

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202393237** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки  
**2024.01.19**(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)  
*A61K 31/712* (2006.01)  
*A61K 31/7125* (2006.01)  
*A61P 29/00* (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
**2022.05.17**(54) **IL-34 АНТИСМЫСЛОВЫЕ СРЕДСТВА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**(31) **63/201,887**(32) **2021.05.17**(33) **US**(86) **PCT/EP2022/063300**(87) **WO 2022/243299 2022.11.24**(71) Заявитель:  
**НОГРА ФАРМА ЛИМИТЕД (IE)**

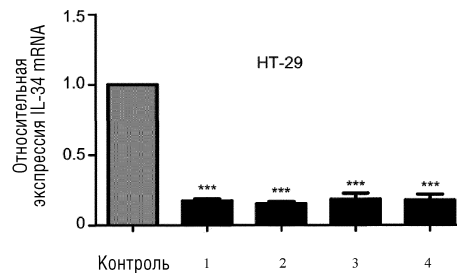
(72) Изобретатель:

**Вити Франческа, Макналти Мэри,  
Беллинвиа Сальваторе (IE)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) В настоящем изобретении раскрыты полинуклеотиды, комплементарные к IL-34, включая IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды и IL-34 siRNAs, и способы лечения воспалительных заболеваний, таких как воспалительная болезнь кишечника и/или фиброз, связанный с повышенной активностью или экспрессией IL-34. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие полинуклеотид, комплементарный к IL-34, например IL-34 антисмысловой олигонуклеотид или IL-34 siRNA, применимые для лечения воспалительных заболеваний и/или фиброза и приготовления лекарственных средств, содержащих раскрытый полинуклеотид, применимых для лечения воспалительных заболеваний и/или фиброза.

**A1****202393237****202393237****A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579814EA/071

### IL-34 АНТИСМЫСЛОВЫЕ СРЕДСТВА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается преимущество и приоритет по предварительной заявке U.S. № 63/201887, поданной 17 мая 2021 г., раскрытие которой во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки для всех объектов.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Интерлейкин-34 (IL-34) является недавно открытым цитокином, функционально перекрывающимся с макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF, также известный, как MCSF1 и MCSF-1), медиатор воспаления и остеокластогенеза при дегенеративных заболеваниях костей, таких как ревматоидный артрит. Воспалительные заболевания, острые и хронические, являются важной категорией заболеваний, которые пока полностью не изучены.

[0003] Например, ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое аутоиммунное и воспалительное нарушение суставов и костей, от которого страдает примерно 1,3 млн пациентов в США. Из числа пораженных РА распространенность нетрудоспособности, связанной с РА, в США составляет примерно 35%, а общие затраты на здравоохранение составляют более \$19,3 млрд. Остеоартрит (ОА) представляет собой хроническое воспалительное заболевание суставов и включает механический износ и разрушение гладкой поверхности хряща сустава, которые покрывает кости суставов. ОА является самой распространенной формой артрита и поражает в США 32,5 млн взрослых и общие затраты на здравоохранение составляют более \$136 млрд. В настоящее время отсутствует медицинское лечение РА или ОА.

[0004] Воспалительная болезнь кишечника представляет собой хроническое воспалительное нарушение желудочно-кишечного тракта, от которого в США страдают примерно 1,4 млн пациентов. Она является одним из пяти наиболее распространенных желудочно-кишечных заболеваний в США и общие затраты на здравоохранение составляют более \$1,7 млрд. Каждый год в США воспалительная болезнь кишечника приводит к более 700000 посещениям врача, 100000 госпитализациям и нетрудоспособность у 119000 пациентов. В настоящее время отсутствует медицинское лечение, так что лечение заболевания требует пожизненного ухода.

[0005] Двумя самыми распространенными формами воспалительной болезни кишечника являются болезнь Крона и язвенный колит. Хотя болезнь Крона может затронуть весь желудочно-кишечный тракт, она преимущественно влияет на подвздошную кишку (дистальную или нижнюю часть тонкой кишки) и толстую кишку. Язвенный колит преимущественно влияет на толстую кишку и прямую кишку. Этиология воспалительной болезни кишечника полностью не изучена, хотя полагают, что и факторы окружающей среды, и генетические факторы играют роль в заболевании. Компоненты окружающей

среды могут включать изменения флоры кишечника, на которую влияет воздействие проглоченной еды и лекарственных средств.

[0006] Воспалительная болезнь кишечника связана с болью в животе, рвотой, диареей, аноректальным кровотечением, сильными судорогами, мышечными спазмами, потерей массы, недостаточным питанием, лихорадкой и анемией. Пациенты с воспалительной болезнью кишечника также могут страдать от повреждения кожи, боли в суставах, воспаления глаз и печеночных нарушений, и ребенок, страдающий от язвенного колита, может страдать от дефектов роста. Хотя редко смертельные, эти симптомы ухудшают качество жизни пациентов.

[0007] Таким образом, имеется настоятельная необходимость в разработке надежных способов лечения воспалительных нарушений, таких как ревматоидный артрит, остеоартрит или воспалительная болезнь кишечника. Также необходимо выявление способов лечения, которые обеспечивают эффективное и стойкое ослабление симптомов для самых разных пациентов и которые не связаны с неблагоприятными побочными эффектами или циклами воспаления и ремиссии.

#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Настоящая заявка относится к композициям полинуклеотидов, комплементарных к IL-34 или его части, и способам применения композиций.

[0009] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность в соответствии с: (a) 5'-STTTGGGCCCGCACCCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3) или (b) 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5), где по меньшей мере один цитидин нуклеотидной последовательности химически модифицирован и по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-МОЕ) нуклеозид; или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления не более 10 нуклеозидов полинуклеотида химически модифицированы. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит шесть 2'-МОЕ нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит восемь 2'-МОЕ нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих: (a) 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин; (b) 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>TGGGCXGCACCAGCT<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 41), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин; (c) 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>TGACCCXGGAAGCA<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 42), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин; и (d) 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>ATGACCCXGGAAGCAG<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 43), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-

метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин; или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид комплементарен к IL-34. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой IL-34 антисмысловый олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой IL-34 siRNA. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна межнуклеотидная последовательность полинуклеотида выбрана из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфороамидатная связь и аминоалкилфосфороамидатная связь, тиофосфороамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боранофосфатная связь. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одной межнуклеотидной связью полинуклеотида является фосфоротиоатная связь. В некоторых вариантах осуществления все межнуклеотидные связи полинуклеотида являются фосфоротиоатными связями. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит 20 нуклеотидов или 20-25, 20-30, 20-35, 25-30, 25-35 или 30-35 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит не более 20, 25 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит от 20 до 25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит 20 нуклеотидов.

[0010] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты фармацевтические композиции, содержащие (а) полинуклеотид, раскрытый в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемую соль и (б) фармацевтически приемлемый инертный наполнитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция применима для местного, парентерального, перорального, пульмонального, внутритрахеального, внутриназального, чрескожного или интрадуоденального введения.

[0011] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в нем пациента, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание связано с измененной экспрессией IL-34. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирует выработку воспалительного цитокина в клетках пациента. В некоторых вариантах осуществления способ уменьшает или ингибирует опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ в клетках пациента. В некоторых вариантах осуществления способ уменьшает или ингибирует опосредуемую с помощью IL-34 передачу сигнала рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSFR-1) в клетках пациента. В

некоторых вариантах осуществления клеткой является интестинальная клетка. В некоторых вариантах осуществления клеткой является интестинальная стромальная клетка. В некоторых вариантах осуществления клетка образует часть интестинальной фиброзной стриктуры. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0012] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения рака, связанного с измененной экспрессией IL-34, у нуждающегося в нем пациента, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется увеличенной экспрессией IL-34. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак ободочной кишки.

[0013] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы уменьшения или устранения фиброзной стриктуры у пациента, страдающего от воспалительного заболевания, способ включает введение эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления фиброзная стриктура расположена в кишечнике. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии, синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, гастродуоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еюноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона. В некоторых

вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0014] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения фиброза, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту терапевтически эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является интестинальный фиброз. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является фиброз легких. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является синовиальный фиброз. В некоторых вариантах осуществления фиброз выбран из группы, состоящей из следующих: фиброз почек, фиброз сердца, эндомикардиальный фиброз, миелофиброз, ретроперитонеальный фиброз и нефрогенный системный фиброз. В некоторых вариантах осуществления пациент также страдает от болезни Крона. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0015] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения интестинального фиброза, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту, фармацевтически эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления пациент также страдает от болезни Крона. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0016] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения фиброза легких, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту, фармацевтически эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления пациент также страдает от болезни Крона. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно,

ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0017] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения синовиального фиброза, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту, фармацевтически эффективного количества полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления пациентом является человек.

[0018] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты применения полинуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии или синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит или остеоартрит. В некоторых вариантах осуществления воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, гастродуоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еуноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

[0019] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты

полинуклеотиды или их фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного средства.

[0020] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты полинуклеотиды или их фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения воспалительного заболевания. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии или синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, гастродуоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, язвенный колит, коллаgenoзный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еуноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

[0021] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты полинуклеотиды или их фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения фиброза. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является интестинальный фиброз. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является фиброз легких. В некоторых вариантах осуществления фиброзом является синовиальный фиброз. В некоторых вариантах осуществления фиброз выбран из группы, состоящей из следующих: фиброз почек, фиброз сердца, эндомиокардиальный фиброз, миелофиброз, ретроперитонеальный фиброз и нефрогенный системный фиброз.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0022] На фиг. 1 приведены результаты влияния IL-34 ASOs на модулирование экспрессии IL-34 в выращенных клетках HT-29. Транскрипты IL-34 RNA исследовали с помощью PCR в реальном масштабе времени. На уровни нормировали на  $\beta$ -актин. (CTR(контроль)=скремблированный ASO, 1=SEQ ID NO: 17, 2=SEQ ID NO: 19, 3=SEQ ID NO: 42, 4=SEQ ID NO: 43). Значения являются средними значениями  $\pm$  SEM четырех экспериментов. Различия между группами сопоставляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Даннета. IL-34 ASOs в



сравнении с CTR, \*\*\*  $P < 0,001$ .

[0023] На фиг. 2 приведены результаты влияния IL-34 ASOs на модулирование экспрессии IL-34 в выращенных клетках AGS. Транскрипты IL-34 RNA исследовали с помощью PCR в реальном масштабе времени. На уровни нормировали на  $\beta$ -актин. (CTR=скремблированный ASO, 1=SEQ ID NO: 17, 2=SEQ ID NO: 19, 3=SEQ ID NO: 42, 4=SEQ ID NO: 43). Значения являются средними значениями  $\pm$  SEM четырех экспериментов. Различия между группами сопоставляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Даннета. IL-34 ASOs в сравнении с CTR, \*\*\*  $P < 0,001$ .

[0024] На фиг. 3 приведены результаты влияния IL-34 ASOs на модулирование экспрессии IL-34 во взятых у пациента с UC LPMCs. Транскрипты IL-34 RNA исследовали с помощью PCR в реальном масштабе времени. На уровни нормировали на  $\beta$ -актин. (CTR=скремблированный ASO, 1=SEQ ID NO: 17, 2=SEQ ID NO: 19, 3=SEQ ID NO: 42, 4=SEQ ID NO: 43). Значения являются средними значениями  $\pm$  SEM трех экспериментов. Различия между группами сопоставляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Даннета. IL-34 ASOs в сравнении с CTR, \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0025] В настоящем изобретении, в частности, раскрыты полинуклеотиды, которые комплементарны к IL-34 нуклеиновой кислоте или ее части (например, IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды), и включающие один или большее количество химически модифицированных нуклеозидов, композиции, содержащие указанные олигонуклеотиды, и способы применения композиций для лечения, ослабления или подавления заболевания или нарушения, такого как аутоиммунные или воспалительные заболевания (например, ревматоидный артрит (RA), остеоартрит (OA), болезнь Крона или язвенный колит) или фиброз.

#### Определения

[0026] При использовании в настоящем изобретении "олигонуклеотид" или "полинуклеотид" используют взаимозаменяемым образом и означают короткие молекулы DNA или RNA. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды включают 2'-дезоксирибонуклеотиды (олигодезоксирибонуклеотиды), которые можно модифицировать в фосфатной основной цепи или в положении 2' сахара. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды, предлагаемые в настоящем изобретении, содержат одну или большее количество модификаций фосфоротиоатной (PS) основной цепи, где один или большее количество немостиковых атомов кислорода в фосфатной основной цепи заменены на атом серы. В некоторых вариантах осуществления "фосфоротиоатный олигонуклеотид" или "PS олигонуклеотид" содержит по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, которая представляет собой *O,O*-связанную фосфоротиоатную связь (т. е. фосфоротиоатную связь). В некоторых вариантах осуществления PS олигонуклеотид содержит все межнуклеотидные связи, представляющие собой *O,O*-

связанные фосфоротиоатные связи (т. е. фосфоротиоатную связь).

