明　細　書

発明の名称 ： 補体Ｃ５の発現を抑制する二本鎖リボ核酸

技術分野

[0001] 本発明は、補体Ｃ５の発現を抑制する二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）に関する。本発明は、特に、二本鎖リボ核酸、これが封入された脂質複合体、並びに当該二本鎖リボ核酸又は脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物に関する。

背景技術

[0002] 補体と呼ばれるタンパク群にはＣ１～Ｃ９で表されるタンパク質があり、これらのタンパク質が３つの異なる経路（古典的経路、レクチン経路、第二経路）により連鎖的に活性化されることにより、免疫反応が引き起こされる。補体の第５成分であるＣ５は、Ｃ５転換酵素によりＣ５ａとＣ５ｂに分解される。生じたＣ５ａはアナフィラトキシンと呼ばれ、Ｃ５ａＲ（ＣＤ８８）及びＣ５Ｌ２（ＧＰＲ７７）を介して様々な細胞に炎症反応を惹起する。生じたＣ５ｂは、Ｃ６－Ｃ９と順次反応することで最終産物である膜侵襲複合体（ＭＡＣ）となり、病原体の溶菌・細胞融解を引き起こす。補体系は、適切な制御を受けられない場合や過剰な活性化が起きている場合には、宿主細胞に対して強力な傷害作用を与える可能性がある。

[0003] 従来の研究から、補体Ｃ５は、発作性夜間ヘモグロビン尿症（ＰＮＨ）、非典型溶血性尿毒症症候群（ａＨＵＳ）、重症筋無力症（ＭＧ）、視神経脊髄炎（ＮＭＯ）、抗体関連型腎移植拒絶反応、ギラン・バレー症候群、抗好中球細胞質抗体関連血管炎（ＡＮＣＡ関連血管炎）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、パーキンソン病（ＰＤ）、自己免疫性脳炎、ＩｇＧ４関連疾患、喘息、抗リン脂質抗体症候群、虚血－再かん流傷害、典型溶血性尿毒症症候群（ｔＨＵＳ）、多巣性運動ニューロパチー（ＭＭＮ）、多発性硬化症（ＭＳ）、血栓性血小板減少性紫斑病（ＴＴＰ）、自然流産、習慣性流産、外傷性脳損傷、寒冷凝集素症、皮膚筋炎、志賀毒素産生性大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ

）に関連する溶血性尿毒症症候群、移植片機能不全、心筋梗塞、敗血症、アテローム性動脈硬化症、敗血症性ショック、脊髄損傷、乾癬、自己免疫溶血性貧血（ＡＩＨＡ）、抗リン脂質症候群（ＡＰＳ）、心筋炎、免疫複合体性血管炎、高安病、川崎病（動脈炎）等の様々な疾患への関与が知られている。したがって、補体Ｃ５の阻害又は発現抑制は、これら疾患の治療につながることが期待される。特に、発作性夜間ヘモグロビン尿症（非特許文献１）、非典型溶血性尿毒症症候群（非特許文献２）、重症筋無力症（非特許文献３）、視神経脊髄炎（非特許文献４）、抗体関連型腎移植拒絶反応（非特許文献５）については、補体Ｃ５の阻害がこれら疾患の治療又は予防に対して有用であることが示唆されている。

[0004] 抗Ｃ５モノクローナル抗体であるエクリズマブ（ソリリス（登録商標））は、補体Ｃ５に高親和性を示し、Ｃ５からＣ５ａ／Ｃ５ｂへの開裂とそれに伴う膜侵襲複合体の形成を阻害することにより、補体の過剰な活性化を抑制する。これにより、エクリズマブは、その溶血に対する抑制効果が示され、発作性夜間ヘモグロビン尿症や非典型溶血性尿毒症症候群の治療剤として知られている。また、エクリズマブは、全身型重症筋無力症（ｇＭＧ）の治療剤としても知られている。しかしながら、エクリズマブは非常に高価であることから、補体Ｃ５関連疾患の治療及び予防に用いうる代替手段の開発が望まれている。

[0005] 補体Ｃ５の発現を抑制する方法としては、例えば、ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ、以下「ＲＮＡｉ」ともいう）を利用した方法が挙げられる。例えば、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）を介したＣ５遺伝子のＲＮＡ転写物の切断をもたらす二本鎖リボ核酸（ｄｓＲＮＡ）剤が知られている（特許文献１）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第２０１４／１６０１２９号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Ｐｅｔｅｒ Ｈｉｌｌｍｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２００４ Ｆｅｂ ５；３５０（６）：５５２－５５９

非特許文献2：Ｌｅｇｅｎｄｒｅ ＣＭ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２０１３ Ｊｕｎ ６；３６８（２３）：２１６９－２１８１

非特許文献3：Ｈｏｗａｒｄ ＪＦ Ｊｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｕｓｃｌｅ Ｎｅｒｖｅ ２０１３ Ｊｕｌ；４８（１）：７６－８４

非特許文献4：Ｐｉｔｔｏｃｋ ＳＪ ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ Ｌａｎｃｅｔ Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ ２０１３ Ｊｕｎ；１２（６）：５５４－５６２

非特許文献5：Ｓｔｅｇａｌｌ ＭＤ ｅｔ ａｌ．，Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ ２０１１ Ｎｏｖ；１１（１１）：２４０５－２４１３

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の課題は、補体Ｃ５の発現を抑制するための新規な二本鎖リボ核酸を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明は、例えば、以下の［１］～［３８］を提供する。

［１］ センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせを有する二本鎖リボ核酸であって、

センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、

配列番号１３及び配列番号１４、配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１１５及び配列番号１１６、配列番号１１７及び配列番号１１８、配列番号１１９及び配列番号１２０、配列番号１２１及び配列番号１２２、配列番号１２３及び配列番号１２４、配列番号１２５及び配列番号１２６、配列番号１２７及び配列番号１２８、配列番号１２９及び配列番号１３０、配列番号１３１及び配列番号１３２、配列番号１３３及び配列番号１３４、配列

番号１３７及び配列番号１３８、配列番号１３９及び配列番号１４０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、配列番号１４９及び配列番号１５０、配列番号１５１及び配列番号１５２、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される、二本鎖リボ核酸。

［２］　センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせを有する二本鎖リボ核酸であって、

センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、

配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１３９及び配列番号１４０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される、二本鎖リボ核酸。

［３］　センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせを有する二本鎖リボ核酸であって、

センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、

配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される、二本鎖リボ核酸。

［４］　センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせを有する二本鎖リボ核酸であって、

センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、

配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される、二本鎖リボ核酸。

［５］　配列番号１４１のセンス鎖、及び配列番号１４２のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［６］　配列番号１４３のセンス鎖、及び配列番号１４４のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［７］　配列番号１４５のセンス鎖、及び配列番号１４６のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［８］　配列番号１４７のセンス鎖、及び配列番号１４８のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［９］　配列番号１５３のセンス鎖、及び配列番号１５４のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［１０］　配列番号１５９のセンス鎖、及び配列番号１６０のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

［１１］　［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸を含む、補体Ｃ５阻害剤。

［１２］　［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸を含む、医薬組成物。

［１３］　［１２］に記載の医薬組成物であって、薬学的に許容される担体をさらに含む、医薬組成物。

［１４］　［１２］又は［１３］に記載の医薬組成物であって、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療のための、医薬組成物。

［１５］　［１２］又は［１３］に記載の医薬組成物であって、非典型溶血性尿毒症症候群の治療のための、医薬組成物。

［１６］　［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸が封入された、脂質複合体。

［１７］　カチオン性脂質と、

中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質、及びステロールからなる群から選択される少なくとも一種の脂質と

を含む、［１６]に記載の脂質複合体。

［１８］　カチオン性脂質が、２－｛９－オキソ－９－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレートである、［１７］に記載の脂質複合体。

［１９］　中性脂質が、ジステアロイルホスファチジルコリン（ＤＳＰＣ）である、［１７］に記載の脂質複合体。

［２０］　ポリエチレングリコール修飾脂質が、ＭＰＥＧ２０００－ＤＭＧ（ＭＰＥＧ２０００－ジミリスチルグリセロール）である、［１７］に記載の脂質複合体。

［２１］　ステロールが、コレステロールである、［１７］に記載の脂質複合体。

［２２］　［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体を含む、補体Ｃ５阻害剤。

［２３］　［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体を含む、医薬組成物。

［２４］　［２３］に記載の医薬組成物であって、薬学的に許容される担体をさらに含む、医薬組成物。

［２５］　［２３］又は［２４］に記載の医薬組成物であって、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療のための、医薬組成物。

［２６］　［２３］又は［２４］に記載の医薬組成物であって、非典型溶血性尿毒症症候群の治療のための、医薬組成物。

［２７］　［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸を、それを必要とする患者に投与することを含む、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療方法。

［２８］　［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸を、それを必要とする患者に投与することを含む、非典型溶血性尿毒症症候群の治療方法。

［２９］　発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療における使用のための［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸。

［３０］　非典型溶血性尿毒症症候群の治療における使用のための［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸。

［３１］　発作性夜間ヘモグロビン尿症治療用の医薬組成物の製造における［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸の使用。

［３２］　非典型溶血性尿毒症症候群治療用の医薬組成物の製造における［１］～［１０］のいずれかに記載の二本鎖リボ核酸の使用。

［３３］　［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体を、それを必要とする患者に投与することを含む、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療方法。

［３４］　［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体を、それを必要とする患者に投与することを含む、非典型溶血性尿毒症症候群の治療方法。

［３５］　発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療における使用のための［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体。

［３６］　非典型溶血性尿毒症症候群の治療における使用のための［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体。

［３７］　発作性夜間ヘモグロビン尿症治療用の医薬組成物の製造における［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体の使用。

［３８］　非典型溶血性尿毒症症候群治療用の医薬組成物の製造における［１６］～［２１］のいずれかに記載の脂質複合体の使用。

発明の効果

[0010]　本発明によれば、補体Ｃ５の発現を抑制する新規な二本鎖リボ核酸、該核酸が封入された脂質複合体、並びに該核酸又は該脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物を提供することができる。

[0011]　本発明に係る二本鎖リボ核酸は、補体Ｃ５の発現を抑制し、溶血を抑制する作用を有するため、発作性夜間ヘモグロビン尿症（ＰＮＨ）や非典型溶血性尿毒症症候群（ａＨＵＳ）の治療剤としての利用可能性を有する。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]実施例５における、ｓｉＲＮＡ－００８投与後の肝臓中Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率及びｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の肝臓中Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率の結果を示す図である。

[図2]実施例５における、ｓｉＲＮＡ－００８投与後の血漿中Ｃ５残存率及びｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の血漿中Ｃ５残存率の結果を示す図である。

[図3]実施例８における、ｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の補体活性の結果を示す図である。

[図4]実施例９における、ｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の補体活性の結果を示す図である。

[図5]実施例１０における、ｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の補体活性の結果を示す図である。

[図6]実施例１１における、ｓｉＲＮＡ－００８－３４投与後の補体活性の結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸が標的とする補体Ｃ５をコードする遺伝子としては、例えば、ヒト、マウス及びサル由来のＣ５が挙げられるが、これらに限られない。Ｃ５遺伝子の配列情報は、米国の国立生物工学情報センター（ＮＣＢＩ）が提供するＧｅｎＢａｎｋ等、配列情報が登録された公共のデータベースから入手できるほか、近縁関係にある動物種のＣ５の塩基配列情報を元にプライマーを設計し、所望の動物種から抽出したＲＮＡからクローニングすることで、入手することが可能である。標的遺伝子ｈｕｍａｎＣ５に対応するｍＲＮＡ転写物の配列としては、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｎｏ．ＮＭ＿００１７３５．２（ＧＩ：３８０１６９４６）のヒトＣ５　ｍＲＮＡ転写物の配列が挙げられる。本明細書においてＣ５遺伝子とは、特定の配列を有する遺伝子を意味するものではなく、例えば、天然に存在する一塩基多型を有するＣ５遺伝子も含まれる。

