(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-511767
(P2024-511767A)
(43)公表日　令和6年3月15日(2024.3.15)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/7088(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7088		２Ｇ０４５
Ａ６１Ｐ	*21/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*25/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14		
Ｃ１２Ｎ	*15/113(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	１３０Ｚ	
Ｇ０１Ｎ	*33/68 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	ＺＮＡ	

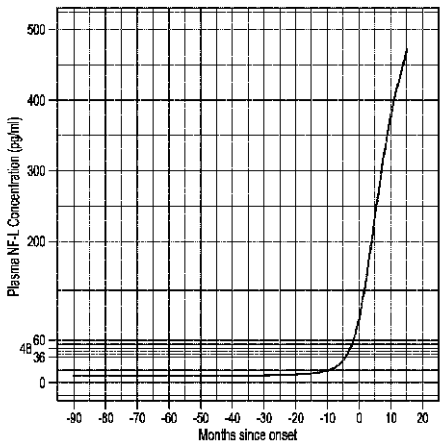
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全31頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-557719(P2023-557719)
(86)(22)出願日　令和4年3月30日(2022.3.30)
(85)翻訳文提出日　令和5年9月20日(2023.9.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/022485
(87)国際公開番号　WO2022/212459
(87)国際公開日　令和4年10月6日(2022.10.6)
(31)優先権主張番号　63/168,972
(32)優先日　令和3年3月31日(2021.3.31)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　398050098
バイオジェン・エムエイ・インコーポレイテッド
Ｂｉｏｇｅｎ ＭＡ Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ビニー・ストリート２２５番
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　筋萎縮性側索硬化症の治療

(57)【要約】
本開示は、スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）遺伝子の変異を有する対象を、ＳＯＤ１標的アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩による治療の対象として選択するために、ニューロフィラメント軽鎖レベルの使用を提供する。本開示による方法は、臨床的に発症前の筋萎縮性側索硬化症を含む筋萎縮性側索硬化症の治療に適用することができる。
【選択図】図１



	Posterior Median Estimate						
Time to symptom onset	1 month	2 months	3 months	4 months	5 months	6 months	7 months
Geometric Mean NF level	73.05	58.62	47.20	38.03	32.15	27.2	23.7

Fig. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
治療を必要とするヒト対象においてスーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症を治療する方法であって、前記方法は、下記の式：
ｍＣｅｓ Ａｅｏ Ｇｅｓ Ｇｅｏ Ａｅｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｄｓ Ａｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ ｍＣｄｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｅｏ Ａｅｓ Ｇｅｏ ｍＣｅｓ Ｔｅ
（配列番号１の核酸塩基配列）であって、式中、
Ａは、アデニンであり、
ｍＣは、５’－メチルシトシンであり、
Ｇは、グアニンであり、
Ｔは、チミンであり、
ｅは、２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾糖であり、
ｄは、２’－デオキシリボース糖であり、
ｓは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
ｏは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、
前記式による、治療有効量の、アンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を前記ヒト対象に投与することを含み、
前記ヒト対象は、前記治療の開始前に少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを有する、前記方法。
【請求項２】
前記ヒト対象は、前記治療の開始前にニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を経験している、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ヒト対象は、前記治療の開始前に、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌの血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルに相当する血液、血清、または脳脊髄液ニューロフィラメント軽鎖レベルを有し、さらに、前記ヒト対象は、前記治療の開始前に、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加に相当する、血液、血清、または脳脊髄液ニューロフィラメント軽鎖レベルの増加を経験している、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記ヒト対象が、前記治療の開始前に、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌの血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルを有し、さらに、前記ヒト対象は、前記治療の開始前に、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を経験している、請求項２に記載の方法。
【請求項５】
治療を必要とするヒト対象においてＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症を治療する方法であって、
治療の開始前に、前記ヒト対象から得た生体試料で、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを測定することと、
治療有効量の、下記の式
ｍＣｅｓ Ａｅｏ Ｇｅｓ Ｇｅｏ Ａｅｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｄｓ Ａｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ ｍＣｄｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｅｏ Ａｅｓ Ｇｅｏ ｍＣｅｓ Ｔｅ
（配列番号１の核酸塩基配列）であって、式中、
Ａは、アデニンであり、
ｍＣは、５’－メチルシトシンであり、
Ｇは、グアニンであり、
Ｔは、チミンであり、
ｅは、２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾糖であり、
ｄは、２’－デオキシリボース糖であり、
ｓは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、

ｏは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である、
前記式によるアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を前記ヒト対象に投与することと、を含む、前記方法。
【請求項６】
前記生体試料は、血液、血清、血漿、または脳脊髄液である、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記生体試料は血漿である、請求項５に記載の方法。
【請求項８】
アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を投与する前に、前記ヒト対象において、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加に相当する血液、血清、または脳脊髄液レベルのニューロフィラメント軽鎖レベルの増加を測定することをさらに含む、請求項５または６に記載の方法。
【請求項９】
前記アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を投与する前に、前記ヒト対象において、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を測定することをさらに含む、請求項５～７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記医薬組成物は、くも膜下腔内投与によって投与される、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記医薬組成物は、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達する、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
前記ＳＯＤ１遺伝子における変異はＡ４Ｖである、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
前記ＳＯＤ１遺伝子における変異がＡ４Ｖ、Ｈ４６Ｒ、Ｇ９３Ｓ、Ａ４Ｔ、Ｇ１４１Ｘ、Ｄ１３３Ａ、Ｖ１４８Ｇ、Ｎ１３９Ｋ、Ｇ８５Ｒ、Ｇ９３Ａ、Ｖ１４Ｇ、Ｃ６Ｓ、Ｉ１１３Ｔ、Ｄ４９Ｋ、Ｇ３７Ｒ、Ａ８９Ｖ、Ｅ１００Ｇ、Ｄ９０Ａ、Ｔ１３７Ａ、Ｅ１００Ｋ、Ｇ４１Ａ、Ｇ４１Ｄ、Ｇ４１Ｓ、Ｇ１３Ｒ、Ｇ７２Ｓ、Ｌ８Ｖ、Ｆ２０Ｃ、Ｑ２２Ｌ、Ｈ４８Ｒ、Ｔ５４Ｒ、Ｓ５９１、Ｖ８７Ａ、Ｔ８８ｄｅｌｔａＴＡＤ、Ａ８９Ｔ、Ｖ９７Ｍ、Ｓ１０５ｄｅｌｔａＳＬ、Ｖ１１８Ｌ、Ｄ１２４Ｇ、Ｌ１１４Ｆ、Ｄ９０Ａ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１４７Ｒ、Ｃ６Ｆ、Ｃ６Ｇ、Ｄ１０１Ｇ、Ｄ１０１Ｈ、Ｇ１１４Ａ、Ｇ８５Ｓ、Ｈ４３Ｒ、Ｌ１０６Ｆ、Ｌ１０６Ｖ、Ｌ３８Ｖ、またはＲ１１５Ｇである、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
前記ヒト対象は、臨床的に筋萎縮性側索硬化症の発症前である、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記ヒト対象に、前記医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、前記医薬組成物の維持用量を投与する、先行請求項のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
前記ヒト対象に３回分の負荷用量を投与し、前記負荷用量は１４日置きに投与される、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記維持用量は、３回目の負荷用量の２８日後から開始して２８日ごとに投与される、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記医薬組成物の前記負荷用量及び前記維持用量を、
（ｉ）前記医薬組成物の１回目の負荷用量を投与し、

（ｉｉ）前記１回目の負荷用量の投与日から１４日後に前記医薬組成物の２回目の負荷用量を投与し、
（ｉｉｉ）前記１回目の負荷用量の投与日から２８日後に前記医薬組成物の３回目の負荷用量を投与し、
（ｉｖ）前記３回目の負荷用量の投与日から２８日後、または１ヶ月後に前記医薬組成物の１回目の維持用量を投与する方式で、前記ヒト対象に投与する、請求項１５に記載の方法。
【請求項１９】
前記医薬組成物の前記負荷用量及び前記維持用量を、
（ｉ）１回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として投与し、
（ｉｉ）２回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、前記１回目の負荷用量の投与日から１４日後に投与し、
（ｉｉｉ）３回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、前記１回目の負荷用量の投与日から２８日後に投与し、
（ｉｖ）１回目の維持用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、前記３回目の負荷用量の投与日から２８日後に投与する方式で、前記ヒト対象に投与する、請求項１５に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年３月３１日付で出願された米国仮特許出願第６３／１６８，９７２号の優先権を主張する。前述の出願の全文は、本明細書に援用されている。
【０００２】
配列表
本願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子提出された配列表を含み、当該配列表は、全体が本明細書に援用されている。２０２２年３月２４日に作成された該ＡＳＣＩＩコピーは、１３７５１－０３４４ＷＯ１＿ＳＬ．ｔｘｔという名称であり、サイズは７，９４８バイトである。
【０００３】
本開示は、筋萎縮性側索硬化症のバイオマーカー及び治療に関する。
【背景技術】
【０００４】
可溶性スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）酵素（Ｃｕ／Ｚｎスーパーオキシドジスムターゼともいう）は、スーパーオキシドの過酸化水素（H_2O_2）への不均化を触媒することによって生体分子の酸化的損傷への防御を提供するスーパーオキシドジスムターゼの１つである（Ｆｒｉｄｏｖｉｃｈ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，６４：９７－１１２（１９９５））。スーパーオキシドアニオン（O^{2-}）とは、主にミトコンドリアの酸化的リン酸化の誤りによって産生される、潜在的に有害な細胞副産物である（Ｔｕｒｒｅｎｓ，Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．，５５２：３３５－３４４（２００３））。
【０００５】
筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ、ルー・ゲーリッグ病ともいう）とは、通常、約１７，０００人のアメリカ人が罹患している深刻な進行性神経変性疾患を指す（Ｍｅｈｔａ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．（２０１８）“Ｐｒｅｖａｌｅｎｃｅ ｏｆ Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ Ｌａｔｅｒａｌ Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ－Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ，２０１５．”ＭＭＷＲ Ｍｏｒｂ Ｍｏｒｔａｌ Ｗｋｌｙ Ｒｅｐ ６７（４６）：１２８５－１２８９）。ＡＬＳ症例の約２％は、ＳＯＤ１をコードする遺伝子の変異に起因する（Ｂｕｎｔｏｎ－Ｓ

ｔａｓｙｓｈｙｎ ＲＫＡ，ｅｔ ａｌ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｔｉｓｔ．２０１５；２１：５１９－２９）。ＳＯＤ１遺伝子の変異は、通常、顕性遺伝型のＡＬＳ、つまり上下部運動ニューロンの選択的変性を特徴とする疾患に関連している（Ｒｏｗｌａｎｄ，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．，２００１，３４４：１６８８－１７００（２００１））。

【０００６】

変異ＳＯＤ１の毒性は、活性酵素からの核の保護を低下させる（核の機能の喪失）初期の誤った折り畳み（機能の獲得）により生じると考えられており、このプロセスはＡＬＳの発症に関与している可能性がある（Ｓａｕ，Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．，１６：１６０４－１６１８（２００７））。ＡＬＳにおける運動ニューロンの進行性の変性は、最終的にはニューロンの死滅につながる。運動ニューロンが死滅すると、筋肉の動きを開始・制御する脳の能力が失われる。随意筋活動が徐々に影響を受けるため、病気の後期にある患者は完全に麻痺してしまうことがある。

