.055	0.765±0.208	
10	0.640±0.059	0.667±0.034	0.742±0.133	
11	0.429±0.063	0.383±0.005	0.497±0.060	
12	0.037±0.013	0.044±0.012	0.056±0.014	
13	0.046±0.011	0.055±0.010	0.070±0.010	
14	0.054±0.016	0.070±0.018	0.096±0.012	
15	0.029±0.011	0.032±0.015	0.051±0.020	
16	0.033±0.005	0.038±0.007	0.062±0.004	
17	0.021±0.002	0.031±0.004	0.061±0.005	
18	0.034±0.014	0.047±0.016	0.079±0.017	
19	0.028±0.005	0.037±0.006	0.060±0.011	
20	0.070±0.009	0.063±0.018	0.097±0.018	
21	0.040±0.012	0.066±0.007	0.120±0.036	

【 0 3 7 9 】

RNA i 薬 AD04776、AD05069、AD05070、AD05071、AD

05073、及びAD05074をそれぞれ、表1及び2に示すように、HBVゲノムの位置1781～1799のXオープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。RNAi薬AD05075、AD05076、AD05077、及びAD05078をそれぞれ、表1及び2に示すように、HBVゲノムの位置1780～1798のXオープンリーディングフレームに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を有するように設計した。

【0380】

表39は、単独で投与されたHBV RNAi薬AD04776、AD05069、AD05070、AD05071、AD05073、及びAD05074、又はそれらのAD04872（HBVゲノムの位置261～279のSオープンリーディングに対して少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖を含む）との組み合わせが、測定された各時点にわたって、PBS対照に比べてHBsAgの有意なノックダウンをもたらしたことを示している。

【0381】

実施例16．pHBVマウスにおけるHBV RNAi薬：用量応答及び併用試験。

上述の実施例2に記載のpHBVマウスモデルを使用した。マウスは、以下の表40に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表40に示す投与レジメンに従って、単回200μL皮下注射を投与した。

【0382】

【表41】

表40．実施例16のpHBVマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
1	PBS(RNAi薬なし)	1日目に単回注射
2	3.2mg/kg AD04872	1日目に単回注射
3	3.2mg/kg AD04872	1日目及び22日目に単回注射
4	3.0mg/kg AD04872+ 0.8mg/kg AD05070	1日目に単回注射
5	3.0mg/kg AD04872+ 0.8mg/kg AD05070	1日目及び22日目に単回注射
6	3.0mg/kg AD04872+ 1.0mg/kg AD05070	1日目に単回注射
7	3.0mg/kg AD04872+ 1.0mg/kg AD05070	1日目及び22日目に単回注射
8	2.7mg/kg AD04872+ 1.3mg/kg AD05070	1日目に単回注射
9	2.7mg/kg AD04872+ 1.3mg/kg AD05070	1日目及び22日目に単回注射
10	2.0mg/kg AD04872+ 2.0mg/kg AD04776	1日目及び22日目に単回注射
11	0.8mg/kg AD05070	1日目及び22日目に単回注射
12	1.3mg/kg AD05070	1日目及び22日目に単回注射

【0383】

各マウスに200μLの単回皮下投与が行われた。これには、表40に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200μLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。各群で6匹のマウスを試験した（n=6）。

【0384】

投与前、及び次いで8日目、15日目、22日目、及び29日目に血清を採取し、上述の実施例2に示す手順に従って、血清B型肝炎表面抗原（HBsAg）レベルを測定した。実験のデータを以下の表41に示す：

【0385】

【表42】

表41．実施例16のHBV RNAi薬投与後のpHBVマウスにおける、処置前及びPBS対照に対して正規化された平均HBsAgレベル（標準偏差は（+／-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
1	1.000±0.117	1.000±0.213	1.000±0.169	1.000±0.130
2	0.050±0.018	0.015±0.007	0.011±0.005	0.009±0.006
3	0.051±0.037	0.014±0.011	0.010±0.006	0.002±0.001
4	0.029±0.018	0.010±0.006	0.011±0.006	0.010±0.005
5	0.022±0.003	0.007±0.001	0.009±0.003	0.001±0.001
6	0.027±0.012	0.007±0.004	0.008±0.005	0.011±0.005
7	0.028±0.012	0.010±0.005	0.009±0.005	0.001±0.000
8	0.033±0.016	0.016±0.008	0.020±0.009	0.021±0.011
9	0.034±0.025	0.015±0.011	0.018±0.013	0.003±0.002
10	0.038±0.021	0.015±0.005	0.019±0.004	0.003±0.001
11	0.446±0.143	0.376±0.120	0.474±0.149	0.338±0.123
12	0.307±0.111	0.257±0.122	0.236±0.057	0.138±0.031

【0386】

試験されたHBV RNAi薬は、個別と組み合わせの両方において、測定された全時点にわたって、PBS対照に比べてHBsAgの減少を示した。HBsAg発現は、22日目に再投与された全ての群で更に低下した。

【0387】

加えて、血清B型肝炎e抗原（HBeAg）レベルもまた評価した。8日目の測定については、各群の全6匹のマウスの血清試料がプールされ、結果として得られた試料を一重項状態でアッセイを行った。-1日目、15日目、22日目、及び29日目の測定については、各群の6匹のマウスが各群内で対にされ、それぞれの血清試料がプールされ、各群につき3つのサブ群を形成した。各群の3つのサブ群それぞれの血清試料について、アッセイが行われた。実験のデータを以下の表42に示す：

【0388】

10

20

30

40

50

【表 4 3】

表 4 2. 実施例 1 6 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B e A g レベル（1 5、2 2、及び 2 9 日目の標準偏差は（+／-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目	29日目
1	1. 000	1. 000±0. 011	1. 000±0. 170	1. 000±0. 173
2	0. 510	0. 308±0. 031	0. 217±0. 021	0. 226±0. 035
3	0. 488	0. 301±0. 065	0. 283±0. 081	0. 147±0. 030
4	0. 213	0. 216±0. 067	0. 192±0. 029	0. 141±0. 048
5	0. 192	0. 211±0. 053	0. 216±0. 088	0. 047±0. 016
6	0. 176	0. 163±0. 022	0. 238±0. 069	0. 117±0. 011
7	0. 165	0. 175±0. 046	0. 215±0. 061	0. 028±0. 012
8	0. 128	0. 166±0. 065	0. 386±0. 284	0. 167±0. 118
9	0. 172	0. 171±0. 037	0. 244±0. 052	0. 032±0. 010
10	0. 180	0. 211±0. 012	0. 283±0. 034	0. 034±0. 001
11	0. 634	0. 594±0. 082	0. 840±0. 152	0. 271±0. 029
12	0. 486	0. 441±0. 066	0. 804±0. 096	0. 214±0. 039

10

【0 3 8 9】

20

試験された H B V RNA i 薬は、個別と組み合わせの両方において、測定された全時点にわたって、生理食塩水対照に比べて H B e A g の減少を示した。H B e A g 発現は、2 2 日目に再投与された全ての群で更に低下した。

【0 3 9 0】

更に、血清 H B V DNA レベルを、上述の実施例 2 に示す手順に従って、- 1、8、1 5、及び 2 2 日目に採取された血清試料の表 4 0 の群のそれぞれについて測定した。各対のマウスの血清をプールし、単一分離で各血清プールから DNA を単離した。データを以下の表に示す：

【0 3 9 1】

【表 4 4】

30

表 4 3. 実施例 1 6 の H B V RNA i 薬投与後の p H B V マウスにおける、処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均血清 H B V DNA レベル（標準偏差は（+／-）として示される）。

群	8日目	15日目	22日目
1	1. 000±0. 122	1. 000±0. 299	1. 000±0. 241
2	0. 312±0. 016	0. 126±0. 008	0. 087±0. 018
3	0. 264±0. 065	0. 081±0. 023	0. 073±0. 028
4	0. 321±0. 254	0. 120±0. 066	0. 134±0. 101
5	0. 319±0. 081	0. 108±0. 038	0. 098±0. 051
6	0. 260±0. 095	0. 068±0. 010	0. 076±0. 031
7	0. 170±0. 028	0. 082±0. 013	0. 062±0. 018
8	0. 188±0. 020	0. 192±0. 160	0. 307±0. 309
9	0. 242±0. 003	0. 100±0. 042	0. 075±0. 028
10	0. 322±0. 028	0. 159±0. 025	0. 086±0. 016
11	1. 124±0. 142	0. 742±0. 127	0. 807±0. 192
12	1. 004±0. 144	0. 541±0. 340	0. 569±0. 060