[0014] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は

、センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、配列番号１３及び配列番号１４、配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１１５及び配列番号１１６、配列番号１１７及び配列番号１１８、配列番号１１９及び配列番号１２０、配列番号１２１及び配列番号１２２、配列番号１２３及び配列番号１２４、配列番号１２５及び配列番号１２６、配列番号１２７及び配列番号１２８、配列番号１２９及び配列番号１３０、配列番号１３１及び配列番号１３２、配列番号１３３及び配列番号１３４、配列番号１３７及び配列番号１３８、配列番号１３９及び配列番号１４０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、配列番号１４９及び配列番号１５０、配列番号１５１及び配列番号１５２、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８、ｓｉＲＮＡ－００８－０１、ｓｉＲＮＡ－００８－０２、ｓｉＲＮＡ－００８－０８、ｓｉＲＮＡ－００８－０９、ｓｉＲＮＡ－００８－１０、ｓｉＲＮＡ－００８－１１、ｓｉＲＮＡ－００８－１２、ｓｉＲＮＡ－００８－１３、ｓｉＲＮＡ－００８－１４、ｓｉＲＮＡ－００８－２２、ｓｉＲＮＡ－００８－２３、ｓｉＲＮＡ－００８－３０、ｓｉＲＮＡ－００８－３１、ｓｉＲＮＡ－００８－３２、ｓｉＲＮＡ－００８－３３、ｓｉＲＮＡ－００８－３４、ｓｉＲＮＡ－００８－３５、ｓｉＲＮＡ－００８－３６、ｓｉＲＮＡ－００８－３７、及びｓｉＲＮＡ－００８－３８の配列にそれぞれ該当する。

[0015] 上記実施形態に係る二本鎖リボ核酸においては、下記の（１）～（２１）のいずれかの組み合わせのセンス鎖及びアンチセンス鎖が対形成している。

（１）配列番号１３のセンス鎖、及び配列番号１４のアンチセンス鎖

（２）配列番号１５９のセンス鎖、及び配列番号１６０のアンチセンス鎖

（３）配列番号１１５のセンス鎖、及び配列番号１１６のアンチセンス鎖

（４）配列番号１１７のセンス鎖、及び配列番号１１８のアンチセンス鎖

（５）配列番号１１９のセンス鎖、及び配列番号１２０のアンチセンス鎖

（６）配列番号１２１のセンス鎖、及び配列番号１２２のアンチセンス鎖

（７）配列番号１２３のセンス鎖、及び配列番号１２４のアンチセンス鎖

（８）配列番号１２５のセンス鎖、及び配列番号１２６のアンチセンス鎖

（９）配列番号１２７のセンス鎖、及び配列番号１２８のアンチセンス鎖

（１０）配列番号１２９のセンス鎖、及び配列番号１３０のアンチセンス鎖

（１１）配列番号１３１のセンス鎖、及び配列番号１３２のアンチセンス鎖

（１２）配列番号１３３のセンス鎖、及び配列番号１３４のアンチセンス鎖

（１３）配列番号１３７のセンス鎖、及び配列番号１３８のアンチセンス鎖

（１４）配列番号１３９のセンス鎖、及び配列番号１４０のアンチセンス鎖

（１５）配列番号１４１のセンス鎖、及び配列番号１４２のアンチセンス鎖

（１６）配列番号１４３のセンス鎖、及び配列番号１４４のアンチセンス鎖

（１７）配列番号１４５のセンス鎖、及び配列番号１４６のアンチセンス鎖

（１８）配列番号１４７のセンス鎖、及び配列番号１４８のアンチセンス鎖

（１９）配列番号１４９のセンス鎖、及び配列番号１５０のアンチセンス鎖

（２０）配列番号１５１のセンス鎖、及び配列番号１５２のアンチセンス鎖

（２１）配列番号１５３のセンス鎖、及び配列番号１５４のアンチセンス鎖

[0016] 上記（１）～（２１）のセンス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせは互いに相補的な領域を含む。例えば、配列番号１３のセンス鎖及び配列番号１４のアンチセンス鎖の組み合わせである、上記（１）を有する二本鎖リボ核酸は、以下の相補鎖を含む（それぞれ3’末端のｄＴ＾ｄＴを除く、詳細は表１参照）。

５’－ｕＧＧｕＡｕＡｕＧｕＧｕｕＧｃｕＧＡｕ－３’（配列番号１３）

３’－ＡｃＣＡｕＡｕＡｃＡｃＡＡｃＧＡｃＵＡ－５’（配列番号１４）

[0017] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１３９及び配列番号１４０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び

配列番号１５４からなる群から選択される。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－０１、ｓｉＲＮＡ－００８－３１、ｓｉＲＮＡ－００８－３２、ｓｉＲＮＡ－００８－３３、ｓｉＲＮＡ－００８－３４、ｓｉＲＮＡ－００８－３５、及びｓｉＲＮＡ－００８－３８の配列にそれぞれ該当する。

[0018] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－０１、ｓｉＲＮＡ－００８－３２、ｓｉＲＮＡ－００８－３３、ｓｉＲＮＡ－００８－３４、ｓｉＲＮＡ－００８－３５、及びｓｉＲＮＡ－００８－３８の配列にそれぞれ該当する。

[0019] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３２、ｓｉＲＮＡ－００８－３３、ｓｉＲＮＡ－００８－３４、ｓｉＲＮＡ－００８－３５、ｓｉＲＮＡ－００８－３８の配列にそれぞれ該当する。

[0020] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１５９のセンス鎖、及び配列番号１６０のアンチセンス鎖を有する。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－０１の配列に該当する。

[0021] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１４１のセンス鎖、及び配列番号１４２のアンチセンス鎖を有す

る。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３２の配列に該当する。

[0022] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１４３のセンス鎖、及び配列番号１４４のアンチセンス鎖を有する。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３３の配列に該当する。

[0023] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１４５のセンス鎖、及び配列番号１４６のアンチセンス鎖を有する。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３４の配列に該当する。

[0024] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１４７のセンス鎖、及び配列番号１４８のアンチセンス鎖を有する。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３５の配列に該当する。

[0025] 一実施形態に係るセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する二本鎖リボ核酸は、配列番号１５３のセンス鎖、及び配列番号１５４のアンチセンス鎖を有する。上記組み合わせは、本明細書中のｓｉＲＮＡ－００８－３８の配列に該当する。

[0026] 本実施形態に係るアンチセンス鎖は、Ｃ５遺伝子のｍＲＮＡ転写物の少なくとも一部に実質的に相補的である。ここで、実質的に相補的とは、Ｃ５遺伝子のｍＲＮＡ転写物と完全に相補的な場合のみではなく、許容される１～数個のミスマッチを含む場合も包含することを意味する。

[0027] 本実施形態に係るセンス鎖は、アンチセンス鎖の塩基配列の少なくとも一部に実質的に相補的である。実質的に相補的とは、アンチセンス鎖の塩基配列と完全に相補的な場合のみではなく、許容される１～数個のミスマッチを含む場合も包含することを意味する。センス鎖及びアンチセンス鎖のいずれか長い方のオリゴヌクレオチドが、短い方のオリゴヌクレオチドに対して完全に相補的な塩基配列を含む場合、「完全に相補的」と表すこともできる。

[0028] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、後述するように、修飾されたヌクレオチドも含む（表１も参照）。そのため、本明細書においてヌクレオチドとは、グアノシン－３’－リン酸、シチジン－３’－リン酸、アデノシン－３’－リン酸及びウリジン－３’－リン酸だけでなく、各種修飾ヌクレオチドをも包含する意味で用いる。

[0029] 本明細書において、「二本鎖リボ核酸」又は「ｄｓＲＮＡ」とは、２本の逆平行で且つ実質的に相補的なオリゴヌクレオチドを含む二本鎖構造を有するリボ核酸（ＲＮＡ）分子又はその複合体をいう。また、本明細書において、二本鎖リボ核酸としては、例えばｓｉＲＮＡ（ｓｍａｌｌ　ｉｎｔｅｒｆｅｒｉｎｇ　ＲＮＡ）が挙げられるが、特にこれに限定されない。本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、センス鎖及びアンチセンス鎖を有する。本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を使用したＲＮＡｉにより、ＲＩＳＣ複合体内で標的ｍＲＮＡ分子としてＣ５遺伝子のｍＲＮＡが分解され、その結果としてＣ５の発現が抑制される。例えば、対象の細胞内におけるＣ５の発現を抑制する。

[0030] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、当該技術分野における公知の化学合成を用いる方法（例えば、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、３５（１０）、３２８７－９６（２００７）に記載）及び酵素的転写法等により合成できる。

[0031] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は各種修飾を含む。修飾は、当該技術分野における公知の方法により行うことができる。修飾としては、例えば、糖修飾が挙げられる。

[0032] 糖修飾としては、例えば、リボヌクレオシドを構成するリボース部の修飾であって、２’位のヒドロキシ基における置換若しくは付加が挙げられ、具体的には、例えば、ヒドロキシ基をメトキシ基に置換した２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチドが挙げられる。表１において、小文字のａ、ｕ、ｇ及びｃで表されたヌクレオチドは、２’－Ｏ－メチル修飾ヌクレオチドを表し、本実施形態に係る二本鎖リボ核酸のセンス鎖及びアンチセンス鎖は、２’－Ｏ

－メチル修飾ヌクレオチドを含む。

[0033] また、センス鎖及びアンチセンス鎖が二重鎖を形成する領域の３’側又は５’側に、オーバーハングと呼ばれる追加のヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体を挿入することで、二本鎖リボ核酸を修飾することもできる。本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、配列番号１３及び配列番号１４のように、センス鎖及びアンチセンス鎖の３’末端にデオキシ－チミジン（ｄＴ）を有するもの、配列番号１２９のように、逆向きに結合したデオキシ－チミジン（ｉｄＴ）を有するものを含む。また本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、オーバーハング配列としてＵ及びＡ等が付加されたもの、例えば、配列番号１４０及び１４２のように、アンチセンス鎖の３’末端に、ＵＵＵＵが付加されたものも含む。

[0034] また、ホスホジエステル結合の修飾又は置換により、二本鎖リボ核酸を骨格修飾することもできる。ホスホジエステル結合の修飾又は置換としては、例えば、ホスホロチオエート結合が挙げられる。本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、例えば、配列番号１３、配列番号１４、及び配列番号１２１のように、ホスホロチオエート結合を介して隣接するヌクレオチドが存在するものも含む。

[0035] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸は、該技術分野において公知の化学的方法（例えば、トランスフェクション）、物理的方法（例えば、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション）、及び生物学的方法（例えば、ウイルスベクター）により、対象の細胞内へ導入することができる。

[0036] トランスフェクションは、陽電荷をもつ物質（リポソーム及びポリマー等）に核酸を結合させて複合体を形成させ、その複合体が陰電荷を帯びた細胞表面に引きつけられることで、エンドサイトーシスにより細胞に取り込ませる方法である。公知の方法により行うこともでき、市販のトランスフェクション試薬（例えば、タカラバイオ株式会社のＴｒａｎｓＩＴ（登録商標）シリーズや、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社のＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（登録商標）シリーズ）を用いることでも容易に行うことができる。

[0037] 核酸分子は、生体内に存在するリボヌクレアーゼによって容易に分解され、また核酸分子自身が負電荷を帯びた高分子であるため、同様に負に帯電している細胞膜を透過するのが難しい。そのような性質を有する核酸分子を細胞質まで送達させるための、有効な方法として、脂質複合体及びポリマー等を使用したＤｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍ（ＤＤＳ）技術が開発されている。

[0038]（脂質複合体）

本発明は、（I）上記二本鎖リボ核酸と、（II）カチオン性脂質と、（III）中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質（ＰＥＧ脂質）及びステロールからなる群より選択される少なくとも一種の脂質と、を含有する脂質複合体を提供する。本明細書において、脂質複合体としては、例えばＬＮＰ（脂質ナノ粒子）が挙げられるが、特にこれに限定されない。

[0039] カチオン性脂質を含有する脂質と二本鎖リボ核酸とで形成される複合体の形態としては、例えば、二本鎖リボ核酸と脂質一重（一分子）層からなる膜（逆ミセル）との複合体、二本鎖リボ核酸とリポソームとの複合体、二本鎖リボ核酸とミセルとの複合体等が挙げられる。本発明の一実施形態の脂質複合体において、二本鎖リボ核酸はカチオン性脂質を含有する脂質で構成された微粒子内に封入されている。

[0040] 本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体の全重量に対して、上記二本鎖リボ核酸を例えば、０．０１～５０重量％、０．１～３０重量％又は１～１０重量％含有する。

[0041] カチオン性脂質とは、一つ以上の炭化水素基を含む脂質親和性領域と、特定のｐＨでプロトン化する極性基を含む親水性領域を有する両親媒性分子である。本実施形態に係るカチオン性脂質としては、特に限定されるものではないが、例えば、国際公開第２０１５／１０５１３１号、国際公開第２０１６／１０４５８０号、国際公開第２０１７／２２２０１６号に記載されたカチオン性脂質を用いることができ、また、生分解能を向上せた国際公開第２０１６／１０４５８０号又は国際公開第２０１７／２２２０１６号に記載さ