[0027] При использовании в настоящем изобретении "антисмысловые терапевтические средства" являются классом соединений на основе нуклеиновой кислоты, которые можно использовать для ингибирования экспрессии гена. Антисмысловые терапевтические средства могут представлять собой химические соединения - аналоги на основе одно- и двухцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислоты (DNA), рибонуклеиновой кислоты (RNA), смешанной DNA и RNA или DNA/RNA. В некоторых вариантах осуществления антисмысловые терапевтические средства включают антисмысловые олигонуклеотиды. В целом антисмысловые терапевтические средства разработаны, чтобы включить нуклеотидную последовательность, которая комплементарна или почти комплементарна к mRNA или pre-mRNA последовательности, транскрибированной из данного гена для промотирования связи между антисмысловым терапевтическим средством и pre-mRNA или mRNA. Если не ограничиваться теорией, то предполагается, что в большинстве случаев антисмысловые терапевтические средства действуют путем связывания с mRNA или pre-mRNA, тем самым ингибируя трансляцию белка, изменяя сплайсинг pre-mRNA в зрелую mRNA и/или вызывая разложение mRNA. В большинстве случаев нуклеотидная последовательность антисмыслового терапевтического средства комплементарна к части целевого гена или смысловым последовательностям mRNA's.

[0028] При использовании в настоящем изобретении "IL-34 антисмысловые терапевтические средства" представляют собой соединения на основе олигонуклеотидов, которые включают олигонуклеотидную последовательность, комплементарную к смысловой последовательности гена IL-34, к смысловой последовательности IL-34 pre-mRNA и/или к смысловой последовательности IL-34 mRNA или ее части. IL-34 антисмысловые терапевтические средства, описанные в настоящем изобретении, также могут представлять собой соединения на основе химического аналога нуклеотида, способные связываться со смысловой последовательностью гена IL-34, со смысловой последовательностью IL-34 pre-mRNA и/или со смысловой последовательностью IL-34 mRNA или ее частью. В некоторых вариантах осуществления IL-34 антисмысловые терапевтические средства могут включать IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды, IL-34 shRNAs, IL-34 siRNAs, IL-34 PNAs, IL-34 LNAs, miRNAs и IL-34 морфолиновые олигомеры.

[0029] При использовании в настоящем изобретении "антисмысловые олигонуклеотиды" (ASOs) представляют собой короткие синтетические основанные на нуклеотиде последовательности, включающие последовательности, комплементарные к последовательности целевой RNA, такой как mRNA, которая кодирует целевой белок (например, IL-34). Если не ограничиваться конкретной теорией, то можно полагать, что последовательности антисмыслового олигонуклеотида может гибридизироваться с комплементарной областью в молекуле mRNA, тем самым образуя двухцепочечный гибрид, который может привести к активации убиквитарных каталитических ферментов,

таких как RNase H, которые расщепляют гибридные цепи DNA/RNA, тем самым предупреждая трансляцию белка. Если не ограничиваться теорией, то можно полагать, что антисмысловой олигонуклеотид, предлагаемый в настоящем изобретении, может гибридизироваться со своей целевой последовательностью, такой как RNA или DNA. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, если последовательность DNA представлена в качестве мишени, соответствующая последовательность RNA последовательность (включающая урацил вместо тимина) включена в ASO, описанный в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления ASOs, описанные в настоящем изобретении, содержат химически модифицированные нуклеозиды.

[0030] Количество нуклеотидов, включенных в антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в настоящем изобретении, может меняться. ASOs обычно содержат от 8 до 50 нуклеотидов, например, 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 15-20, 15-25, 15-30, 15-35, 20-25, 20-30, 20-35, 25-30, 25-35 или 30-35 нуклеотидов. В предпочтительных вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 15-25 нуклеотидов. В предпочтительных вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 20-25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид, описанный в настоящем изобретении, включает максимальное количество нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит не более 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30 или 35 нуклеотидов.

[0031] При использовании в настоящем изобретении "химически модифицированный нуклеозид" означает любой нуклеозид, не представляющий собой аденозин, цитидин, тимидин, гуанозин или уридин. Химически модифицированный нуклеозид может включать модифицированный сахарный фрагмент и/или модифицированное нуклеиновое основание. В некоторых вариантах осуществления раскрытые химически модифицированные нуклеозиды могут представлять собой замкнутую нуклеиновую кислоту (LNA), например, LNA цитидин, LNA тимидин, LNA аденозин или LNA гуанозин. В некоторых вариантах осуществления химически модифицированные нуклеозиды включают 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозиды, например, 2'-O-метилцитидин, 2'-O-метилгуанозин, 2'-O-метилтимидин, 2'-O-метилуридин, и/или 2'-O-метиладенозин. В других вариантах осуществления химически модифицированный нуклеозид включает 5-метилпиримидин, например, 5-метилцитозин; и/или 5-метилпуридин, например, 5-метилгуанин. В некоторых вариантах осуществления химически модифицированные нуклеозиды могут включать любой из следующих химически модифицированных нуклеозидов: 5-метил-2'-O-метилцитидин, 5-метил-2'-O-метилтимидин, 5-метилцитидин, 5-метилуридин, и/или 5-метил-2'-дезоксцитидин. Раскрытые в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химически модифицированные нуклеозиды могут включать стабилизированный концевой 5'-фосфат

или резистентный к фосфатазе аналог 5'-фосфата, например, 5'-метилфосфонат, 5'-метиленфосфонат, аналог 5'-метиленфосфоната, 5'-*E*-винилфосфонат (5'-*E*-VP), 5'-фосфоротиоат и 5'-*C*-метильный аналог; 2'-*O*-метилрибонуклеозид, например, 2'-*O*-метилцитидин, 2'-*O*-метилгуанозин, 2'-*O*-метилуридин, 2'-*O*-метилтимидин и 2'-*O*-метиладенозин; 5-метилпиримидин, например, 5-метилцитозин; 5-метилпурин, например, 5-метилгуанин; 5-метил-2'-*O*-метилцитидин; 5-метил-2'-*O*-метилтимидин; 5-метилцитидин; 5-метилуридин; или 5-метил-2'-дезоксцитидин.

[0032] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления химически модифицированные нуклеозиды, описанные в настоящем изобретении, включают 2'-*O*-(2-метоксиэтил) ("2'-МОЕ") нуклеозиды, 2'-дезоксид-2'-фторнуклеозиды, 2'-фтор-β-D-арабинонуклеозиды, мостиковые нуклеозиды, LNA нуклеозиды, стерически затрудненные этилнуклеозиды (сЕТ), трицикло-DNA (tcDNA) нуклеозиды, 2'-*O*,4'-*C*-этилен-связанной нуклеиновой кислоты (ENA) нуклеозиды и/или пептидо-нуклеиновые кислоты (PNA).

[0033] При использовании в настоящем изобретении "межнуклеотидная связь" означает связь между положением 3' нуклеозида и положением 5' соседнего нуклеозида. "Модифицированная межнуклеотидная связь" означает связь между положением 3' нуклеозида и положением 5' соседнего нуклеозида, который не является природным. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь включает, но не ограничивается только ими, следующие: фосфоротиоатная связь; фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфороамидатная связь, аминоалкилфосфороамидатная связь, тиофосфороамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь или боронофосфатная связь.

[0034] Пептидо-нуклеиновые кислоты (PNAs) являются короткими, искусственно синтезированными полимерами со структурой, которая имитирует DNA или RNA. PNAs включают основную цепь, состоящую из повторяющихся звеньев N-(2-аминоэтил)-глицин, связанных пептидными связями.

[0035] Замкнутые нуклеиновые кислоты (LNAs) являются олигонуклеотидными последовательностями, которые включают один или большее количество модифицированных нуклеотидов RNA, в которых рибозный фрагмент модифицирован дополнительным мостиком, связывающим 2' кислород и 4' углерод. Полагают, что LNAs обладают более высокими  $T_m$ , чем аналогичные олигонуклеотидные последовательности.

[0036] Морфолиновые олигомеры являются олигонуклеотидами, которые включают основания DNA, присоединенные к основной цепи метилморфолинового кольца через фосфородиамидатные группы. Морфолиновые олигомеры, предлагаемые в настоящем изобретении, можно сделать связывающимися с последовательностями рассматриваемой конкретной RNA (например, последовательностями рассматриваемой IL-34 mRNA или IL-34 pre-mRNA) и тем самым предупреждать экспрессию гена.

[0037] Малые шпилечные RNAs (shRNAs) обычно представляют собой молекулы

RNA со шпилькообразной структурой, которые можно использовать для подавления экспрессии гена. shRNAs обычно экспрессируются из плазмид, кодирующих последовательность shRNA, и могут экспрессироваться из вирусных векторов для обеспечения экспрессии лентивирусов, аденовирусов или аденоассоциированных вирусов. Если не ограничиваться теорией, то предполагается, что shRNA ингибируют экспрессию гена путем использования процессов интерференции RNA (RNAi). Вкратце, транскрипт shRNA обрабатывают с помощью Drosha и Dicer и затем вводят в RNA-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC), обеспечивая воздействие на специфическую mRNA и разложение mRNA или подавление трансляции белка.

[0038] Малые интерферирующие (siRNAs) представляют собой двухцепочечные молекулы RNA, содержащие примерно 20-25 пар оснований (но которые также могут содержать, например, 18-30 пар оснований), которые используют RNAi-интерференцию (например, Drosha и RISC) для связывания с mRNA и воздействия на нее. Для экспрессии siRNAs не зависят от плазмид или векторов и обычно могут доставляться прямо в целевую клетку, например, с помощью трансфекции.

[0039] MicroRNAs (miRNAs) представляют собой малые некодирующие молекулы RNA, содержащие примерно 22 нуклеотида, которые действуют в подавлении экспрессии RNA и посттранскрипционной регуляции экспрессии гена. miRNAs включают последовательности, которые комплементарны к частям последовательности mRNA. miRNAs образуются из длинных одноцепочечных молекул RNA, обладающих высокоспецифичными структурами стебель-петля. Искусственные miRNAs получают путем замены зрелой 21 нуклеотидной последовательности последовательностей природной miRNA 21 нуклеотидными последовательностями мишени, например, мишени IL-34 mRNA.

[0040] При использовании в настоящем изобретении "ингибиторы IL-34" включают, но не ограничиваются только ими, ингибиторы IL-34 на основе нуклеотидов (например, IL-34 малые шпильчатые RNAs (shRNAs), IL-34 microRNAs (miRNAs), IL-34 малые интерферирующие RNAs (siRNAs) и IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды, включая IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды, которые включают LNA нуклеотиды, пептидо-нуклеиновые кислоты (PNAs) и морфолиновые олигомеры) и композиции, которые содержат такие соединения. В некоторых вариантах осуществления уровни IL-34 (например, уровни IL-34 mRNA или белка) и/или активность (например, биологическую активность, например, стимулирование рецептора IL-34) можно снизить с помощью ингибиторов IL-34. В некоторых вариантах осуществления ингибиторы IL-34 включают IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды, включающие один или большее количество химически модифицированных нуклеозидов.

[0041] При использовании в настоящем изобретении "антисмысловой олигонуклеотид IL-34" или "IL-34 ASO" означает олигонуклеотид, включающий последовательность нуклеиновой кислоты, которая комплементарна к последовательности нуклеиновой кислоты в молекуле mRNA, транскрибированной из гена IL-34 или ее части.

Более предпочтительно, если такой олигонуклеотид может быть комплементарен к последовательности нуклеиновой кислоты в кодирующей области такой mRNA или ее части. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 обладает природной функциональной способностью воздействия на ген IL-34, его RNA или образовавшиеся белки или другой молекулярный объект, активность или экспрессия которого препятствует активности или экспрессии IL-34 или его продуктов исключительно или с высокой степенью специфичности. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 может уменьшать экспрессию IL-34 при введении в клетку (например, иммунную клетку, такую как РВМС, дендритная клетка или В-клетка). В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 может уменьшать экспрессию mRNA, транскрибированной из гена. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 может уменьшать экспрессию белка, кодируемого геном. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 может уменьшать секрецию белка, кодируемого геном, из клетки, в которую был введен антисмысловой олигонуклеотид IL-34. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид IL-34 включает последовательность SEQ ID NOs: 40-43 или его фармацевтически приемлемые соли.

[0042] В настоящем описании и формуле изобретения термин "включает" и в настоящем описании и формуле изобретения термины, такие как "включают" и "включающие", означают включая, но не ограничиваясь только ими, и не предназначен для исключения, например, других добавок, компонентов, целых чисел или стадий.

[0043] "Необязательный" или "необязательно" означает описанное после этого событие или обстоятельство может или не может происходить и что описание включает случаи, когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда оно не происходит.

[0044] При использовании в настоящем изобретении термин "примерно" или "приблизительно" при использовании применительно к количественному значению включает само указанное количественное значение, если специально не указано иное. При использовании в настоящем изобретении термин "примерно" или "приблизительно" означает, что отклонение от указанного количественного значения составляет  $\pm 10\%$ , если иное не указано или не предполагается из контекста.