ＡＬＳを治療する効果的な治療法に対するニーズは依然として満たされていない。従って、本開示の目的は、当該疾患を治療するための方法を提供することである。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Ｆｒｉｄｏｖｉｃｈ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，６４：９７－１１２（１９９５）

【非特許文献２】Ｔｕｒｒｅｎｓ，Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．，５５２：３３５－３４４（２００３）

【非特許文献３】Ｍｅｈｔａ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．（２０１８）“Ｐｒｅｖａｌｅｎｃｅ ｏｆ Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ Ｌａｔｅｒａｌ Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ－Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ，２０１５．”ＭＭＷＲ Ｍｏｒｂ Ｍｏｒｔａｌ Ｗｋｌｙ Ｒｅｐ ６７（４６）：１２８５－１２８９

【非特許文献４】Ｂｕｎｔｏｎ－Ｓｔａｓｙｓｈｙｎ ＲＫＡ，ｅｔ ａｌ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｔｉｓｔ．２０１５；２１：５１９－２９

【非特許文献５】Ｒｏｗｌａｎｄ，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．，２００１，３４４：１６８８－１７００（２００１）

【非特許文献６】Ｓａｕ，Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．，１６：１６０４－１６１８（２００７）

【発明の概要】

【０００８】

本開示は、部分的に、臨床症状／徴候を有する対象（成人など）及び疾患のバイオマーカー（例：少なくとも４４ｐｇ／ｍＬのニューロフィラメント軽鎖レベル）の証拠を有する発症前の対象（成人など）における、ＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症の治療に関する。

【０００９】

本明細書にて提供されるものは、一部の態様では、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを有するヒト対象、例えば、臨床的にＡＬＳの発症前であるヒト対象における、ＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症の治療である。

【００１０】

一態様では、本開示は、治療を必要とするヒト対象においてＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症を治療する方法を特徴とする。当該方法は、治療有効量の、下記の式によるアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物をヒト対象に投与することによる。

ｍＣｅｓ Ａｅｏ Ｇｅｓ Ｇｅｏ Ａｅｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｄｓ Ａｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ ｍＣｄｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｅｏ Ａｅｓ Ｇｅｏ ｍＣｅｓ Ｔｅ（配列番号１の核酸塩基配列）

式中、

Ａは、アデニンであり、
ｍＣは、５’－メチルシトシンであり、
Ｇは、グアニンであり、
Ｔは、チミンであり、
ｅは、２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾糖であり、
ｄは、２’－デオキシリボース糖であり、
ｓは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
ｏは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合であり、
ヒト対象は、治療の開始前に少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを有する。

【００１１】
一部の実施形態では、ヒト対象は、治療の開始前にニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を経験している。

【００１２】
一部の実施形態では、ニューロフィラメント軽鎖レベルは、ヒト対象からの生体試料、例えば、血液、血清、血漿、または脳脊髄液試料におけるレベルである。一部の実施形態では、ニューロフィラメント軽鎖レベルは、血漿レベル、例えば、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌの血漿レベル及び／または血漿レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加に当たる。一部の実施形態では、ニューロフィラメント軽鎖レベルは、対応の血漿レベルに相当する、血液、血清、または脳脊髄液レベルである（例えば、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌの血漿レベル及び／または血漿レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加に相当する）。

【００１３】
一部の実施形態では、ヒト対象が、治療の開始前に、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを有し、さらに、ヒト対象は、治療の開始前に、ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を経験している。

【００１４】
一部の実施形態では、ヒト対象が、治療の開始前に、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌの血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルを有し、さらに、ヒト対象は、治療の開始前に、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を経験している。

【００１５】
別の態様では、本開示は、治療を必要とするヒト対象において筋萎縮性側索硬化症を治療する方法を特徴とし、当該方法は、
治療の開始前に、ヒト対象から得た生体試料で、少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベルを測定することと、
治療有効量の、下記の式によるアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物をヒト対象に投与することと、を含む。
ｍＣｅｓ Ａｅｏ Ｇｅｓ Ｇｅｏ Ａｅｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｄｓ Ａｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ ｍＣｄｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｅｏ Ａｅｓ Ｇｅｏ ｍＣｅｓ Ｔｅ（配列番号１の核酸塩基配列）
式中、
Ａは、アデニンであり、
ｍＣは、５’－メチルシトシンであり、
Ｇは、グアニンであり、
Ｔは、チミンであり、
ｅは、２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾糖であり、
ｄは、２’－デオキシリボース糖であり、
ｓは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、
ｏは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

【００１６】
一部の実施形態では、生体試料は血液、血清、血漿、または脳脊髄液である。

【００１７】
一部の実施形態では、生体試料は血液である。
【００１８】
一部の実施形態では、生体試料は血清である。
【００１９】
一部の実施形態では、生体試料は血漿である。
【００２０】
一部の実施形態では、当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を投与する前に、ヒト対象において、血液、血清、血漿、または脳脊髄液ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を測定することをさらに含む。
【００２１】
一部の実施形態では、当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を投与する前に、ヒト対象における血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加を測定することをさらに含む。
【００２２】
一部の実施形態では、当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその薬学的に許容される塩を投与する前に、ヒト対象において、血漿ニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加に相当する血液、血清、または脳脊髄液レベルのニューロフィラメント軽鎖レベルの増加を測定することをさらに含む。
【００２３】
本明細書に記載の方法のうちいずれかの一部の実施形態では、医薬組成物は、くも膜下腔内投与によって投与される。
【００２４】
本明細書に記載の方法のうちいずれかの一部の実施形態では、医薬組成物は、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達する。
【００２５】
本明細書に記載の方法のうちいずれかの一部の実施形態では、ＳＯＤ１遺伝子における変異はＡ４Ｖである。
【００２６】
本明細書に記載の方法のうちいずれかの一部の実施形態では、ＳＯＤ１遺伝子における変異は、Ａ４Ｖ、Ｈ４６Ｒ、Ｇ９３Ｓ、Ａ４Ｔ、Ｇ１４１Ｘ、Ｄ１３３Ａ、Ｖ１４８Ｇ、Ｎ１３９Ｋ、Ｇ８５Ｒ、Ｇ９３Ａ、Ｖ１４Ｇ、Ｃ６Ｓ、Ｉ１１３Ｔ、Ｄ４９Ｋ、Ｇ３７Ｒ、Ａ８９Ｖ、Ｅ１００Ｇ、Ｄ９０Ａ、Ｔ１３７Ａ、Ｅ１００Ｋ、Ｇ４１Ａ、Ｇ４１Ｄ、Ｇ４１Ｓ、Ｇ１３Ｒ、Ｇ７２Ｓ、Ｌ８Ｖ、Ｆ２０Ｃ、Ｑ２２Ｌ、Ｈ４８Ｒ、Ｔ５４Ｒ、Ｓ５９１、Ｖ８７Ａ、Ｔ８８ｄｅｌｔａＴＡＤ、Ａ８９Ｔ、Ｖ９７Ｍ、Ｓ１０５ｄｅｌｔａＳＬ、Ｖ１１８Ｌ、Ｄ１２４Ｇ、Ｌ１１４Ｆ、Ｄ９０Ａ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１４７Ｒ、Ｃ６Ｆ、Ｃ６Ｇ、Ｄ１０１Ｇ、Ｄ１０１Ｈ、Ｇ１１４Ａ、Ｇ８５Ｓ、Ｈ４３Ｒ、Ｌ１０６Ｆ、Ｌ１０６Ｖ、Ｌ３８Ｖ、またはＲ１１５Ｇである。
【００２７】
本明細書に記載された方法のうちいずれかの一部の実施形態では、ヒト対象は、臨床的に筋萎縮性側索硬化症の発症前である。
【００２８】
本明細書に記載の方法のうちいずれかの一部の実施形態では、ヒト対象に医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、医薬組成物の維持用量を投与する。
【００２９】
ヒト対象に医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、医薬組成物の維持用量を投与する一部の実施形態では、ヒト対象に３回の負荷用量を投与し、負荷用量は１４日置きに投与される。
【００３０】

ヒト対象に医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、医薬組成物の維持用量を投与する一部の実施形態では、維持容量は、３回目の負荷用量の２８日後から開始して２８日ごとに投与される。

【００３１】

ヒト対象に医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、医薬組成物の維持用量を投与する一部の実施形態では、医薬組成物の負荷用量及び維持用量を、以下のようにヒト対象に投与する。

（ｉ）医薬組成物の１回目の負荷用量を投与し、

（ｉｉ）１回目の負荷用量の投与日から１４日後に医薬組成物の２回目の負荷用量を投与し、

（ｉｉｉ）１回目の負荷用量の投与日から２８日後に医薬組成物の３回目の負荷用量を投与し、

（ｉｖ）３回目の負荷用量の投与日から２８日後、または１ヶ月後に医薬組成物の１回目の維持用量を投与する。

【００３２】

ヒト対象に医薬組成物の負荷用量を投与し、その後、医薬組成物の維持用量を投与する一部の実施形態では、医薬組成物の負荷用量及び維持用量を、以下のようにヒト対象に投与する。

（ｉ）１回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として投与し、

（ｉｉ）２回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、１回目の負荷用量の投与日から１４日後に投与し、

（ｉｉｉ）３回目の負荷用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、１回目の負荷用量の投与日から２８日後に投与し、

（ｉｖ）１回目の維持用量を、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量として、３回目の負荷用量の投与日から２８日後に投与する。

【００３３】

本明細書に記載の方法のいずれかによって、一部の実施形態では、ヒト対象は成人であり、例えば、ヒト対象は少なくとも１８歳、例えば少なくとも１８歳、２０歳、２５歳、３０歳、３５歳、４０歳、４５歳、５０歳、５５歳、６０歳、６５歳以上である。

【００３４】

別途定義されない限り、本明細書で用いられる技術用語及び科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本発明の実践または試験において、本明細書において記載されるものに類似または同等である方法及び材料を使用することができるが、その中で、例示的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すべての出版物、特許出願、特許、及び他の参照文献は、全文がここに援用される。矛盾する場合には、定義を含み、本出願が優先される。材料、方法、及び実施例は、単に例示的なものであり、本発明を限定する訳ではない。

【００３５】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲から理解できるはずである。

【図面の簡単な説明】

【００３６】

【図１】ベースラインにて３０歳以上であり、急速に進行する変異を有する臨床的に明確なＡＬＳに罹患する参加者についての幾何平均ＮｆＬレベルのモデルに基づく推定値を示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

【００３７】

本開示は、臨床症状／徴候を有する対象（成人など）及び疾患のバイオマーカー（例：少なくとも４４ｐｇ／ｍＬのニューロフィラメント軽鎖レベル）の証拠を有する発症前の対象（成人など）における、ＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症の治療のための、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の用途を特徴とする。

【００３８】

筋萎縮性側索硬化症

筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）とは、皮質、脳幹、脊髄内の運動ニューロンの喪失を引き起こす稀な神経変性疾患を指す。患者は、球筋、呼吸筋、随意筋の筋肉量、筋力、及び機能の進行性の喪失に苦しむことになる。衰退は避けられず、通常は、診断の後、平均２～５年ほどで呼吸不全により死亡する。患者のほとんどは散発性ＡＬＳに苦しむが、患者のごく一部、つまり約２％はスーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）の様々な変異によって引き起こされる遺伝性または家族性のＡＬＳに罹患する。１９９３年に最初に発見されて以来、このようなＡＬＳ（ＳＯＤ１　ＡＬＳと呼ばれる）を引き起こすＳＯＤ１変異は、現在まで１８０以上報告されている。Ｔｈｅ　Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ　Ｌａｔｅｒａｌ　Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ　Ｏｎｌｉｎｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＡＬＳｏＤ）．Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　ｏｆ　Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ，Ｐｓｙｃｈｏｌｏｇｙ　＆　Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ．Ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ　２０１５；Ｒｏｓｅｎ，Ｎａｔｕｒｅ，３６４（６４３５）：３６２（１９９３））．個々の変異による病気の進行は様々で、最も重篤な変異の場合、生存期間は１５ヶ月にも満たない。