40

【0 3 9 2】

試験された H B V RNA i 薬は、個別と組み合わせの両方において、測定された全時

50

点にわたって、生理食塩水対照に比べて血清HBV DNAを低下させているが、ただし、群11及び12では、8日目で血清HBV DNAの低下がなかったことが示された。

【0393】

実施例17. pHBVマウスにおけるHBV RNAi薬。

上述の実施例2に記載のpHBVマウスモデルを使用した。マウスは、以下の表44に示すように様々な群に分けられ、各マウスには、表44に示す投与レジメンに従って、単回200μL皮下注射を投与した。

【0394】

【表45】

表44. 実施例17のpHBVマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン
1	PBS (RNAi薬なし)	1日目に単回注射
2	5mg/kg AD04585 + 1mg/kg AD04963	1日目に単回注射
3	5mg/kg AD04872 + 1mg/kg AD04963	1日目に単回注射
4	5mg/kg AD04585 + 1mg/kg AD04963	1日目及び8日目に単回注射
5	5mg/kg AD04872 + 1mg/kg AD04963	1日目及び8日目に単回注射
6	2.5mg/kg AD04585 + 0.5mg/kg AD04963	1日目に単回注射
7	2.0mg/kg AD04585 + 1.0mg/kg AD04963	1日目に単回注射
8	2.5mg/kg AD04872 + 0.5mg/kg AD04963	1日目に単回注射
9	2.0mg/kg AD04872 + 1.0mg/kg AD04963	1日目に単回注射
10	5mg/kg AD04872 + 1mg/kg AD04981	1日目に単回注射
11	2.5mg/kg AD04872 + 0.5mg/kg AD04981	1日目及び8日目に単回注射
12	2.5mg/kg AD04872 + 0.5mg/kg AD04981	1日目に単回注射
13	2mg/kg AD04872 + 1mg/kg AD04981	1日目に単回注射
14	2.5mg/kg AD04585 + 0.5mg/kg AD04981	1日目に単回注射
15	2mg/kg AD04585 + 1mg/kg AD04981	1日目に単回注射
16	0.5mg/kg AD04981	1日目に単回注射

【0395】

各マウスに200μLの単回皮下投与が行われた。これには、表44に示されるように、リン酸緩衝生理食塩水中に配合された所定量のHBV RNAi薬、又は対照としてHBV RNAi薬を含まない200μLのリン酸緩衝生理食塩水が含まれた。各HBV RNAi薬は、表4及び5に示す、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間(すなわち皮下注射)に行った。各群で3匹のマウスを試験した(n=3)。

【0396】

投与前、及び次いで8日目、14日目、21日目、及び29日目及び36日目に血清を採取し、上述の実施例2に示す手順に従って、血清B型肝炎表面抗原(HBsAg)レベ

ルを測定した。実験のデータを以下の表 4 5 に示す：

【 0 3 9 7 】

【表 4 6 】

表 4 5．実施例 1 7 の H B V R N A i 薬投与後の p H B V マウスにおける、
処置前及び P B S 対照に対して正規化された平均 H B s A g レベル
(標準偏差は (+/-) として示される)。

群	8日目	14日目	21日目	29日目
1	1.000±0.068	1.000±0.125	1.000±0.152	1.000±0.110
2	0.058±0.033	0.059±0.022	0.085±0.023	0.158±0.021
3	0.025±0.009	0.014±0.006	0.015±0.008	0.026±0.015
4	0.032±0.007	0.005±0.001	0.006±0.002	0.014±0.002
5	0.024±0.009	0.003±0.001	0.001±0.0004	0.001±0.0005
6	0.063±0.020	0.077±0.013	0.131±0.011	0.214±0.026
7	0.041±0.018	0.059±0.017	0.091±0.016	0.140±0.045
8	0.070±0.008	0.046±0.016	0.043±0.009	0.055±0.012
9	0.043±0.006	0.027±0.003	0.064±0.017	0.064±0.014
10	0.015±0.008	0.005±0.003	0.005±0.003	0.005±0.003
11	0.047±0.014	0.005±0.003	0.003±0.002	0.003±0.003
12	0.062±0.006	0.025±0.007	0.027±0.005	0.033±0.005
13	0.092±0.029	0.050±0.021	0.050±0.022	0.054±0.0019
14	0.310±0.180	0.056±0.010	0.081±0.010	0.112±0.0018
15	0.304±0.044	0.083±0.021	0.115±0.013	0.165±0.025
16	1.667±0.217	0.416±0.163	0.341±0.179	0.511±0.0011
群	36日目			
1	1.000±0.225			
2				
3	0.049±0.019			
4				
5	0.004±0.0004			
6				
7				
8	0.081±0.010			
9	0.108±0.026			
10	0.009±0.004			
11	0.005±0.003			
12	0.060±0.014			
13	0.094±0.027			
14				
15				
16	0.634±0.005			

【 0 3 9 8 】

試験された H B V R N A i 薬組み合わせは、測定された全時点にわたって、生理食塩水対照に比べて H B s A g の減少を示した。A D 0 4 8 7 2 を含む組み合わせは、A D 0 4 8 7 2 の代わりに A D 0 4 5 8 5 を用いた同等の組み合わせよりも、大きな低下を示した。

【 0 3 9 9 】

加えて、上述の実施例 2 に示す手順に従って、8、14、21、及び29日目に採取さ

れた血清試料で血清HBV DNAレベルを測定した。血清HBV DNAが、各時点で各動物から単離された。データを以下の表46に示す：

【0400】

【表47】

表46．実施例17のHBV RNAi薬投与後のpHBVマウスにおける、処置前及びPBS対照に対して正規化された平均血清HBV DNAレベル（標準偏差は（+／-）として示される）。

群	8日目	14日目	21日目	29日目
1	1.000±0.280	1.000±0.269	1.000±0.418	1.000±0.383
2	0.136±0.068	0.192±0.071	0.173±0.032	0.292±0.039
3	0.097±0.034	0.068±0.016	0.076±0.034	0.131±0.061
4	0.061±0.039	0.002±0.001	0.003±0.001	0.019±0.013
5	0.068±0.025	0.003±0.002	0.0009±0.0003	0.0009±0.0003
6	0.354±0.299	0.345±0.187	0.522±0.234	0.509±0.106
7	0.103±0.064	0.291±0.025	0.203±0.043	0.203±0.015
8	0.336±0.142	0.185±0.071	0.183±0.065	0.162±0.064
9	0.198±0.055	0.093±0.023	0.118±0.054	0.143±0.032
10	0.122±0.071	0.024±0.026	0.023±0.020	0.014±0.017
11	0.160±0.069	0.016±0.023	0.003±0.001	0.005±0.004
12	0.158±0.039	0.120±0.044	0.100±0.049	0.091±0.034
13	0.190±0.038	0.169±0.025	0.066±0.015	0.081±0.015
14	0.434±0.136	0.318±0.104	0.144±0.094	0.240±0.029
15	0.358±0.185	0.287±0.108	0.279±0.080	0.303±0.038
16	0.713±0.085	0.674±0.140	0.496±0.128	0.590±0.093

【0401】

試験されたHBV RNAi薬組み合わせは、測定された全時点にわたって、生理食塩水対照に比べて血清HBV DNAの減少を示した。AD04872を含む組み合わせは、AD04872の代わりにAD04585を用いた同等の組み合わせよりも、大きな低下を示した。これらの大きな低下は、22日目及び29日目に観察された。