れたカチオン性脂質を用いることができる。一実施形態に係るカチオン性脂質としては、例えば、１－オキソ－１－（ウンデカン－５－イルオキシ）ノナデカン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－（（２－ブチルオクチル）オキシ）－１－オキソノナデカン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－オキソ－１－（ウンデカン－５－イルオキシ）ヘプタデカン－８－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、２１－オキソ－２１－（ウンデカン－５－イルオキシ）ヘンイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、２１－（オクタン－３－イルオキシ）－２１－オキソヘンイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－（（２－ブチルオクチル）オキシ）－１－オキソイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、（Ｚ）－１－（（２－ブチルノン－３－エン－１－イル）オキシ）－１－オキソイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－オキソ－１－（（３－ペンチルオクチル）オキシ）イコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－（（３，４－ジプロピルヘプチル）オキシ）－１－オキソイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、１－（（６－（ブチルジスルファニル）－３－（３－（ブチルジスルファニル）プロピル）ヘキシル）オキシ）－１－オキソイコサン－１０－イル－１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、２－ブチルオクチル－１０－（（４－（ジメチルアミノ）ブタノイル）オキシ）イコサノエート、２－｛９－［（２－ブチルオクチル）オキシ］－９－オキソノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、２－｛９－オキソ－９－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、２－ノニル－１１－オキソ－１１－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ウンデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、ビス（３－ペンチルオクチル）　９－｛［（１－メチルピペリジン－４－カルボニル）オキシ］メチル｝ヘプタデカンジオエート又はジ［（Ｚ

）－２－ノネン－１－イル］　９－｛［（１－メチルピペリジン－４－カルボニル）オキシ］メチル｝ヘプタデカンジオエート等が挙げられる。一実施形態において、カチオン性脂質は、２－｛９－オキソ－９－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレートである。

[0042]　本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体が含有する全脂質を基準として、上述したカチオン性脂質を、例えば、１０～１００モル％、２０～９０モル％又は４０～７０モル％含有する。カチオン性脂質は、１種を単独で、又は２種以上を混合して用いることができる。

[0043]　本実施形態の脂質複合体は、脂質成分として、（Ｉ）上述したカチオン性脂質と、（ＩＩ）中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質、及びステロールからなる群より選択される少なくとも一種の脂質とを含有する。本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体の全重量に対して、脂質成分を例えば、５０～９９．９９重量％、７０～９９．９重量％又は９０～９９重量％含有する。

[0044]　中性脂質とは、生理的ｐＨで、非電荷又は中性の両性イオンの形のいずれかで存在する脂質を意味する。本実施形態に係る中性脂質としては、例えば、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（ＰＯＰＣ）、卵ホスファチジルコリン（ＥＰＣ）、ジミリストイルホスファチジルコリン（ＤＭＰＣ）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）、ジステアロイルホスファチジルコリン（ＤＳＰＣ）、ジアラキドイルホスファチジルコリン（ＤＡＰＣ）、ジベヘノイルホスファチジルコリン（ＤＢＰＣ）、ジリグノセロイルホスファチジルコリン（ＤＬＰＣ）、ジオレオイルホスファチジルコリン（ＤＯＰＣ）、スフィンゴミエリン、セラミド、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（ＤＯＰＧ）、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（ＤＰＰＧ）、パルミトイルオレオイルフォスファチジルエタノールアミン（ＰＯＰＥ）、ジオレオイル－ホスファチジルエタノールアミン４－（Ｎ－マレイミ

ドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＤＯＰＥ－ｍａｌ）等が挙げられる。一実施形態において、中性脂質は、ジステアロイルホスファチジルコリン（ＤＳＰＣ）である。中性脂質は、１種を単独で、又は２種以上を混合して用いることができる。

[0045] 本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体が含有する全脂質を基準として、中性脂質を、例えば、０～５０モル％、０～４０モル％、０～３０モル％又は０～２０モル％含有してもよい。

[0046] 本実施形態に係るポリエチレングリコール修飾脂質（ＰＥＧ脂質）としては、例えば、ＰＥＧ２０００－ＤＭＧ（ＰＥＧ２０００－ジミリスチルグリセロール）、ＭＰＥＧ２０００－ＤＭＧ（ＭＰＥＧ２０００－ジミリスチルグリセロール）、ＰＥＧ２０００－ＤＰＧ（ＰＥＧ２０００－ジパルミトイルグリセロール）、ＰＥＧ２０００－ＤＳＧ（ＰＥＧ２０００－ジステアロイルグリセロール）、ＰＥＧ５０００－ＤＭＧ（ＰＥＧ５０００－ジミリスチルグリセロール）、ＰＥＧ５０００－ＤＰＧ（ＰＥＧ５０００－ジパルミトイルグリセロール）、ＰＥＧ５０００－ＤＳＧ（ＰＥＧ５０００－ジステアロイルグリセロール）、ＰＥＧ－ｃＤＭＡ（Ｎ－［（メトキシポリ（エチレングリコール）２０００）カルバミル］－１，２－ジミリスチルオキシルプロピル－３－アミン）、ＰＥＧ－Ｃ－ＤＯＭＧ（Ｒ－３－［（ω－メトキシ－ポリ（エチレングリコール）２０００）カルバモイル）］－１，２－ジミリスチルオキシルプロピル－３－アミン）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）－ジアシルグリセロール（ＤＡＧ）、ＰＥＧ－ジアルキルオキシプロピル（ＤＡＡ）、ＰＥＧ－リン脂質、ＰＥＧ－セラミド（Ｃｅｒ）等が挙げられる。ＰＥＧ－ジアルキルオキシプロピルとしては、ＰＥＧ－ジラウリルオキシプロピル、ＰＥＧ－ジミリスチルオキシプロピル、ＰＥＧ－ジパルミチルオキシプロピル、ＰＥＧ－ジステアリルオキシプロピル等が挙げられる。一実施形態において、ポリエチレングリコール修飾脂質は、ＭＰＥＧ２０００－ＤＭＧ（ＭＰＥＧ２０００－ジミリスチルグリセロール）である。ポリエチレングリコール修飾脂質は、１種を単独で、又は２種以上を混合して

用いることができる。

[0047] 本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体が含有する全脂質を基準として、ポリエチレングリコール修飾脂質を、例えば、０～３０モル％、０～２０モル％、０～１０モル％又は０．５～２モル％含有してもよい。

[0048] ステロールはステロイド骨格を有するアルコールである。本実施形態に係るステロールとしては、例えば、コレステロール、ジヒドロコレステロール、ラノステロール、β－シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、エルゴカステロール、フコステロール、３β－［Ｎ－（Ｎ’，Ｎ’－ジメチルアミノエチル）カルバモイル］コレステロール（ＤＣ－Ｃｈｏｌ）等が挙げられる。一実施形態において、ステロールは、コレステロールである。ステロールは、１種を単独で、又は２種以上を混合して用いることができる。

[0049] 本実施形態の脂質複合体は、脂質複合体が含有する全脂質を基準として、ステロールを、例えば、０～９０モル％、１０～８０モル％又は２０～４０モル％含有してもよい。

[0050] 本実施形態の脂質複合体における脂質成分の組み合わせは、特に限定されず、例えば、上述したカチオン性脂質、中性脂質及びステロールの組み合わせ、上述したカチオン性脂質、中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質及びステロールの組み合わせ等が挙げられる。

[0051] 一実施形態に係る本発明の二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、脂質成分として、カチオン性脂質／中性脂質／ポリエチレングリコール修飾脂質／ステロールから構成され、その脂質のモル比割は、例えば、１０～９９／０～５０／０～１０／０～５０、又は４０～７０／０～２０／０．５～２／２０～４０であってよい。

[0052] 本発明に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体粒子の「平均粒子径」はＺ－平均粒子径のことをいう。一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体の平均粒子径（Ｚ－平均）は、粒子径測定装置（Ｍａｌｖｅｒｎ，Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ　Ｎａｎｏ　ＺＳ）にて測定した場合、特に限定さ

れるものではないが、例えば、１０～１０００ｎｍ、３０～５００ｎｍ又は３０～２００ｎｍであってよい。

[0053] 一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体におけるｓｉＲＮＡの封入率は、例えば、Ｑｕａｎｔ－ｉＴ ＲｉｂｏＧｒｅｅｎ ＲＮＡ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｔ＃Ｒ１１４９１）を用いて、ＲＮａｓｅ Ｆｒｅｅ Ｗａｔｅｒで希釈し測定したｓｉＲＮＡ濃度をＬＮＰ外液に存在するｓｉＲＮＡとし、１％Ｔｒｉｔｏｎ Ｘ－１００で希釈し測定したｓｉＲＮＡ濃度を製剤中の全ｓｉＲＮＡ濃度として封入率を算出することができる（Ｋｅｗａｌ Ｋ．Ｊａｉｎ，Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１１４１：１０９－１２０も参照）。上記方法にて算出した封入率は、例えば、８０％、８５％又は９０％より高いことが好ましい。一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体におけるｓｉＲＮＡの封入率は、９０％より高いことが好ましい。

[0054] ＜脂質複合体の製造方法＞

脂質複合体へ有効な分子を封入する方法としては、例えば、逆相蒸発法、Ｚｗｉｔｔｅｒｉｏｎ（ＮａＣｌ）水和法、カチオン性コア水和法及びエタノールとカルシウムを用いた方法（Ｂｉｏｍｅｍｂｒ．，１４６８、２３９－２５２（２０００）も参照）等が挙げられる。上述のような該技術分野において公知の方法により、一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を調製することができる。

[0055] 一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、例えば、カチオン性脂質と、中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質、及びステロールからなる群から選ばれる少なくとも一種の脂質とを含む脂質溶液と、二本鎖リボ核酸を含む酸性バッファーとを混合することで調製できる。このような方法により、二本鎖リボ核酸と脂質のコアで内部が充填された脂質複合体が得られる。一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、カチオン性脂質と、中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質及びステロー

ルからなる群から選ばれる少なくとも一種の脂質とを含むものであってよい。

[0056] 一実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、例えば、（Ｉ）カチオン性脂質と、（ＩＩ）中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質及びステロールからなる群より選択される少なくとも一種の脂質とを含有する極性有機溶媒含有水溶液と、（ＩＩＩ）二本鎖リボ核酸を含有する水溶液とを混合して混合液を得る工程（ａ）と、混合液中の極性有機溶媒の含有率を減少させる工程（ｂ）とを備える、方法により製造することができる。

[0057] 水溶性の二本鎖リボ核酸とカチオン性脂質との静電的相互作用、及び脂質間の疎水的相互作用により、脂質で構成された微粒子内に二本鎖リボ核酸が封入された脂質複合体を形成することができる。例えば、混合液中の極性有機溶媒の含有率を減少させることによって、（Ｉ）カチオン性脂質と、（ＩＩ）中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質及びステロールからなる群より選択される少なくとも一種の脂質とを含む脂質成分の、極性有機溶媒含有水溶液に対する溶解度を変化させることにより、脂質複合体を形成させることができる。極性有機溶媒としては、エタノール等のアルコールが挙げられる。

[0058] まず、工程（ａ）において、（Ｉ）カチオン性脂質と、（ＩＩ）中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質及びステロールからなる群より選択される少なくとも一種の脂質とを溶解させた、極性有機溶媒含有水溶液と、（ＩＩＩ）二本鎖リボ核酸を含有する水溶液とを混合して混合液を得る。極性有機溶媒含有水溶液中の極性有機溶媒の濃度は、二本鎖リボ核酸を含有する水溶液と混合後も、脂質分子が溶解する条件を満たしていれば特に限定されない。一例をあげると、工程（ａ）の極性有機溶媒含有水溶液における極性有機溶媒の濃度は０～６０重量％でありうる。（ＩＩＩ）二本鎖リボ核酸を含有する水溶液は、例えば、酸性バッファーに二本鎖リボ核酸を溶解させることで得られる。

[0059] 続いて、工程（ｂ）において、上記の混合液に水等を添加することにより

、極性有機溶媒の含有率を減少させる。これにより、脂質複合体を形成させることができる。脂質複合体を効率よく形成させるためには、極性有機溶媒の含有率を急激に低下させることが好ましい。一例をあげると、工程（ｂ）における最終の極性有機溶媒含有水溶液における極性有機溶媒の濃度は０～５重量％でありうる。

[0060] また、工程（ａ）で得られた上記混合液を、透析によって、極性有機溶媒を除去し、溶媒を薬学的に許容される媒体に置換してもよい。透析過程で溶液中の極性有機溶媒の含有率が減少するため、これにより、脂質複合体を形成させることができる。

[0061] 本実施形態の組成物の製造方法によれば、二本鎖リボ核酸が効率よく微粒子内部に封入された脂質複合体を得ることができる。

[0062] 二本鎖リボ核酸を溶解させる酸性バッファーとしては、例えば、硫酸バッファー、リン酸バッファー、フタル酸バッファー、酒石酸バッファー、クエン酸バッファー、ギ酸バッファー、シュウ酸バッファー及び酢酸バッファー等が挙げられる。