【００３９】

承認を受けたＡＬＳの治療薬として、リルゾール（Ｒｉｌｕｔｅｋ（登録商標））及びエダラボン（Ｒａｄｉｃａｖａ（商標））がある。リルゾールは、生存期間をわずかに引き延ばす（２～３ヶ月）が、筋力または障害に著しい改善をもたらすことはない。エダラボンは、Ｒｅｖｉｓｅｄ　Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ　Ｌａｔｅｒａｌ　Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ　Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　Ｒａｔｉｎｇ　Ｓｃａｌｅ（ＡＬＳＦＲＳ－Ｒ）で測定される機能低下を軽減する。エダラボンが生存率に及ぼす影響は不明のままである。ＡＬＳのＳＯＤ１特異的治療法は未だに存在しない。

【００４０】

スーパーオキシドジスムターゼ１

スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）とも呼ばれるスーパーオキシドジスムターゼ［Ｃｕ－Ｚｎ］は、ヒトでは第２１染色体に位置するＳＯＤ１遺伝子によってコードされる酵素である。

【００４１】

ＳＯＤ１は、βバレルを形成する３２ｋＤａのホモ二量体で、各サブユニットに分子内ジスルフィド結合と二核Ｃｕ／Ｚｎ部位が含まれている。Ｃｕ／Ｚｎ部位は銅と亜鉛イオンを保持し、スーパーオキシドから過酸化水素と二酸素への不均化を触媒する役割を果たす。

【００４２】

ＳＯＤ１は、体内の遊離スーパーオキシドラジカルの破壊を担う３つのスーパーオキシドジスムターゼのうちの１つである。コードされたアイソザイムは可溶性の細胞質及びミトコンドリアの膜間腔タンパク質であり、有害な天然スーパーオキシドラジカルを分子状酸素と過酸化水素に変換するホモ二量体として作用する。過酸化水素は、カタラーゼと呼ばれる別の酵素によって分解される。

【００４３】

ＳＯＤ１遺伝子の変異のうち少なくとも１８０が家族性ＡＬＳに関わっている（Ｃｏｎｗｉｔ　ＲＡ，Ｊ　Ｎｅｕｒｏｌ　Ｓｃｉ．，２５１（１－２）：１－２（２００６）；Ａｌ－Ｃｈａｌａｂｉ　Ａ，Ｌｅｉｇｈ　ＰＮ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．　ｉｎ　Ｎｅｕｒｏｌ．，１３（４）：３９７－４０５（２０００）；Ｒｅｄｌｅｒ　ＲＬ，Ｄｏｋｈｏｌｙａｎ　ＮＶ，Ｐｒｏｇｒｅｓｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅ，１０７：２１５－６２（２０１２））。

しかしながら、野生型ＳＯＤ１は、細胞ストレスの条件下では、ＡＬＳ患者の９０％を占める散発性ＡＬＳ症例のうち有意な数にも関与していると考えられている。ヒトＳＯＤ１で最も頻繁に起こる変異は、米国はＡ４Ｖ、日本はＨ４６Ｒ、アイスランドはＧ９３Ｓである。その他、周知のヒトＳＯＤ１遺伝子変異としては、Ａ４Ｖ、Ｈ４６Ｒ、Ｇ９３Ｓ、Ａ４Ｔ、Ｇ１４１Ｘ、Ｄ１３３Ａ、Ｖ１４８Ｇ、Ｎ１３９Ｋ、Ｇ８５Ｒ、Ｇ９３Ａ、Ｖ１４Ｇ、Ｃ６Ｓ、Ｉ１１３Ｔ、Ｄ４９Ｋ、Ｇ３７Ｒ、Ａ８９Ｖ、Ｅ１００Ｇ、Ｄ９０Ａ、Ｔ１３７Ａ、Ｅ１００Ｋ、Ｇ４１Ａ、Ｇ４１Ｄ、Ｇ４１Ｓ、Ｇ１３Ｒ、Ｇ７２Ｓ、Ｌ８Ｖ、Ｆ２０Ｃ、Ｑ２２Ｌ、Ｈ４８Ｒ、Ｔ５４Ｒ、Ｓ５９１、Ｖ８７Ａ、Ｔ８８ｄｅｌｔａＴＡＤ、Ａ８９Ｔ、Ｖ９７Ｍ、Ｓ１０５ｄｅｌｔａＳＬ、Ｖ１１８Ｌ、Ｄ１２４Ｇ、Ｌ１１４Ｆ、Ｄ９０Ａ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１４７Ｒ、Ｃ６Ｆ、Ｃ６Ｇ、Ｄ１０１Ｇ、Ｄ１０１Ｈ、Ｇ１１４Ａ、Ｇ８５Ｓ、Ｈ４３Ｒ、Ｌ１０６Ｆ、Ｌ１０６Ｖ、Ｌ３８Ｖ、及びＲ１１５Ｇが挙げられる。事実上、ＡＬＳを引き起こす既知のすべてのＳＯＤ１変異は顕性的に作用する。ＳＯＤ１遺伝子の変異コピーが１つあれば、疾患を誘発するには十分である。

【００４４】

ヒトＳＯＤ１のアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ　Ｐ００４４１及びＧＥＮＢＡＮＫアクセッション番号ＮＰ＿０００４４５で見つけることができ、以下のようになる。

ＭＡＴＫＡＶＣＶＬＫ　ＧＤＧＰＶＱＧＩＩＮ　ＦＥＱＫＥＳＮＧＰＶ　ＫＶＷＧＳＩＫＧＬＴ　ＥＧＬＨＧＦＨＶＨＥ　ＦＧＤＮＴＡＧＣＴＳ　ＡＧＰＨＦＮＰＬＳＲ　ＫＨＧＧＰＫＤＥＥＲ　ＨＶＧＤＬＧＮＶＴＡ　ＤＫＤＧＶＡＤＶＳＩ　ＥＤＳＶＩＳＬＳＧＤ　ＨＣＩＩＧＲＴＬＶＶ　ＨＥＫＡＤＤＬＧＫＧ　ＧＮＥＥＳＴＫＴＧＮ　ＡＧＳＲＬＡＣＧＶＩＧＩＡＱ（配列番号２）

【００４５】

ヒトＳＯＤ１をコードするヌクレオチド配列は、ＧＥＮＢＡＮＫアクセッション番号ＮＭ＿０００４５４．４に当たる、また以下のようになる（本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドによって認識される領域には下線が引かれている）。

【化１】

1 gtttggggcc agagtggcg aggcgcggag gtctggc
cta taaagtagtc gcggagacgg
61 ggtgctggtt tgcgtcgtag tctcctgcag cgtct
ggggt ttccgttgca gtcctcggaa
121 ccaggacctc ggcgtggcct agcgagttat ggcg
acgaag gccgtgtgcg tgctgaagg
181 cgacggccca gtgcagggca tcatcaattt cgag
cagaag gaaagtaatg gaccagtgaa
241 ggtgtgggga agcattaaag gactgactga aggc
ctgcat ggattccatg ttcatgagtt
301 tggagataat acagcaggct gtaccagtgc aggt
cctcac tttaatcctc tatccagaaa
361 acacggtggg ccaaaggatg aagagaggca tgtt
ggagac ttgggcaatg tgactgctga
421 caaagatggt gtggccgatg tgtctattga agat
tctgtg atctcactct caggagacca
481 ttgcatcatt ggccgcacac tggtggtcca tgaa
aaagca gatgacttgg gcaaaggtgg
541 aaatgaagaa agtacaaaga caggaaacgc tgga
agtcgt ttggcttgtg gtgtaattgg
601 gatcgcccaa taaacattcc cttggatgta gtct
gaggcc ccttaactca tctgttatcc
661 tgctagctgt agaaatgtat cctgataaac atta
aacact gtaatcttaa aagtgtaatt
721 gtgtgacttt ttcagagttg ctttaaagta cctg
tagtga gaaactgatt tatgatcact
781 tggaagatt gtatagtttt ataaaactca gttaa
aatgt ctgtttcaat gacctgtatt
841 ttgccagact taaatcacag atgggtatta aact
tgtcag aatttctttg tcattcaagc
901 ctgtgaataa aaaccctgta tggcacttat tatg
aggcta ttaaaagaat ccaaattcaa
961 actaaaaaaa aaaaaaaaaa a （配列番号３）

【００４６】
ＳＯＤ１アンチセンスオリゴヌクレオチド
「アンチセンスＡ」とは、ＣＡＧＧＡＴＡＣＡＴＴＴＣＴＡＣＡＧＣＴ（配列番号１）の配列（５’位から３’位）を有する５－１０－５ＭＯＥギャップマーを指す。ここにおいて、ヌクレオシド１～５及び１６～２０のそれぞれは２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾ヌクレオシドであり、ヌクレオシド６～１５のそれぞれは２’－デオキシヌクレオシドであり、また、ヌクレオシド２～３、４～５、１６～１７、及び１８～１９の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホジエステル結合であり、ヌクレオシド１～２、３～４、５～６、６～７、７～８、８～９、９～１０、１０～１１、１１～１２、１２～１３、１３

～１４、１４～１５、１５～１６、１７～１８、及び１９～２０の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合であり、さらに、各シトシンは５－メチルシトシンである。

【００４７】

アンチセンスＡを化学表記法により表すと、ｍＣｅｓ Ａｅｏ Ｇｅｓ Ｇｅｏ Ａｅｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｄｓ Ａｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ Ｔｄｓ ｍＣｄｓ Ｔｄｓ Ａｄｓ ｍＣｅｏ Ａｅｓ Ｇｅｏ ｍＣｅｓ Ｔｅ（配列番号１）となり、

式中、

Ａは、アデニンであり、

ｍＣは、５’－メチルシトシンであり、

Ｇは、グアニンであり、

Ｔは、チミンであり、

ｅは、２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾糖であり、

ｄは、２’－デオキシリボース糖であり、

ｓは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合であり、

ｏは、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

【００４８】

「２’－Ｏ－メトキシエチル」（２’－ＭＯＥ、２’－ＯＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＯＣＨ$_3$、及びＭＯＥともいう）とは、フラノース環の２’位のＯ－メトキシ－エチル修飾を指す。２’－Ｏ－メトキシエチル修飾糖は、修飾糖である。

【００４９】

「５－メチルシトシン」とは、５’位に結合したメチル基で修飾されたシトシンを意味する。５－メチルシトシンは、修飾核酸塩基である。

【００５０】

「ホスホロチオエート結合」、または「ホスホロチオエートヌクレオシド間結合」とは、ホスホジエステル結合が非架橋酸素原子のうちの１つを硫黄原子と置き換えることによって修飾されるヌクレオシド間の結合を指す。ホスホロチオエート結合は、修飾ヌクレオシド間結合である。

【００５１】

アンチセンスＡ配列を次のように短縮表現で表すこともできる。

【化２】

$$5'\text{—}^{Me}\underline{CA}_{P=O}\underline{GG}_{P=O}\underline{A}TA^{Me}CATTT^{Me}CTA^{Me}\underline{C}_{P=O}\underline{AG}_{P=O}{}^{Me}\underline{C}{}^{Me}\underline{U}\text{—}3'$$