【0402】

実施例18．HBV感染ヒト化マウスモデルにおけるHBV RNAi薬。

この試験では、雄のFRG（登録商標）（C57BL/6バックグラウンド（Yecuris）の遺伝子型Fah-/-/Rag2-/-/Il2rg-/-三重ノックアウトマウス）が1～2箇月齢のときに、ヒト肝細胞を移植した。ヒト肝細胞は、マウス肝細胞の増殖を抑制するために、定期的なNTBC処理を用いて約6箇月間肝臓に再増殖させた。9箇月齢で、マウスに、 4×10^8 個のゲノム/kg HBV遺伝子型Cの静脈内接種を行った。これがヒト肝細胞を感染させた。2～3箇月後、血清HBV DNAレベルがプラトーに達し、ヒト肝細胞が最大限に感染したことが示された（マウス肝細胞はHBVに感染できない）。HBV RNAi薬による処置の開始時にマウスは1歳であり、よって寿命の終わりに近かった。

【0403】

処置前の血清試料を-10日目及び-3日目に採取した。1日目に、各マウスに、1日1回、水中に溶解させた0.01mg/kgのエンテカビルで、1日1回強制経口投与を行い、HBVの複製を阻害した。マウスの安楽死の日まで、エンテカビルの1日1回の投与を継続した。エンテカビル投与により、慢性的に感染したヒト患者の血清HBV DNAは低減するが、HBsAgは低減しないことが予想された。

【0404】

10

20

30

40

50

マウスを、下記の表 4 7 に示すものを含む様々な群に分けた：

【 0 4 0 5 】

【表 4 8】

表 4 7．実施例 1 8 の H B V 感染 F R G ヒト化モデルマウスの投与群。

群	RNAi薬及び用量	投与レジメン	終末日
A-マウス1	PBS (RNAi薬なし)	1日目に単回注射	21日目に安楽死 (不健康な動物)
A-マウス2	PBS (RNAi薬なし)	1日目及び29日目に単回注射	36日目に安楽死
B-マウス1	4. 0mg/kg AD04872 + 2. 0mg/kg AD05070	1日目及び29日目に単回注射	36日目に安楽死
B-マウス2	4. 0mg/kg AD04872 + 2. 0mg/kg AD05070	1日目及び29日目に単回注射	40日目に安楽死
C-マウス1	4. 5mg/kg AD04872 + 1. 5mg/kg AD05070	1日目に単回注射	15日目に安楽死
C-マウス2	4. 5mg/kg AD04872 + 1. 5mg/kg AD05070	1日目及び29日目に単回注射	36日目に安楽死
C-マウス3	4. 5mg/kg AD04872 + 1. 5mg/kg AD05070	1日目及び29日目に単回注射	40日目に安楽死

10

【 0 4 0 6 】

各マウスには更に、リン酸緩衝生理食塩水に調剤された量の H B V RNA i 薬（複数可）を含む体重 2 0 グラム当たり 1 0 0 μ L の皮下投与、あるいは、H B V RNA i 薬を含まない同量のリン酸緩衝生理食塩水を含む体重 2 0 グラム当たり 1 0 0 μ L の皮下投与を、上記の表 4 7 に示すスケジュールに従って、1日目及び29日目（29日目にまだ生存している場合）に行った。各 H B V RNA i 薬は、表 4 及び 5 に示す、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首及び肩領域にわたる緩んだ皮膚の、皮膚と筋肉の間（すなわち皮下注射）に行った。

20

【 0 4 0 7 】

8日目、15日目、22日目、29日目、36日目、及び40日目に血清を採取し、上述の実施例 2 に示す手順に従って、血清 B 型肝炎表面抗原（H B s A g）レベルを測定した。実験のデータを以下の表に示す：

30

【 0 4 0 8 】

【表 4 9】

表 4 8．実施例 1 8 の各個々の H B V 感染ヒト化 F R G モデルマウスについて、処置前（- 3 日目）に対して正規化した平均 H B s A g レベル。

群	8日目	15日目	22日目	29日目	36日目	40日目
A-1	0. 830	0. 828	0. 932	0. 858	1. 107	
A-2	1. 303	1. 328				
B-1	0. 548	0. 314	0. 272	0. 207	0. 138	
B-2	0. 592	0. 337	0. 243	0. 215	0. 160	0. 175
C-1	0. 643	0. 460	0. 415	0. 251	0. 164	
C-2	0. 353	0. 228	0. 182	0. 172	0. 224	0. 216
C-3	0. 814	0. 674				

40

【 0 4 0 9 】

加えて、上述の実施例 2 に示す手順に従って、- 1 0、- 3、8、15、22、29、36、及び40日目に採取された血清試料で血清 H B V DNA レベルを測定した。データを以下の表 4 9 に示す：

【 0 4 1 0 】

50

【表 5 0】

表 4 9. 実施例 1 4 の H B V RNA i 薬投与後の各 H B V 感染 F R G ヒト化マウスについて、処置前 - 1 0 日目及び - 3 日目に対して正規化した血清 H B V DNA レベル。

群	-10日目	-3日目	8日目	15日目	22日目	29日目	36日目	40日目
A-1	0.883	1.117	0.072	0.038	0.015	0.027	0.060	
A-2	1.070	0.930	0.130	0.075				
B-1	1.538	0.462	0.032	0.017	0.011	0.006	0.010	
B-2	1.350	0.650	0.042	0.018	0.012	0.007	0.008	0.007
C-1	1.348	0.652	0.041	0.020	0.016	0.005	0.004	
C-2	1.030	0.970	0.031	0.015	0.006	0.011	0.008	0.008

10

【0 4 1 1】

予想されたように、エンテカピルの投与は、H B V RNA i 薬がない場合とある場合の両方において、ウイルス複製を低減させた。

【0 4 1 2】

他の実施形態

本発明はこの詳細な説明と関連して記載されてきたが、前述の説明は本発明の範囲を例示したものであって、発明の範囲を限定することを意図したものではなく、発明の範囲は添付の特許請求の範囲により定義されると理解される。他の態様、利点、及び変更は、以下の特許請求の範囲内である。

20

以下の態様を包含し得る。

〔1〕 アンチセンス鎖及びセンス鎖を含む B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための RNA i 薬であって、前記アンチセンス鎖は、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス鎖配列に対して少なくとも約 8 5 % の同一性を有する配列を含む、RNA i 薬。

〔2〕 前記アンチセンス鎖が、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス配列の少なくとも 1 6 個の連続ヌクレオチドを含む、上記〔1〕に記載の RNA i 薬。

〔3〕 前記アンチセンス鎖が、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス鎖配列の位置 2 ~ 1 8 (5 ' ~ 3 ') のヌクレオチドを含む、上記〔1〕に記載の組成物。

30

〔4〕 前記 RNA i 薬の前記センス鎖の少なくとも 1 つのヌクレオチド、及び / 又は、前記アンチセンス鎖の少なくとも 1 つのヌクレオチドが、修飾ヌクレオチドである、及び / 又は修飾ヌクレオチド間連結を有する、上記〔1〕又は〔2〕に記載の RNA i 薬。

〔5〕 前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖が、それぞれ 1 7 ~ 3 0 ヌクレオチド長である、上記〔1〕 ~ 〔4〕のいずれかに記載の RNA i 薬。

〔6〕 前記センス鎖が、表 2 又は表 4 に提供されるいずれかのセンス鎖配列の少なくとも 1 6 個の連続ヌクレオチドを含み、かつ前記センス鎖が、前記アンチセンス鎖に対して前記 1 6 個の連続ヌクレオチドにわたって少なくとも約 8 5 % の相補性の領域を有する、上記〔1〕 ~ 〔5〕のいずれかに記載の RNA i 薬。

40

〔7〕 前記 RNA i 薬の前記センス鎖及び前記アンチセンス鎖の両方における全て又は実質的に全てのヌクレオチドが、修飾ヌクレオチドである、上記〔1〕 ~ 〔6〕のいずれかに記載の RNA i 薬。

