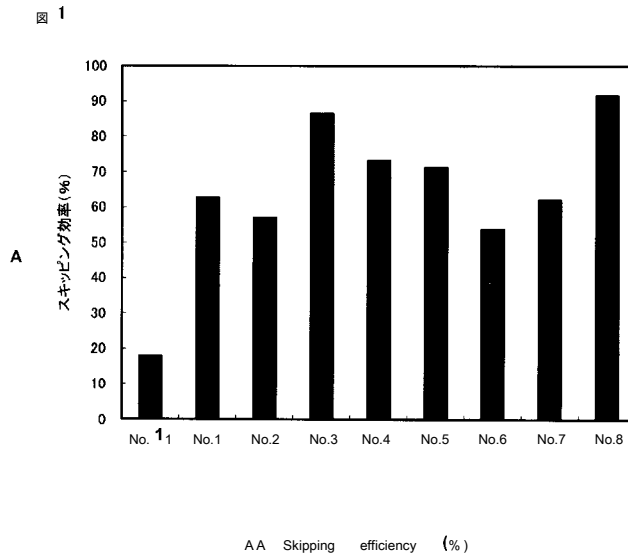




- (51) 国際特許分類 :  
C12N 15/113 (2010.01) A61P 21/04 (2006.01)  
A61K 31/7125 (2006.01) C07H 21/04 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : A PCT/JP20 11/0703 18
- (22) 国際出願日 : 2011 年 8 月 31 日 (31.08.2011)
- (25) 国際出願の言語 : 日本語
- (26) 国際公開の言語 : 日本語
- (30) 優先権データ :  
特願 2010-196032 2010 年 9 月 1 日 (01.09.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について) : 日本新薬株式会社 (NIPPON SHINYAKU CO., LTD.)  
[JP/JP]; 〒6018550 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 Kyoto (JP). 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター(NATIONAL CENTER OF NEUROLOGY AND PSYCHIATRY)  
[JP/JP]; 〒1878551 東京都小平市小川東町4丁目1番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者 ;および
- (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) : 渡辺直樹 (IWATANABE, Naoki) [JP/JP]; 〒3050003 茨城県つくば市桜一丁目21-3 ルヴィオ11-402 Ibaraki (JP). 佐藤洋平 (SATOU, Youhei) [JP/JP]; 〒6650811 兵庫県宝塚市南ひばりガ丘1丁目1番5号 Hyogo (JP). 武田伸一 (TAKEDA, Shin'ichi) [JP/JP]; 〒1878551 東京都小平市小川東町4丁目1番1号独立行政法人国立精神・神経医療研究センター内 Tokyo (JP). 永田哲也 (NAGATA, Tetsuya) [JP/JP]; 〒1878551 東京都小平市小川東町4丁目1番1号独立行政法人国立精神・神経医療研究センター内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人 : 小林浩 , 外 (KOBAYASHI, Hiroshi et al); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目8番7号福岡ビル9階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア

[続葉有]

- (54) Title: ANTISENSE NUCLEIC ACID
- (54) 発明の名称 : アンチセンス核酸



- (57) Abstract: Disclosed is a drug which efficiently allows skipping of the 53rd exon in the human dystrophin gene. Disclosed is an oligomer which makes possible skipping of the 53rd exon of the human dystrophin gene.
- (57) 要約 : 本発明は、ヒトジストロフィン遺伝子の第53番目のエクソンを高効率にスキッピングさせる薬剤を提供することを目的とする。本発明は、ヒトジストロフィン遺伝子の第53番目のエクソンのス

2012/029986 1

(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ  
 添付公開書類:  
 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,  
 B, R, HR, IE, IS, LT, LU, L, C MK, T,  
 NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI  
 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,  
 NE, SN, TD, TG).  
 — 国際調査報告 (条約第 21 条(3))  
 — 明細書の別個の部分として表した配列リスト 5.2(a)

2012/029986 1

発明の名称

アンチセンス核酸

5

技術分野

本発明は、ヒトジストロフィン遺伝子の第53番目のエクソンのスキッピングを可能にするアンチセンスオリゴマー及び該オリゴマーを含む医薬組成物に関する。

10 背景技術

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は出生男子約3,500人に1人が発症する最も頻度の高い遺伝性進行性筋萎縮症である。乳幼児期には正常のヒトとほとんど変わらない運動機能を示すが、4～5歳頃から筋力低下がみられる。その後筋力低下は進行し12歳頃までに歩行不能になり、20歳代で心不全または呼吸器不全により死

15 に至る重篤な疾患である。現在、DMDに対する有効な治療法はなく、新たな治療薬の開発が強く求められている。

DMDはジストロフィン遺伝子の変異が原因であることが知られている。ジストロフィン遺伝子はX染色体に存在し、220万塩基対のDNAから成る巨大な遺伝子である。DNAからmRNA前駆体に転写され、さらにスプライシングによりイントロンが除かれ