[0063] 脂質を溶解させる溶媒としては、アルコール等の極性有機溶媒が挙げられ、例えば、エタノール、イソプロパノール、クロロホルム又はｔ－ブタノールであってもよい。

[0064]（補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物）

上述したように、本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を使用することで、ＲＮＡｉにより、補体Ｃ５の発現を阻害することができる。したがって、一実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本発明の二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物を提供することができる。補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物は、一実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本発明の二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体の他に、薬学的に許容される担体を含むことができる。

[0065] 薬学的に許容される担体としては、例えば、液体又は固体充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤及び溶媒封入材料等が挙げられる。

[0066] 本実施形態に係る医薬組成物は、例えば、凍結乾燥等により溶媒を除去した粉末状態であってもよく、液体状態であってもよい。本発明の一実施形態の医薬組成物は、上述した実施形態の脂質複合体を含む粉末組成物である。粉末組成物は、液体状態の組成物（分散液）から例えば濾過、遠心分離等によって溶媒を除去して調製してもよいし、該分散液を凍結乾燥して調製してもよい。医薬組成物が粉末状態である場合には、使用前に薬学的に許容される媒体に懸濁又は溶解させて注射剤として用いることができる。本発明の一実施形態の医薬組成物は、上述した実施形態の脂質複合体及び薬学的に許容される媒体を含む液体組成物である。医薬組成物が液体状態である場合には、そのままで又は薬学的に許容される媒体に懸濁又は溶解させて注射剤として用いることができる。

[0067] 一実施形態に係る補体Ｃ５阻害剤又は医薬組成物を必要とする対象に投与することにより、ＲＮＡｉにより、対象における補体Ｃ５の発現を阻害することができる。必要とする対象とは、Ｃ５遺伝子の発現又は活性に関連する疾病又は障害を発症している対象、及びその発症リスクが高いと判断される対象である。

[0068] 一実施形態によれば、本発明の二本鎖リボ核酸は補体Ｃ５の発現を抑制することができるため、本発明の二本鎖リボ核酸又は本発明の二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤又は医薬組成物は、発作性夜間ヘモグロビン尿症（ＰＮＨ）及び非典型溶血性尿毒症症候群（ａＨＵＳ）の治療に有用であり得る。すなわち、本発明は、他の実施形態において、治療上有効量の、一実施形態に係る補体Ｃ５阻害剤又は医薬組成物を対象に投与する工程を含む、発作性夜間ヘモグロビン尿症又は非典型溶血性尿毒症症候群の治療方法を包含する。また、本発明は、他の実施形態において、発作性夜間ヘモグロビン尿症又は非典型溶血性尿毒症症候群の治療薬を製造するための、本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体の使用を包含する。本発明は、他の実施形態において、発作性夜間ヘモグロビン尿症又は非典型溶血性尿毒症症候群の治療する

方法において使用するための本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を包含する。

[0069] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、治療法において単独か、又はその他の薬剤若しくは組成物と併用して用いることができる。例えば、本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体は、別の薬剤と同時又は異時に投与されてよい。このような併用療法には、併用投与（同じか又は別々の製剤に２以上の薬剤が含まれる）及び分離投与（例えば同時に又は連続的に）が含まれる。２以上の薬剤を別々に投与する場合、本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体の投与は、付随する治療法に先立つか、又は続いて行われてよい。

[0070] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤又は医薬組成物を投与する対象は限定されず、例えば、ヒト又は非ヒト哺乳動物（サル、マウス、ラット、ウサギ、ウシ、ウマ、ヤギ等）に対して本発明を用いることができる。

[0071] 本実施形態に係る二本鎖リボ核酸又は本実施形態に係る二本鎖リボ核酸を封入した脂質複合体を含む補体Ｃ５阻害剤又は医薬組成物の対象への投与方法（投与経路、投与量、１日の投与回数、投与のタイミング、等）は限定されず、対象の健康状態、疾患の程度、併用する薬剤の種類等に応じて、当業者（例えば、医師）が適宜決定することができる。

[0072]（投与方法）

一実施形態に係る補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物の投与の形態は特に限定されないが、非経口投与であってよく、例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与及び髄腔内投与等が挙げられる。

[0073] 一実施形態に係る補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物は、投与の形態により、補体Ｃ５を阻害ために十分な量で投与され得る。一実施形態に係る補体Ｃ５阻害剤及び医薬組成物の投与量は、例えば、対象の体重１ｋｇ当たり０．０

１ｍｇ～１００ｍｇであってよく、０．１ｍｇ～５０ｍｇであってよく、０．３ｍｇ～１０ｍｇであってよい。

[0074] 技術的に矛盾しない限り、本明細書に記載の、あらゆる実施形態の任意の一または複数を、適宜組み合わせて、本発明を実施してよいことを当業者は理解する。さらに、技術的に矛盾しない限り、本明細書に記載の、好ましい又は有利なあらゆる実施形態を、適宜組み合わせて、本発明を実施することが好ましいであろうことを当業者は理解する。

[0075] 本明細書中に引用される文献は、参照により、それらのすべての開示が、明確に本明細書に援用されているとみなされるべきであって、当業者は、本明細書の文脈に従って、本発明の精神及び範囲を逸脱することなく、それらの文献における関連する開示内容を、本明細書の一部として援用して理解できる。

[0076] 本明細書中に引用される文献は、本出願の出願日前の関連技術の開示のみを目的として提供され、本発明者らが、先行発明又は任意の他の理由によって、かかる開示に先行する権利を持たないことを自認するものとして解釈されてはならない。これらの文献のすべての記述は、本出願人が入手可能であった情報に基づいており、これらの記述内容が正確であるという自認を何ら構成しない。

[0077] 本明細書において用いられる用語は、特定の実施形態を説明するために用いられるのであり、発明を限定する意図ではない。

[0078] 本明細書において用いられる「を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」という用語は、文脈上明らかに異なる理解をすべき場合を除き、記載された事項（部材、ステップ、要素又は数字等）が存在することを意図するものであり、それ以外の事項（部材、ステップ、要素又は数字等）が存在することを排除しない。「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔ　ｏｆ）」という用語は、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔ　ｏｆ）」及び／又は「実質的に～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」という用語で記載される実施形態を包含する。

[0079] 異なる定義が無い限り、ここに用いられるすべての用語（技術用語及び科学用語を含む。）は、本発明が属する技術の当業者によって広く理解されるのと同じ意味を有する。ここに用いられる用語は、異なる定義が明示されていない限り、本明細書及び関連技術分野における意味と整合的な意味を有するものとして解釈されるべきであり、理想化され、又は過度に形式的な意味において解釈されるべきではない。

[0080] 第１の、第２の等の用語が種々の要素を表現するために用いられるが、これらの要素はこれらの用語自身によって限定されるべきではないことが理解される。これらの用語は一つの要素を他の要素と区別するためのみに用いられているのであり、例えば、第１の要素を第２の要素と記し、同様に、第２の要素は第１の要素と記すことは、本発明の範囲を逸脱することなく可能である。

[0081] 本明細書において、成分含有量や数値範囲等を示すのに用いられる数値は、特に明示がない限り、用語「約」で修飾されているものと理解されるべきである。例えば、「４℃」とは、特に明示がない限り、「約４℃」を意味するものと理解され、その程度を、当業者は技術常識と本明細書の文意に従って、合理的に理解できることは当然である。

[0082] 文脈上明白に他の意味を示す場合を除き、本明細書及び請求の範囲で使用される場合、単数形で表される各実施形態は、技術的に矛盾しない限り、複数形であってもよいことが理解され、逆もまた真である。

[0083] 以下において、本発明を、実施例を参照してより詳細に説明する。しかしながら、本発明はいろいろな実施形態により具現化することができ、ここに記載される実施例に限定されるものとして解釈されてはならない。関連技術分野の当業者は、本発明の精神又は範囲を変更させることなく、様々な改変、付加、欠失、置換等を伴って本発明を実施できる。

実施例

[0084] ［実施例１：単回投与インビトロスクリーニング（１）］

（二本鎖核酸の調製）

表２に示すセンス鎖及びアンチセンス鎖をホスホロアミダイト法により合成し、その後、それらをアニーリングさせた二本鎖核酸を合成した（ＧｅｎｅＤｅｓｉｇｎ社）。各配列における略語は、以下の表１に示すとおりである。なお、合成した二本鎖核酸は３’末端にリン酸基ではなくヒドロキシ基を有している。

[0085] [表1]

略語	ヌクレオチド
A	アデノシン-3′-リン酸
U	ウリジン-3′-リン酸
G	グアノシン-3′-リン酸
C	シチジン-3′-リン酸
a	2′-O-メチルアデノシン-3′-リン酸
u	2′-O-メチルウリジン-3′-リン酸
g	2′-O-メチルグアノシン-3′-リン酸
c	2′-O-メチルシチジン-3′-リン酸
dT	デオキシーチミジン
(idT)	逆向きに結合したデオキシーチミジン (Inverted dT)
^	ホスホロチオエート結合

未表記の場合、ヌクレオチドはホスホジエステル結合で結合している

[0086]

[表2]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖		NM_001735.2における標的部位
		配列 (5'→3')	配列番号	配列 (5'→3')	配列番号	
siRNA-001	21/21	AGGcAAAGGuGuucAAAGAdT^dT	1	UCUUUGAAcACCUUUGCCUdT^dT	2	2477-2495
siRNA-002	21/21	cuGucuuAAcuuucAuAGAdT^dT	3	UCuAUGAAAGUuAAGAcAGdT^dT	4	506-524
siRNA-003	21/21	uAGcAuGuGccAGcuAcAAdT^dT	5	UUGuAGCUGGcAcAUGCuAdT^dT	6	4238-4256
siRNA-004	21/21	cuGuGAuuGGAAuuAGAAAdT^dT	7	UUUCuAAUUCcAAUcAcAGdT^dT	8	3473-3491
siRNA-006	21/21	AAGGcAAAGGuGuucAAAGdT^dT	9	CUUUGAAcACCUUUGCCUUdT^dT	10	2476-2494
siRNA-007	21/21	GAAAGGAAcuGuuuAcAAcdT^dT	11	GUUGuAAAcAGUUCCUUUCdT^dT	12	2553-2571
siRNA-008	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAudT^dT	13	AUcAGcAAcAcAuAuAGcAdT^dT	14	2451-2469
siRNA-009	21/21	AcuGucuuAAcuuucAuAGdT^dT	15	CuAUGAAAGUuAAGAcAGUdT^dT	16	505-523
siRNA-010	21/21	GuGccAGcuAcAAGcccAGdT^dT	17	CUGGGCUUGuAGCUGGcACdT^dT	18	4244-4262
siRNA-011	21/21	AAGGAAcuGuuuAcAAcuAdT^dT	19	uAGUUGuAAAcAGUUCCUUUdT^dT	20	2555-2573
siRNA-012	21/21	uccucuGGAAAuuGGccuudT^dT	21	AAGGCcAAUUUCcAGAGGAdT^dT	22	2733-2751
siRNA-013	21/21	uuGAAAGGAAcuGuuuAcAdT^dT	23	UGuAAAcAGUUCCUUUcAAdT^dT	24	2551-2569
siRNA-014	21/21	AAAGGAAcuGuuuAcAAcudT^dT	25	AGUUGuAAAcAGUUCCUUUdT^dT	26	2554-2572
siRNA-015	21/21	AGGAAcuGuuuAcAAcuAudT^dT	27	AuAGUUGuAAAcAGUUCCUdT^dT	28	2556-2574
siRNA-016	21/21	uAcAcuGAAGcAuuuGAuGdT^dT	29	cAUcAAAUGCUUcAGUGuAdT^dT	30	166-184
siRNA-017	21/21	cAcuGAAGcAuuuGAuGcAdT^dT	31	UGcAUcAAAUGCUUcAGUGdT^dT	32	168-186
siRNA-018	21/21	cuGAAGcAuuuGAuGcAAcdT^dT	33	GUUGcAUcAAAUGCUUcAGdT^dT	34	170-188
siRNA-019	21/21	uucuGcAAcuGAAuucGAudT^dT	35	AUCGAAUUcAGUUGcAGAAdT^dT	36	4412-4430
siRNA-020	21/21	uGAAAGGAAcuGuuuAcAAdT^dT	37	UUGuAAAcAGUUCCUUUcAdT^dT	38	2552-2570
siRNA-021	21/21	AcuGAAGcAuuuGAuGcAAdT^dT	39	UUGcAUcAAAUGCUUcAGUdT^dT	40	169-187
siRNA-022	21/21	cAuAcAGAcAAAccuGuuudT^dT	41	AAAcAGGUUUGUCUGuAUGdT^dT	42	415-433
siRNA-023	21/21	AAAcAAcAAGuAccuuuAudT^dT	43	AuAAAGGuACUUGUUGUUUdT^dT	44	984-1002