（配列番号１）

下線を引いた残基は２’－ＭＯＥヌクレオシドである。Ｐ＝Ｏアノテーションは、リン酸ジエステル結合の位置を反映している。

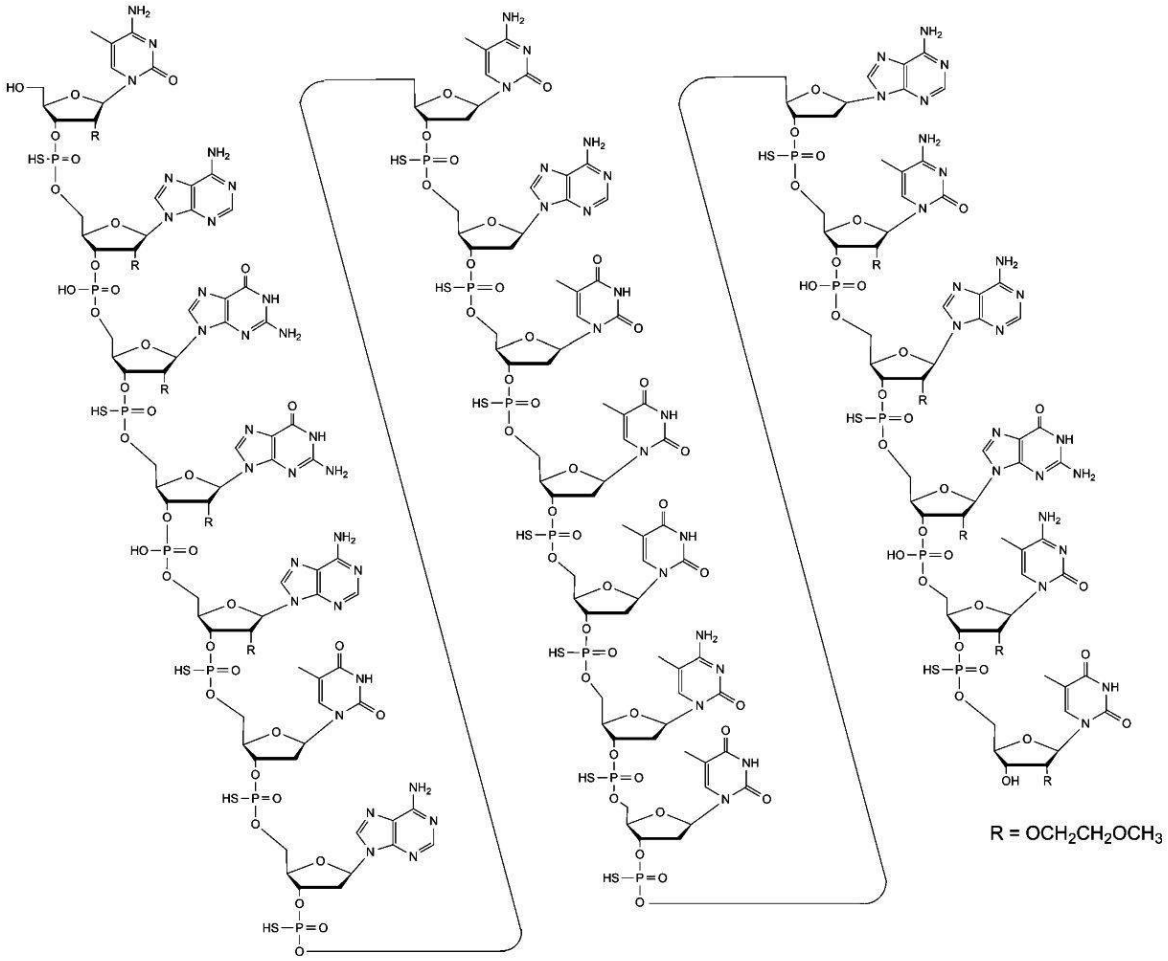
【００５２】

「２’－ＭＯＥヌクレオシド」（２’－Ｏ－メトキシエチルヌクレオシドともいう）は、ＭＯＥ修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

【００５３】

アンチセンスＡは、次の化学構造で表される。

【化３】



【００５４】

アンチセンスＡは、米国特許第１０，３８５，３４１号に詳細に記載されており、その内容は本明細書に援用されている。

【００５５】

溶液中（例えば、医薬組成物中の溶液中）において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、遊離酸の形態、塩の形態、またはそれらの混合物で存在し得ることを理解されたい。

【００５６】

結合型アンチセンスオリゴヌクレオチド

本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、得られたアンチセンスオリゴヌクレオチドの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強する１つ以上の部分または共役体に共有結合させることができる。典型的な共役基には、コレステロール部分及び脂質部分が含まれる。追加の共役基には、炭水化物、リン脂質、ビオチン、フェナジン、葉酸塩、フェナントリジン、アントラキノン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン及び色素が含まれる。アンチセンスオリゴヌクレオチドはまた、アンチセンスオリゴヌクレオチドの一方または両方の末端に概して結合されて、例えばヌクレアーゼ安定性等の特性を向上させる１つ以上の安定化基を有するように修飾することもできる。安定化基には、キャップ構造が含まれる。これらの末端修飾は、エキソヌクレアーゼ分解から末端核酸を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを保護し、細胞内での送達及び／または局在化に役立つことができる。キャップは、５’末端（５’キャップ）または３’末端（３’キャップ）に存在し得るか、または両方の末端に存在し得る。キャップ構造は当該業界において周知のものであり、例えば逆デオキシ脱塩基キャップなどが挙げられる。アンチセンスオリゴヌク

レオチドの一方または両方の末端をキャップしてヌクレアーゼ安定性を付与するために使用することができるさらなる３’及び５’－安定化基には、ＷＯ０３／００４６０２に開示されているものが含まれる。

【００５７】

医薬組成物を製剤化するための組成物及び方法

本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、医薬組成物または製剤の調製のために、薬学的に許容される活性物質または不活性物質と混合することができる。医薬組成物を製剤化するための組成物及び方法は、投与経路、疾患の程度、または投与される用量を含むがこれらに限定される訳ではない、いくつかの基準によって定められる。

【００５８】

ＳＯＤ１核酸を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を、薬学的に許容される適切な希釈剤または担体と組み合わせることによって医薬組成物中で用いることができる。薬学的に許容される希釈剤は、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）を含む。ＰＢＳは、非経口で送達される組成物における使用に適した希釈剤である。従って、一実施形態では、本明細書に記載の方法で使用されるのは、ＳＯＤ１核酸を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩及び薬学的に許容される希釈剤を含む医薬組成物である。

【００５９】

本明細書に記載されるアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、対象へのくも膜下腔内投与のための医薬組成物として製剤化することができる。

【００６０】

本開示のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む医薬組成物は、ヒトを含む動物へ投与した際に、生物活性を有する代謝産物またはその残基を（直接的または間接的に）提供することができる、任意の薬学的に許容される塩、エステルもしくはそのようなエステルの塩、またはその他任意のオリゴヌクレオチドを網羅する。従って、例えば、本開示はまた、アンチセンスオリゴヌクレオチドの薬学的に許容される塩、ならびに、その他の生物学的同等物も対象とする。薬剤的に許容される塩として好適のものには、ナトリウム塩及びカリウム塩が含まれるが、これらに限定される訳ではない。

【００６１】

治療法

本開示は、治療を必要とするヒト対象におけるヒトＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症（例えば、臨床的に発症前の筋萎縮性側索硬化症）を治療する方法を特徴とする。当該方法は、ヒト対象にアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、ＣＡＧＧＡＴＡＣＡＴＴＴＣＴＡＣＡＧＣＴ（配列番号１）からなり、ヌクレオシド１～５及び１６～２０のそれぞれは２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾ヌクレオシドであり、ヌクレオシド６～１５のそれぞれは２’－デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド２～３、４～５、１６～１７、及び１８～１９の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホジエステル結合であり、ヌクレオシド１～２、３～４、５～６、６～７、７～８、８～９、９～１０、１０～１１、１１～１２、１２～１３、１３～１４、１４～１５、１５～１６、１７～１８、及び１９～２０の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合であり、各シトシンは５－メチルシトシンである。特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、約１００ｍｇまたは１００ｍｇの固定用量で投与される。

【００６２】

物質の量に関する「約」とは、表示された値の±１０％を意味する。「約」１００ｍｇのアンチセンスオリゴヌクレオチドには、９０ｍｇ～１１０ｍｇのアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれる。時間単位、例えば約１０日または約１週間の場合、「約」は±３日を意味する。

【００６３】

「くも膜下腔内またはＩＴ」とは、脳及び脊髄を覆うくも膜の下の脳脊髄液に投与する

ことを指す。

【００６４】

また、筋萎縮性側索硬化症に関連するヒトＳＯＤ１遺伝子の変異を有するヒト対象におけるヒトＳＯＤ１タンパク質合成を減少させる方法が提供される。当該方法は、ヒト対象にアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、ＣＡＧＧＡＴＡＣＡＴＴＴＣＴＡＣＡＧＣＴ（配列番号１）からなり、ヌクレオシド１～５及び１６～２０のそれぞれは２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾ヌクレオシドであり、ヌクレオシド６～１５のそれぞれは２’－デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド２～３、４～５、１６～１７、及び１８～１９の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホジエステル結合であり、ヌクレオシド１～２、３～４、５～６、６～７、７～８、８～９、９～１０、１０～１１、１１～１２、１２～１３、１３～１４、１４～１５、１５～１６、１７～１８、及び１９～２０の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合であり、各シトシンは５－メチルシトシンである。特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、約１００ｍｇまたは１００ｍｇの固定用量で投与される。