[0045] Терминология, использованная в настоящем изобретении, предназначена для описания только предпочтительных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения объема настоящего изобретения. При использовании в настоящем изобретении термины в единственном числе включают термины во множественном числе, если из контекста явно не следует иное. Так, например, указание на "композицию" включает указание на множество таких композиций, а также на одну композицию и указание на "терапевтическое средство" означает указание на одно или большее количество терапевтических и/или фармацевтических средств и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники и т. п. Все значения в процентах и отношения, используемые в настоящем изобретении, если не указано иное, являются массовыми.

[0046] Если не приведено другое определение, все технические и научные термины, использованные в настоящем изобретении, обладают такими же значениями, которые обычно известны специалисту с общей подготовкой в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В случае противоречия определяющим является настоящее описание. Хотя при практическом осуществлении и тестировании настоящего изобретения можно использовать способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в настоящем изобретении, подходящие способы и материалы описаны ниже.

Полинуклеотиды, комплементарные к IL-34

[0047] В настоящем изобретении, в частности, раскрыты полинуклеотиды, комплементарные к IL-34. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность: 5'-CTTTGGGCCCGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3) или 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5); 5'-CTTTGGGCXGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 7); или 5'-TCCATGACCXGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 8), где X означает 5-метилцитидин, по меньшей мере один цитидин нуклеотидной последовательности химически модифицирован и по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-MOE) нуклеозид или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих:

a. 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

b. 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>TGGGCXGCACCAGCT<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 41), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

c. 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>TGACCXGGAAGCA<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 42), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин; и

d. 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>ATGACCXGGAAGCAG<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 43), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин;

или их фармацевтически приемлемая соль.

[0048] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой антисмысловый олигонуклеотид IL-34 (ASO).

[0049] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой siRNA. В некоторых вариантах осуществления siRNA представляет собой IL-34 siRNA, который включает любую нуклеотидную последовательность из SEQ ID NO: 3, 5, 7 или 8 или SEQ ID NO: 40-43. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид является частью комплекса siRNA. В некоторых вариантах осуществления siRNA является

дуплексом siRNA.

[0050] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ингибитор IL-34. В некоторых вариантах осуществления ингибитор IL-34 представляет собой IL-34 ASO или композицию, включающую IL-34 ASO. В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASOs представляют собой короткие последовательности синтетического олигонуклеотида, комплементарные к транскрипту IL-34 (например, к транскрипту IL-34 mRNA) или его части.

[0051] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность, комплементарную к части последовательности IL-34 mRNA, например, последовательности IL-34 mRNA мыши или человека.

[0052] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность, комплементарную к части последовательности гена IL-34, например, последовательности гена IL-34 мыши или человека.

[0053] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность, которая комплементарна или почти комплементарна к части варианта транскрипта IL-34 mRNA или его части, например, последовательности IL-34 mRNA человека из NCBI контрольной последовательности NM\_001172771.1 (SEQ ID NO: 24), NM\_001172772.1 (SEQ ID NO: 25), NM\_152456.2 (SEQ ID NO:26), NM\_152456.3 (SEQ ID NO: 44), NM\_001172771.2 (SEQ ID NO: 45), NM\_001393493.1 (SEQ ID NO: 46), NM\_001393495.1 (SEQ ID NO: 47), NM\_001172772.2 (SEQ ID NO: 48), NM\_001393494.1 (SEQ ID NO: 49), NM\_001393496.1 (SEQ ID NO: 50), NM\_001393497.1 (SEQ ID NO: 51) или NM\_001393498.1 (SEQ ID NO: 52); или последовательности IL-34 mRNA мыши из NCBI контрольной последовательности NM\_001135100.2 (SEQ ID NO: 27) или NM\_029646.3 (SEQ ID NO: 28).

[0054] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO может быть направлен на IL-34 mRNAs, образованную из генов IL-34 одного или большего количества видов, например, транскрипты мыши и человека IL-34 mRNA. Например, IL-34 ASO может быть направлен на IL-34 mRNA гена IL-34 млекопитающего, например, гена IL-34 человека (т. е. *Homo sapiens*) или гена IL-34 мыши (т. е. *mus musculus*). В предпочтительных вариантах осуществления IL-34 ASO направлен на IL-34 mRNA человека. В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность, которая комплементарна к нуклеотидной последовательности гена IL-34 или IL-34 mRNA или его части.

[0055] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASOs включают, но не ограничиваются только ими, IL-34 ASO, который включает нуклеотидную последовательность: 5'-CTCACCAAGACCCACAG-3' (SEQ ID NO: 1); 5'-GGCTTTGGGCCCGCACCAGCT-3' (SEQ ID NO: 2); 5'-CTTTGGGCCCGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3); 5'-TGGGCCCGCACCAGCTTCAGG-3' (SEQ ID NO: 4); 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5); 5'-TGTTTCATGTAAGTGAAG-3' (SEQ ID NO: 6); 5'-CTTTGGGCXGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 7); или 5'-



TCCATGACCCXGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 8), где X означает 5-метилцитидин.

[0056] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность 5'-CTTTGGGCCCGCACCCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3). В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5).

[0057] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает химически модифицированные нуклеозиды. Раскрытый в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химически модифицированный нуклеозид включает, но не ограничивается только ими: нуклеозид замкнутой нуклеиновой кислоты (LNA), например, LNA цитидин, LNA тимидин, LNA аденозин или LNA гуанозин; нуклеозид, содержащий стабилизированный концевой 5'-фосфат или резистентный к фосфатазе аналог 5'-фосфата, например, 5'-метилфосфонат, 5'-метиленфосфонат, аналог 5'-метиленфосфоната, 5'-*E*-винилфосфонат (5'-*E*-VP), 5'-фосфоротиоат и аналог 5'-*C*-метила; 2'-*O*-метилрибонуклеозид, например, 2'-*O*-метилцитидин, 2'-*O*-метилгуанозин, 2'-*O*-метилуридин, 2'-*O*-метилтимидин и 2'-*O*-метиладенозин; 5-метилпиримидин, например, 5-метилцитозин; 5-метилпурин, например, 5-метилгуанин; 5-метил-2'-*O*-метилцитидин; 5-метил-2'-*O*-метилтимидин; 5-метилцитидин; 5-метилуридин; или 5-метил-2'-дезоксцитидин.

[0058] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает 2'-*O*-метилрибонуклеозид, например, 2'-*O*-метилцитидин, 2'-*O*-метилгуанозин, 2'-*O*-метилуридин, 2'-*O*-метилтимидин и 2'-*O*-метиладенозин.

[0059] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность 5'-CTTTGGGCXGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 7), где X означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность 5'-TCCATGACCCXGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 8), где X означает 5-метилцитидин.

[0060] В некоторых вариантах осуществления ASO с включает 2'-*O*-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид.

[0061] В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 90% совпадающую с 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 95% совпадающую с 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность в соответствии с 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин.

[0062] В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность,

по меньшей мере на 90% совпадающую с 5'-СхТхТхТGGGCXGCACCAGCTхТхСх-3' (SEQ ID NO: 41), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 95% совпадающую с 5'-СхТхТхТGGGCXGCACCAGCTхТхСх-3' (SEQ ID NO: 41), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность в соответствии с 5'-СхТхТхТGGGCXGCACCAGCTхТхСх-3' (SEQ ID NO: 41), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин.

[0063] В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 90% совпадающую с 5'-ТхСхСхАхТGACCXGGAAGCAхGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 42), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Ах означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 95% совпадающую с 5'-ТхСхСхАхТGACCXGGAAGCAхGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 42), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Ах означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность в соответствии с 5'-ТхСхСхАхТGACCXGGAAGCAхGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 42), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Ах означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин.

[0064] В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 90% совпадающую с 5'-ТхСхСхАТGACCXGGAAGCAGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 43), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность, по меньшей мере на 95% совпадающую с 5'-ТхСхСхАТGACCXGGAAGCAGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 43), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин. В некоторых вариантах осуществления ASO включает последовательность в соответствии с 5'-ТхСхСхАТGACCXGGAAGCAGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 43), где Сх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин. Раскрытые в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рассмотренные композиции могут включать фармацевтически приемлемую соль.

[0065] В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, IL-34 ASO является гэдмером. Гэдмеры являются олигонуклеотидными

последовательностями, которые включают фланкирующие группы 5' и 3' модифицированных нуклеотидов (называются областями А' и С'). Полагают, что эти фланкирующие группы модифицированных нуклеотидов защищают внутренние группы нуклеотидов (называются областью В') от разложения нуклеазы. Вместе фланкирующие группы 5' и 3' и внутренняя группа образуют структуру (5' - 3') А'-В'-С'. Внутренняя группа нуклеотидов содержит от 6 до 10 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления внутренняя группа олигонуклеотидов содержит 10-14 молекул. Каждая группа 5' или 3' фланкирующих нуклеотидов может содержать 3, 4, 5, 6 или большее количество нуклеотидов. Группа 5' и 3' фланкирующих нуклеотидов в гэпмере может содержать такое же количество нуклеотидов. Фланкирующие группы модифицированных нуклеотидов включают, например, 2'-МОЕ, 2'-ОМе и LNA нуклеотиды. Последовательности гэпмера также могут включать модификации, включая модифицированные межнуклеотидные связи (например, фосфоротиоатные связи), 2'-МОЕs, 2'-ОМеs, LNA нуклеозиды, PNAs, 5-метилцитидин и другие химически модифицированные нуклеозиды, описанные в настоящем изобретении.

[0066] В некоторых вариантах осуществления гэпмер содержит 15-20, 15-25, 15-30, 15-35, 20-25, 20-30, 20-35, 25-30, 25-35 или 30-35 нуклеотидов. В предпочтительных вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 15-25 нуклеотидов. В предпочтительных вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 20-25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловой олигонуклеотид содержит 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления гэпмер содержит 20 нуклеотидов.

[0067] В некоторых вариантах осуществления область А' состоит из 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как 2'-МОЕ, область В' состоит из 12 или 14 оснований DNA и область С' состоит из 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как 2'-МОЕ. Такие структуры гэпмера включают (А'-В'-С') 3-12-3, 3-14-3, 4-12-4 и 4-14-4.

[0068] В некоторых вариантах осуществления область А' состоит из 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как 2'-МОЕ, область В' состоит из 8 или 10 оснований DNA и область С' состоит из 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как 2'-МОЕ. Такие структуры гэпмера включают (А'-В'-С') 5-10-5 и 6-8-6.

[0069] В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>NNNNNNNNNNNNNNNNNNN<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид и N<sub>x</sub> означает 2'-O-метил ("2'-ОМе") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>NNNNNNNNNNNNNNNNNNN<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид и N<sub>x</sub> означает 2'-O-метил ("2'-ОМе") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>NNNNNNNNNNNNNNNNNNN<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>N<sub>x</sub>-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид и N<sub>x</sub> означает 2'-O-метил ("2'-ОМе") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры

5'-NxNxNxNxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-NxNxNxNxNxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид.

[0070] В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-NxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид, X означает 5-метилцитидин и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-NxNxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид, X означает 5-метилцитидин и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-NxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид, X означает 5-метилцитидин и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид. В некоторых вариантах осуществления ASO содержит гэпмер структуры 5'-NxNxNxNxNXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX-3', где N означает любой нуклеотид или химически модифицированный нуклеотид, X означает 5-метилцитидин и Nx означает 2'-O-метил ("2'-OMe") рибонуклеозид.

[0071] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO гэпмер включает 2'-MOE нуклеозиды и последовательность IL-34 ASO представляет собой одну, выбранную из группы, состоящей из следующих:

5'-CxTxTxTGGGCXGCACCAGCxTxTxCx-3' (SEQ ID NO: 40), где Cx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Tx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

5'-CxTxTxTGGGCXGCACCAGCTxTxCx-3' (SEQ ID NO: 41), где Cx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Tx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

5'-TxCxCxAxTGACCXGGAAGCAxGxTxTx-3' (SEQ ID NO: 42), где Cx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Ax означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, Tx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин; и

5'-TxCxCxATGACCXGGAAGCAGxTxTx-3' (SEQ ID NO: 43), где Cx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, Tx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, Gx означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин,

или их фармацевтически приемлемая соль.

[0072] В некоторых вариантах осуществления первый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидином; второй, третий, четвертый, восемнадцатый и девятнадцатый

нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40.

[0073] В некоторых вариантах осуществления первый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидином; второй, третий, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0074] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-МОЕ нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, девятнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; второй и третий нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидином; четвертый и семнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)аденозином; восемнадцатый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42.

[0075] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-МОЕ нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, девятнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; второй и третий нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидином; восемнадцатый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43.

[0076] Например, в некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-МОЕ нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидином; второй, третий, четвертый, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; пятый и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 16.

[0077] В некоторых вариантах осуществления первый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-

метоксиэтил)цитидином; второй, третий, четвертый, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидином; пятый, шестой и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозином; пятнадцатый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 18.

[0078] В некоторых вариантах осуществления первый, восьмой, одиннадцатый, тринадцатый, четырнадцатый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидином; все тимидины в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидином; все гуанозины в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозином; все аденозины в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 20.