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖		NM_001735.2における標的部位
		配列 (5'→3')	配列番号	配列 (5'→3')	配列番号	
siRNA-024	21/21	AuAcAGAcAAAccuGuuuAdTˆdT	45	uAAAcAGGUUUGUCUGuAUdTˆdT	46	416-434
siRNA-025	21/21	GGuAuAuGuGuuGcuGAuAdTˆdT	47	uAUcAGcAAcAcAcAuAuACCdTˆdT	48	2452-2470
siRNA-026	21/21	ucAGAAAGucuGuGAAGGAdTˆdT	49	UCCUUcAcAGACUUUCUGAdTˆdT	50	4578-4596
siRNA-027	21/21	ucucccAGGccAAAcuGuGudTˆdT	51	AcAcAGUUUGGCCUGGAGAdTˆdT	52	1777-1795
siRNA-028	21/21	AcAAcAAGuAccuuuAuAuudTˆdT	53	AuAuAAAGGuACUUGUUGUdTˆdT	54	986-1004
siRNA-029	21/21	cAAcAAGuAccuuuAuAuuudTˆdT	55	AAuAuAAAGGuACUUGUUGdTˆdT	56	987-1005
siRNA-030	21/21	AuucuccAGGccAAAcuGudTˆdT	57	AcAGUUUGGCCUGGAGAAUdTˆdT	58	1775-1793
siRNA-031	21/21	GuGGcAAccAGcuccAGGudTˆdT	59	ACCUGGAGCUGGUUGCcACdTˆdT	60	1730-1748
siRNA-032	21/21	AAGAGAcAucuGAcuuGGAdTˆdT	61	UCcAAGUcAGAUGUCUCUUdTˆdT	62	1226-1244
siRNA-033	21/21	AuucuGcAAcuGAAuucGAdTˆdT	63	UCGAAUUcAGUUGcAGAAUdTˆdT	64	4411-4429
siRNA-034	21/21	uucccucuGGAAAuuGGccudTˆdT	65	AGGCcAAUUUCcAGAGGAAdTˆdT	66	2732-2750
siRNA-035	21/21	AAcAAcAcAAGuAccuuuAuAdTˆdT	67	uAuAAAGGuACUUGUUGUUdTˆdT	68	985-1003
siRNA-036	21/21	AAuAuGuccucucucccuAdTˆdT	69	uAGGGAGAGAGGAcAuAUUdTˆdT	70	1067-1085
siRNA-037	21/21	AcucAcuAuAAuuAcuuGAdTˆdT	71	UcAAGuAAUuAuAGUGAGUdTˆdT	72	1519-1537
siRNA-038	21/21	AuAAcucAcuAuAAuuAcudTˆdT	73	AGuAAUuAuAGUGAGUuAUdTˆdT	74	1516-1534
siRNA-039	21/21	AAAuAuGuccucucucccudTˆdT	75	AGGGAGAGAGGAcAuAUUUdTˆdT	76	1066-1084
siRNA-040	21/21	AAGAuAuuuuuuAuAAuAAAdTˆdT	77	UUuAUuAuAAAAAuAUCUUdTˆdT	78	876-894
siRNA-042	21/21	AAAAuAAcucAcuAuAAuudTˆdT	79	AAUuAuAGUGAGUuAUUUUdTˆdT	80	1513-1531
siRNA-043	21/21	AAAuAAcucAcuAuAAuuAdTˆdT	81	uAAUuAuAGUGAGUuAUUUdTˆdT	82	1514-1532
siRNA-044	21/21	GuGuuAAAAuGucuGcuGudTˆdT	83	AcAGcAGAcAUUUuAAcACdTˆdT	84	2597-2615
siRNA-045	21/21	AAAAuGuuuuuuGucAAGuAdTˆdT	85	uACUUGAcAAAAAcAUUUUdTˆdT	86	4742-4760
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTˆdT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTˆdT	88	—

[0087] （インビトロスクリーニング）

表２に記載の二本鎖核酸とトランスフェクション試薬Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭａｘ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社製、カタログ番号：１３７７８１５０）を、Ｏｐｔｉ－ＭＥＭ培地（Ｇｉｂｃｏ社製、カタログ番号：３１９８５０６２）で希釈し、最終濃度３ｎＭの二本鎖核酸及び０．３％ＲＮＡｉＭａｘとなるように、ｓｉＲＮＡ／ＲＮＡｉＭａｘ混合液を調製した。２０μＬのｓｉＲＮＡ／ＲＮＡｉＭａｘ混合液を各々９６ウェルの培養プレートに分注し、各ウェルにヒト肝臓癌由来の細胞株であるＨｅｐ３Ｂ細胞（ＡＴＣＣより入手）を、２０，０００細胞数／８０μＬ／ウェルとなるように播種し、３７℃、５％CO_2条件下で一晩培養した。ＣｅｌｌＡｍｐ（登録商標）Ｄｉｒｅｃｔ　ＲＮＡ　Ｐｒｅｐ　Ｋｉｔ　ｆｏｒ　ＰＴ－ＰＣＲ（Ｒｅａｌ　Ｔｉｍｅ）（タカラバイオ株式会社製、カタログ番号：３７３２）及びＰｒｏｔｅｉｎａｓｅ　Ｋ（タカラバイオ株式会社製、カタログ番号：９０３４）を用い、タカラバイオ株式会社提供のプロトコルに従って、培養細胞からリアルタイムＰＣＲ用鋳型ライセートを調製した。その後、ＰｒｉｍｅＳｃｒｉｐｔ（登録商標）ＲＴ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ｐｅｒｆｅｃｔ　Ｒｅａｌ　Ｔｉｍｅ）（タカラバイオ株式会社製、カタログ番号：ＲＲ０３６Ａ）を用い、タカラバイオ株式会社提供のプロトコルに従って、ｃＤＮＡを調製した。さらに、イーグルタック　ユニバーサルマスターミックス（ＲＯＸ）（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社製、カタログ番号：０７２６０２９６１９０）及びＴａｑＭａｎプローブ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社製、Ｃ５：Ｈｓ００１５６１９７＿ｍ１；ＧＡＰＤＨ：Ｈｓ０２７５８９９１＿ｇ１）を用い、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社提供のプロトコルに従って、ＡＢＩ７９００ＨＴリアルタイムＰＣＲシステム（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社製）にて、標的遺伝子ｈｕｍａｎ　Ｃ５及び内在性コントロール遺伝子ｈｕｍａｎ　ＧＡＰＤＨ（ｇｌｙｃｅｒａｌｄｅｈｙｄｅ－３－ｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ｄｅｈｙｄｒｏｇｅｎａｓｅ）のＣｔ値を測定した。ｓｉＲＮＡを添加せずにトランスフェクション試薬だけでＨｅｐ３Ｂ細胞を処理した場合（Ｌｉｐｏｆｅ

ｃｔｉｏｎ　ｏｎｌｙ）のＣ５　ｍＲＮＡ発現量を１００％とし、各ｓｉＲＮＡを導入した場合のＣ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を検量線法により算出した。また陰性コントロールとしてヒトのいずれの遺伝子とも交差しないＭｏｃｋを用いた。

[0088] 結果を表３に示す。

[0089]

[表3]

二本鎖ＩＤ	C5 mRNA残存率 (n=3, average) (3nM siRNA)
siRNA-001	18%
siRNA-002	43%
siRNA-003	107%
siRNA-004	35%
siRNA-006	37%
siRNA-007	28%
siRNA-008	18%
siRNA-009	89%
siRNA-010	107%
siRNA-011	107%
siRNA-012	37%
siRNA-013	53%
siRNA-014	64%
siRNA-015	125%
siRNA-016	35%
siRNA-017	26%
siRNA-018	48%
siRNA-019	27%
siRNA-020	42%
siRNA-021	74%
siRNA-022	39%
siRNA-023	101%
siRNA-024	41%
siRNA-025	125%
siRNA-026	41%
siRNA-027	143%
siRNA-028	61%
siRNA-029	40%
siRNA-030	151%
siRNA-031	96%
siRNA-032	73%
siRNA-033	70%
siRNA-034	121%
siRNA-035	54%
siRNA-036	119%
siRNA-037	119%
siRNA-038	47%
siRNA-039	100%
siRNA-040	111%
siRNA-042	112%
siRNA-043	53%
siRNA-044	87%
siRNA-045	115%
Mock	116%
Lipofection only	100%

[0090] ［実施例２：単回投与インビトロスクリーニング（２）］

（二本鎖核酸の調製）

表４に示すセンス鎖及びアンチセンス鎖をホスホロアミダイト法により合成し、その後、それらをアニーリングさせた二本鎖核酸を合成した（ＧｅｎｅＤｅｓｉｇｎ社）。

[0091]

[表4]

二本鎖ＩＤ	センス鎖／アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5'→3'）	配列番号	配列 （5'→3'）	配列番号
siRNA-001	21/21	AGGcAAAGGuGuucAAAGAdTˆdT	89	UCUUUGAAcACCUUUGCCUdTˆdT	90
siRNA-001-02	19/19	AGGcAAAGGuGuucAAAGA	91	UCUUUGAAcACCUUUGCCU	92
siRNA-001-08	21/21	AˆGGcAAAGGuGuucAAAGAuu	93	UˆCUUUGAAcACCUUUGCCUuu	94
siRNA-001-09	21/21	AˆGˆGcAAAGGuGuucAAAGAuu	95	UˆCˆUUUGAAcACCUUUGCCUuu	96
siRNA-001-10	21/21	AˆGGcAAAGGuGuucAAAGAˆuˆu	97	UˆCUUUGAAcACCUUUGCCUˆuˆu	98
siRNA-001-11	19/21	AGGcAAAGGuGuucAAAGA	99	UCUUUGAAcACCUUUGCCUuu	100
siRNA-001-12	21/21	AuAGGcAAAGGuGuucAAAGA	101	UCUUUGAAcACCUUUGCCUuu	102
siRNA-001-13	22/21	uAuAGGcAAAGGuGuucAAAGA	103	UCUUUGAAcACCUUUGCCUuu	104
siRNA-006	21/21	AAGGcAAAGGuGuucAAAGdTˆdT	105	CUUUGAAcACCUUUGCCUUdTˆdT	106
siRNA-006-02	19/19	AAGGcAAAGGuGuucAAAG	107	CUUUGAAcACCUUUGCCUU	108
siRNA-007	21/21	GAAAGGAAcuGuuuAcAAcdTˆdT	109	GUUUGuAAAcAGUUCCUUUCdTˆdT	110
siRNA-007-02	19/19	GAAAGGAAcuGuuuAcAAc	111	GUUUGuAAAcAGUUCCUUUC	112
siRNA-008	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAudTˆdT	113	AUcAGcAAcAcAuAuACcAdTˆdT	114
siRNA-008-02	19/19	uGGuAuAuGuGuuGcuGAu	115	AUcAGcAAcAcAuAuACcA	116
siRNA-008-08	21/21	uˆGGuAuAuGuGuuGcuGAuuu	117	AˆUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	118
siRNA-008-09	21/21	uˆGˆGuAuAuGuGuuGcuGAuuu	119	AˆUˆcAGcAAcAcAuAuACcAuu	120
siRNA-008-10	21/21	uˆGGuAuAuGuGuuGcuGAuˆuˆu	121	AˆUcAGcAAcAcAuAuACcAˆuˆu	122
siRNA-008-11	19/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAu	123	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	124

二本鎖ＩＤ	センス鎖／アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5’→3’）	配列番号	配列 （5’→3’）	配列番号
siRNA-008-12	21/21	AuuGGuAuAuGuGuuGcuGAu	125	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	126
siRNA-008-13	22/21	uAuuGGuAuAuGuGuuGcuGAu	127	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	128
siRNA-008-14	23/21	uAuuGGuAuAuGuGuuGcuGAu(idT)	129	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	130
siRNA-008-22	21/21	uGGuAuAuGuGuuGCuGAuuu	131	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	132
siRNA-008-23	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcUGAuuu	133	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	134
siRNA-008-29	20/20	AuuGGuAuAuGuGuuGcuGA	135	UcAGcAAcAcAuAuACcAuu	136
siRNA-008-30	20/20	AuGGuAuAuGuGuuGcuGAu	137	AUcAGcAAcAcAuAuACcuu	138
siRNA-008-31	19/23	uGGuAuAuGuGuuGcuGAu	139	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuuu	140
siRNA-008-32	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	141	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuuu	142
siRNA-008-33	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	143	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuaa	144
siRNA-008-34	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	145	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu^a^a	146
siRNA-008-35	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	147	AUcAGcAAcAcAuAuACcA^u^uaa	148
siRNA-008-36	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	149	a^UcAGcAAcAcAuAuACcA^u^uaa	150
siRNA-008-37	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	151	aUcAGcAAcAcAuAuACcAuuuu	152
siRNA-008-38	19/23	u^GGuAuAuGuGuuGCuGAu	153	AUcAGcAAcAcAuAuACcA^u^uaa	154
siRNA-038	21/21	AuAAcucAcuAuAAuuAcudT^dT	155	AGuAAUuAuAGUGAGUuAUdT^dT	156
siRNA-038-02	19/19	AuAAcucAcuAuAAuuAcu	157	AGuAAUuAuAGUGAGUuAU	158
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdT^dT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdT^dT	88