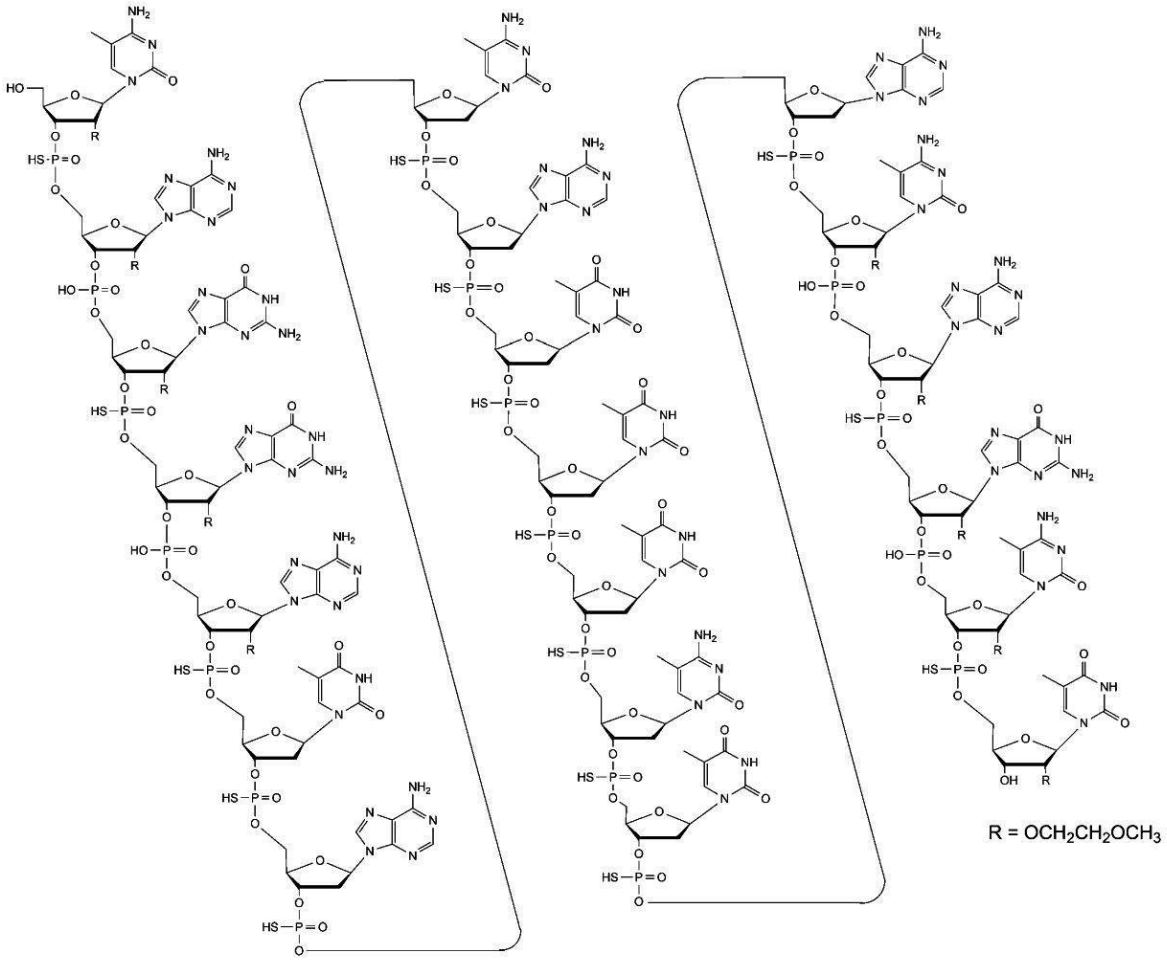
【００６５】

また、筋萎縮性側索硬化症に関連するヒトＳＯＤ１遺伝子の変異を有するヒト対象におけるヒトＳＯＤ１　ｍＲＮＡレベルを減少させる方法が提供される。当該方法は、ヒト対象にアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、ＣＡＧＧＡＴＡＣＡＴＴＴＣＴＡＣＡＧＣＴ（配列番号１）からなり、ヌクレオシド１～５及び１６～２０のそれぞれは２’－Ｏ－メトキシエチルリボース修飾ヌクレオシドであり、ヌクレオシド６～１５のそれぞれは２’－デオキシヌクレオシドであり、ヌクレオシド２～３、４～５、１６～１７、及び１８～１９の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホジエステル結合であり、ヌクレオシド１～２、３～４、５～６、６～７、７～８、８～９、９～１０、１０～１１、１１～１２、１２～１３、１３～１４、１４～１５、１５～１６、１７～１８、及び１９～２０の間に存在するヌクレオシド間結合はホスホロチオエート結合であり、各シトシンは５－メチルシトシンである。特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、約１００ｍｇまたは１００ｍｇの固定用量で投与される。

【００６６】

また、治療を必要とするヒト対象において、ＳＯＤ１遺伝子の変異に関連する筋萎縮性側索硬化症（例えば、臨床的に発症前の筋萎縮性側索硬化症）を治療する方法が提供される。当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む医薬組成物をヒト対象に投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは以下の構造を有する。

【化４】



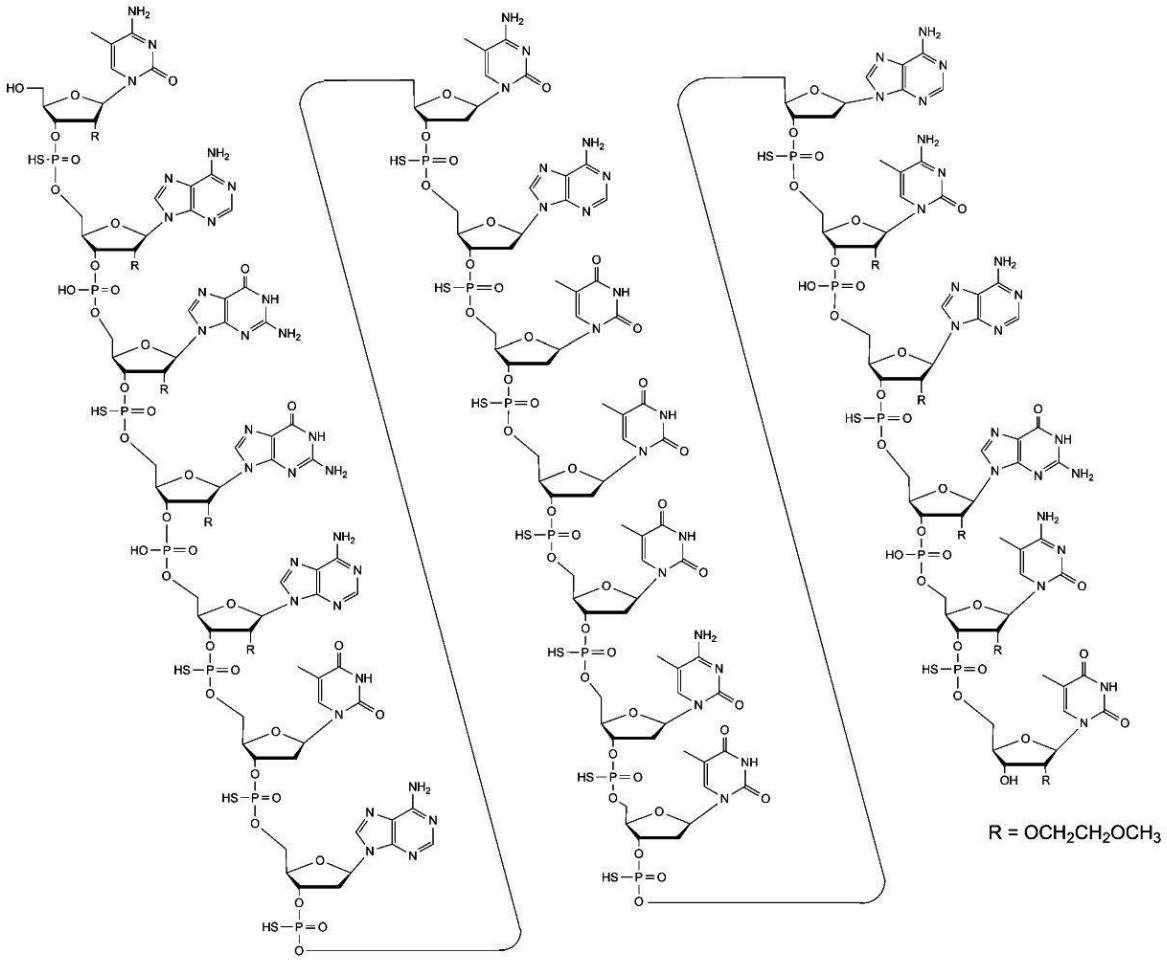
【００６７】

特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約１００ｍｇまたは１００ｍｇのアンチセンスオリゴヌクレオチドに相当する用量で投与される。

【００６８】

また、筋萎縮性側索硬化症に関連するヒトＳＯＤ１遺伝子の変異を有するヒト対象におけるヒトＳＯＤ１タンパク質合成を減少させる方法が提供される。当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む医薬組成物をヒト対象に投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは以下の構造を有する。

【化５】



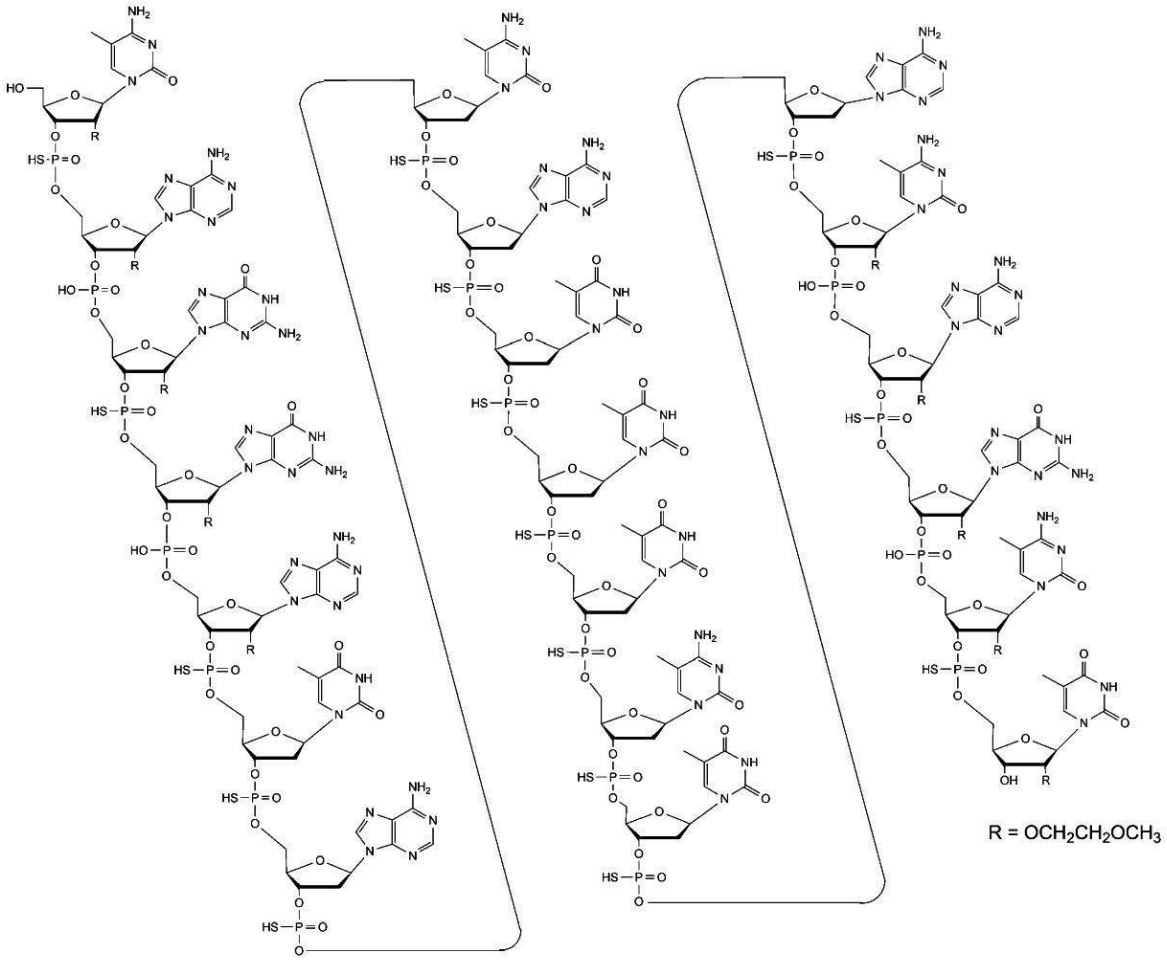
【００６９】

特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約１００ｍｇまたは１００ｍｇのアンチセンスオリゴヌクレオチドに相当する用量で投与される。

【００７０】

また、筋萎縮性側索硬化症に関連するヒトＳＯＤ１遺伝子の変異を有するヒト対象におけるヒトＳＯＤ１　ｍＲＮＡレベルを減少させる方法が提供される。当該方法は、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む医薬組成物をヒト対象に投与（例えば、くも膜下腔内投与）することを含み、アンチセンスオリゴヌクレオチドは以下の構造を有する。