[0079] В других вариантах осуществления один или большее количество нуклеозидов в SEQ ID NO: 3 могут быть замещены 2'-МОЕ нуклеозидами, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 16, 18, 20, 40 или 41. В других вариантах осуществления SEQ ID NO: 3 могут быть замещены 2'-МОЕ нуклеозидами в одном или большем количестве положений, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 16, 18, 20, 40 или 41.

[0080] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-МОЕ нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, пятый, девятнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидином; второй, третий и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидином; четвертый и семнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозином; восемнадцатый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 17.

[0081] В некоторых вариантах осуществления первый, пятый, девятнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидином; второй, третий и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидином; четвертый и семнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозином; шестой, пятнадцатый и восемнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 19.

[0082] В некоторых вариантах осуществления второй, третий, восьмой, девятый и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидином; все тимидины в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидином; все гуанозины в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозином; все аденозины в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-(2-метоксиэтил)аденозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 21.

[0083] В других вариантах осуществления один или большее количество нуклеозидов в SEQ ID NO: 5 могут быть замещены 2'-МОЕ нуклеозидами, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 17, 19, 21, 42 или 43. В других вариантах осуществления SEQ ID NO: 5 могут быть замещены 2'-МОЕ нуклеозидами в одном или большем количестве положений, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 17, 19, 21, 42 или 43.

[0084] Описанный в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ASO включает по меньшей мере одну модифицированную межнуклеотидную связь. При использовании в настоящем изобретении "межнуклеотидная связь" означает связь между положением 3' нуклеозида и положением 5' соседнего нуклеозида. "Модифицированная межнуклеотидная связь" означает связь между положением 3' нуклеозида и положением 5' соседнего нуклеозида, который не является природным. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь включает, но не ограничивается только ими: фосфоротиоатная связь; фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфоамидатная связь, аминоалкилфосфорамидатная связь, тиофосфорамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь или боранофосфатная связь.

[0085] Описанные в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ASOs включают по меньшей мере один химически модифицированный нуклеозид и по меньшей мере одну модифицированную межнуклеотидную связь. Описанные в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ASOs включают по меньшей мере один химически модифицированный нуклеозид или по меньшей мере одну модифицированную межнуклеотидную связь.

[0086] IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать химически модифицированные нуклеозиды, включая модифицированные рибонуклеозиды и модифицированные дезоксирибонуклеозиды. Химически модифицированные нуклеозиды включают, но не ограничиваются только ими, модификации 2'-*O*-(2-метоксиэтила), например, 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозин, 2'-*O*-(2-метоксиэтил)аденозин, 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитозин, 2'-*O*-(2-метоксиэтил)уридин и 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин.

Химически модифицированные нуклеозиды также включают, но не ограничиваются только ими, модификации замкнутой нуклеиновой кислоты (LNA), 2'-*O*-метил, 2'-фтор и 2'-фтор-β-D-арабинонуклеотид (FANA). Химически модифицированные нуклеозиды, которые могут быть включены в IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, описаны в публикациях Johannes and Lucchino, (2018) "Current Challenges in Delivery and Cytosolic Translocation of Therapeutic RNAs" *Nucleic Acid Ther.* 28(3): 178-93; Rettig and Behlke, (2012) "Progress toward in vivo use of siRNAs-II" *Mol Ther* 20:483-512; и Khvorova and Watts, (2017) "The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility" *Nat Biotechnol.*, 35(3):238-48, содержания которых включены в настоящее изобретение в качестве ссылки. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к смешанным формам полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, комбинации IL-34 пептидо-нуклеиновой кислоты (PNA) и IL-34 замкнутой нуклеиновой кислоты (LNA).

[0087] IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать химические модификации, который стимулируют стабилизацию в олигонуклеотиде концевом 5'-фосфата и резистентных к фосфатазе аналогов 5'-фосфата. Химические модификации, который стимулируют стабилизацию в олигонуклеотиде концевом 5'-фосфата и являющихся резистентными к фосфатазе аналогов 5'-фосфата включают, но не ограничиваются только ими, 5'-метилфосфонат, 5'-метиленфосфонат, аналоги 5'-метиленфосфоната, 5'-*E*-винилфосфонат (5'-*E*-VP), 5'-фосфоротиоат и аналоги 5'-*C*-метила. Химические модификации, который стимулируют стабилизацию в ASO концевом 5'-фосфата и резистентных к фосфатазе аналогов 5'-фосфата, описаны в публикации Khvorova and Watts, (2017) "The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility" *Nat Biotechnol.*, 35(3):238-48, содержание которой включено в настоящее изобретение в качестве ссылки.

[0088] Описанные в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения IL-34 ASOs могут включать химически модифицированные нуклеозиды, включая 2'-*O*-метилрибонуклеозиды, например, 2'-*O*-метилцитидин, 2'-*O*-метилгуанозин, 2'-*O*-метилуридин, 2'-*O*-метилтимидин, и/или 2'-*O*-метиладенозин. IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать один или большее количество химически модифицированных нуклеозидов, где химически модифицированные нуклеозиды включают основания, включая 5-метилпиримидин, например, 5-метилцитозин и/или 5-метилпурин, например, 5-метилгуанин. IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать любой из следующих химически модифицированных нуклеозидов: 5-метил-2'-*O*-метилцитидин, 5-метил-2'-*O*-метилтимидин, 5-метилцитидин, 5-метилуридин и/или 5-метил-2'-дезоксцитидин.

[0089] Описанные в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения IL-34 ASOs включают IL-34 ASO, который включает нуклеотидную последовательность: 5'-СТСАССААГАСССАСАГ-3' (SEQ ID NO: 1), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь; 5'-



GGCTTTGGGCCCGCACCCAGCT-3' (SEQ ID NO: 2), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь; 5'-CTTTGGGCCCGCACCCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь; 5'-TGGGCCCGCACCCAGCTTCAGG-3' (SEQ ID NO: 4), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь; 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь; или 5'-TGTTTCATGTAAG-3' (SEQ ID NO: 6), где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид и/или по меньшей мере одна связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь или его фармацевтически приемлемая соль.

[0090] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления третий цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 3 может быть замещен химически модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления третий цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления нуклеозид, который не является третьим цитидином (от 5' конца) SEQ ID NO: 3 замещен химически модифицированным нуклеозидом, что дает IL-34 ASO, обладающий нуклеотидной последовательностью, не являющейся SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления третий цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 3 замещен химически модифицированным нуклеозидом, который не является 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, обладающий нуклеотидной последовательностью, не являющейся SEQ ID NO: 7.

[0091] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой химически модифицированный нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления пятый цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 5 может быть замещен химически модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления пятый цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления нуклеозид, который не является пятым цитидином (от 5' конца) SEQ ID NO: 5 замещен химически модифицированным нуклеозидом, что дает IL-34 ASO, обладающий нуклеотидной последовательностью, не являющейся SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления пятый цитидин (от 5' конца) SEQ ID NO: 5 замещен химически

модифицированным нуклеозидом, который не является 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, обладающий нуклеотидной последовательностью, не являющейся SEQ ID NO: 8.

[0092] IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, также включают IL-34 ASOs, которые включают один или большее количество LNA нуклеотиды. Например, IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, включают IL-34 ASO, который включает любую из следующих нуклеотидных последовательностей:

5'-cttTGGGCXGCACCAGCttc-3' (SEQ ID NO: 9), где с означает LNA цитидин, t означает LNA тимидин и X означает 5-метилцитидин;

5'-ctttGGGCXGCACCAGccttc-3' (SEQ ID NO: 10), где с означает LNA цитидин, t означает LNA тимидин и X означает 5-метилцитидин;

5'-cttTGGGCcgCACCAGCttc-3' (SEQ ID NO: 11), где с означает LNA цитидин, t означает LNA тимидин и g означает LNA гуанозин;

5'-cttTGGGCcGCACCAGCttc-3' (SEQ ID NO: 12), где с означает LNA цитидин и t означает LNA тимидин;

5'-ggcXGCACCAGCttc-3' (SEQ ID NO: 13), где с означает LNA цитидин, t означает LNA тимидин, g означает LNA гуанозин и X означает 5-метилцитидин;

5'-cttTGGGCXGCACcag-3' (SEQ ID NO: 14), где с означает LNA цитидин, t означает LNA тимидин, g означает LNA гуанозин, а означает LNA аденозин и X означает 5-метилцитидин; и

5'-tgaCCXGGAAGCAgtt-3' (SEQ ID NO: 15), где а означает LNA аденозин, t означает LNA тимидин, g означает LNA гуанозин и X означает 5-метилцитидин, или их фармацевтически приемлемая соль.

[0093] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой LNA. Например, в некоторых вариантах осуществления первый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен LNA цитидином; второй, третий, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен LNA тимидином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 9.

[0094] В другом варианте осуществления первый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен LNA цитидином; второй, третий, четвертый, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен LNA тимидином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 10.

[0095] В другом варианте осуществления первый, девятый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен LNA цитидином; второй, третий, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен LNA тимидином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен LNA

гуанозином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 11.

[0096] В еще одном варианте осуществления первый, девятый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен LNA цитидином; и второй, третий, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен LNA тимидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 12.

[0097] В других вариантах осуществления один или большее количество нуклеозидов в SEQ ID NO: 3 могут быть замещены LNA нуклеотидами, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 9, 10, 11 или 12. В других вариантах осуществления SEQ ID NO: 3 могут быть замещены LNA нуклеотидами в одном или большем количестве положений, не теми, которыми замещены в любой SEQ ID NO: 9, 10, 11 или 12.

[0098] В предпочтительных вариантах осуществления IL-34 ASO включает 2'-МОЕ нуклеозиды и последовательность IL-34 ASO представляет собой одну, выбранную из группы, состоящей из следующих:

5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>G<sub>x</sub>GGCXGCACCAG<sub>x</sub>C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 16), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин;

5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GACCXGGAAGC<sub>x</sub>A<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 17), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин и X означает 5-метилцитидин;

5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>G<sub>x</sub>G<sub>x</sub>G<sub>x</sub>G<sub>x</sub>GCXGCACCAX<sub>x</sub>G<sub>x</sub>C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 18), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин и X означает 5-метилцитидин;

5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>T<sub>x</sub>G<sub>x</sub>ACCXGGAAG<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 19), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин и X означает 5-метилцитидин;

5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>G<sub>x</sub>G<sub>x</sub>G<sub>x</sub>C<sub>x</sub>XG<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>G<sub>x</sub>C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 20), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин и X означает 5-метилцитидин; и

5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>T<sub>x</sub>G<sub>x</sub>A<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>XG<sub>x</sub>G<sub>x</sub>A<sub>x</sub>A<sub>x</sub>G<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 21), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин и X означает 5-метилцитидин,

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0099] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает 2'-

ОМе нуклеозиды и последовательность IL-34 ASO представляет собой одну, выбранную из группы, состоящей из следующих:

5'-CyTuTuTuGyGGCXGCACCAGyCyTuTuCy-3' (SEQ ID NO: 22), где Cy означает 2'-*O*-метилцитидин, Tu означает 2'-*O*-метилтимидин, Gy означает 2'-*O*-метилгуанозин и X означает 5-метилцитидин; и

5'-TyCyCuAuTuGACCXGGAAGCyAuGyTuTu-3' (SEQ ID NO: 23), где Cy означает 2'-*O*-метилцитидин, Tu означает 2'-*O*-метилтимидин, Gy означает 2'-*O*-метилгуанозин, Au означает 2'-*O*-метиладенозин и X означает 5-метилцитидин,

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0100] Например, в некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-ОМе нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, семнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-метилцитидином; второй, третий, четвертый, восемнадцатый и девятнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-метилтимидином; пятый и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 3 каждый независимо замещен 2'-*O*-метилгуанозином; и девятый нуклеозид в SEQ ID NO: 3 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 22.

[0101] В других вариантах осуществления один или большее количество нуклеозидов в SEQ ID NO: 3 могут быть замещены 2'-ОМе нуклеозидами, не теми, которыми замещены в SEQ ID NO: 22. В других вариантах осуществления SEQ ID NO: 3 могут быть замещены 2'-ОМе нуклеозидами в одном или большем количестве положений, не теми, которыми замещены в SEQ ID NO: 22.

[0102] В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASO включает нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, где по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-ОМе нуклеозид. Например, в некоторых вариантах осуществления первый, пятый, девятнадцатый и двадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 (относительно 5' конца) каждый независимо замещен 2'-*O*-метилтимидином; второй, третий и шестнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-метилцитидином; четвертый и семнадцатый нуклеозиды в SEQ ID NO: 5 каждый независимо замещен 2'-*O*-метиладенозином; восемнадцатый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 2'-*O*-метилгуанозином; и десятый нуклеозид в SEQ ID NO: 5 замещен 5-метилцитидином, что дает IL-34 ASO, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 23.