〔8〕 前記アンチセンス鎖が、表 3 に提供されるいずれかの修飾配列のヌクレオチド配列を含む、上記〔1〕に記載の RNA i 薬。

〔9〕 前記センス鎖が、表 4 に提供されるいずれかの修飾センス配列のヌクレオチド配列を含む、上記〔1〕又は〔8〕に記載の RNA i 薬。

〔10〕 上記〔1〕 ~ 〔9〕のいずれかに記載の RNA i 薬を含む、H B V 遺伝子の発現を阻害するための組成物であって、前記 RNA i 薬が標的化リガンドにコンジュゲートされている、組成物。

50

[1 1] 前記標的化リガンドが N - アセチル - ガラクトサミンを含む、上記 [1 0] に記載の組成物。

[1 2] 前記標的化リガンドが (N A G 1 3)、(N A G 1 3) s、(N A G 1 8)、(N A G 1 8) s、(N A G 2 4)、(N A G 2 4) s、(N A G 2 5)、(N A G 2 5) s、(N A G 2 6)、(N A G 2 6) s、(N A G 2 7)、(N A G 2 7) s、(N A G 2 8)、(N A G 2 8) s、(N A G 2 9)、(N A G 2 9) s、(N A G 3 0)、(N A G 3 0) s、(N A G 3 1)、(N A G 3 1) s、(N A G 3 2)、(N A G 3 2) s、(N A G 3 3)、(N A G 3 3) s、(N A G 3 4)、(N A G 3 4) s、(N A G 3 5)、(N A G 3 5) s、(N A G 3 6)、(N A G 3 6) s、(N A G 3 7)、(N A G 3 7) s、(N A G 3 8)、(N A G 3 8) s、(N A G 3 9)、又は (N A G 3 9) s である、上記 [1 1] に記載の組成物。

10

[1 3] 前記標的化リガンドが、前記 RNA i 薬の前記センス鎖にコンジュゲートされている、上記 [1 0] ~ [1 2] のいずれかに記載の組成物。

[1 4] 前記組成物が、製薬的に許容される賦形剤を更に含む、上記 [1 0] ~ [1 3] のいずれかに記載の組成物。

[1 5] 前記 RNA i 薬が、A D 0 3 4 9 8 ; A D 0 3 4 9 9 ; A D 0 3 5 0 0 ; A D 0 3 5 0 1 ; A D 0 3 7 3 8 ; A D 0 3 7 3 9 ; A D 0 3 9 6 7 ; A D 0 3 9 6 8 ; A D 0 3 9 6 9 ; A D 0 3 9 7 0 ; A D 0 3 9 7 1 ; A D 0 3 9 7 2 ; A D 0 3 9 7 3 ; A D 0 3 9 7 4 ; A D 0 3 9 7 5 ; A D 0 3 9 7 6 ; A D 0 3 9 7 7 ; A D 0 3 9 7 8 ; A D 0 4 0 0 1 ; A D 0 4 0 0 2 ; A D 0 4 0 0 3 ; A D 0 4 0 0 4 ; A D 0 4 0 0 5 ; A D 0 4 0 0 6 ; A D 0 4 0 0 7 ; A D 0 4 0 0 8 ; A D 0 4 0 0 9 ; A D 0 4 0 1 0 ; A D 0 4 1 7 6 ; A D 0 4 1 7 7 ; A D 0 4 1 7 8 ; A D 0 4 4 1 2 ; A D 0 4 4 1 3 ; A D 0 4 4 1 4 ; A D 0 4 4 1 5 ; A D 0 4 4 1 6 ; A D 0 4 4 1 7 ; A D 0 4 4 1 8 ; A D 0 4 4 1 9 ; A D 0 4 4 2 0 ; A D 0 4 4 2 1 ; A D 0 4 4 2 2 ; A D 0 4 4 2 3 ; A D 0 4 4 2 5 ; A D 0 4 4 2 6 ; A D 0 4 4 2 7 ; A D 0 4 4 2 8 ; A D 0 4 4 2 9 ; A D 0 4 4 3 0 ; A D 0 4 4 3 1 ; A D 0 4 4 3 2 ; A D 0 4 4 3 3 ; A D 0 4 4 3 4 ; A D 0 4 4 3 5 ; A D 0 4 4 3 6 ; A D 0 4 4 3 7 ; A D 0 4 4 3 8 ; A D 0 4 4 3 9 ; A D 0 4 4 4 0 ; A D 0 4 4 4 1 ; A D 0 4 4 4 2 ; A D 0 4 5 1 1 ; A D 0 4 5 7 0 ; A D 0 4 5 7 1 ; A D 0 4 5 7 2 ; A D 0 4 5 7 3 ; A D 0 4 5 7 4 ; A D 0 4 5 7 5 ; A D 0 4 5 7 6 ; A D 0 4 5 7 7 ; A D 0 4 5 7 8 ; A D 0 4 5 7 9 ; A D 0 4 5 8 0 ; A D 0 4 5 8 1 ; A D 0 4 5 8 3 ; A D 0 4 5 8 4 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 5 8 6 ; A D 0 4 5 8 7 ; A D 0 4 5 8 8 ; A D 0 4 5 9 0 ; A D 0 4 5 9 1 ; A D 0 4 5 9 2 ; A D 0 4 5 9 3 ; A D 0 4 5 9 4 ; A D 0 4 5 9 5 ; A D 0 4 5 9 6 ; A D 0 4 5 9 7 ; A D 0 4 5 9 8 ; A D 0 4 5 9 9 ; A D 0 4 7 3 4 ; A D 0 4 7 7 1 ; A D 0 4 7 7 2 ; A D 0 4 7 7 3 ; A D 0 4 7 7 4 ; A D 0 4 7 7 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 7 7 7 ; A D 0 4 7 7 8 ; A D 0 4 8 2 2 ; A D 0 4 8 2 3 ; A D 0 4 8 7 1 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D 0 4 8 7 3 ; A D 0 4 8 7 4 ; A D 0 4 8 7 5 ; A D 0 4 8 7 6 ; A D 0 4 8 8 1 ; A D 0 4 8 8 2 ; A D 0 4 8 8 3 ; A D 0 4 8 8 4 ; A D 0 4 8 8 5 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 1 ; A D 0 4 9 8 2 ; A D 0 4 9 8 3 ; A D 0 5 0 6 9 ; A D 0 5 0 7 0 ; A D 0 5 0 7 1 ; A D 0 5 0 7 2 ; A D 0 5 0 7 3 ; A D 0 5 0 7 4 ; A D 0 5 0 7 5 ; A D 0 5 0 7 6 ; A D 0 5 0 7 7 ; A D 0 5 0 7 8 ; A D 0 5 1 4 7 ; A D 0 5 1 4 8 ; A D 0 5 1 4 9 ; A D 0 5 1 6 4 ; 又は A D 0 5 1 6 5 のデュプレックス構造を有する、上記 [1 0] ~ [1 4] のいずれかに記載の組成物。

20

30

40

[1 6] 前記 RNA i 薬が、A D 0 4 5 8 0 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 2 ; 又は A D 0 5 0 7 0 のデュプレックス構造を有する、上記 [1 5] に記載の組成物。

[1 7] 前記組成物が、B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するためのセンス鎖及びアンチセンス鎖を含む第 2 の RNA i 薬を更に含む、上記 [1 0] ~ [1 6] のいずれかに記載の組成物。

[1 8] 前記第 2 の RNA i 薬が、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス

50

鎖配列に対して少なくとも約 85% の同一性を有するアンチセンス配列を含む、上記 [17] に記載の組成物。

[19] 前記第 2 の RNA i 薬の前記アンチセンス鎖が、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス配列の少なくとも 16 個の連続ヌクレオチドを含む、上記 [18] に記載の組成物。

[20] 前記第 2 の RNA i 薬の前記アンチセンス鎖が、表 2 又は表 3 に提供されるいずれかのアンチセンス鎖配列の位置 2 ~ 18 (5' ~ 3') のヌクレオチドを含む、上記 [19] に記載の組成物。

[21] 前記第 1 の RNA i 薬が、HBV 遺伝子の S オープンリーディングフレーム (ORF) を標的とし、かつ、前記第 2 の RNA i 薬が、HBV 遺伝子の X オープンリーディングフレーム (ORF) を標的とする、上記 [17] ~ [20] のいずれかに記載の組成物。