【化６】



【００７１】
特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、約１００ｍｇまたは１００ｍｇのアンチセンスオリゴヌクレオチドに相当する用量で投与される。
【００７２】
一部の例では、上記の固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を、毎週１回、２週間に１回、３週間に１回、または４週間に１回、ヒト対象に投与する。
【００７３】
一部の例では、本明細書に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、医薬組成物の一部としてヒト対象に投与される。特定の実施形態では、医薬組成物は、約１００ｍｇの固定用量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを送達するのに十分な量でヒト対象に投与される。
【００７４】
特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩は、負荷用量（複数可）で投与される。一部の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは維持用量（複数可）で投与される。特定の例では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは負荷用量（複数可）で投与され、その後、維持用量（複数可）で投与される。負荷用量（複数可）は、例えば、毎週、２週間置き、３週間置き、または４週間置きに投与することができる。維持用量（複数可）は、例えば、最後の負荷用量を投与した後、毎週、２週間置き、３週間置き、または４週間置きに投与することができる。一部の例では、維持用量（複数可）を毎月投与する。
【００７５】

「負荷用量」とは、投与が開始され、薬物（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）の定常状態濃度が達成される投与段階中に投与される用量を指す。

【００７６】

「維持用量」とは、薬物（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）の定常状態濃度が達成された後の投与段階中に投与される用量を指す。

【００７７】

特定の実施形態では、ヒト対象にアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を３回分の負荷用量で投与し、その後、少なくとも１回分（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２回分、またはそれ以上）の維持用量を投与する。一部の例では、３回分の負荷用量を２週間置きに投与する。一部の例では、３回分の負荷用量を１４日置きに投与する。一部の例では、維持用量（複数可）の投与を、３回目の負荷用量の投与日から４週間後に開始する。一部の例では、維持用量（複数可）を、３回目の負荷用量の投与日から１ヶ月後に開始して毎月投与する。一部の例では、維持用量（複数可）を、３回目の負荷用量の投与日から２８日後に開始して２８日ごとに投与する。

【００７８】

ＳＯＤ１の変異は、ＡＬＳに関連するヒトＳＯＤ１遺伝子における任意の変異であってもよい。一部の例では、当該変異は、緩徐進行性ＡＬＳ疾患の変異である。他の例では、当該変異は急速に進行するＡＬＳ疾患の変異である。特定の例では、ヒトＳＯＤ１遺伝子における変異がＡ４Ｖ、Ｈ４６Ｒ、Ｇ９３Ｓ、Ａ４Ｔ、Ｇ１４１Ｘ、Ｄ１３３Ａ、Ｖ１４８Ｇ、Ｎ１３９Ｋ、Ｇ８５Ｒ、Ｇ９３Ａ、Ｖ１４Ｇ、Ｃ６Ｓ、Ｉ１１３Ｔ、Ｄ４９Ｋ、Ｇ３７Ｒ、Ａ８９Ｖ、Ｅ１００Ｇ、Ｄ９０Ａ、Ｔ１３７Ａ、Ｅ１００Ｋ、Ｇ４１Ａ、Ｇ４１Ｄ、Ｇ４１Ｓ、Ｇ１３Ｒ、Ｇ７２Ｓ、Ｌ８Ｖ、Ｆ２０Ｃ、Ｑ２２Ｌ、Ｈ４８Ｒ、Ｔ５４Ｒ、Ｓ５９１、Ｖ８７Ａ、Ｔ８８ｄｅｌｔａＴＡＤ、Ａ８９Ｔ、Ｖ９７Ｍ、Ｓ１０５ｄｅｌｔａＳＬ、Ｖ１１８Ｌ、Ｄ１２４Ｇ、Ｌ１１４Ｆ、Ｄ９０Ａ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１４７Ｒ、Ｃ６Ｆ、Ｃ６Ｇ、Ｄ１０１Ｇ、Ｄ１０１Ｈ、Ｇ１１４Ａ、Ｇ８５Ｓ、Ｈ４３Ｒ、Ｌ１０６Ｆ、Ｌ１０６Ｖ、Ｌ３８Ｖ、またはＲ１１５Ｇの一つ以上である。特定の一実施形態では、ヒト対象は、ヒトＳＯＤ１遺伝子のＡ４Ｖ変異を有する。別の特定の一実施形態では、ヒト対象は、ヒトＳＯＤ１遺伝子のＬ１０６Ｖ変異を有する。別の特定の一実施形態では、ヒト対象は、ヒトＳＯＤ１遺伝子のＨ４６Ｒ変異を有する。さらに別の特定の一実施形態では、ヒト対象は、ヒトＳＯＤ１遺伝子のＧ９３Ｓ変異を有する。

【００７９】

特定の例では、ＳＯＤ１遺伝子の変異は遺伝子検査によって特定される。従って、ＡＬＳに罹患している、またはＡＬＳに罹患しやすい対象の同定は、例えば、遺伝子配列決定などの当技術分野で周知のアッセイを用いる、対象のＳＯＤ１遺伝子の遺伝子検査によって行うことができる。

【００８０】

対象のＡＬＳに対する感受性の分析は、対象のＡＬＳの家族歴を分析することによっても行うことができる。家族歴の分析には、ＡＬＳの病歴を記録する３世代の家系図、家族の医療記録と解剖研究のレビュー、ＳＯＤ１変異の常染色体顕性パターンの特定などが含まれてもよい。

【００８１】

特定の実施形態では、治療有効量のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩をヒト対象へ投与することは、ヒト対象におけるＳＯＤ１レベルのモニタリングを行い、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与に対するヒト対象の応答を決定することを伴う。医師は、治療的介入の程度と持続時間を定めるべく、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与に対する対象の応答を活用してもよい。特定の実施形態では、ヒトＳＯＤ１レベルはＣＳＦでモニタリングされる。特定の実施形態では、ヒトＳＯＤ１レベルは血漿でモニタリングされる。特定の実施形態では、ヒトＳＯＤ１レベルは血液でモニタリングされる。特定の実施形態では、ヒトＳＯＤ１レベルは血清でモニタリングされる。

【００８２】
特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与は、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少をもたらす。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与は、少なくとも１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、もしくは９９％、またはこれらの値のいずれか２つによって区画される範囲で、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少をもたらす。特定の実施形態では、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少は、ＣＳＦでの減少に当たる。特定の実施形態では、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少は、血漿での減少に当たる。特定の実施形態では、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少は、血液での減少に当たる。特定の実施形態では、ＳＯＤ１タンパク質発現の減少は、血清での減少に当たる。
【００８３】
特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与は、ヒト対象における運動機能及び呼吸の改善をもたらす。特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩の投与は、少なくとも１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、もしくは９９％、またはこれらの値のいずれか２つによって区画される範囲で、運動機能及び呼吸の改善をもたらす。
【００８４】
特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩を含む医薬組成物は、ＡＬＳに罹患しているか、またはＡＬＳに罹患しやすいヒト対象（例えば、ＡＬＳに関連するＳＯＤ１の変異を有するヒト対象）を治療するための薬剤の調製のために用いられる。
【００８５】
ニューロフィラメント
本開示は、ＳＯＤ１遺伝子の変異を有する対象を、本明細書に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはその塩による治療の対象として選択するための、マーカーとしてのニューロフィラメント軽鎖レベルの用途を示す。一部の例では、対象が所定の閾値以上のニューロフィラメント軽鎖レベルを有する場合、当該対象は治療の対象として選択される。一部の例では、対象が所定の最小量に相当するニューロフィラメント軽鎖レベルの増加を経験している場合、当該対象は治療の対象として選択される。一部の例では、対象が所定の閾値以上のニューロフィラメント軽鎖レベルを有し、さらに、所定の最小量に相当するニューロフィラメント軽鎖レベルの増加を経験している場合、当該対象は治療の対象として選択される。
【００８６】
血清中のニューロフィラメント軽鎖を測定するためのアッセイが説明されている（例えば、Ｇａｉｏｔｔｉｎｏ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ ＯＮＥ ８：ｅ７５０９１，２０１３；Ｋｕｈｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｌ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ ８６（３）：２７３－２７９，２０１４を参照）。ニューロフィラメント軽鎖（ＮｆＬ）（例えば、血漿または血清ＮｆＬ）濃度は、例えば、すぐに使用可能な酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）希釈液（Ｍａｂｔｅｃｈ ＡＢ，Ｎａｃｋａ Ｓｔｒａｎｄ，Ｓｗｅｄｅｎ）、Ｇａｉｏｔｔｉｎｏ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ ＯＮＥ ８：ｅ７５０９１，２０１３に記載の電気化学発光（ＥＣＬ）免疫測定法、またはＤｉｓａｎｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．８１（６）：８５７－８７０，２０１７に記載の単一分子アレイ（ＳＩＭＯＡ）法を用いて測定することができる。これら３つのアッセイ法は、Ｋｕｈｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ５４（１０）：１６５５－１６６１，２０１６で比較されている。ＳＩＭＯＡアッセイ（Ｓｉｍｏａ ＮＦ－ｌｉｇｈｔ Ａｄｖａｎｔａｇｅ Ｋｉｔ）は、Ｑｕａｎｔｅｒｉｘ Ｃｏｒｐ．（Ｌｅｘｉｎｇｔｏｎ，ＭＡ，ＵＳＡ）から市販されている。一部の実施形態では、ＮｆＬ（例えば、血漿または血清ＮｆＬ）濃度は、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ（ＳＨＬ；Ｅｒｌａｎｇｅｎ

，Ｇｅｒｍａｎｙ）ＮｆＬアッセイを用いて測定される。一部の例では、総ＮｆＬ（例えば、リン酸化及び非リン酸化）が測定される。一部の実施形態では、リン酸化ＮｆＬが測定され、また一部の実施形態では、非リン酸化ＮｆＬが測定される。

【００８７】

一部の実施形態では、ＳＯＤ１遺伝子の変異を有する対象（例えば、筋萎縮性側索硬化症の臨床的に発症前の対象）は、対象が所定の最小閾値以上のニューロフィラメント軽鎖レベル（例えば、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ ＮｆＬアッセイで定められた少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベル、または別のアッセイを用いて測定された同等のＮｆＬレベル）を有する場合、治療の対象として選択される。

【００８８】

一部の実施形態では、ＳＯＤ１遺伝子の変異を有する対象（例えば、筋萎縮性側索硬化症の臨床的に発症前の対象）は、対象がニューロフィラメント軽鎖レベルの所定の最小量の増加（例えば、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ ＮｆＬアッセイで定められたニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加、または別のアッセイを用いて測定された同等のＮｆＬレベルの増加）を経験している場合、治療の対象として選択される。

【００８９】

一部の実施形態では、ＳＯＤ１遺伝子の変異を有する対象（例えば、筋萎縮性側索硬化症の臨床的に発症前の対象）は、対象が所定の最小閾値以上のニューロフィラメント軽鎖レベル（例えば、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ ＮｆＬアッセイで定められた少なくとも４４ｐｇ／ｍｌのニューロフィラメント軽鎖レベル、または別のアッセイを用いて測定された同等のＮｆＬレベル）を有し、さらに、ニューロフィラメント軽鎖レベルの所定の最小量の増加（例えば、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ ＮｆＬアッセイで定められたニューロフィラメント軽鎖レベルの少なくとも１０ｐｇ／ｍｌの増加、または別のアッセイを用いて測定された同等のＮｆＬレベルの増加）を経験している場合、治療の対象として選択される。一部の実施形態では、理論に拘る必要はないが、血漿ＮｆＬレベルのベースラインからの少なくとも１０ｐｇ／ｍＬの変化（例えば、増加）は、ＮｆＬレベルに対する加齢の潜在的な影響を確実に説明できると考えられる。