[0103] В других вариантах осуществления один или большее количество нуклеозидов в SEQ ID NO: 5 могут быть замещены 2'-ОМе нуклеозидами, не теми, которыми замещены в SEQ ID NO: 23. В других вариантах осуществления SEQ ID NO: 5 могут быть замещены 2'-ОМе нуклеозидами в одном или большем количестве положений, не теми, которыми замещены в SEQ ID NO: 23.

[0104] IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать

фосфатную основную цепь, где одна или большее количество олигонуклеозидных связей представляют собой модифицированную межнуклеотидную связь. Например, описанный в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения IL-34 ASO может включать по меньшей мере одну фосфатную связь. IL-34 ASOs, описанные в настоящем изобретении, могут включать одну или большее количество модифицированных межнуклеотидных связей, выбранных из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфоамидатная связь, аминоалкилфосфоамидатная связь, тиофосфоамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боранофосфатная связь. В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASOs, описанных в настоящем изобретении, по меньшей мере одна межнуклеотидная связь нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. Например, в некоторых вариантах осуществления IL-34 ASOs, описанных в настоящем изобретении, одна, две, три или большее количество межнуклеотидных связей нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. В предпочтительных вариантах осуществления IL-34 ASOs, описанных в настоящем изобретении, все межнуклеотидные связи нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатные связи. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 ASO любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 ASO с SEQ ID NO: 3 представляют собой фосфоротиоатные связи. В другом примере в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 ASO с SEQ ID NO: 7 представляют собой фосфоротиоатные связи. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 ASO любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 ASO с SEQ ID NO: 3 представляют собой фосфоротиоатные связи. В другом примере в некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 ASO с SEQ ID NO: 7 представляют собой фосфоротиоатные связи.

[0105] Предполагается, что в некоторых вариантах осуществления раскрытый IL-34 ASO или его фармацевтически приемлемая соль, необязательно может содержать по меньшей мере одно модифицированное нуклеиновое основание, например, 5-метилцитозин, и/или по меньшей мере один метилфосфонатный нуклеотид, который находится, например, на одном из концов 5' или 3', или на обоих концах 5' и 3', или вдоль олигонуклеотидной последовательности.

[0106] Рассматриваемые IL-34 ASOs необязательно могут включать по меньшей мере один модифицированный сахар. Например, сахарным фрагментом по меньшей мере одного нуклеотида, образующего олигонуклеотид, является рибоза, в которой группу 2'-

ОН можно заменить любой группой, выбранной из группы, состоящей из следующих: OR, R, R'OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NR<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, F, Cl, Br и I (где R означает алкил или арил и R' означает алкилен).

[0107] Антисмысловые олигонуклеотиды можно сделать такими, чтобы целевая часть включенной нуклеотидной последовательности каждого антисмыслового олигонуклеотида была полностью или почти полностью комплементарна к последовательности IL-34 mRNA, или ее части; или последовательности mRNA партнера взаимодействия IL-34 или ее части. Включение таких комплементарных или почти комплементарных нуклеотидных последовательностей позволяет создать антисмысловые олигонуклеотиды с высокой степенью специфичности по отношению к данной мишени. Специфичность можно оценить путем измерения параметров, таких как константа диссоциации, или других критериев, таких как изменения уровней экспрессии белка или RNA, или с помощью других анализов, в которых определяют активность или экспрессию IL-34. В некоторых вариантах осуществления IL-34 ASOs, раскрытые в настоящем изобретении, являются ингибиторами IL-34.

[0108] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, комплементарные к IL-34 или его части, раскрытые в настоящем изобретении, являются ингибиторами IL-34, включающими IL-34 малые интерферирующие RNAs (siRNAs).

[0109] Малые интерферирующие (siRNAs) представляют собой двухцепочечные молекулы RNA, содержащие примерно 20-25 пар оснований (но которые также могут содержать, например, 18-30 пар оснований), которые используют RNAi-интерференцию (например, Drosha и RISC) для связывания с mRNA и воздействия на нее. Для экспрессии siRNAs не зависят от плазмид или векторов и обычно могут доставляться прямо в целевую клетку, например, с помощью трансфекции. IL-34 siRNAs являются последовательностями двухцепочечной RNA, которые включают последовательность RNA, комплементарную к последовательности IL-34 mRNA, и которые предупреждают трансляцию белка IL-34.

[0110] В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNA содержит 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 20-25, 20-30 или 25-30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNA содержит 20-25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNA содержит не более 20, 25 или 30 нуклеотидов.

[0111] В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанные в настоящем изобретении, включают siRNAs, которые включают нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43, например, нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NOs: 1-8, или их фармацевтически приемлемая соль.

[0112] В некоторых вариантах осуществления IL-34 включает модифицированные нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество цитидинов заменены 5-метилцитидином.

[0113] В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанные в настоящем изобретении, могут включать фосфатную основную цепь, где одна или большее количество олигонуклеозидных связей представляют собой модифицированную межнуклеотидную

связь. Например, в некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанные в настоящем изобретении, может включать по меньшей мере одну фосфатную связь. IL-34 siRNAs, описанные в настоящем изобретении, могут включать одну или большее количество модифицированных межнуклеотидных связей, выбранных из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфороамидатная связь, аминоалкилфосфороамидатная связь, тиофосфороамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боронофосфатная связь. В некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанных в настоящем изобретении, по меньшей мере одна межнуклеотидная связь нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. Например, в некоторых вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанных в настоящем изобретении, одна, две, три или большее количество межнуклеотидных связей нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. В предпочтительных вариантах осуществления IL-34 siRNAs, описанных в настоящем изобретении, все межнуклеотидные связи нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатные связи. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 siRNAs любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 siRNAs SEQ ID NO: 3 представляют собой фосфоротиоатные связи. В другом примере в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 siRNAs SEQ ID NO: 7 представляют собой фосфоротиоатные связи. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 siRNAs любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 siRNAs SEQ ID NO: 3 представляют собой фосфоротиоатные связи. В другом примере в некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей IL-34 siRNAs SEQ ID NO: 7 представляют собой фосфоротиоатные связи.

[0114] Пептидо-нуклеиновые кислоты (PNAs) являются короткими, искусственно синтезированными полимерами со структурой, которая имитирует DNA или RNA. PNAs включают основную цепь, состоящую из повторяющихся звеньев N-(2-аминоэтил)-глицин, связанных пептидными связями. IL-34 PNAs, описанные в настоящем изобретении, можно использовать в качестве антисмысловых терапевтических средств, которые связываются с последовательностями IL-34 RNA с высокой специфичностью и ингибируют экспрессию гена IL-34.

[0115] Замкнутые нуклеиновые кислоты (LNAs) являются олигонуклеотидными последовательностями, которые включают один или большее количество модифицированных нуклеотидов RNA, в которых рибозный фрагмент модифицирован

дополнительным мостиком, связывающим 2' кислород и 4' углерод. Полагают, что LNAs обладают более высокими  $T_m$ , чем аналогичные олигонуклеотидные последовательности. IL-34 LNAs, описанные в настоящем изобретении, можно использовать в качестве антисмысловых терапевтических средств, которые связываются с последовательностями IL-34 RNA с высокой специфичностью и ингибируют экспрессию гена IL-34.

[0116] Морфолиновые олигомеры являются олигонуклеотидами, которые включают основания DNA, присоединенные к основной цепи метилморфолиновых колец, связанных через фосфородиамидатные группы. Морфолиновые олигомеры, предлагаемые в настоящем изобретении, можно сделать связывающимися с последовательностями рассматриваемой конкретной RNA (например, последовательностями рассматриваемой IL-34 mRNA или IL-34 pre-mRNA) и тем самым предупреждать экспрессию гена. IL-34 морфолиновые олигомеры, описанные в настоящем изобретении, можно использовать в качестве антисмысловых терапевтических средств, которые связываются с последовательностями IL-34 RNA с высокой специфичностью и ингибируют экспрессию гена IL-34. IL-34 морфолиновые олигомеры, описанные в настоящем изобретении, также можно использовать для связывания последовательностей IL-34 pre-mRNA, изменения сплайсинга IL-34 pre-mRNA и экспрессии гена IL-34.

[0117] Малые шпильчатые RNAs (shRNAs) обычно представляют собой молекулы RNA со шпилькообразной структурой, которые можно использовать для подавления экспрессии гена. shRNAs обычно экспрессируются из плазмид, кодирующих последовательность shRNA, и могут экспрессироваться из вирусных векторов для обеспечения экспрессии лентивирусов, аденовирусов или аденоассоциированных вирусов. Если не ограничиваться теорией, то предполагается, что shRNA ингибируют экспрессию гена путем использования процессов интерференции RNA (RNAi). Вкратце, транскрипт shRNA обрабатывают с помощью Drosha и Dicer и затем вводят в RNA-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC), обеспечивая воздействие на специфическую mRNA и разложение mRNA или подавление трансляции белка. IL-34 shRNAs, описанные в настоящем изобретении, могут ингибировать экспрессию гена IL-34.

[0118] MicroRNAs (miRNAs) представляют собой малые некодирующие молекулы RNA, содержащие примерно 22 нуклеотида, которые действуют в подавлении экспрессии RNA и посттранскрипционной регуляции экспрессии гена. miRNAs включают последовательности, которые комплементарны к частям последовательности mRNA. miRNAs образуются из длинных одноцепочечных молекул RNA, обладающих высокоспецифичными структурами стебель-петля. Искусственные miRNAs получают путем замены зрелой 21 нуклеотидной последовательности последовательностей природной miRNA 21 нуклеотидными последовательностями мишени, например, мишени IL-34 mRNA.

[0119] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, комплементарный к IL-34 или его части, описанный в настоящем изобретении, может включать химические модификации, который стимулируют стабилизацию в олигонуклеотиде концевое 5'-



фосфата и резистентных к фосфатазе аналогов 5'-фосфата. Химические модификации, который стимулируют стабилизацию в олигонуклеотиде концевом 5'-фосфата и являющихся резистентными к фосфатазе аналогов 5'-фосфата включают, но не ограничиваются только ими, 5'-метилфосфонат, 5'-метиленфосфонат, аналоги 5'-метиленфосфоната, 5'-*E*-винилфосфонат (5'-*E*-VP), 5'-фосфоротиоат и аналоги 5'-*C*-метила. Химические модификации, которые промотируют стабилизацию ASO концевом 5'-фосфата и резистентных к фосфатазе аналогов 5'-фосфата, описаны в публикации Khvorova and Watts, (2017) "The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility" *Nat Biotechnol.*, 35(3):238-48, содержание которой включено в настоящее изобретение в качестве ссылки.

[0120] Описанные в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, могут включать химически модифицированные нуклеозиды, например, 2'-*O*-метилрибонуклеозиды, например, 2'-*O*-метилцитидин, 2'-*O*-метилгуанозин, 2'-*O*-метилуридин, 2'-*O*-метилтимидин, и/или 2'-*O*-метиладенозин. Полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, описанные в настоящем изобретении, могут включать одно или большее количество химически модифицированных оснований, включая 5-метилпиримидин, например, 5-метилцитозин, и/или 5-метилпуридин, например, 5-метилгуанин. Полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, описанные в настоящем изобретении, могут включать любой из следующих химически модифицированных нуклеозидов: 5-метил-2'-*O*-метилцитидин, 5-метил-2'-*O*-метилтимидин, 5-метилцитидин, 5-метилуридин, и/или 5-метил-2'-дезоксцитидин.

[0121] 2'-ОМе нуклеотиды естественным образом содержатся в tRNA и других малых RNAs. Включение 2'-ОМе нуклеотидов в олигонуклеотидные последовательности предупреждает разложение нуклеазы и увеличивает устойчивость к гидролизу. Включение модификации 2'-ОМе в олигонуклеотиды обычно повышает  $T_m$  дуплексов RNA-RNA на 1-4°C в пересчете на одно включение.

[0122] Введение группы 2'-МОЕ обычно повышает  $T_m$  полученного олигонуклеотида примерно на 1,1°C и повышает стойкость к разложению нуклеазой. Кроме того, 2'-МОЕ олигомеры часть используются в гЭПмерах для сохранения опосредуемого с помощью RNase H разложения цепей целевой mRNA.

[0123] Полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, описанные в настоящем изобретении, могут включать фосфатную основную цепь, где одна или большее количество олигонуклеозидных связей представляют собой фосфатную связь. Полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, описанные в настоящем изобретении, могут включать модифицированную олигонуклеотидную основную цепь, где одна или большее количество нуклеозидных связей нуклеотидной последовательности, выбраны из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная

связь, фосфоамидатная связь, аминоалкилфосфоамидатная связь, тиофосфоамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боранофосфатная связь. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотидов, комплементарных к IL-34 или его части, описанных в настоящем изобретении, по меньшей мере одна межнуклеотидная связь нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. Например, в некоторых вариантах осуществления полинуклеотидов, комплементарных к IL-34 или его части, описанных в настоящем изобретении, одна, две, три или большее количество межнуклеотидных связей нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотидов, комплементарных к IL-34 или его части, описанных в настоящем изобретении, все межнуклеотидные связи нуклеотидной последовательности представляют собой фосфоротиоатные связи. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. В некоторых вариантах осуществления одна или большее количество нуклеотидных связей полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 представляют собой фосфоротиоатные связи. Например, IL-34 siRNA, описанный в настоящем изобретении, может включать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или большее количество фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах осуществления все нуклеотидные связи IL-34 siRNA любой из SEQ ID NOs: 1-8 представляют собой фосфоротиоатные связи.