10

[22] 前記第 1 の RNA i 薬が HBV 遺伝子の X ORF を標的とし、かつ、前記第 2 の RNA i 薬が、HBV 遺伝子の S ORF を標的とする、上記 [17] ~ [20] のいずれかに記載の組成物。

[23] 前記第 1 の RNA i 薬が、AD04001 ; AD04002 ; AD04003 ; AD04004 ; AD04005 ; AD04006 ; AD04007 ; AD04008 ; AD04009 ; AD04010 ; AD04422 ; AD04423 ; AD04425 ; AD04426 ; AD04427 ; AD04428 ; AD04429 ; AD04430 ; AD04431 ; AD04432 ; AD04433 ; AD04434 ; AD04435 ; AD04436 ; AD04437 ; AD04438 ; AD04439 ; AD04440 ; AD04441 ; AD04442 ; AD04511 ; AD04581 ; AD04583 ; AD04584 ; AD04585 ; AD04586 ; AD04587 ; AD04588 ; AD04590 ; AD04591 ; AD04592 ; AD04593 ; AD04594 ; AD04595 ; AD04596 ; AD04597 ; AD04598 ; AD04599 ; AD04734 ; AD04771 ; AD04772 ; AD04773 ; AD04774 ; AD04775 ; AD04822 ; AD04871 ; AD04872 ; AD04873 ; AD04874 ; AD04875 ; AD04876 ; AD04962 ; 及び AD05164 からなる群から選択され、かつ前記第 2 の RNA i 薬が、AD03498 ; AD03499 ; AD03500 ; AD03501 ; AD03738 ; AD03739 ; AD03967 ; AD03968 ; AD03969 ; AD03970 ; AD03971 ; AD03972 ; AD03973 ; AD03974 ; AD03975 ; AD03976 ; AD03977 ; AD03978 ; AD04176 ; AD04177 ; AD04178 ; AD04412 ; AD04413 ; AD04414 ; AD04415 ; AD04416 ; AD04417 ; AD04418 ; AD04419 ; AD04420 ; AD04421 ; AD04570 ; AD04571 ; AD04572 ; AD04573 ; AD04574 ; AD04575 ; AD04576 ; AD04577 ; AD04578 ; AD04579 ; AD04580 ; AD04776 ; AD04777 ; AD04778 ; AD04823 ; AD04881 ; AD04882 ; AD04883 ; AD04884 ; AD04885 ; AD04963 ; AD04981 ; AD04982 ; AD04983 ; AD05069 ; AD05070 ; AD05071 ; AD05072 ; AD05073 ; AD05074 ; AD05075 ; AD05076 ; AD05077 ; AD05078 ; AD05147 ; AD05148 ; AD05149 ; 及び AD05165 からなる群から選択される、上記 [17] ~ [21] のいずれかに記載の組成物。

20

30

40

[24] 前記第 1 の RNA i 薬が AD04872 であり、かつ前記第 2 の RNA i 薬が AD05070 である、上記 [17] ~ [21] 又は [23] のいずれかに記載の組成物。

[25] 前記第 1 の RNA i 薬が AD04872 であり、かつ前記第 2 の RNA i 薬が AD04982 である、上記 [17] ~ [21] 又は [23] のいずれかに記載の組成物。

[26] 前記第 1 の RNA i 薬が AD04872 であり、かつ前記第 2 の RNA i 薬が AD04776 である、上記 [17] ~ [21] 又は [23] のいずれかに記載の組成物。

50

[2 7] 前記第 1 の R N A i 薬が A D 0 4 5 8 5 であり、かつ前記第 2 の R N A i 薬が A D 0 4 5 8 0 である、上記 [1 7] ~ [2 1] のいずれかに記載の組成物。

[2 8] 1 つ又は複数の追加の治療を更に含む、上記 [1 0] ~ [2 7] のいずれかに記載の組成物。

[2 9] 前記追加の治療が、ラミブジン、テノホビル、テノホビルアラフェナミド、テノホビルジソプロキシル、又はエンテカビルである、上記 [2 8] に記載の組成物。

[3 0] 前記追加の治療がインターフェロンである、上記 [2 8] に記載の組成物。

[3 1] 対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための方法であって、上記 [1] ~ [9] のいずれかに記載の R N A i 薬を前記対象に投与することを含む、方法。

10

[3 2] 対象における B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための方法であって、上記 [1 0] ~ [3 0] のいずれかに記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

[3 3] 前記対象が、H B V 感染を有するか又は有するリスクがある、上記 [3 1] 又は [3 2] に記載の方法。

[3 4] 対象における H B V 感染及び / 又は H B V 感染に関連する疾患、障害、又は状態を治療するための方法であって、上記 [1] ~ [9] のいずれかに記載の R N A i 薬の有効量を対象に投与することを含む、方法。

[3 5] 対象における H B V 感染及び / 又は H B V 感染に関連する疾患、障害、又は状態を治療するための方法であって、上記 [1 0] ~ [3 0] のいずれかに記載の組成物の有効量を対象に投与することを含む、方法。

20

[3 6] 前記組成物が、B 型肝炎ウイルス遺伝子の前記発現を阻害するための 2 つの R N A i 薬の有効量を含む、上記 [3 2]、[3 3]、又は [3 5] に記載の方法。

[3 7] 前記組成物の前記有効量が、対象における H B s A g のレベルを、前記組成物の投与前の前記対象の H B s A g 発現レベルに比べて、少なくとも約 4 0 % 低下させるのに十分である、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、又は [3 6] のいずれかに記載の方法。

[3 8] 前記組成物の前記有効量が、対象における H B e A g のレベルを、前記組成物の投与前の前記対象の H B e A g 発現レベルに比べて、少なくとも約 4 0 % 低下させるのに十分である、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、又は [3 6] のいずれかに記載の方法。

30

[3 9] 前記組成物の前記有効量が、対象における血清 H B V D N A レベルを、前記組成物の投与前の前記対象の血清 H B V D N A レベルに比べて、少なくとも約 4 0 % 低下させるのに十分である、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、又は [3 6] のいずれかに記載の方法。

[4 0] H B V 感染に関連する前記疾患、障害、又は状態が、慢性肝疾患若しくは障害、肝臓炎症、線維化状態、増殖性疾患、肝細胞癌、D 型肝炎ウイルス感染、又は急性 H B V 感染である、上記 [3 4] 又は [3 5] に記載の方法。

[4 1] 前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 1 : 1 の比で投与される、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

40

[4 2] 前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 2 : 1 の比で投与される、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

[4 3] 前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 3 : 1 の比で投与される、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

[4 4] 前記第 1 の R N A i 薬と前記第 2 の R N A i 薬とが約 4 : 1 の比で投与される、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

50

[4 5] 前記第 1 の RNA i 薬と前記第 2 の RNA i 薬とが約 5 : 1 の比で投与される、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

[4 6] 前記第 1 の RNA i 薬の前記有効量が約 0 . 5 m g / k g ~ 約 5 m g / k g の間であり、かつ前記第 2 の RNA i 薬の前記有効量が約 0 . 5 m g / k g ~ 約 5 m g / k g の間である、上記 [3 2]、[3 3]、[3 5]、[3 6]、[3 7]、[3 8]、[3 9]、又は [4 0] のいずれかに記載の方法。