【００９０】

ヒトＮＦ－Ｌのアミノ酸配列は、配列番号４ならびにＪｕｌｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｃａ ｅｔ Ｂｉｏｈｙｓｉｃａ Ａｃｔａ，９０９：１０－２０（１９８７）、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ－Ｐ０７１９６、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００６１４９．２、及びＮＣＢＩ参照配列：ＮＧ＿００８４９２．１に示されている。

【００９１】

配列番号４

ＭＳＳＦＳＹＥＰＹＹＳＴＳＹＫＲＲＹＶＥＴＰＲＶＨＩＳＳＶＲＳＧＹＳＴＡＲＳＡＹ
ＳＳＹＳＡＰＶＳＳＳＬＳＶＲＲＳＹＳＳＳＳＧＳＬＭＰＳＬＥＮＬＤＬＳＱＶＡＡＩＳ
ＮＤＬＫＳＩＲＴＱＥＫＡＱＬＱＤＬＮＤＲＦＡＳＦＩＥＲＶＨＥＬＥＱＱＮＫＶＬＥＡ
ＥＬＬＶＬＲＱＫＨＳＥＰＳＲＦＲＡＬＹＥＱＥＩＲＤＬＲＬＡＡＥＤＡＴＮＥＫＱＡＬ
ＱＧＥＲＥＧＬＥＥＴＬＲＮＬＱＡＲＹＥＥＥＶＬＳＲＥＤＡＥＧＲＬＭＥＡＲＫＧＡＤ
ＥＡＡＬＡＲＡＥＬＥＫＲＩＤＳＬＭＤＥＩＳＦＬＫＫＶＨＥＥＥＩＡＥＬＱＡＱＩＱＹ
ＡＱＩＳＶＥＭＤＶＴＫＰＤＬＳＡＡＬＫＤＩＲＡＱＹＥＫＬＡＡＫＮＭＱＮＡＥＥＷＦ
ＫＳＲＦＴＶＬＴＥＳＡＡＫＮＴＤＡＶＲＡＡＫＤＥＶＳＥＳＲＲＬＬＫＡＫＴＬＥＩＥ
ＡＣＲＧＭＮＥＡＬＥＫＱＬＱＥＬＥＤＫＱＮＡＤＩＳＡＭＱＤＴＩＮＫＬＥＮＥＬＲＴ
ＴＫＳＥＭＡＲＹＬＫＥＹＱＤＬＬＮＶＫＭＡＬＤＩＥＩＡＡＹＲＫＬＬＥＧＥＥＴＲＬ
ＳＦＴＳＶＧＳＩＴＳＧＹＳＱＳＳＱＶＦＧＲＳＡＹＧＧＬＱＴＳＳＹＬＭＳＴＲＳＦＰ
ＳＹＹＴＳＨＶＱＥＥＱＩＥＶＥＥＴＩＥＡＡＫＡＥＥＡＫＤＥＰＰＳＥＧＥＡＥＥＥＥ
ＫＤＫＥＥＡＥＥＥＥＡＡＥＥＥＥＡＡＫＥＥＳＥＥＡＫＥＥＥＥＧＧＥＧＥＥＧＥＥＴ
ＫＥＡＥＥＥＥＫＫＶＥＧＡＧＥＥＱＡＡＫＫＫＤ

【００９２】

生体試料
本明細書に記載の方法に好適な生体試料としては、ＮＦタンパク質または核酸（例えば、ＲＮＡ（ｍＲＮＡ））などの目的のアナライト生体分子を含む任意の生体液、細胞、組織、またはこれらの画分が挙げられる。生体試料は、例えば、ヒト対象から得た試験片であってもよく、このような対象に由来するものであってもよい。例えば、試料は、生検で得られた組織切片、保管された生体液、または組織培養に入れた、もしくは適合させた細胞であってもよい。一部の場合において、生体試料は、血液、血清、血漿、または脳脊髄液（ＣＳＦ）などの生体液、またはそのような試料を基質（例えば、ガラス、ポリマー、紙）に吸収させたものである。生体試料は、所望の場合はさらに分画して特定の細胞類型を含む画分にしてもよい。例えば、血液試料を分画して血清にしてもよく、または赤血球または白血球（ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ）などの特定の種類の血球を含む画分にしてもよい。所望の場合は、試料は、対象からの試料の組み合わせ、例えば、組織及び液体試料の組み合わせであってもよい。

【００９３】

生体試料は、ＳＯＤ１遺伝子の変異（例えば、本明細書に記載のＳＯＤ１変異）を有する対象から得ることができる。特定の実施形態では、対象は臨床的に筋萎縮性側索硬化症の発症前である。

【００９４】

生体試料を得るための任意の好適な方法を用いることができるが、例示的な方法としては、例えば、静脈切開術、穿刺吸引生検手順が挙げられる。また、試料は、例えば、マイクロダイセクション（例えば、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（ＬＣＭ）またはレーザーマクロダイセクション（ＬＭＤ））によって収集することもできる。

【００９５】

試料中の分子（例えば、核酸またはタンパク質）の活性または完全性を保持する試料を得る及び／または保管するための方法は、当業者に周知されている。例えば、生体試料はさらに、試料中の分子（例えば、核酸もしくはタンパク質）を保持する、または分子の変化を最小限に抑える１つ以上のさらなる薬剤、例えば、緩衝液及び／または阻害剤（ヌクレアーゼ、プロテアーゼ、及びホスファターゼ阻害剤のうちの１つ以上を含む）に接触させることができる。このような阻害剤としては、例えば、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、エチレングリコールビス（Ｐ－アミノエチルエーテル）Ｎ，Ｎ，Ｎ１，Ｎ１－四酢酸（ＥＧＴＡ）などのキレート剤、フッ化フェニルメチルスルホニル（ＰＭＳＦ）、アプロチニン、ロイペプチン、アンチパインなどのプロテアーゼ阻害剤、リン酸塩、フッ化ナトリウム、バナジン酸塩などのホスファターゼ阻害剤が挙げられる。分子を単離するための好適な緩衝液及び条件は当業者に周知のものであり、例えば、キャラクタリゼーションを行う試料中の分子のタイプに応じて変動し得る（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ ４７），Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９９）；Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９８８）；Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ（１９９９）；Ｔｉｅｔｚ Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，３ｒｄ ｅｄ．Ｂｕｒｔｉｓ ａｎｄ Ａｓｈｗｏｏｄ，ｅｄｓ．Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，（１９９９）を参照）。また、試料を処理して、妨害物質の存在を排除する、または最小限に抑えることもできる。例えば、生体試料を分画または精製して、１つ以上の目的外の物質を除去することができる。生体試料を分画または精製する方法としては、限定されるものではないが、クロマトグラフィー法、例えば、液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、または親和性クロマトグラフィーが挙げられる。本明細書に記載の方法での使用に関し、試料は様々な物理的状態であり得る。

例えば、試料は、液体であっても固体であってもよく、液体に溶解させても懸濁させてもよく、エマルジョンまたはゲル中にあってもよく、ある物質に吸収させてもよい。

【００９６】

以下の実施例は、特許請求対象の発明をより十分に例示するために提供されるものであり、本発明の範囲を限定するものとして解釈すべきではない。具体的な材料が言及される範囲で、それは単に例示の目的のためのものであり、本発明を限定することは意図しない。当業者は、通常の創作能力を発揮することで、発明の範囲から逸脱しない同等の手段または反応物の開発に容易に想到することができる。

【実施例】

【００９７】

実施例１：ＳＯＤ１アンチセンスオリゴヌクレオチドによる治療を受けるべき患者を選択するためのニューロフィラメント閾値の使用

アンチセンスＡ（本明細書に記載）の第３相ランダム化プラセボ対照試験が、臨床的に発症前の成人ＳＯＤ１変異保有者において、長期縦断自然歴の導入期間を伴って行われた。本研究に含まれるＳＯＤ１変異は、高浸透率または完全浸透率、ならびに疾患の急速な進行に関連している。ＳＯＤ１変異保有者は、臨床的に明確な筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有していない場合、臨床的にＡＬＳの発症前であるとみなす。臨床的に明確なＡＬＳは、ＡＬＳの出現を決定的に示す、ＥＭＧ所見によって裏付けられる臨床症状または徴候の出現として定義される。

【００９８】

血漿ニューロフィラメント軽鎖（ＮｆＬ）閾値の４４ｐｇ／ｍＬは、（ＮｆＬ閾値に達した後）１２ヶ月以内にＡＬＳの明確な臨床症状／徴候が発症するリスクが高いと考えられる研究参加者を特定するために選択された。血漿ＮｆＬ閾値の４４ｐｇ／ｍＬは、発症前の家族性筋萎縮性側索硬化症（Ｐｒｅ－ｆＡＬＳ）試料のデータを用いたＮＦ軌跡モデルのシミュレーションに基づいて定められたもので、ＮＦ上昇と臨床発症の間に、登録と介入を行う十分な時間を確保しながら偽陽性率を最小限に抑えるために選択された。

【００９９】

Ｐｒｅ－ｆＡＬＳにおける採血の頻度を考慮すると、ＮｆＬレベルの間にはギャップがあり、多くの場合、ＡＬＳの明確な臨床症状／徴候が発症するどのくらい前にＮｆＬが上昇し始めたかを特定することができなくなる。これを克服するために、ベースライン時に３０歳以上で急速に進行する変異を有する、臨床的に明確なＡＬＳに罹患しているがＰｒｅ－ｆＡＬＳである参加者を対象に、ベイジアン法を用いて自然対数変換ＮｆＬ濃度データにＥｍａｘモデルを当てはめた。これとは別に、ベースライン時に３０歳以上で急速に進行する変異を有する、Ｐｒｅ－ｆＡＬＳである参加者を対象に、臨床的に明確なＡＬＳのデータが出現するまでの時間にベイジアンワイブルモデルを当てはめた。ＮｆＬ軌跡モデルにより、ＮｆＬ上昇から臨床的に明確なＡＬＳの出現までの時間経過の予測が可能になった。適合モデルからの事後予測シミュレーションを利用して、異なるＮｆＬ閾値のパフォーマンスを評価した。本明細書では、Ｓｉｅｍｅｎｓ Ｈｅａｌｔｈｉｎｅｅｒｓ（ＳＨＬ）ＮｆＬアッセイを用いて血漿ＮｆＬの分析を行った。

【０１００】

ＮｆＬ閾値の４４ｐｇ／ｍＬは、次の要因に基づいて導出されたものである。

１．低い偽陽性率（例：５％未満）。

２．ＮｆＬの処理時間、スクリーニング、試験のランダム化を考慮した、ＮｆＬ上昇から臨床発症までの適切な予想期間（例えば、２～３ヶ月以上）。

３．ＮｆＬレベルが４０ｐｇ／ｍＬ閾値に達してから１２ヶ月後にＡＬＳ症状の発症を示さない（ただし、４４ｐｇ／ｍＬの閾値には達していない）の被験者の臨床経験。

【０１０１】

所定のＮｆＬ閾値について、登録時、ならびに少なくとも１２ヶ月の追跡調査期間において、ＮｆＬレベルが閾値未満である発症前保有者らに対して偽陽性率を評価した。ベースライン後の訪問時に参加者のＮｆＬレベルが閾値を超えているが、その後少なくとも１