#### Аутоиммунное и воспалительное заболевание

[0124] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания, включающие введение полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части (например, ASOs, соответствующей SEQ ID NO: 40-43 или его фармацевтически приемлемой соли). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эффективное количество раскрытого полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмысловый олигонуклеотид, можно вводить нуждающемуся в нем пациенту для лечения воспалительного заболевания, например, для ингибирования выработки воспалительного цитокина в клетках пациента, страдающего от воспалительного заболевания, и/или для уменьшения или подавления опосредуемого с помощью IL-34 воспалительного ответа. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы лечения воспалительных нарушений, связанных с активностями IL-34 у нуждающегося в нем пациента, включающие введение пациенту антисмыслового соединения, раскрытого в настоящем изобретении.

[0125] "Воспалительное заболевание" при использовании в настоящем изобретении означает целый ряд острых и хронических воспалительных нарушений, включая, но не ограничиваясь только ими, следующие: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный

артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление (например, периодонтит), пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки (например, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак), заболевание коронарной артерии, синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание.

[0126] Ревматоидный артрит (RA) характеризуется хроническим синовиальным воспалением, поражающим несколько суставов, которое вызывает воспаление, опухание и боль вокруг суставов. При отсутствии лечения RA может привести к поражению хряща в суставе и эрозии кости вокруг поврежденного хряща и приводит к внесуставным поражениям. RA также может поражать другие ткани организма и привести к осложнениям в органах, таких как кожа, рот, легкие, сердце и глаза. В некоторых вариантах осуществления уровни IL-34 повышены у пациентов с активным RA и по данным экспериментальных моделей воспалительного артрита.

[0127] Настоящее изобретение относится к способам лечения, уменьшения опасности развития или задержки начала ревматоидного артрита у нуждающегося в нем субъекта, включающим введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части) или содержащей его фармацевтической композиции.

[0128] Остеоартрит (OA) представляет собой дегенеративное заболевание сустава и характеризуется заболеванием части или всего сустава, включая синовиальный фиброз и воспаление. OA связан с клиническими симптомами боли, гипералгезии и ригидности. Прогрессирование OA может ускорять патологические изменения синовиальной оболочки.

[0129] Настоящее изобретение относится к способам лечения, уменьшения опасности развития или задержки начала остеоартрита или синовиального фиброза у нуждающегося в нем субъекта, включающим введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части) или содержащей его фармацевтической композиции.

[0130] В некоторых вариантах осуществления предлагаются способы лечения повреждения кожи, связанного с волчанкой, у нуждающегося в нем пациента, включающие введение раскрытого полинуклеотида или содержащей его фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления лечение повреждения кожи, связанного с волчанкой, включает по меньшей мере один эффект, выбранный из группы, состоящей из следующих: уменьшение количества повреждений кожи, снижение скорость образования повреждений кожи и уменьшение тяжести повреждений кожи. Предлагаются способы лечения волчанки и/или волчаночного нефрита у страдающего от него пациента, которые включают введение раскрытого полинуклеотида или содержащей его фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления предлагаются способы замедления прогрессирования патологического состояния почек, связанного с волчанкой.

[0131] Настоящее изобретение относится к способам лечения, уменьшения опасности развития или задержки начала CNS воспалительного заболевания у нуждающегося в нем субъекта, включающим введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части) или содержащей его фармацевтической композиции. CNS воспалительное заболевание, которое можно лечить таким образом, включает рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS) и болезнь Паркинсона.

[0132] Настоящее изобретение также относится к способам лечения, уменьшения опасности развития или задержки начала аутоиммунного заболевания у нуждающегося в нем субъекта, включающим введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части) или содержащей его фармацевтической композиции. Способы включают лечение субъекта с аутоиммунным заболеванием или опасностью его развития. Аутоиммунные заболевания, которые можно лечить таким образом, включают ревматоидный артрит, остеоартрит, паучит, диабет типа I, астма, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD) и идиопатический фиброз легких.

#### Воспалительная болезнь кишечника

[0133] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения воспалительной болезни кишечника у нуждающегося в нем пациента, включающие введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, такой как SEQ ID NO: 40-43, или его фармацевтически приемлемой соли) или содержащей его фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы, включающие введение раскрытого соединения. "Воспалительная болезнь кишечника" при использовании в настоящем изобретении означает целый ряд хронических воспалительных заболеваний, включая следующие: болезнь Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, гастроуденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еюноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии. Болезнь Крона и язвенный колит являются двумя наиболее распространенными формами воспалительной болезни кишечника. Воспалительные болезни кишечника представляют собой аутоиммунные заболевания пищеварительной системы. Болезнь Крона может быть локализована в любом отделе желудочно-кишечного тракта, включая конечную часть подвздошной кишки и может поражать все типы клеток желудочно-кишечного тракта. Язвенный колит локализован в ободочной кишке и прямой кишке и поражает только клетки слизистой оболочки.

[0134] Воспалительная болезнь Крона характеризуется аномальным иммунным

ответом, который вызывает чрезмерное желудочно-кишечное воспаление. Воспалительная болезнь Крона чаще всего поражает стенки кишечника, включая участки тонкой и/или толстой кишки, например, подвздошную кишку и ободочную кишку. Воспалительная болезнь Крона также связана с развитием плотной и опухшей ткани, а также язв. Мутации в генах, которые играют роль в функционировании иммунной системы (например, NOD2, ATG16L1, IL23R и IRGM), связаны с болезнью Крона, как и в генах, связанных с истинной аутофагией.

[0135] Болезнь Крона с фиброзными стриктурами является формой болезни Крона, которая включает образование фиброзных поражений/фиброзных стриктур желудочно-кишечного тракта. Фиброзные стриктуры чаще связаны с болезнью Крона подвздошной кишки, а не ободочной кишки. Воспаление обычно предшествует развитию стриктур. Стриктуры могут быть связаны с любым из следующих симптомов: спазмы в животе, боль в животе, вздутие и опухание живота, потеря аппетита, усталость, тошнота, рвота и констипация. У более 50% пациентов, которые страдают от болезни Крона, наблюдается фиброзно-стеноз.

[0136] Фиброзные стриктуры связаны с экспрессией рецептора IL-17A поверхности клетки и увеличенной выработкой коллагена, включая коллаген субтипов I, III и V. Фиброзные стриктуры также связаны с одновременным образованием фистул. Стриктуры гистологически характеризуются наличием смеси воспалительных и мезенхимальных клеток с осаждением избытка внеклеточного матрикса (ECM). Активированные мезенхимальные клетки кишечника, накапливают компоненты ECM, включая фибронектин и коллаген (например, коллаген типов III и IV). Неупорядоченная пролиферация гладких мышц и осаждение избытка ECM, видимо, изменяют механические характеристики стенозированного кишечника, что приводит к увеличенной ригидности и сужению кишечника, связанному с фиброзными стриктурами. Наличие фиброзных стриктур приводит к аномалиям ткани кишечника в слизистых, подслизистых и мышечных слоях стенки кишечника.

[0137] В некоторых вариантах осуществления клеткой является интестинальная клетка, например, интестинальная стромальная клетка, интестинальная эпителиальная клетка, интестинальная стволовая клетка, секреторная клетка, энтероцит, бокаловидная клетка, аргентаффинная клетка, клетка Панета, транзиторная амплифицирующаяся клетка, складчатая клетка, чашеобразная клетка или клетка пучка. В некоторых вариантах осуществления клетка образует часть интестинальной фиброзной стриктуры. В указанных выше вариантах осуществления, субъектом может быть субъект, нуждающийся в лечении воспалительного заболевания или фиброза, например, воспалительной болезни Крона или болезни Крона с фиброзными стриктурами. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем изобретении, можно использовать для ингибирования экспрессии одного или большего количества коллагенов в клетке субъекта, например, коллагена типа I, коллагена типа II, коллагена типа III, коллагена типа IV, коллагена типа V, коллагена типа VI, коллагена типа VII, коллагена типа VIII, коллагена типа IX, коллагена

типа X, коллагена типа XI, коллагена типа XII, коллагена типа XIII, коллагена типа XIV, коллагена типа XV, коллагена типа XVI, коллагена типа XVII, коллагена типа XVIII, коллагена типа XIX, коллагена типа XX, коллагена типа XXI, коллагена типа XXII, коллагена типа XXIII, коллагена типа XXIV, коллагена типа XXV, коллагена типа XXVI, коллагена типа XXVII, коллагена типа XXVIII или коллагена типа XXIX. Например, в вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, коллаген представляет собой COL1A1, COL1A2II, COL2A1, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6, COL5A1, COL5A2, COL5A3, COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL6A5, COL7A1, COL8A1, COL8A2, COL9A1, COL9A2, COL9A3, COL10A1, COL11A1, COL11A2, COL12A1, COL13A1, COL14A1, COL15A1, COL16A1, COL17A1, COL18A1, COL19A1, COL20A1, COL21A1, COL22A1, COL23A1, COL24A1, COL25A1, EMID2, COL27A1, COL28A1 или COL29A1. В предпочтительных вариантах осуществления коллаген представляет собой COL1A1 (коллаген 1A), COL3A1 (коллаген 3A) или их смесь.

[0138] Предполагается, что факторы окружающей среды и генетические факторы играют роль в воспалительных болезнях кишечника, хотя природа таких факторов хорошо не изучена. Компоненты окружающей среды могут включать изменения флоры кишечника, на которую влияет воздействие проглоченной еды и лекарственных средств.

[0139] Воспалительные болезни кишечника связаны с симптомами, включающими боль в животе, рвота, диарея, аноректальное кровотечение, сильные судороги, мышечные спазмы, потеря массы, недостаточное питание, лихорадка, анемия, повреждения кожи, боль в суставах, воспаление глаз, печеночные нарушения, артрит, гангренозная пиодермия, первичный склерозирующий холангит и синдром нетиреоидных заболеваний и лечение этих симптомов с использованием раскрытого антисмыслового соединения также входит в один варианте осуществления, например, лечение ребенка, страдающего от язвенного колита, который также может страдать от дефектов развития.

#### Интестинальный фиброз

[0140] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения интестинального фиброза у нуждающегося в нем пациента, включающие введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, такой как SEQ ID NO: 40-43, или его фармацевтически приемлемой соли) или содержащей его фармацевтической композиции. Интестинальный фиброз обычно обусловлен реакцией ткани кишечника на воспаление, такое как хроническое воспаление, вызванное воспалительной болезнью кишечника (IBD). При IBD повышенные уровни SMAD7 блокируют экспрессию противовоспалительного гена, опосредуемую активацией пути TGF- $\beta$  и фосфорилированием Smad2/3. Миофибробласты, подвергнутые воздействию усиленных сигналов TGF- $\beta$ , вырабатывают увеличенные количества коллагена. В контексте болезни Крона стойкое и хроническое воспаление промотирует фиброзные процессы, приводящие к образованию стриктур, включая стриктуры в тонкой кишке и в ободочной кишке.

[0141] Интестинальный фиброз можно выявить с помощью целого ряда методик

визуализации, таких как контрастная ультразвукография. См., например, Quايا *et al.* The value of small bowel wall contrast enhancement after sulfur hexafluoride-filled microbubble injection to differentiate inflammatory from fibrotic strictures in patients with Crohn's disease. *Ultrasound Med. Biol.* 38, 1324-1332 (2012); Nylund *et al.* Quantitative contrast-enhanced ultrasound comparison between inflammatory and fibrotic lesions in patients with Crohn's disease. *Ultrasound Med. Biol.* 39, 1197-1206 (2013); Stidham *et al.* Ultrasound elasticity imaging for detecting intestinal fibrosis and inflammation in rats and humans with Crohn's disease. *Gastroenterology* 141, 819-826 (2011). Также можно использовать методики MRI, такие как MRI с переносом намагниченности. См., например, Maccioni *et al.* Value of T2-weighted magnetic resonance imaging in the assessment of wall inflammation and fibrosis in Crohn's disease. *Abdom. Imaging* 37, 944-957 (2012); Adler *et al.* Magnetization transfer helps detect intestinal fibrosis in an animal model of Crohn disease. *Radiology* 259, 127-135 (2011); Pazahr *et al.* Magnetization transfer for the assessment of bowel fibrosis in patients with Crohn's disease: initial experience. *Magn. Reson. Mat. Phys. Biol. Med.* 26, 291-301 (2013).