[4 7] 前記 RNA i 薬の前記有効量が、約 0 . 5 m g / k g ~ 約 5 m g / k g の間である、上記 [3 1] に記載の方法。

[4 8] H B V 感染の治療のための、上記 [1] ~ [9] のいずれかに記載の RNA i 薬の使用。

10

[4 9] H B V 感染の治療のための、上記 [1 0] ~ [3 0] のいずれかに記載の組成物の使用。

[5 0] H B V 感染の治療のために医薬品を製造するための、上記 [1 0] ~ [3 0] のいずれかに記載の組成物の使用。

[5 1] アンチセンス鎖及びセンス鎖を含む B 型肝炎ウイルス遺伝子の発現を阻害するための RNA i 薬であって、前記 RNA i 薬が、 A D 0 3 4 9 8 ; A D 0 3 4 9 9 ; A D 0 3 5 0 0 ; A D 0 3 5 0 1 ; A D 0 3 7 3 8 ; A D 0 3 7 3 9 ; A D 0 3 9 6 7 ; A D 0 3 9 6 8 ; A D 0 3 9 6 9 ; A D 0 3 9 7 0 ; A D 0 3 9 7 1 ; A D 0 3 9 7 2 ; A D 0 3 9 7 3 ; A D 0 3 9 7 4 ; A D 0 3 9 7 5 ; A D 0 3 9 7 6 ; A D 0 3 9 7 7 ; A D 0 3 9 7 8 ; A D 0 4 0 0 1 ; A D 0 4 0 0 2 ; A D 0 4 0 0 3 ; A D 0 4 0 0 4 ; A D 0 4 0 0 5 ; A D 0 4 0 0 6 ; A D 0 4 0 0 7 ; A D 0 4 0 0 8 ; A D 0 4 0 0 9 ; A D 0 4 0 1 0 ; A D 0 4 1 7 6 ; A D 0 4 1 7 7 ; A D 0 4 1 7 8 ; A D 0 4 4 1 2 ; A D 0 4 4 1 3 ; A D 0 4 4 1 4 ; A D 0 4 4 1 5 ; A D 0 4 4 1 6 ; A D 0 4 4 1 7 ; A D 0 4 4 1 8 ; A D 0 4 4 1 9 ; A D 0 4 4 2 0 ; A D 0 4 4 2 1 ; A D 0 4 4 2 2 ; A D 0 4 4 2 3 ; A D 0 4 4 2 5 ; A D 0 4 4 2 6 ; A D 0 4 4 2 7 ; A D 0 4 4 2 8 ; A D 0 4 4 2 9 ; A D 0 4 4 3 0 ; A D 0 4 4 3 1 ; A D 0 4 4 3 2 ; A D 0 4 4 3 3 ; A D 0 4 4 3 4 ; A D 0 4 4 3 5 ; A D 0 4 4 3 6 ; A D 0 4 4 3 7 ; A D 0 4 4 3 8 ; A D 0 4 4 3 9 ; A D 0 4 4 4 0 ; A D 0 4 4 4 1 ; A D 0 4 4 4 2 ; A D 0 4 5 1 1 ; A D 0 4 5 7 0 ; A D 0 4 5 7 1 ; A D 0 4 5 7 2 ; A D 0 4 5 7 3 ; A D 0 4 5 7 4 ; A D 0 4 5 7 5 ; A D 0 4 5 7 6 ; A D 0 4 5 7 7 ; A D 0 4 5 7 8 ; A D 0 4 5 7 9 ; A D 0 4 5 8 0 ; A D 0 4 5 8 1 ; A D 0 4 5 8 3 ; A D 0 4 5 8 4 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 5 8 6 ; A D 0 4 5 8 7 ; A D 0 4 5 8 8 ; A D 0 4 5 9 0 ; A D 0 4 5 9 1 ; A D 0 4 5 9 2 ; A D 0 4 5 9 3 ; A D 0 4 5 9 4 ; A D 0 4 5 9 5 ; A D 0 4 5 9 6 ; A D 0 4 5 9 7 ; A D 0 4 5 9 8 ; A D 0 4 5 9 9 ; A D 0 4 7 3 4 ; A D 0 4 7 7 1 ; A D 0 4 7 7 2 ; A D 0 4 7 7 3 ; A D 0 4 7 7 4 ; A D 0 4 7 7 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 7 7 7 ; A D 0 4 7 7 8 ; A D 0 4 8 2 2 ; A D 0 4 8 2 3 ; A D 0 4 8 7 1 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D 0 4 8 7 3 ; A D 0 4 8 7 4 ; A D 0 4 8 7 5 ; A D 0 4 8 7 6 ; A D 0 4 8 8 1 ; A D 0 4 8 8 2 ; A D 0 4 8 8 3 ; A D 0 4 8 8 4 ; A D 0 4 8 8 5 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 1 ; A D 0 4 9 8 2 ; A D 0 4 9 8 3 ; A D 0 5 0 6 9 ; A D 0 5 0 7 0 ; A D 0 5 0 7 1 ; A D 0 5 0 7 2 ; A D 0 5 0 7 3 ; A D 0 5 0 7 4 ; A D 0 5 0 7 5 ; A D 0 5 0 7 6 ; A D 0 5 0 7 7 ; A D 0 5 0 7 8 ; A D 0 5 1 4 7 ; A D 0 5 1 4 8 ; A D 0 5 1 4 9 ; A D 0 5 1 6 4 ; 又は A D 0 5 1 6 5 からなる群からのデュプレックス構造におけるそれぞれのセンス鎖又はアンチセンス鎖に同一又は実質的に同一なセンス鎖又はアンチセンス鎖を含むデュプレックス構造を有する、RNA i 薬。

20

30

40

[5 2] 前記 RNA i 薬が、 A D 0 3 4 9 8 ; A D 0 3 4 9 9 ; A D 0 3 5 0 0 ; A D 0 3 5 0 1 ; A D 0 3 7 3 8 ; A D 0 3 7 3 9 ; A D 0 3 9 6 7 ; A D 0 3 9 6 8 ; A D 0 3 9 6 9 ; A D 0 3 9 7 0 ; A D 0 3 9 7 1 ; A D 0 3 9 7 2 ; A D 0 3 9 7 3 ; A D 0 3 9 7 4 ; A D 0 3 9 7 5 ; A D 0 3 9 7 6 ; A D 0 3 9 7 7 ; A D 0 3 9 7 8 ; A D

50

0 4 0 0 1 ; A D 0 4 0 0 2 ; A D 0 4 0 0 3 ; A D 0 4 0 0 4 ; A D 0 4 0 0 5 ; A D
 0 4 0 0 6 ; A D 0 4 0 0 7 ; A D 0 4 0 0 8 ; A D 0 4 0 0 9 ; A D 0 4 0 1 0 ; A D
 0 4 1 7 6 ; A D 0 4 1 7 7 ; A D 0 4 1 7 8 ; A D 0 4 4 1 2 ; A D 0 4 4 1 3 ; A D
 0 4 4 1 4 ; A D 0 4 4 1 5 ; A D 0 4 4 1 6 ; A D 0 4 4 1 7 ; A D 0 4 4 1 8 ; A D
 0 4 4 1 9 ; A D 0 4 4 2 0 ; A D 0 4 4 2 1 ; A D 0 4 4 2 2 ; A D 0 4 4 2 3 ; A D
 0 4 4 2 5 ; A D 0 4 4 2 6 ; A D 0 4 4 2 7 ; A D 0 4 4 2 8 ; A D 0 4 4 2 9 ; A D
 0 4 4 3 0 ; A D 0 4 4 3 1 ; A D 0 4 4 3 2 ; A D 0 4 4 3 3 ; A D 0 4 4 3 4 ; A D
 0 4 4 3 5 ; A D 0 4 4 3 6 ; A D 0 4 4 3 7 ; A D 0 4 4 3 8 ; A D 0 4 4 3 9 ; A D
 0 4 4 4 0 ; A D 0 4 4 4 1 ; A D 0 4 4 4 2 ; A D 0 4 5 1 1 ; A D 0 4 5 7 0 ; A D
 0 4 5 7 1 ; A D 0 4 5 7 2 ; A D 0 4 5 7 3 ; A D 0 4 5 7 4 ; A D 0 4 5 7 5 ; A D
 0 4 5 7 6 ; A D 0 4 5 7 7 ; A D 0 4 5 7 8 ; A D 0 4 5 7 9 ; A D 0 4 5 8 0 ; A D
 0 4 5 8 1 ; A D 0 4 5 8 3 ; A D 0 4 5 8 4 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 5 8 6 ; A D
 0 4 5 8 7 ; A D 0 4 5 8 8 ; A D 0 4 5 9 0 ; A D 0 4 5 9 1 ; A D 0 4 5 9 2 ; A D
 0 4 5 9 3 ; A D 0 4 5 9 4 ; A D 0 4 5 9 5 ; A D 0 4 5 9 6 ; A D 0 4 5 9 7 ; A D
 0 4 5 9 8 ; A D 0 4 5 9 9 ; A D 0 4 7 3 4 ; A D 0 4 7 7 1 ; A D 0 4 7 7 2 ; A D
 0 4 7 7 3 ; A D 0 4 7 7 4 ; A D 0 4 7 7 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 7 7 7 ; A D
 0 4 7 7 8 ; A D 0 4 8 2 2 ; A D 0 4 8 2 3 ; A D 0 4 8 7 1 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D
 0 4 8 7 3 ; A D 0 4 8 7 4 ; A D 0 4 8 7 5 ; A D 0 4 8 7 6 ; A D 0 4 8 8 1 ; A D
 0 4 8 8 2 ; A D 0 4 8 8 3 ; A D 0 4 8 8 4 ; A D 0 4 8 8 5 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D
 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 1 ; A D 0 4 9 8 2 ; A D 0 4 9 8 3 ; A D 0 5 0 6 9 ; A D
 0 5 0 7 0 ; A D 0 5 0 7 1 ; A D 0 5 0 7 2 ; A D 0 5 0 7 3 ; A D 0 5 0 7 4 ; A D
 0 5 0 7 5 ; A D 0 5 0 7 6 ; A D 0 5 0 7 7 ; A D 0 5 0 7 8 ; A D 0 5 1 4 7 ; A D
 0 5 1 4 8 ; A D 0 5 1 4 9 ; A D 0 5 1 6 4 ; 又は A D 0 5 1 6 5 からなる群からのデ
 ュプレックス構造におけるそれぞれのセンスに同一又は実質的に同一なセンス鎖を含むデ
 ュプレックス構造を有する、上記 [5 1] に記載の R N A i 薬。