[0092] （インビトロスクリーニング）

最終濃度１ｎＭの二本鎖核酸及び０．３％ＲＮＡｉＭａｘとなるように、ｓｉＲＮＡ／ＲＮＡｉＭａｘ混合液を調製した以外は、実施例１と同様に試験を行い、Ｈｅｐ３Ｂ培養細胞における標的遺伝子ｈｕｍａｎ　Ｃ５及び内在性コントロール遺伝子ｈｕｍａｎ　ＧＡＰＤＨのＣｔ値を測定した。実施例１と同様に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔｉｏｎ　ｏｎｌｙのＣ５　ｍＲＮＡ発現量を１００％とし、各ｓｉＲＮＡを導入した場合のＣ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を算出した。

[0093] 結果を表５に示す。ｓｉＲＮＡ－００８－２９以外のすべての二本鎖核酸を用いた場合に、Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率の低下が確認でき、Ｃ５の発現が抑制されたことが示された。

[0094]

[表5]

二本鎖ＩＤ	C5 mRNA残存率 (n=3, average) (1nM siRNA)
siRNA-001	36%
siRNA-001-02	44%
siRNA-001-08	42%
siRNA-001-09	42%
siRNA-001-10	44%
siRNA-001-11	45%
siRNA-001-12	39%
siRNA-001-13	45%
siRNA-006	43%
siRNA-006-02	40%
siRNA-007	44%
siRNA-007-02	50%
siRNA-008	34%
siRNA-008-02	37%
siRNA-008-08	37%
siRNA-008-09	41%
siRNA-008-10	45%
siRNA-008-11	38%
siRNA-008-12	39%
siRNA-008-13	46%
siRNA-008-14	42%
siRNA-008-22	37%
siRNA-008-23	36%
siRNA-008-29	119%
siRNA-008-30	33%
siRNA-008-31	36%
siRNA-008-32	39%
siRNA-008-33	36%
siRNA-008-34	32%
siRNA-008-35	33%
siRNA-008-36	37%
siRNA-008-37	34%
siRNA-008-38	38%
siRNA-038	43%
siRNA-038-02	54%
Mock	90%
Lipofection only	100%

[0095] ［実施例３：インビボスクリーニング（シーケンスファインディング）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

表６に示すｓｉＲＮＡを１０ｍＭクエン酸ナトリウム（ｐＨ４．０）に溶解し、ｓｉＲＮＡ希釈液とした。２－｛９－オキソ－９－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレート、ＤＳＰＣ（日本精化）、Ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｏｌ（日本精化）、ＭＰＥＧ２０００－ＤＭＧ（日油）を、モル比６０／１０．５／２８／１．５の割合でエタノールに溶解し、脂質溶液とした。ｓｉＲＮＡと脂質の比を重量比０．１とし、ｓｉＲＮＡ希釈液と脂質溶液をそれぞれ３ｍＬ／ｍｉｎ、１ｍＬ／ｍｉｎの流速で混合することで、Ｌｉｐｉｄ　Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅｓ（ＬＮＰ）を得た。得られたＬＮＰ水溶液をＦｌｏａｔ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ　Ｇ２（ＳＰＥＣＴＲＵＭ，１００Ｋ　ＭＷＣＯ）を用いて透析により外液をＰＢＳ（ｐＨ７．４）に置換した。透析後、濃縮及び濾過滅菌を行い、各種実験に用いた。ｓｉＲＮＡ濃度及び封入率は、Ｑｕａｎｔ－ｉＴ　ＲｉｂｏＧｒｅｅｎ　ＲＮＡ　Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，　Ｃａｔ＃Ｒ１１４９１）を用いて測定した（ＲＮａｓｅ　Ｆｒｅｅ　Ｗａｔｅｒで希釈し測定したｓｉＲＮＡ濃度をＬＮＰ外液に存在するｓｉＲＮＡとし、１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００で希釈し測定したｓｉＲＮＡ濃度を製剤中の全ｓｉＲＮＡ濃度として封入率を算出した）。平均粒子径（Ｚ－平均）は、粒子径測定装置（Ｍａｌｖｅｒｎ，Ｚｅｔａｓｉｚｅｒ　Ｎａｎｏ　ＺＳ）にて測定した。調製したＬＮＰの製剤品質を評価した結果を表７に示す。

[0096]

[表6]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5’→3’）	配列番号	配列 （5’→3’）	配列番号
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdT^dT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdT^dT	88
siRNA-001-01	21/21	AGGcAAAGGuGuucAAAGAuu	161	UCUUUGAAcACCUUUGCCUuu	162
siRNA-007-01	21/21	GAAAGGAAcuGuuuAcAAcuu	163	GUUGuAAAcAGUUCCUUUCuu	164
siRNA-008-01	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAuuu	159	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	160

[0097]

[表7]

二本鎖ＩＤ	封入率	平均粒子径(nm)	多分散指数
Mock	>90%	92	0.06
siRNA-001-01	>90%	90	0.08
siRNA-007-01	>90%	87	0.06
siRNA-008-01	>90%	88	0.1

[0098] （インビボスクリーニング）

ＰＢＳ又は表６に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，６週齢，ｎ＝３　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．１ｍｇ／ｋｇ　ｓｉＲＮＡとなるよう尾静脈内投与し、投与から５日後及び１４日後に麻酔下で採血及び肝臓の採取を実施した。液体窒素にて凍結した肝臓から、ＲＮｅａｓｙ　Ｐｌｕｓ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｑｕｉａｇｅｎ，Ｃａｔ＃７４１０６）を用い、製造業者のプロトコルに従って、Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡを精製した。その後、ＰｒｉｍｅＳｃｒｉｐｔ　ＲＴ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ｐｅｒｆｅｃｔ　Ｒｅａｌ　Ｔｉｍｅ）（Ｔａｋａｒａ，　Ｃａｔ＃ＲＲ０３６Ａ）を用い、製造業者のプロトコルに従って、ｃＤＮＡを調製した。さらに、ＴａｑＭａｎ（登録商標）Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ，Ｃａｔ＃４３６９５１０）及びＴａｑＭａｎプローブ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｃ５：Ｍｍ０１３３６７７６＿ｇ１；ＧＡＰＤＨ：Ｍｍ９９９９９９１５＿ｇ１）を用い、製造業者のプロトコルに従って、ＡＢＩ７５００　Ｆａｓｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）にて、標的遺伝子ｍｏｕｓｅ　Ｃ５、及び内在性コントロール遺伝子ｍｏｕｓｅ　ＧＡＰＤＨのＣｔ値を測定した。ＰＢＳ投与群における投与５日後の肝臓Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率を１００％とし、各ｓｉＲＮＡ投与群の肝臓Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を比較Ｃｔ法により算出した。結果を表８に示す。

[0099]

[表8]

二本鎖ＩＤ	投与5日後の肝臓C5 mRNA残存率 (n=3, Average)	投与14日後の肝臓C5 mRNA残存率 (n=3, Average)
PBS	100%	Not tested
Mock	75%	105%
siRNA-001-01	51%	104%
siRNA-007-01	69%	92%
siRNA-008-01	21%	62%

[0100] 各採材日に採取した血液を３０００ｒｐｍ,１５分間遠心した後、上清のヘパリン血漿を採取し、－８０℃に保存した。その後、血漿中のＭｏｕｓｅＣ５をＥＬＩＳＡ法で定量した。具体的には、アッセイプレート（Ｎｕｎｃ，Ｃａｔ＃４４２４０４）に固相化抗体としてマウス抗Ｃ５抗体ＢＢ５．１（Ｈｙｃｕｌｔ,Ｃａｔ＃HM１０７３－ＦＳ）を終濃度２μｇ／ｍＬとなるようにＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ,#０４５－２９７９５）で希釈して加え、４℃で一晩インキュベートした。その後、ブロッキング液（１％　ＢＳＡ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ,Ｃａｔ＃ＤＹ９９５）を含むＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ））を加え、室温で1時間インキュベートした。ブロッキング液を廃棄し、洗浄液（０．０２％　Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ））で３回洗浄を行った。洗浄液を廃棄後、ブロッキング液で希釈した上記ヘパリン血漿サンプルを添加し、室温で５時間インキュベートした。標準サンプルはＰＢＳ投与群の血漿とした。サンプルを廃棄後、洗浄液で５回洗浄し、ヤギ抗ヒトＣ５抗体（Ｑｕｉｄｅｌ,Ｃａｔ＃Ａ３０６）をブロッキング液で４０００倍希釈して加え、室温で１時間インキュベートした。上記抗体を廃棄後、洗浄液で５回洗浄を行い、ＨＲＰ標識ロバ抗ヤギＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ,Ｃａｔ＃８０５－０３５－１８０）をブロッキング液で４００００倍希釈して加え、室温で１時間インキュベートした。上記抗体を廃棄後、洗浄液で５回洗浄を行った。その後、検出試薬としてＴＭＢ（3,3’,5,5’－ｔｅｔｒａｍｅｔｈｙｌｂｅｎｚｉｄｉｎｅ）Ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ（ＫＰＬ,Ｃａｔ＃５０

－７６－０１）及びＰｅｒｏｘｉｄａｓｅ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ　Ｂ（ＫＰＬ,Ｃａｔ＃５０－６５－００）を等量混合後添加し、発色させた。停止液としてＨ２ＳＯ４（Ｗａｋｏ,Ｃａｔ＃１９８－０９５９５）を加えた後、４５０ｎｍ及び６５０ｎｍの吸光度を測定した。ＰＢＳ投与群における投与５日後の血漿中に含まれるＣ５濃度を１００％としたときの各サンプルの相対値を表９に示す。

[表9]

二本鎖ＩＤ	投与5日後の血中C5タンパク質の残存率 (n=3, Average)	投与14日後の血中C5タンパク質の残存率 (n=3, Average)
PBS	100%	Not tested
Mock	94%	96%
siRNA-001-01	44%	87%
siRNA-007-01	79%	103%
siRNA-008-01	22%	48%

[0101] ［実施例４：インビトロスクリーニング］

表１０に示すセンス鎖及びアンチセンス鎖をホスホロアミダイト法により合成し、その後、それらをアニーリングさせた二本鎖核酸を合成した（ＧｅｎｅＤｅｓｉｇｎ社）。最終濃度０．００３～１０ｎＭの二本鎖核酸及び０．３％ＲＮＡｉＭａｘとなるように、ｓｉＲＮＡ／ＲＮＡｉＭａｘ混合液を調製した以外は、実施例１と同様に試験を行い、Ｈｅｐ３Ｂ培養細胞における標的遺伝子ｈｕｍａｎ　Ｃ５及び内在性コントロール遺伝子ｈｕｍａｎ　ＧＡＰＤＨのＣｔ値を測定した。実施例１と同様に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔｉｏｎ　ｏｎｌｙのＣ５　ｍＲＮＡ発現量を１００％とし、各ｓｉＲＮＡを導入した場合のＣ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を算出した。結果を表１１に示す。

[0102]

[表10]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5'→3'）	配列番号	配列 （5'→3'）	配列番号
siRNA-008-01	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAuuu	159	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu	160
siRNA-008-31	19/23	uGGuAuAuGuGuuGcuGAu	139	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuuu	140
siRNA-008-33	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	143	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuaa	144
siRNA-008-34	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	145	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuˆaˆa	146
siRNA-008-35	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	147	AUcAGcAAcAcAuAuACcAˆuˆuaa	148
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTˆdT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTˆdT	88