２ヶ月間臨床的に発症前のままであった場合、参加者を偽陽性とみなした。偽陰性率は、臨床的に明確なＡＬＳを有する参加者の全員について評価された。ＮｆＬ閾値に達する前に臨床的に明確なＡＬＳが出現した場合、参加者を偽陰性とみなした。

【０１０２】

ＮｆＬ閾値の４４ｐｇ／ｍＬでは、偽陽性率は０／２４（０％）、偽陰性率は１／１２（８．３％）であった。閾値として４０ｐｇ／ｍＬも検討されたが、偽陰性率は４４ｐｇ／ｍＬと同じであったものの、偽陽性率が高かったため（１／２４、４．１％）却下となった。ＮｆＬ閾値の４４ｐｇ／ｍＬで偽陽性率を最小限に抑えることで、健常者の被験者が必要のない可能性がある治療や臨床効果のない可能性がある治療にさらされることがない。

【０１０３】

当てはめたＮｆＬ軌跡モデルに基づいて、臨床症状発症前の幾何平均ＮｆＬレベルを月ごとに推定し、図１に図示した。臨床的に明確なＡＬＳが出現する３ヶ月前に予想される幾何平均ＮｆＬレベルは約４４ｐｇ／ｍＬである。ＮｆＬ閾値の４４ｐｇ／ｍＬ、ＮｆＬのベースラインからの少なくとも１０ｐｇ／ｍＬの変化につき、プラセボ患者における、１２ヶ月までの臨床的な明確なＡＬＳの事後予測確率は７７．６６％となる。

【０１０４】

本臨床研究は、パートＡ、パートＢ、パートＣ、パートＤの４つのパートで構成されている。

【０１０５】

パートＡは自然歴の導入期間に当たり、参加者は研究対象治療のアンチセンスＡやプラセボを受けない。パートＡの参加者は、例えばインフォームドコンセントの提出時点で１８歳以上である。パートＡの参加者は、血漿ＮｆＬレベルが４４ｐｇ／ｍＬ未満であり、スクリーニング中に臨床的に明確なＡＬＳを示さなかった。パートＡの参加者からは、スクリーニング中に以下のＳＯＤ１変異のうちいずれかが確認されている。

ｐ．Ａｌａ５Ｔｈｒ（Ａ４Ｔ，Ａ５Ｔ）
ｐ．Ａｌａ５Ｖａｌ（Ａ４Ｖ，Ａ５Ｖ）
ｐ．Ｃｙｓ７Ｐｈｅ（Ｃ６Ｆ，Ｃ７Ｆ）
ｐ．Ｃｙｓ７Ｇｌｙ（Ｃ６Ｇ，Ｃ７Ｇ）
ｐ．Ａｓｐ１０２Ｇｌｙ（Ｄ１０１Ｇ，Ｄ１０２Ｇ）
ｐ．Ａｓｐ１０２Ｈｉｓ（Ｄ１０１Ｈ，Ｄ１０２Ｈ）
ｐ．Ｇｌｙ１１５Ａｌａ（Ｇ１１４Ａ，Ｇ１１５Ａ）
ｐ．Ｇｌｙ４２Ｓｅｒ（Ｇ４１Ｓ，Ｇ４２Ｓ）
ｐ．Ｇｌｙ８６Ａｒｇ（Ｇ８５Ｒ，Ｇ８６Ｒ）
ｐ．Ｇｌｙ８６Ｓｅｒ（Ｇ８５Ｓ，Ｇ８６Ｓ）
ｐ．Ｇｌｙ９４Ａｌａ（Ｇ９３Ａ，Ｇ９４Ａ）
ｐ．Ｈｉｓ４４Ａｒｇ（Ｈ４３Ｒ，Ｈ４４Ｒ）
ｐ．Ｌｅｕ１０７Ｐｈｅ（Ｌ１０６Ｆ，Ｌ１０７Ｆ）
ｐ．Ｌｅｕ１０７Ｖａｌ（Ｌ１０６Ｖ，Ｌ１０７Ｖ）
ｐ．Ｌｅｕ３９Ｖａｌ（Ｌ３８Ｖ，Ｌ３９Ｖ）
ｐ．Ａｒｇ１１６Ｇｌｙ（Ｒ１１５Ｇ，Ｒ１１６Ｇ）
ｐ．Ｖａｌ１４９Ｇｌｙ（Ｖ１４８Ｇ，Ｖ１４９Ｇ）

【０１０６】

上記の各括弧は、各アミノ酸置換に対する代替命名規則の２つを示すものである。上記のアミノ酸置換のそれぞれを本明細書の他の箇所で言及するときは、各括弧内に最初に列挙される変異体識別子（例えば、Ａ４Ｔ）を用いる。

【０１０７】

或いは、パートＡの参加者は、外部の突然変異裁定委員会によって研究に含めるよう裁定された、上記に挙げたもの以外のＳＯＤ１変異を有してもよい。研究に追加のＳＯＤ１変異として含まれると裁定するためには、当該ＳＯＤ１変異が高浸透率、または完全浸透

率を有し、急速な疾患の進行に関連していることを確認する必要がある。

【０１０８】

パートＢは、血漿ＮｆＬレベルが４４ｐｇ／ｍＬ以上で、ＮｆＬのパートＡベースラインからの変化が少なくとも１０ｐｇ／ｍＬであり、研究者の判断によると、ＮｆＬ上昇に別の特定可能な原因が見つからない発症前の参加者の二重盲検ランダム化プラセボ対照期間に当たる。血漿ＮｆＬレベルが４４ｐｇ／ｍＬ以上のレベルに達し、ＮｆＬのベースラインからの変化が少なくとも１０ｐｇ／ｍＬであり、臨床的に明確なＡＬＳを発症していないパートＡの参加者は、パートＢの登録資格を有する可能性がある。パートＢでは、参加者は１：１（アンチセンスＡ：プラセボ）の比率でランダムに試験群に割り当てられ、治療（アンチセンスＡの１００ｍｇまたはプラセボ）のうちいずれかをくも膜下腔内注射により投与される。パートＢの参加者は、約１４日置きに３回分の負荷用量（つまり１日目、１５日目、２９日目）を投与され、その後、盲検法でくも膜下腔内注射により維持用量を約２８日ごとに投与される。

【０１０９】

本研究の主要評価項目（主要エンドポイント）は、パートＢの開始から１２ヶ月以内に臨床的に明確なＡＬＳが出現した参加者の割合である。本研究の副次的評価項目（二次エンドポイント）には、パートＢの開始から２４ヶ月以内に臨床的に明確なＡＬＳが出現した参加者の割合、臨床的に明確なＡＬＳの出現までの時間、筋萎縮性側索硬化症機能評価スケール改訂版（ＡＬＳＦＲＳ－Ｒ）合計スコアの変化、予測低速肺活量（ＳＶＣ）の変化、換気補助なし生存期間（ＶＡＦＳ）（死亡または永久換気のうちいずれかの最も早い発生時点までの時間と定義される）、全生存率が含まれる。

【０１１０】

パートＣは、参加者がくも膜下腔内注射によって１００ｍｇのアンチセンスＡを投与される非盲検拡大研究期間に当たる。臨床的に明確なＡＬＳを発症したパートＢの参加者が登録され、モニタリングを受ける。

【０１１１】

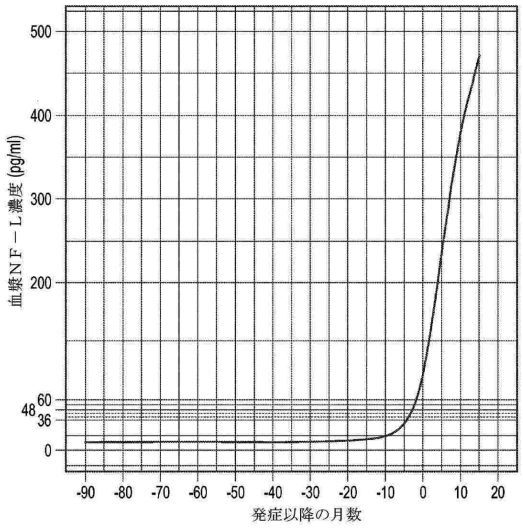
パートＤは、臨床的に明確なＡＬＳを有するパートＡの参加者での、ランダム化二重盲検プラセボ対照研究の期間に当たる。参加者は、２：１（アンチセンスＡ：プラセボ）の比率でランダムに割り当てられ、１００ｍｇのアンチセンスＡまたはプラセボのうちいずれかをくも膜下腔内注射によって投与される。

【０１１２】

他の実施形態

本発明をその詳細な説明と併せて説明してきたが、以上の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を例示するためのものであり、限定することは意図していない。他の態様、利点、変更は、下記の特許請求の範囲内である。

【図面】
【図１】



	事後中央値推定						
症状発症までの時間	１ヶ月	２ヶ月	３ヶ月	４ヶ月	５ヶ月	６ヶ月	７ヶ月
幾何平均ＮＦレベル	73.05	58.62	47.20	38.03	32.15	27.2	23.7

【配列表】
2024511767000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/022485

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/113
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/123783 A1 (BIOGEN MA INC. [US]; IONIS PHARMACEUTICALS, INC. [US]) 18 June 2020 (2020-06-18) claims the whole document -----	1-19
A	SUN QIONGHUA ET AL.: "CSF Neurofilament Light Chain elevation predicts ALS severity and progression", FRONTIERS IN NEUROLOGY, vol. 11, 28 August 2020 (2020-08-28), XP55934452, DOI: 10.3389/fneur.2020.00919 the whole document ----- -/--	1-19

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 June 2022	05/07/2022

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Macchia, Giovanni

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/022485

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Ching Hua Lu ET AL.: "Neurofilament Light Chain", Neurology, vol. 84, no. 22 2 June 2015 (2015-06-02), XP055601007, Retrieved from the Internet: URL:https://n.neurology.org/content/neurology/84/22/2247.full.pdf [retrieved on 2019-07-01] table 1 the whole document -----	1-19

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/022485

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [ ] furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. [ ] In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/022485

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020123783 A1	18-06-2020	AU 2019396522 A1	06-05-2021
		BR 112021011334 A2	08-09-2021
		CA 3115549 A1	18-06-2020
		CL 2021001136 A1	14-01-2022
		CN 113330116 A	31-08-2021
		CO 2021008187 A2	09-09-2021
		CR 20210384 A	20-12-2021
		EP 3894557 A1	20-10-2021
		JP 2022513597 A	09-02-2022
		KR 20210131992 A	03-11-2021
		PH 12021551365 A1	22-11-2021
		SG 11202103415W A	29-06-2021
		TW 202035694 A	01-10-2020
		US 2022073930 A1	10-03-2022
		UY 38506 A	30-06-2020
		WO 2020123783 A1	18-06-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類	ＦＩ	テーマコード（参考）
	Ｇ０１Ｎ　33/68	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人　230113332
弁護士　山本 健策
(72)発明者　リウ， インイン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ビニー ストリート ２２５
(72)発明者　スン， ペン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ビニー ストリート ２２５
(72)発明者　フラデット， ステファニー メリロ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ビニー ストリート ２２５
(72)発明者　グラハム， ダニエル リーゼッタ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ビニー ストリート ２２５
(72)発明者　ウォン， ジャニス チュン イー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２， ケンブリッジ， ビニー ストリート ２２５

Ｆターム（参考）　2G045　AA13 AA25 CA25 CA26 CB30 DA36 FB03
4C086　AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA22 ZA94