#### Фиброз

[0142] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения фиброза у нуждающегося в нем пациента, включающие введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, такой как SEQ ID NO: 40-43, или его фармацевтически приемлемой соли) или содержащей его фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раскрыты способы предупреждения или лечения фиброза, такого как фиброз печени, фиброз легких, синовиальный фиброз, и/или интестинальный фиброз, образуют часть настоящего изобретения. Например, предлагается способ предупреждения или лечения фиброза печени, включающий введение нуждающемуся в нем пациенту полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, раскрытого в настоящем изобретении. Альтернативно, предлагается способ предупреждения или лечения интестинального фиброза, включающий введение нуждающемуся в нем пациенту полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, раскрытого в настоящем изобретении. Альтернативно, предлагается способ предупреждения или лечения фиброза легких, включающий введение нуждающемуся в нем пациенту полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, раскрытого в настоящем изобретении. Альтернативно, предлагается способ предупреждения или лечения синовиального фиброза, включающий введение нуждающемуся в нем пациенту полинуклеотида, комплементарного к IL-34, или его части, раскрытого в настоящем изобретении.

[0143] У пациентов, которых лечат указанным выше способом, может быть или не быть обнаруживаемый фиброз. В некоторых вариантах осуществления у пациента происходит составляющее не менее примерно 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или даже 50% или более уменьшение степени фиброза после введения IL-34 антисмыслового олигонуклеотида, например, через 1 день, 2 дня, 1 неделю, 1 месяц или 6 месяцев или более.

Введение такого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, можно проводить, например, не реже одного раза в сутки. Соединение можно вводить перорально. Задержка клинического проявления фиброза у пациента вследствие введения полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, раскрытого в настоящем изобретении, может составлять, например, не менее 6 месяцев, 1 года, 18 месяцев или даже 2 двух или более по сравнению с пациентом, которому не вводили полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, такой как раскрытый в настоящем изобретении.

[0144] У нуждающегося в лечении пациента может быть фиброз печени, который развился в цирроз. Пациенты с опасностью возникновения фиброза печени могут включать пациентов с гепатитом В, гепатитом С или неалкогольным стеатогепатитом (NASH). NASH входит в спектр неалкогольной жировой инфильтрации печени, включая стеатоз и цирроз. NASH является компонентом метаболического синдрома, который характеризуется ожирением, сахарным диабетом типа 2 и дислипидемией и в конечном счете может привести к печеночно-клеточной карциноме.

[0145] Также предлагаются способы лечения нарушений, связанных с фиброзом печени, такие как лечение по меньшей мере одной из следующих: некоторые болезни накопления и врожденные нарушения метаболизма, такие как альфа 1-антитрипсиновая недостаточность, болезни накопления меди (например, болезнь Вильсона), фруктоземия, галактоземия, болезни накопления гликогена (например, типов III, IV, VI, IX и X), синдромы перегрузки железом (например, гемохроматоз), липидные аномалии (например, болезнь Гоше), пероксисомные нарушения (например, синдром Целлвегера) и тирозинемия; бактериальные инфекции (например, бруцеллез); паразитарные инфекции (например, эхинококкоз); NASH; вирусные инфекции (например, гепатит В или гепатит С, включая хронический гепатит В или С); синдром Бадда - Киари; сердечная недостаточность; венозноокклюзивное заболевание печени; и тромбоз воротной вены. Также рассматриваются способы лечения врожденного фиброза печени. Композицию можно вводить перорально.

[0146] Злоупотребление лекарственными средствами и/или алкоголем связано со случаями фиброза печени. В настоящем изобретении рассмотрены способы лечения фиброза печени у пациента со злоупотреблением лекарственным средством и/или алкоголем в анамнезе. Например, у пациента со злоупотреблением по меньшей мере одним из следующих в анамнезе: алкоголь, амиодарон, хлорпромазин, изониазид, метотрексат, метилдопа, оксифенизатин и толбутамид.

[0147] Пациенты с опасностью возникновения интестинального фиброза могут включать пациентов, у которых имеется язвенный колит, воспалительная болезнь кишечника или болезнь Крона. Пациенты с опасностью возникновения заболевания также могут включать пациентов с диагностированной в раннем возрасте болезнью Крона или колитом, распространенными или тяжелыми заболеваниями ободочной кишки, пациентов, у которых имеется первичный склерозирующий холангит, и/или пациентов у которых



имеется рак в семейном анамнезе.

[0148] Также предлагаются способы лечения нарушений, связанных с интестинальным фиброзом, такие как лечение по меньшей мере одной из следующих: язвенный колит, воспалительная болезнь кишечника или болезнь Крона.

[0149] В настоящем изобретении рассмотрены способы предупреждения или лечения фиброза почек, фиброза сердца, эндомикардиального фиброза, идиопатического фиброза легких, синовиального фиброза, миелофиброза, ретроперитонеального фиброза или нефрогенного системного фиброза, включающие введение нуждающемуся в нем пациенту фармацевтического препарата, содержащего полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, такого как ПЛ-34 антисмысловой олигонуклеотид, раскрытый в настоящем изобретении.

[0150] Полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, предлагаемый в настоящем изобретении, включая, например, ПЛ-34 ASOs, можно использовать по отдельности или в комбинации с любым другим, где по меньшей мере два полинуклеотида, комплементарных к ПЛ-34 или его части, предлагаемые в настоящем изобретении, используют вместе в одной композиции или в качестве части режима лечения. Полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно использовать в комбинации с другими лекарственными средствами для лечения злоупотребления лекарственным средством и/или алкоголем, фиброза почек, фиброза сердца, эндомикардиального фиброза, идиопатического фиброза легких, миелофиброза, ретроперитонеального фиброза или нефрогенного системного фиброза, злоупотребления лекарственным средством и/или алкоголем.

#### Рак

[0151] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака у нуждающегося в нем пациента, включающие введение раскрытого полинуклеотида (например, полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34, или его части, такой как SEQ ID NO: 40-43, или его фармацевтически приемлемой соли) или содержащей его фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления раком может быть первичный рак или метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой любой рак, который включает клетки, экспрессирующие ПЛ-34 с аномальным уровнем. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой любой рак, который связан с измененной экспрессией ПЛ-34, например, увеличенной экспрессией ПЛ-34.

#### Лечение и исследование

[0152] "Пациент" или "субъект", описанный в настоящем изобретении, означает любое животное с опасностью возникновения воспалительного и/или фиброзного заболевания, страдающее от него или у которого оно диагностировано, включая, но не ограничиваясь только ими, млекопитающих, приматов и людей. В некоторых вариантах осуществления пациентом может быть млекопитающее, не являющееся человеком, такое как, например, кошка, собака или лошадь. Пациентом может быть индивидуум, у которого

диагностирована высокая опасность возникновения воспалительного и/или фиброзного заболевания, кто-то, у которого диагностировано воспалительное и/или фиброзное заболевание, кто-то, который ранее страдал от воспалительного и/или фиброзного заболевания, или индивидуум, у которого установлены симптомы или признаки воспалительного и/или фиброзного заболевания, например, сигнал экспрессии IL-34.

[0153] "Нуждающийся в лечении пациент" при использовании в настоящем изобретении означает пациента, страдающего от любого из симптомов или проявлений воспалительного и/или фиброзного заболевания, пациента, который может страдать от любого из симптомов или проявлений воспалительного и/или фиброзного заболевания, или любого пациента, для которого может быть польза от способа, предлагаемого в настоящем изобретении, для лечения воспалительного и/или фиброзного заболевания. Нуждающийся в лечении пациент может включать пациента, у которого диагностирована опасность возникновения воспалительного и/или фиброзного заболевания, пациента, который ранее страдал от воспалительного и/или фиброзного заболевания, или пациента, которого ранее лечили от воспалительного и/или фиброзного заболевания. Особенно важны индивидуумы, которые страдают от воспалительного и/или фиброзного заболевания, связанного с повышенными уровнями экспрессии или активности IL-34.

[0154] Термины "лечить", "лечение" и т. п. при использовании в настоящем изобретении обычно означают обеспечение желательного фармакологического и/или эффекта. Эффект может быть профилактическим в плане полного или частичного предупреждения заболевания или его симптома и/или может быть терапевтическим в плане полного или частичного излечения заболевания и/или неблагоприятного эффекта, отнесенного к заболеванию. Термин "лечение" при использовании в настоящем изобретении включает любое лечение заболевания у млекопитающего, в частности, у человека и включает: (a) предупреждение возникновения заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого пока не диагностировано его наличие; (b) подавление заболевания, т. е. предупреждение увеличения тяжести и масштаба заболевания; (c) ослабление заболевания, т. е. обеспечение полного или частичного улучшения протекания заболевания; или (d) предупреждение рецидива заболевания, т. е. предупреждение возврата заболевания в активное состояние после предшествующего успешного лечения симптомов заболевания или лечения заболевания.

[0155] "Эффективное количество" или "фармацевтически эффективное количество" при использовании в настоящем изобретении означает количество средства, которое достаточно для по меньшей мере частичного лечения патологического состояния при введении пациенту. Терапевтически эффективное количество меняется в зависимости от тяжести патологического состояния, пути введения компонента и возраста, массы тела и т. п. подвергающегося лечению пациента. Соответственно, эффективное количество раскрытого IL-34 антисмыслового олигонуклеотида представляет собой количество IL-34 антисмыслового олигонуклеотида, необходимого для лечения воспалительного и/или фиброзного заболевания у пациента, так что введение средства предупреждает

возникновение воспалительного и/или фиброзного заболевания у субъекта, предупреждает прогрессирование воспалительного и/или фиброзного заболевания (например, предупреждает начало или увеличение тяжести симптомов воспалительной болезни кишечника, таких как аноректальное кровотечение, анемия или желудочно-кишечное воспаление) или ослабляет или полностью улучшает некоторые или все связанные с этим симптомы воспалительного и/или фиброзного заболевания, например, вызывает регрессию заболевания.

[0156] Эффективность лечения можно оценить путем оценки общих симптомов, связанных с воспалительным и/или фиброзным заболеванием, анализа гистологических характеристик ткани, биохимического анализа, методик визуализации, таких как, например, магнитно-резонансная визуализация или других известных методик. Например, эффективность лечения можно оценить путем анализа общих симптомов заболевания, таких как изменения боли в животе, рвота, диарея, аноректальное кровотечение, спазмы, мышечные спазмы, потеря массы, недостаточное питание, лихорадка, анемия или другие аспекты общей патологии, связанные с воспалительным заболеванием, после введения раскрытого IL-34 антисмыслового олигонуклеотида пациенту, страдающему от воспалительного заболевания.

[0157] Эффективность лечения также можно оценить на уровне ткани или клеточном уровне, например, путем проведения биопсии ткани (например, биопсии желудочно-кишечной ткани) и исследования общей морфологии ткани или клеток, или характеристик окрашивания. Биохимические анализы, с помощью которых изучают экспрессию белка или RNA, также можно использовать для оценки эффективности лечения. Например, можно определить уровни IL-34, IL-6, IL-8, TNF-альфа или другого белка, или генного продукта воспалительного и/или фиброзного заболевания, выработку воспалительного цитокина или опосредуемого с помощью IL-34 воспалительного ответа в диссоциированных клетках или недиссоциированной ткани с помощью иммуноцитохимической, иммуногистохимической методики, вестерн-блоттинга или нозерн-блоттинга или методики, применимой для определения уровней RNA, такой как количественная или полуколичественная полимеразная цепная реакция. Также можно определить наличие или уровень экспрессии соответствующих биомаркеров, находящихся в фекалиях, плазме или сыворотке для оценки патологического состояния и эффективности лечения.

[0158] При оценке эффективности лечения для проверки достоверности можно выбрать подходящие контроли. Например, можно сопоставить симптомы, установленные у пациента с воспалительным и/или фиброзным заболеванием после введения раскрытого полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмыслового олигонуклеотида, с симптомами у того же пациента до лечения или на ранней стадии курса лечения или у другого пациента, у которого не диагностировано воспалительное и/или фиброзное заболевание. Альтернативно, можно сопоставить результаты биохимического или гистологического анализа желудочно-кишечной ткани после введения раскрытого полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмыслового

олигонуклеотида, с данными для желудочно-кишечной ткани того же пациента или индивидуума, у которого не диагностировано воспалительное и/или фиброзное заболевание или того же пациента до введения полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части. Кроме того, можно сопоставить пробы крови, сыворотки, клеток или фекалий после введения полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмыслового олигонуклеотида, с сопоставимыми пробами индивидуума, у которого не диагностировано воспалительное и/или фиброзное заболевание или того же пациента до введения полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части.

[0159] Проверку достоверности ингибирования IL-34 можно провести путем прямой или косвенной оценки уровней экспрессии или активности IL-34. Например, биохимические анализы, с помощью которых определяют экспрессию белка IL-34 или RNA, можно использовать для оценки общего ингибирования IL-34. Например, можно определить уровни белка IL-34 в желудочно-кишечной ткани с помощью вестерн-блоттинга для оценки общих уровней IL-34. Также можно определить уровни IL-34 mRNA с помощью нозерн-блоттинга или количественной полимеразной цепной реакции для оценки общего ингибирования IL-34. Также можно определить уровни белка IL-34 или уровни другого белка, характерного для активности передачи сигналов IL-34 в диссоциированных клетках, недиссоциированной ткани, крови, сыворотке или фекалиях с помощью иммуноцитохимической, иммуногистохимической методики.