[0103] [表11]

siRNA (nM)	二本鎖ＩＤ	C5 mRNA残存率 (n=3, average)
10	siRNA-008-01	17%
3	siRNA-008-01	20%
1	siRNA-008-01	22%
0.3	siRNA-008-01	26%
0.1	siRNA-008-01	34%
0.03	siRNA-008-01	60%
0.01	siRNA-008-01	66%
0.003	siRNA-008-01	85%
10	siRNA-008-31	16%
3	siRNA-008-31	22%
1	siRNA-008-31	26%
0.3	siRNA-008-31	35%
0.1	siRNA-008-31	49%
0.03	siRNA-008-31	79%
0.01	siRNA-008-31	96%
0.003	siRNA-008-31	83%
10	siRNA-008-33	15%
3	siRNA-008-33	27%
1	siRNA-008-33	37%
0.3	siRNA-008-33	53%
0.1	siRNA-008-33	70%
0.03	siRNA-008-33	96%
0.01	siRNA-008-33	103%
0.003	siRNA-008-33	112%
10	siRNA-008-34	16%
3	siRNA-008-34	28%
1	siRNA-008-34	34%
0.3	siRNA-008-34	38%
0.1	siRNA-008-34	44%
0.03	siRNA-008-34	68%
0.01	siRNA-008-34	76%
0.003	siRNA-008-34	91%
10	siRNA-008-35	15%
3	siRNA-008-35	23%
1	siRNA-008-35	30%
0.3	siRNA-008-35	42%
0.1	siRNA-008-35	59%
0.03	siRNA-008-35	87%
0.01	siRNA-008-35	92%
0.003	siRNA-008-35	98%
10	Mock	116%
-	Lipofection only	100%

[0104] ［実施例５：インビボスクリーニング（オーバーハング修飾）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

表１２に記載のｓｉＲＮＡを使用した以外は実施例３と同様に、ｓｉＲＮＡを封入した脂質ナノ粒子（ＬＮＰ）を調製した。調製したＬＮＰの製剤品質を評価した結果を表１３に示す。

[0105]

[表12]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5'→3'）	配列番号	配列 （5'→3'）	配列番号
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTˆdT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTˆdT	88
siRNA-008	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAudTˆdT	13	AUcAGcAAcAcAuAuACcAdTˆdT	14
siRNA-008-32	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	141	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuuu	142
siRNA-008-33	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	143	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuaa	144
siRNA-008-34	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	145	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuˆaˆa	146
siRNA-008-35	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	147	AUcAGcAAcAcAuAuACcAˆuˆuaa	148
siRNA-008-38	19/23	uˆGGuAuAuGuGuuGCuGAu	153	AUcAGcAAcAcAuAuACcAˆuˆuaa	154

[0106] [表13]

二本鎖ＩＤ	封入率	平均粒子径(nm)	多分散指数
Mock	>90%	76	0.11
siRNA-008	>90%	68	0.01
siRNA-008-32	>90%	68	0.03
siRNA-008-33	>90%	69	0.05
siRNA-008-34	>90%	70	0.06
siRNA-008-35	>90%	71	0.02
siRNA-008-38	>90%	70	0.01

[0107] （インビボスクリーニング）

ＰＢＳ又は表１２に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，６週齢，ｎ＝３　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．３ｍｇ／ｋｇｓｉＲＮＡとなるよう尾静脈内投与し、投与から５日後、１４日後及び２１日後に麻酔下で採血及び肝臓の採取を実施した。液体窒素にて凍結した肝臓から、ＲＮｅａｓｙ　Ｐｌｕｓ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ　（Ｑｕｉａｇｅｎ，Ｃａｔ＃７４１０６）を用い、製造業者のプロトコルに従って、ＴｏｔａｌＲＮＡを精製した。その後、ＰｒｉｍｅＳｃｒｉｐｔ　ＲＴ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ｐｅｒｆｅｃｔ　Ｒｅａｌ　Ｔｉｍｅ）（Ｔａｋａｒａ，Ｃａｔ＃ＲＲ０３６Ａ）を用い、製造業者のプロトコルに従って、ｃＤＮＡを調製した。さらに、ＴａｑＭａｎ（登録商標）Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ，Ｃａｔ＃４３６９５１０）及びＴａｑＭａｎプローブ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｃ５：Ｍｍ０１３３６７７６＿ｇ１；ＧＡＰＤＨ：Ｍｍ９９９９９９１５＿ｇ１）を用い、製造業者のプロトコルに従って、ＡＢＩ７５００　Ｆａｓｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）にて、標的遺伝子ｍｏｕｓｅ　Ｃ５、及び内在性コントロール遺伝子ｍｏｕｓｅ　ＧＡＰＤＨのＣｔ値を測定した。ＰＢＳ投与群における各測定日の肝臓Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率を１００％とし、ｓｉＲＮＡ投与群の肝臓Ｃ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を比較Ｃｔ法により算出した。結果を表１４に示す。

[0108]

[表14]

二本鎖ＩＤ	肝臓中C5 mRNA残存率 (n=3, average)		
	投与5日後	投与14日後	投与21日後
PBS	100%	100%	100%
Mock	90%	119%	82%
siRNA-008	22%	35%	60%
siRNA-008-32	22%	23%	46%
siRNA-008-33	17%	37%	47%
siRNA-008-34	16%	26%	35%
siRNA-008-35	12%	20%	47%
siRNA-008-38	14%	24%	40%

[0109] 各採材日に採取した血液を３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清のヘパリン血漿を採取し、－８０℃に保存した。その後、血漿中のＭｏｕｓｅＣ５をＥＬＩＳＡ法で定量した。具体的には、アッセイプレート（Ｎｕｎｃ，Ｃａｔ＃４４２４０４）に固相化抗体としてマウス抗Ｃ５抗体ＢＢ５．１（Ｈｙｃｕｌｔ，Ｃａｔ＃ＨＭ１０７３－ＦＳ）を終濃度２μｇ／ｍＬとなるようにＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ，＃０４５－２９７９５）で希釈して加え、４℃で一晩インキュベートした。その後、ブロッキング液（１％ＢＳＡ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｃａｔ＃ＤＹ９９５）を含むＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ））を加え、室温で１時間インキュベートした。ブロッキング液を廃棄し、洗浄液（０．０２％Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ（－）（Ｗａｋｏ））で３回洗浄を行った。洗浄液を廃棄後、ブロッキング液で希釈した上記ヘパリン血漿サンプルを添加し、室温で５時間インキュベートした。標準サンプルはＰＢＳ投与群の血漿とした。サンプルを廃棄後、洗浄液で５回洗浄し、ヤギ抗ヒトＣ５抗体（Ｑｕｉｄｅｌ，Ｃａｔ＃Ａ３０６）をブロッキング液で４０００倍希釈して加え、室温で１時間インキュベートした。上記抗体を廃棄後、洗浄液で５回洗浄を行い、ＨＲＰ標識ロバ抗ヤギＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｃａｔ＃８０５－０３５－１８０）をブロッキング液で４００００倍希釈して加え、室温で１時間インキュベートした。上記抗体を廃棄後、洗浄液で５回洗浄を行った。その後、検出試薬としてＴＭＢ（３，３’，５，５’－ｔｅｔｒａｍｅｔｈｙ

Ｉｂｅｎｚｉｄｉｎｅ）Ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ（ＫＰＬ，Ｃａｔ＃５０－７６－０１）及びＰｅｒｏｘｉｄａｓｅ　Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ　Ｂ（ＫＰＬ，Ｃａｔ＃５０－６５－００）を等量混合後添加し、発色させた。停止液としてＨ２ＳＯ４（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃１９８－０９５９５）を加えた後、４５０ｎｍ及び６５０ｎｍの吸光度を測定した。ＰＢＳ投与群の投与前日の血漿中に含まれるＣ５濃度を１００％としたときの各サンプルの相対値を表１５に示す。

[0110] [表15]

二本鎖ＩＤ	血漿中C5残存率 (n=3, average)		
	投与5日後	投与14日後	投与21日後
PBS	98%	97%	101%
Mock	106%	104%	108%
siRNA-008	8%	21%	47%
siRNA-008-32	9%	15%	42%
siRNA-008-33	7%	29%	50%
siRNA-008-34	4%	11%	29%
siRNA-008-35	7%	19%	49%
siRNA-008-38	5%	17%	42%

[0111] 投与５日後、１４日後、２１日後の肝臓中Ｃ５　ｍＲＮＡ残存量と血漿中Ｃ５濃度を定量し、それぞれについてｓｉＲＮＡ－００８投与群に対するｓｉＲＮＡ－００８－３４投与群の統計解析（ｕｎｐａｉｒｅｄ　Ｔ－ｔｅｓｔ）を行った。それぞれの結果を図１及び図２に示す。Ｐ値が０．０５以下であった群に＊（アスタリスク）を、Ｐ値が０．０１以下であった群には＊＊を付けた。

[0112] ［実施例６：インビトロ解析（シーケンスウォーク）］

表１６に示すセンス鎖及びアンチセンス鎖をホスホロアミダイト法により合成し、その後、それらをアニーリングさせた二本鎖核酸を合成した（ＧｅｎｅＤｅｓｉｇｎ社）。実施例１と同様に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔｉｏｎ　ｏｎｌｙのＣ５　ｍＲＮＡ発現量を１００％とし、各ｓｉＲＮＡを導入した場合のＣ５　ｍＲＮＡ残存率（相対値）を算出した。結果を表１７に示す。

[0113]

[表16]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖		NM_001735.2における標的部位
		配列 （5'→3'）	配列番号	配列 （5'→3'）	配列番号	
Seq2449	21/21	AcuGGuAuAuGuGuuGcuGdTˆdT	165	cAGcAAcAcAuAuACcAGUdTˆdT	166	2449-2467
Seq2450	21/21	cuGGuAuAuGuGuuGcuGAdTˆdT	167	UcAGcAAcAcAuAuACcAGdTˆdT	168	2450-2468
Seq2451 (=siRNA-008)	21/21	uGGuAuAuGuGuuGcuGAudTˆdT	13	AUcAGcAAcAcAuAuACcAdTˆdT	14	2451-2469
Seq2452	21/21	GGuAuAuGuGuuGcuGAuAdTˆdT	169	uAUcAGcAAcAcAuAuACGdTˆdT	170	2452-2470
Seq2453	21/21	GuAuAuGuGuuGcuGAuAcdTˆdT	171	GuAUcAGcAAcAcAuAuACdTˆdT	172	2453-2471
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTˆdT	87	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTˆdT	88	－

[0114] [表17]

siRNA (nM)	二本鎖ＩＤ	C5 mRNA残存率 (n=3, average)
10 nM	Seq2449	107%
	Seq2450	105%
	Seq2451 (=siRNA-008)	12%
	Seq2452	111%
	Seq2453	20%
1 nM	Seq2449	110%
	Seq2450	97%
	Seq2451 (=siRNA-008)	14%
	Seq2452	107%
	Seq2453	24%
10 nM	Mock	96%
－	Lipofection only	100%

[0115] ［実施例７：薬理試験（溶血抑制効果）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

表１８に示すｓｉＲＮＡを用いた以外は実施例３と同様にｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰを調製した。調製したＬＮＰの製剤品質を評価した結果を表１９に示す。

[0116]

[表18]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列 （5'→3'）	配列番号	配列 （5'→3'）	配列番号
Mock	21/21	cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTˆdT	89	UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTˆdT	90
siRNA-008-34	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	145	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuuˆaˆa	146

[0117] [表19]

二本鎖ＩＤ	封入率	平均粒子径(nm)	多分散指数
Mock	>90%	92	0.06
siRNA-008-34	>90%	88	0.1

[0118] （インビボ評価）

ＰＢＳ又は表１８に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，６週齢，ｎ＝３　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に１－３ｍｇ／ｋｇｓｉＲＮＡとなるよう尾静脈内投与し、投与から５日後及び９日後に麻酔下で採血を実施した。各採材日に採取した血液を凝固促進剤入り血液分離剤入りチューブ（ＩＢＬ、Ｃａｔ＃３１２０３）に入れ、３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清の血清を採取し、－８０℃に保存した。その後、血清中の補体活性を以下の方法で定量した。具体的には、血清補体価ＣＨ５０キット（デンカ生研株式会社、Ｃａｔ＃４０００１７）を用い、製造業者のプロトコルに従いヒツジ赤血球を１．５ｘ１０^{8}　ｃｅｌｌｓ／ｍＬとなるように調製した。以後、血清補体価ＣＨ５０キットに付属の希釈液を用いて、ｚｙｍｏｓａｎ（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃２６３－０１４９１）を２０μｇ／ｍＬとなるように調製した。同様の希釈液を用いて、サンプル血清を４０倍に希釈した。上記のヒツジ赤血球、ｚｙｍｏｓａｎ、及び希釈した血清サンプルをそれぞれ５０μＬずつ混合し、３７℃で一晩インキュベートした。翌日、アッセイプレートを２０００ｒｐｍ，１０分間室温で遠心した後、上清の４０５ｎｍの吸光度を測定した。各個体の投与前日の血清中に含まれる補体活性を１００％としたときの各サンプルの値を表２０に示す。

[0119] [表20]

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=3, average)	
		投与5日後	投与9日後
PBS	-	106%	Not tested
Mock	1	130%	126%
siRNA-008-34	1	2%	6%
siRNA-008-34	3	2%	0%

[0120] ［実施例８：薬理試験（単回投与による溶血抑制効果）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