10

20

[5 3] 前記 R N A i 薬が、 A D 0 3 4 9 8 ; A D 0 3 4 9 9 ; A D 0 3 5 0 0 ; A D
 0 3 5 0 1 ; A D 0 3 7 3 8 ; A D 0 3 7 3 9 ; A D 0 3 9 6 7 ; A D 0 3 9 6 8 ; A D
 0 3 9 6 9 ; A D 0 3 9 7 0 ; A D 0 3 9 7 1 ; A D 0 3 9 7 2 ; A D 0 3 9 7 3 ; A D
 0 3 9 7 4 ; A D 0 3 9 7 5 ; A D 0 3 9 7 6 ; A D 0 3 9 7 7 ; A D 0 3 9 7 8 ; A D
 0 4 0 0 1 ; A D 0 4 0 0 2 ; A D 0 4 0 0 3 ; A D 0 4 0 0 4 ; A D 0 4 0 0 5 ; A D
 0 4 0 0 6 ; A D 0 4 0 0 7 ; A D 0 4 0 0 8 ; A D 0 4 0 0 9 ; A D 0 4 0 1 0 ; A D
 0 4 1 7 6 ; A D 0 4 1 7 7 ; A D 0 4 1 7 8 ; A D 0 4 4 1 2 ; A D 0 4 4 1 3 ; A D
 0 4 4 1 4 ; A D 0 4 4 1 5 ; A D 0 4 4 1 6 ; A D 0 4 4 1 7 ; A D 0 4 4 1 8 ; A D
 0 4 4 1 9 ; A D 0 4 4 2 0 ; A D 0 4 4 2 1 ; A D 0 4 4 2 2 ; A D 0 4 4 2 3 ; A D
 0 4 4 2 5 ; A D 0 4 4 2 6 ; A D 0 4 4 2 7 ; A D 0 4 4 2 8 ; A D 0 4 4 2 9 ; A D
 0 4 4 3 0 ; A D 0 4 4 3 1 ; A D 0 4 4 3 2 ; A D 0 4 4 3 3 ; A D 0 4 4 3 4 ; A D
 0 4 4 3 5 ; A D 0 4 4 3 6 ; A D 0 4 4 3 7 ; A D 0 4 4 3 8 ; A D 0 4 4 3 9 ; A D
 0 4 4 4 0 ; A D 0 4 4 4 1 ; A D 0 4 4 4 2 ; A D 0 4 5 1 1 ; A D 0 4 5 7 0 ; A D
 0 4 5 7 1 ; A D 0 4 5 7 2 ; A D 0 4 5 7 3 ; A D 0 4 5 7 4 ; A D 0 4 5 7 5 ; A D
 0 4 5 7 6 ; A D 0 4 5 7 7 ; A D 0 4 5 7 8 ; A D 0 4 5 7 9 ; A D 0 4 5 8 0 ; A D
 0 4 5 8 1 ; A D 0 4 5 8 3 ; A D 0 4 5 8 4 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 5 8 6 ; A D
 0 4 5 8 7 ; A D 0 4 5 8 8 ; A D 0 4 5 9 0 ; A D 0 4 5 9 1 ; A D 0 4 5 9 2 ; A D
 0 4 5 9 3 ; A D 0 4 5 9 4 ; A D 0 4 5 9 5 ; A D 0 4 5 9 6 ; A D 0 4 5 9 7 ; A D
 0 4 5 9 8 ; A D 0 4 5 9 9 ; A D 0 4 7 3 4 ; A D 0 4 7 7 1 ; A D 0 4 7 7 2 ; A D
 0 4 7 7 3 ; A D 0 4 7 7 4 ; A D 0 4 7 7 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 7 7 7 ; A D
 0 4 7 7 8 ; A D 0 4 8 2 2 ; A D 0 4 8 2 3 ; A D 0 4 8 7 1 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D
 0 4 8 7 3 ; A D 0 4 8 7 4 ; A D 0 4 8 7 5 ; A D 0 4 8 7 6 ; A D 0 4 8 8 1 ; A D
 0 4 8 8 2 ; A D 0 4 8 8 3 ; A D 0 4 8 8 4 ; A D 0 4 8 8 5 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D
 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 1 ; A D 0 4 9 8 2 ; A D 0 4 9 8 3 ; A D 0 5 0 6 9 ; A D
 0 5 0 7 0 ; A D 0 5 0 7 1 ; A D 0 5 0 7 2 ; A D 0 5 0 7 3 ; A D 0 5 0 7 4 ; A D

30

40

50

0 5 0 7 5 ; A D 0 5 0 7 6 ; A D 0 5 0 7 7 ; A D 0 5 0 7 8 ; A D 0 5 1 4 7 ; A D 0 5 1 4 8 ; A D 0 5 1 4 9 ; A D 0 5 1 6 4 ; 又は A D 0 5 1 6 5 からなる群からのデュプレックス構造におけるそれぞれのアンチセンス鎖に同一又は実質的に同一なアンチセンス鎖を含むデュプレックス構造を有する、上記 [5 2] に記載の R N A i 薬。