20 79のエクソンが結合したmRNAが合成される。このmRNAから3,685のアミノ酸に翻訳され、ジストロフィンタンパク質が生成される。ジストロフィンタンパク質は筋細胞の膜安定性の維持に関与しており、筋細胞を壊れにくくするために必要である。DMD患者のジストロフィン遺伝子の変異を有するため、筋細胞において機能を有するジストロフィンタンパク質が殆ど発現されない。そのため、DMD患者体内では、

25 筋細胞の構造を維持できなくなり、多量のカルシウムイオンが筋細胞内に流れ込む。その結果、炎症に似た反応が生じ、線維化が進むために筋細胞が再生されにくくなる。

ベッカー型筋ジストロフィー (BMD) もジストロフィン遺伝子の変異が原因であるが、その症状は筋萎縮による筋力低下を呈するものの一般にDMDと比較して軽く、

筋力低下の進行も遅く、多くの場合、成人期に発症する。DMDとBMDとの臨床症状の違いは、変異によりジストロフィンのmRNAがジストロフィンタンパク質へと翻訳される際のアミノ酸読み取り枠が破壊されるか、あるいは維持されるかによるものと考えられている（非特許文献1）。つまり、DMDでは、アミノ酸読み取り枠がずれる  
5 変異を有することにより、機能を持つジストロフィンタンパク質がほとんど発現しないが、BMDでは変異によりエクソンの一部は欠失しているが、アミノ酸読み取り枠は維持されているために不完全ながらも機能を有するジストロフィンタンパク質が産生される。

DMDの治療法として、エタソンスキッピング法が期待されている。この方法は、  
10 スプライシングを改変することでジストロフィンのmRNAのアミノ酸読み取り枠を修復し、部分的に機能を回復したジストロフィンタンパク質の発現を誘導する方法である（非特許文献2）。エタソンスキッピングの対象となるアミノ酸配列部分は失われることになる。そのためこの治療で発現されるジストロフィンタンパク質は正常のものより短くなるが、アミノ酸読み取り枠が維持されるために筋細胞を安定  
15 化する機能が部分的に保持される。従って、エクソンスキッピングにより、DMDは、より軽症のBMDと同じような症状を呈するようになると期待されている。エクソンスキッピング法は、マウスやイヌによる動物実験を経て、ヒトDMD患者に対する臨床試験が行われている。

エタソンスキッピングは、5、若しくは3、スプライス部位のいずれか若しくは  
20 両方、又はエクソンの内部を標的とするアンチセンス核酸の結合により誘導することができる。エタソンは両方のスプライス部位がスプライソソーム複合体によって認識された場合のみmRNAに包含される。従って、スプライス部位をアンチセンス核酸でターゲットングすることにより、エタソンスキッピングを誘導することができる。また、エクソンがスプライシングの機構に認識されるためにはエクソンス  
25 プライシングエンハンサー（ESE）へのSRタンパク質の結合が必要であると考えられており、ESEをターゲットングすることでもエタソンのスキッピングを誘導することができる。

ジストロフィン遺伝子の変異はDMD患者によって異なるため、遺伝子変異の場所や種類に応じたアンチセンス核酸が必要になる。これまでに、西オーストラリア大

学の Steve Wilton らによって 79 個全てのエクソンに対してエクソンスキッピングを誘導するアンチセンス核酸が作製されており (非特許文献 3)、オランダの Annemieke Aartsma-Rus らによって 39 種類のエクソンに対してエクソンスキッピングを誘導するアンチセンス核酸が作られている (非特許文献 4)。

- 5 全 DMD 患者の 8% 程度は、第 53 番目のエクソン (以下、「エクソン 53」という) をスキッピングすることで治療可能と考えられている。近年では、ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 をエクソンスキッピングのターゲットとした研究について、複数の研究機関から報告がなされている (特許文献 1~4 ;非特許文献 5)。しかしながら、エクソン 53 を高効率にスキッピングさせる技術は、いまだに確立されていない。

特許文献 1 : 国際公開公報 WO 2006/000057

特許文献 2 : 国際公開公報 WO 2004/048570

特許文献 3 : 米国特許公開公報 US 2010/0168212

- 15 特許文献 4 : 国際公開公報 WO 2010/048586

非特許文献 1 : Monaco A. P. et al., Genomics 1988; 2: p. 90-95

非特許文献 2 : Matsuo M., Brain Dev 1996; 18: p. 167-172

非特許文献 3 : Wilton S. D., et al., Molecular Therapy 2007; 15: p. 1288-96

- 20 非特許文献 4 : Annemieke Aartsma-Rus et al., (2002) Neuromuscular Disorders 12: S71-S77

非特許文献 5 : Linda J. Popplewell et al., (2010) Neuromuscular Disorders, vol. 20, no. 2, p. 102-10

## 25 発明の開示

上記のような状況において、ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 のスキッピングを強く誘導するアンチセンスオリゴマー及びそのオリゴマーを含む筋ジストロフィー治療薬が望まれている。

本発明者らは、ジストロフィン遺伝子の構造を詳細に研究した結果、ジストロ

# Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

## Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

## Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

## Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

## API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

## LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

## FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

## E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.