表２１に示すｓｉＲＮＡを用いた以外は実施例３と同様にｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰを調製した。調製したＬＮＰの製剤品質を評価した結果を表２２に示す。

[0121]

[表21]

二本鎖ＩＤ	センス鎖/アンチセンス鎖の塩基数	センス鎖		アンチセンス鎖	
		配列　(5'→3')	配列番号	配列　(5'→3')	配列番号
siRNA-008-34	19/23	uGGuAuAuGuGuuGCuGAu	145	AUcAGcAAcAcAuAuACcAuu^a^a	146

[0122] [表22]

二本鎖ＩＤ	封入率	平均粒子径(nm)	多分散指数
siRNA-008-34	>90%	92	0.09

[0123] （インビボ評価）

ＰＢＳ又は表２１に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，７週齢，ｎ＝４　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．３、１及び３ｍｇ／ｋｇ　ｓｉＲＮＡとなるよう尾静脈内投与した。投与前日（表２３における「投与１日前」）、投与から７日後、１３日後、２０日後及び２７日後に麻酔下で採血を実施した。各採材日に採取した血液を凝固促進剤入り血液分離剤入りチューブ（ＩＢＬ、Ｃａｔ＃３１２０３）に入れ、３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清の血清を採取し、－８０℃に保存した。その後、血清中の補体活性を以下の方法で定量した。具体的には、血清補体価ＣＨ５０キット（デンカ生研株式会社、Ｃａｔ＃４０００１７）を用い、製造業者のプロトコルに従いヒツジ赤血球を１．５ｘ１０^{8}　ｃｅｌｌｓ／ｍＬとなるように調製した。以後、血清補体価ＣＨ５０キットに付属の希釈液を用いて、ｚｙｍｏｓａｎ（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃２６３－０１４９１）を２０μｇ／ｍＬとなるように調製した。同様の希釈液を用いて、サンプル血清を４０倍に希釈した。上記のヒツジ赤血球、ｚｙｍｏｓａｎ、及び希釈した血清サンプルをそれぞれ５０μＬずつ混合し、３７℃で一晩インキュベートした。翌日、アッセイプレートを２０００ｒｐｍ，１０分間室温で遠心した後、上清の４０５ｎｍの吸光度を測定した。各個体の投与前日の血清中に含まれる補体活性を１００％としたときの各サンプルの値を表２３に示す。１ｍｇ／ｋｇ投与群のマウス１個体の補体活性は異常値と考えられることから除外した。したがって、表２３における１ｍｇ／ｋｇ投与群の値はマウス３個体の平均値である。表２３におけるＰＢＳ投与群、０．３ｍｇ／ｋｇ投与群及び３ｍｇ／ｋｇ投与群はマウス４個体の平均値である。結果を図３にも示す。

[0124] [表23]

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (average)				
		投与1日前	投与7日後	投与13日後	投与20日後	投与27日後
PBS	–	100%	133%	122%	118%	129%
siRNA-008-34	0.3	100%	17%	25%	55%	82%
siRNA-008-34	1	100%	9%	13%	29%	75%
siRNA-008-34	3	100%	5%	10%	26%	56%

[0125] ［実施例９：薬理試験（隔週投与による溶血抑制効果）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

実施例８と同様にｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰを調製した。

[0126]（インビボ評価）

実施例８におけるＰＢＳ又は表２１に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，７週齢，ｎ＝４　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．３、１及び３ｍｇ／ｋｇ　ｓｉＲＮＡとなるよう隔週で尾静脈内投与した。投与前日（表２４における「投与１日前」）、投与から７日後、１３日後、２０日後及び２７日後に麻酔下で採血を実施した。各採材日に採取した血液を凝固促進剤入り血液分離剤入りチューブ（ＩＢＬ、Ｃａｔ＃３１２０３）に入れ、３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清の血清を採取し、－８０℃に保存した。その後、血清中の補体活性を以下の方法で定量した。具体的には、血清補体価ＣＨ５０キット（デンカ生研株式会社、Ｃａｔ＃４００１７）を用い、製造業者のプロトコルに従いヒツジ赤血球を１．５ｘ１０^{8}　ｃｅｌｌｓ／ｍＬとなるように調製した。以後、血清補体価ＣＨ５０キットに付属の希釈液を用いて、ｚｙｍｏｓａｎ（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃２６３－０１４９１）を２０μｇ／ｍＬとなるように調製した。同様の希釈液を用いて、サンプル血清を４０倍に希釈した。上記のヒツジ赤血球、ｚｙｍｏｓａｎ、及び希釈した血清サンプルをそれぞれ５０μＬずつ混合し、３７℃で一晩インキュベートした。翌日、アッセイプレートを２０００ｒｐｍ，１０分間室温で遠心した後、上清の４０５ｎｍの吸光度を測定した。各個体の投与前日の血清中に含まれる補体活性を１００％としたときの各サンプルの値を表２４に示す。結果を図４にも示す。

[0127]

[表24]

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=4, average)				
		投与1日前	投与7日後	投与13日後	投与20日後	投与27日後
PBS	–	100%	128%	128%	119%	142%
siRNA-008-34	0.3	100%	17%	35%	11%	34%
siRNA-008-34	1	100%	6%	14%	6%	13%
siRNA-008-34	3	100%	4%	8%	4%	8%

[0128] ［実施例１０：薬理試験（隔週投与による溶血抑制効果）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

実施例８と同様にｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰを調製した。

[0129]（インビボ評価）

実施例８におけるＰＢＳ又は表２１に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，７週齢，ｎ＝４　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．３、１及び３ｍｇ／ｋｇ　ｓｉＲＮＡとなるよう隔週で尾静脈内投与した。投与前日（表２５における「投与１日前」）、投与から７日後、１３日後、２０日後、２７日後、３４日後、４１日後、４８日後及び５５日後に麻酔下で採血を実施した。各採材日に採取した血液を凝固促進剤入り血液分離剤入りチューブ（ＩＢＬ、Ｃａｔ＃３１２０３）に入れ、３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清の血清を採取し、－８０℃に保存した。その後、血清中の補体活性を以下の方法で定量した。具体的には、血清補体価ＣＨ５０キット（デンカ生研株式会社、Ｃａｔ＃４００００１７）を用い、製造業者のプロトコルに従いヒツジ赤血球を１．５ｘ１０^{8}　ｃｅｌｌｓ／ｍＬとなるように調製した。以後、血清補体価ＣＨ５０キットに付属の希釈液を用いて、ｚｙｍｏｓａｎ（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃２６３－０１４９１）を２０μｇ／ｍＬとなるように調製した。同様の希釈液を用いて、サンプル血清を４０倍に希釈した。上記のヒツジ赤血球、ｚｙｍｏｓａｎ、及び希釈した血清サンプルをそれぞれ５０μＬずつ混合し、３７℃で一晩インキュベートした。翌日、アッセイプレートを２０００ｒｐｍ，１０分間室温で遠心した後、上清の４０５ｎｍの吸光度を測定した。各個体の投与前日の血清中に含まれる補体活性を１００％としたときの各サンプルの値を表２５に示す。結果を図５にも示す。

[0130]

[表25]

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=4, average)				
		投与1日前	投与7日後	投与13日後	投与20日後	投与27日後
PBS	–	100%	113%	124%	111%	124%
siRNA-008-34	0.3	100%	16%	38%	12%	27%
siRNA-008-34	1	100%	6%	26%	7%	23%
siRNA-008-34	3	100%	2%	10%	2%	10%

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=4, average)			
		投与34日後	投与41日後	投与48日後	投与51日後
PBS	–	145%	120%	138%	122%
siRNA-008-34	0.3	19%	32%	19%	37%
siRNA-008-34	1	11%	17%	12%	22%
siRNA-008-34	3	7%	10%	8%	17%

[0131] ［実施例１１：薬理試験（３週間毎の投与による溶血抑制効果）］

（ｓｉＲＮＡ－ＬＮＰの調製）

実施例８と同様にｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰを調製した。

[0132]（インビボ評価）

実施例８におけるＰＢＳ又は表２１に記載のｓｉＲＮＡを封入したＬＮＰをＢＡＬＢ／ｃマウス（オス，７週齢，ｎ＝４　ｐｅｒ　ｇｒｏｕｐ）に０．３、１及び３ｍｇ／ｋｇ　ｓｉＲＮＡとなるよう３週間毎に尾静脈内投与した。投与前日（表２６における「投与１日前」）、投与から７日後、１３日後、２０日後、２７日後、３４日後、４１日後、４８日後及び５５日後に麻酔下で採血を実施した。各採材日に採取した血液を凝固促進剤入り血液分離剤入りチューブ（ＩＢＬ、Ｃａｔ＃３１２０３）に入れ、３０００ｒｐｍ，１５分間遠心した後、上清の血清を採取し、－８０℃に保存した。その後、血清中の補体活性を以下の方法で定量した。具体的には、血清補体価ＣＨ５０キット（デンカ生研株式会社、Ｃａｔ＃４０００１７）を用い、製造業者のプロトコルに従いヒツジ赤血球を１．５ｘ１０^{8}　ｃｅｌｌｓ／ｍＬとなるように調製した。以後、血清補体価ＣＨ５０キットに付属の希釈液を用いて、ｚｙｍｏｓａｎ（Ｗａｋｏ，Ｃａｔ＃２６３－０１４９１）を２０μｇ／ｍＬとなるように調製した。同様の希釈液を用いて、サンプル血清を４０倍に希釈した。上記のヒツジ赤血球、ｚｙｍｏｓａｎ、及び希釈した血清サンプルをそれぞれ５０μＬずつ混合し、３７℃で一晩インキュベートした。翌日、アッセイプレートを２０００ｒｐｍ，１０分間室温で遠心した後、上清の４０５ｎｍの吸光度を測定した。各個体の投与前日の血清中に含まれる補体活性を１００％としたときの各サンプルの値を表２６に示す。結果を図６にも示す。

[0133]

[表26]

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=4, average)				
		投与1日前	投与7日後	投与13日後	投与20日後	投与27日後
PBS	–	100%	102%	102%	108%	103%
siRNA-008-34	0.3	100%	22%	45%	75%	22%
siRNA-008-34	1	100%	3%	16%	33%	6%
siRNA-008-34	3	100%	5%	13%	29%	6%

二本鎖ＩＤ	siRNA (mg/kg)	補体活性 (n=4, average)			
		投与34日後	投与41日後	投与48日後	投与51日後
PBS	–	120%	79%	109%	117%
siRNA-008-34	0.3	52%	58%	24%	40%
siRNA-008-34	1	17%	33%	8%	18%
siRNA-008-34	3	16%	23%	6%	25%

請求の範囲

[請求項1] センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせを有する二本鎖リボ核酸であって、

センス鎖及びアンチセンス鎖の組み合わせが、

配列番号１５９及び配列番号１６０、配列番号１４１及び配列番号１４２、配列番号１４３及び配列番号１４４、配列番号１４５及び配列番号１４６、配列番号１４７及び配列番号１４８、並びに配列番号１５３及び配列番号１５４からなる群から選択される、二本鎖リボ核酸。

[請求項2] 配列番号１５９のセンス鎖、及び配列番号１６０のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項3] 配列番号１４１のセンス鎖、及び配列番号１４２のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項4] 配列番号１４３のセンス鎖、及び配列番号１４４のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項5] 配列番号１４５のセンス鎖、及び配列番号１４６のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項6] 配列番号１４７のセンス鎖、及び配列番号１４８のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項7] 配列番号１５３のセンス鎖、及び配列番号１５４のアンチセンス鎖を有する、二本鎖リボ核酸。

[請求項8] 請求項１～７のいずれか一項に記載の二本鎖リボ核酸を含む、医薬組成物。

[請求項9] 請求項８に記載の医薬組成物であって、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療のための、医薬組成物。

[請求項10] 請求項８に記載の医薬組成物であって、非典型溶血性尿毒症症候群の治療のための、医薬組成物。

[請求項11] 請求項１～７のいずれか一項に記載の二本鎖リボ核酸が封入された

、脂質複合体。

[請求項12] カチオン性脂質と、

中性脂質、ポリエチレングリコール修飾脂質、及びステロールからなる群から選択される少なくとも一種の脂質と

を含む、請求項１１に記載の脂質複合体。

[請求項13] カチオン性脂質が、２－｛９－オキソ－９－［（３－ペンチルオクチル）オキシ］ノニル｝ドデシル　１－メチルピペリジン－４－カルボキシレートである、請求項１２に記載の脂質複合体。

[請求項14] 請求項１１～１３のいずれか一項に記載の脂質複合体を含む、医薬組成物。

[請求項15] 請求項１４に記載の医薬組成物であって、発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療のための、医薬組成物。

[請求項16] 請求項１４に記載の医薬組成物であって、非典型溶血性尿毒症症候群の治療のための、医薬組成物。