[5 4] 前記 R N A i 薬が、 A D 0 3 4 9 8 ; A D 0 3 4 9 9 ; A D 0 3 5 0 0 ; A D 0 3 5 0 1 ; A D 0 3 7 3 8 ; A D 0 3 7 3 9 ; A D 0 3 9 6 7 ; A D 0 3 9 6 8 ; A D 0 3 9 6 9 ; A D 0 3 9 7 0 ; A D 0 3 9 7 1 ; A D 0 3 9 7 2 ; A D 0 3 9 7 3 ; A D 0 3 9 7 4 ; A D 0 3 9 7 5 ; A D 0 3 9 7 6 ; A D 0 3 9 7 7 ; A D 0 3 9 7 8 ; A D 0 4 0 0 1 ; A D 0 4 0 0 2 ; A D 0 4 0 0 3 ; A D 0 4 0 0 4 ; A D 0 4 0 0 5 ; A D 0 4 0 0 6 ; A D 0 4 0 0 7 ; A D 0 4 0 0 8 ; A D 0 4 0 0 9 ; A D 0 4 0 1 0 ; A D 0 4 1 7 6 ; A D 0 4 1 7 7 ; A D 0 4 1 7 8 ; A D 0 4 4 1 2 ; A D 0 4 4 1 3 ; A D 0 4 4 1 4 ; A D 0 4 4 1 5 ; A D 0 4 4 1 6 ; A D 0 4 4 1 7 ; A D 0 4 4 1 8 ; A D 0 4 4 1 9 ; A D 0 4 4 2 0 ; A D 0 4 4 2 1 ; A D 0 4 4 2 2 ; A D 0 4 4 2 3 ; A D 0 4 4 2 5 ; A D 0 4 4 2 6 ; A D 0 4 4 2 7 ; A D 0 4 4 2 8 ; A D 0 4 4 2 9 ; A D 0 4 4 3 0 ; A D 0 4 4 3 1 ; A D 0 4 4 3 2 ; A D 0 4 4 3 3 ; A D 0 4 4 3 4 ; A D 0 4 4 3 5 ; A D 0 4 4 3 6 ; A D 0 4 4 3 7 ; A D 0 4 4 3 8 ; A D 0 4 4 3 9 ; A D 0 4 4 4 0 ; A D 0 4 4 4 1 ; A D 0 4 4 4 2 ; A D 0 4 5 1 1 ; A D 0 4 5 7 0 ; A D 0 4 5 7 1 ; A D 0 4 5 7 2 ; A D 0 4 5 7 3 ; A D 0 4 5 7 4 ; A D 0 4 5 7 5 ; A D 0 4 5 7 6 ; A D 0 4 5 7 7 ; A D 0 4 5 7 8 ; A D 0 4 5 7 9 ; A D 0 4 5 8 0 ; A D 0 4 5 8 1 ; A D 0 4 5 8 3 ; A D 0 4 5 8 4 ; A D 0 4 5 8 5 ; A D 0 4 5 8 6 ; A D 0 4 5 8 7 ; A D 0 4 5 8 8 ; A D 0 4 5 9 0 ; A D 0 4 5 9 1 ; A D 0 4 5 9 2 ; A D 0 4 5 9 3 ; A D 0 4 5 9 4 ; A D 0 4 5 9 5 ; A D 0 4 5 9 6 ; A D 0 4 5 9 7 ; A D 0 4 5 9 8 ; A D 0 4 5 9 9 ; A D 0 4 7 3 4 ; A D 0 4 7 7 1 ; A D 0 4 7 7 2 ; A D 0 4 7 7 3 ; A D 0 4 7 7 4 ; A D 0 4 7 7 5 ; A D 0 4 7 7 6 ; A D 0 4 7 7 7 ; A D 0 4 7 7 8 ; A D 0 4 8 2 2 ; A D 0 4 8 2 3 ; A D 0 4 8 7 1 ; A D 0 4 8 7 2 ; A D 0 4 8 7 3 ; A D 0 4 8 7 4 ; A D 0 4 8 7 5 ; A D 0 4 8 7 6 ; A D 0 4 8 8 1 ; A D 0 4 8 8 2 ; A D 0 4 8 8 3 ; A D 0 4 8 8 4 ; A D 0 4 8 8 5 ; A D 0 4 9 6 2 ; A D 0 4 9 6 3 ; A D 0 4 9 8 1 ; A D 0 4 9 8 2 ; A D 0 4 9 8 3 ; A D 0 5 0 6 9 ; A D 0 5 0 7 0 ; A D 0 5 0 7 1 ; A D 0 5 0 7 2 ; A D 0 5 0 7 3 ; A D 0 5 0 7 4 ; A D 0 5 0 7 5 ; A D 0 5 0 7 6 ; A D 0 5 0 7 7 ; A D 0 5 0 7 8 ; A D 0 5 1 4 7 ; A D 0 5 1 4 8 ; A D 0 5 1 4 9 ; A D 0 5 1 6 4 ; 又は A D 0 5 1 6 5 からなる群からのデュプレックス構造におけるそれぞれのセンス鎖及びアンチセンス鎖に両方とも同一又は実質的に同一なセンス鎖及びアンチセンス鎖を含むデュプレックス構造を有する、上記 [5 3] に記載の R N A i 薬。

[5 5] 前記実質的に同一であることが、正確に同一であるか、少なくとも、又は約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %である、上記 [5 1] ~ [5 4] に記載の R N A i 薬。

[5 6] 前記実質的に同一であることが、少なくとも、又は約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %である、上記 [5 1] ~ [5 4] のいずれかに記載の R N A i 薬。

[5 7] 前記実質的に同一であることが、約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %である、上記 [5 1] ~ [5 4] のいずれかに記載の R N A i 薬。

[5 8] 前記実質的に同一であることが、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 %である、上記 [5 1] ~ [5 4] のいずれかに記載の R N A i 薬。

[5 9] 上記 [5 1] ~ [5 8] のいずれかに記載の R N A i 薬を含む組成物。

[6 0] 上記 [5 1] ~ [5 8] のいずれかに記載の、少なくとも 2 つの R N A i 薬を含む組成物。

10

20

30

40

50

[6 1] 前記RNA i 薬が少なくとも1つのオーバーハングを含む、上記[1] ~ [9]又は[5 1] ~ [5 8]のいずれかに記載のRNA i 薬。

[6 2] 前記RNA i 薬が前記アンチセンス鎖の3'末端にオーバーハングを含む、上記[6 1]に記載のRNA i 薬。

[6 3] 前記RNA i 薬が、前記アンチセンス鎖の3'末端及び前記センス鎖の3'末端にオーバーハングを含む、上記[6 2]に記載のRNA i 薬。

[6 4] 前記RNA i 薬が1つ又は2つの平滑末端を含む、上記[1] ~ [9]又は[5 1] ~ [5 8]のいずれかに記載のRNA i 薬。

[6 5] 前記RNA i 薬が1つ又は2つのフレイド末端を含む、上記[1] ~ [9]又は[5 1] ~ [5 8]のいずれかに記載のRNA i 薬。

10

[6 6] 前記センス鎖が少なくとも1つの逆向き塩基脱落ヌクレオシドを含む、上記[1] ~ [9]、[5 1] ~ [5 8]、又は[6 1] ~ [6 5]のいずれかに記載のRNA i 薬。

【配列表】

0007237816000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/7068(2006.01)	A 6 1 K	31/7068
A 6 1 K	31/675(2006.01)	A 6 1 K	31/675
A 6 1 K	31/522(2006.01)	A 6 1 K	31/522
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	A 6 1 K	38/21
A 6 1 K	9/19 (2006.01)	A 6 1 K	9/19
A 6 1 K	47/04 (2006.01)	A 6 1 K	47/04

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/540,639

(32)優先日 平成29年8月3日(2017.8.3)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 リ, ジェン

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9, マディソン エス. ローザ ロード 5 0 2 アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド.

(72)発明者 チュー, ルイ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9, マディソン エス. ローザ ロード 5 0 2 アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド.

(72)発明者 ウッドデル, クリスティーン アイ.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9, マディソン エス. ローザ ロード 5 0 2 アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド.

(72)発明者 ギヴン, ブルース ディー.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9, マディソン エス. ローザ ロード 5 0 2 アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド.

(72)発明者 ペイ, タオ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9, マディソン エス. ローザ ロード 5 0 2 アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド.

(72)発明者 ルイス, デイヴィッド エル.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 4, マディソン レイクランド アヴェニュー 2 9 3 0

(72)発明者 アルメイダ, ローレン ジェイ.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 1, マディソン トグスタッド グレン 4 9 0

(72)発明者 ロゼマ, デイヴィッド ビー.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 5 2 8, クロス ブレインズ, ギルス ウェイ 4 3 6 1

(72)発明者 ウェイクフィールド, ダレン エイチ.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 1, フィッチバーグ ストーンマン ドライブ 5 2 3 6

審査官 参鍋 祐子

(56)参考文献 特表 2 0 1 3 - 5 3 7 4 2 3 (J P , A)

特表 2 0 1 4 - 5 2 7 4 0 1 (J P , A)

特表 2 0 1 4 - 5 0 7 3 9 2 (J P , A)

国際公開第 2 0 0 4 / 0 7 8 1 8 1 (W O , A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0

A 6 1 K 4 8 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)