[0160] Ингибирование IL-34 также можно оценить косвенно путем измерения таких параметров, как генерация или пролиферация макрофагов или моноцитов, или измерения изменений других параметров, коррелирующих с изменениями активности IL-34, включая фосфорилирование киназы MAP, и других индикаторов активации передачи сигналов рецептора IL-34 - рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSFR-1, также известный, как MCSFR-1, M-CSFR1 и CSF1R). Например, можно определить уровни фосфорилирования активного MAPK1 или MAPK3 в клетках пациента, которого лечили раскрытым полинуклеотидом, комплементарным к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмысловым олигонуклеотидом, в качестве индикации активности IL-34 в клетках. Также можно определить наличие или уровень экспрессии соответствующих биомаркеров, находящихся в плазме, крови, фекалиях или ткани для оценки эффективности ингибирования IL-34.

[0161] Способы лечения, раскрытые в настоящем изобретении, включают способы подавления выработки воспалительного цитокина. "Выработка воспалительного цитокина" означает экспрессию цитокинов, которые иницируют и/или промотируют ответ воспалительного цитокина. "Ответ воспалительного цитокина" означает иммунный ответ, который можно охарактеризовать рекрутментом гранулоцитов, рекрутментом лимфоцитов, системным воспалением (в особенности желудочно-кишечного тракта или его отдела или отделов), лихорадкой, разрушением ткани, шоком и/или смертью. Ответ воспалительного цитокина можно охарактеризовать связыванием отдельных цитокинов с рецептором поверхности родственно клетки (например, связыванием IL-34 с CSF1R) и последующими

каскадами внутриклеточных сигналов, которые изменяют функции клетки и экспрессию гена. Воспалительные цитокины включают, но не ограничиваются только ими IL-1, IL-6, IL-8, IL-34 и TNF-альфа. Экспрессия воспалительных цитокинов может происходить, например, в макрофагах, моноцитах, мононуклеарных клетках собственной слизистой оболочки или других клетках желудочно-кишечного тракта или клетках иммунной системы. Способы подавления выработки воспалительного цитокина включают способы, которые уменьшают уровни экспрессии некоторых или всех воспалительных цитокинов у пациента, страдающего от воспалительного заболевания. Способы подавления выработки воспалительного цитокина также включают способы, которые уменьшают уровни экспрессии некоторых или всех воспалительных цитокинов в клетках пациента, страдающего от воспалительного заболевания.

[0162] Способы подавления выработки воспалительного цитокина, предлагаемые в настоящем изобретении, включают способы уменьшения или подавления опосредуемого с помощью IL-34 воспалительного ответа. "Опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ" при использовании в настоящем изобретении означает воспалительный ответ, инициируемый, облегчаемый или промотируемый экспрессией IL-34 или сигнальной активностью IL-34. Опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ может привести к экспрессии воспалительных цитокинов, включая, но не ограничиваясь только ими, IL-34, IL-6, IL-8 или TNF-альфа, и активации передачи сигналов воспалительных цитокинов. Кроме того, опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ можно охарактеризовать рекрутментом гранулоцитов, рекрутментом лимфоцитов, системным воспалением (в особенности желудочно-кишечного тракта или его отдела или отделов), лихорадкой, разрушением ткани, шоком и/или смертью. Опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ также можно охарактеризовать активацией передачи сигналов IL-34, например, связыванием IL-34 с CSF1R и фосфорилированием последующих киназ MAP. Уменьшение или подавление опосредуемого с помощью IL-34 воспалительного ответа означает уменьшение любого или всех системных изменений, связанных с опосредуемым с помощью IL-34 воспалительным ответом. Например, уменьшение выработки воспалительных цитокинов, рекрутмента иммунных клеток или воспаления ткани указывает на уменьшение или подавление опосредуемого с помощью IL-34 воспалительного ответа.

[0163] Настоящее изобретение также относится к способам ингибирования IL-34 в клетках пациента, страдающего от воспалительного и/или фиброзного заболевания. IL-34 можно ингибировать в любой клетке, в которой проявляется экспрессия или активность IL-34, включая клетки желудочно-кишечного тракта, иммунной системы и крови. Клетки желудочно-кишечного тракта (включая клетки стенки кишечника, желудка, двенадцатиперстной кишки, тощей кишки, толстой кишки, тонкой кишки, подвздошной кишки, ободочной кишки, прямой кишки и анального канала), включают эпителиальные клетки ободочной кишки, интестинальные стромальные клетки, эпителиальные клетки слизистой оболочки, зимогенные клетки, слизистые шеечные клетки, париетальные клетки,

гастринные клетки, бокаловидные клетки, клетки Панета, олигослизистые клетки и ворсинчатые абсорбирующие клетки. Клетки иммунной системы включают лейкоциты, фагоциты (например, макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки), моноциты, мастоциты, эозинофилы, базофилы, натуральные киллерные клетки, неспецифические иммунные клетки, лимфоциты, В клетки и Т клетки. Клетки крови включают красные кровяные клетки (эритроциты) и белые кровяные клетки (лейкоциты, моноциты и тромбоциты).

#### Фармацевтические композиции и пути введения

[0164] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются фармацевтические композиции, включающие полинуклеотиды, комплементарные к ПЛ-34 или его части, раскрытые в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемую соль, и/или фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

[0165] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ПЛ-34 антисмысловый олигонуклеотид (ASO). В некоторых вариантах осуществления ПЛ-34 ASO представляет собой гэпмер ASO. В некоторых вариантах осуществления ПЛ-34 ASO гэпмер включает один или большее количество 2'-МОЕ нуклеозиды. В некоторых вариантах осуществления последовательность ПЛ-34 ASO представляет собой одну, выбранную из группы, состоящей из следующих:

5'-СхТхТхТхGGGCXGCACCAGСхТхТхСх-3' (SEQ ID NO: 40), где Сх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин;

5'-СхТхТхТхTGGGCXGCACCAGCTхТхСх-3' (SEQ ID NO: 41), где Сх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин;

5'-ТхСхСхАхTGACCXGGAAGCAхGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 42), где Сх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)цитидин, Ах означает 2'-О-(2-метоксиэтил)аденозин, Тх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин; и

5'-ТхСхСхATGACCXGGAAGCAGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 43), где Сх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-О-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин.

[0166] При использовании в настоящем изобретении термин "фармацевтическая композиция" означает, например, смесь, содержащую заданное количество терапевтического соединения, например, терапевтически эффективное количество, терапевтического соединения в фармацевтически приемлемом инертном наполнителе для введения млекопитающему, например, человеку, для лечения воспалительного и/или фиброзного заболевания.

[0167] В некоторых вариантах осуществления раскрытая фармацевтическая композиция применима для лечения или предупреждения воспалительного заболевания

(например, ревматоидного артрита или остеоартрита). В некоторых вариантах осуществления раскрытая фармацевтическая композиция применима для лечения или предупреждения фиброзного заболевания. В некоторых вариантах осуществления раскрытая фармацевтическая композиция применима для лечения или предупреждения рака.

[0168] При использовании в настоящем изобретении "фармацевтически приемлемый инертный наполнитель" означает вещество, которое содействует введению и/или всасыванию активного средства у субъекта и может быть включено в композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, без проявления значительного вредного токсикологического воздействия на пациента. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых инертных наполнителей включают воду, NaCl, нормальные физиологические растворы, такие как забуференный фосфатом физиологический раствор, эмульсии (например, такие как эмульсии масло/вода или вода/масло), лактат Рингера, нормальная сахароза, нормальная глюкоза, связующие, наполнители, разрыхлители, смазывающие вещества, покрытия, подсластители, вкусовые добавки, растворы солей (такие как раствор Рингера), спирты, масла, желатины, углеводы, такие как лактоза, амилоза или крахмал, эфиры жирных кислот, гидроксиметилцеллюлоза, поливинилпирролидин и красители и т. п. Такие препараты можно стерилизовать и при желании смешать со вспомогательными агентами, такими как смазывающие вещества, консерванты, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, соли для изменения осмотического давления, буферы, окрашивающие и/или ароматические вещества и т. п., которые не вступают в нежелательную реакцию с полинуклеотидом, комплементарным к IL-34 или его части, предлагаемым в настоящем изобретении. Примеры инертных наполнителей см. в Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA (1975).

[0169] В одном варианте осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию можно вводить одним или разными путями, в том числе внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально. Термин парентеральный при использовании в настоящем изобретении включает подкожные инъекции, введение в поджелудочную железу, методики внутривенной, внутримышечной, внутривнутрибрюшинной, надчревной инъекции или вливания. В некоторых вариантах осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию вводят внутрисуставно. В некоторых вариантах осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию вводят ректально. В некоторых вариантах осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию вводят подкожно. В некоторых вариантах осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления раскрытый полинуклеотид или содержащую его фармацевтическую композицию можно вводить непосредственно в желудочно-кишечную систему или конкретные отделы

желудочно-кишечной системы (такие как, подвздошная кишка, ободочная кишка или прямая кишка) путем парентерального введения.

[0170] Фармацевтические композиции, содержащие полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, раскрытые в настоящем изобретении, можно предоставить в разовой дозированной форме и можно приготовить по любой подходящей методике. Фармацевтическую композицию следует приготовить совместимой с назначенным путем введения. Подходящие препараты можно получить по методикам, хорошо известным в области фармацевтики. Например, см. *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed. (Mack Publishing Company, 1990).

[0171] Фармацевтические препараты, например, являются стерильными. Стерилизацию можно провести, например, фильтрованием через стерильные фильтрующие мембраны. Если композицию лиофилизируют, стерилизацию фильтрованием можно провести до или после лиофилизации и восстановления.

#### Парентеральное введение

[0172] Фармацевтические композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, можно приготовить для парентерального введения, например, приготовить для инъекции внутривенным, внутримышечным, подкожным, проводимым внутрь пораженных тканей путем. Приготовление водной композиции, такой как водная фармацевтическая композиция, содержащая раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, известно специалистам в данной области техники в свете настоящего изобретения. Обычно такие композиции можно приготовить в виде форм для инъекции в виде жидких растворов или суспензий; также можно приготовить твердые формы, пригодные для приготовления растворов или суспензий путем добавления жидкости до инъекции; и препараты также можно эмульгировать.

[0173] Фармацевтические формы, пригодные для инъекции, включают стерильные водные растворы или дисперсии; препараты, включающие кунжутное масло, арахисовое масло или водный раствор пропиленгликоля; и стерильные порошки для приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекции для немедленного введения. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой в той степени, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна быть стабильной при условиях приготовления и хранения и должна быть защищена от загрязняющего воздействия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы.

[0174] Растворы активных соединений в виде свободного основания или фармакологически приемлемых солей можно получить в воде, соответствующим образом смешанной с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии также можно получить в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях, и в маслах. Кроме того, стерильные нелетучие масла можно использовать в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для этого можно использовать любое светлое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновую кислоту, можно использовать для приготовления форм для



инъекции. Стерильный препарат для инъекции также может представлять собой стерильный раствор, суспензию или эмульсию для инъекции в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых разбавителей и растворителей, которые можно использовать, входят вода, раствор Рингера U.S.P. и изотонический раствор хлорида натрия. В одном варианте осуществления раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, можно суспендировать в жидком носителе или инертном наполнителе, содержащем 1% (мас./об.) натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и 0,1% (об./об.) TWEEN™ 80. При обычных условиях хранения и применения эти препараты содержат консервант для предупреждения роста микроорганизмов.

[0175] Препараты для инъекции, например, стерильные водные или масляные суспензии для инъекции можно приготовить в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Обычно дисперсии готовят путем включения разных стерилизованных активных ингредиентов в стерильный носитель, который содержит основную диспергирующую среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. Стерильные растворы для инъекции, предлагаемые в настоящем изобретении, можно получить путем включения раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, в необходимое количество подходящего растворителя, при необходимости вместе с разными другими ингредиентами, перечисленными выше, с последующей стерилизацией фильтрованием. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекции, предпочтительными методиками приготовления являются методики вакуумной сушки и сушки вымораживанием, что дает порошок активного ингредиента с добавлением любого дополнительного желательного ингредиента из ранее полученного стерилизацией фильтрованием его раствора. Препараты для инъекции можно стерилизовать, например, фильтрованием через удерживающий бактерии фильтр.

[0176] Также предусмотрено приготовление более или менее концентрированных растворов для внутримышечной инъекции. Для этого предпочтительно использовать DMSO в качестве растворителя, поскольку это приводит к чрезвычайно быстрому проникновению, доставке обладающего высокой концентрацией раскрытого ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида на небольшой участок.

[0177] Подходящие консерванты для применения в таком растворе включают бензалконийхлорид, бензэтонийхлорид, хлорбутанол, тимеросал и т. п. Подходящие буферы включают борную кислоту, бикарбонат натрия и калия, и борат натрия и калия, карбонат натрия и калия, ацетат натрия, бифосфат натрия и т. п. в количествах, достаточных для поддержания pH равным примерно от pH 6 до pH 8 и например, примерно от pH 7 до pH 7,5. Подходящие агенты, регулирующие тоничность, включают декстран 40, декстран 70, декстозу, глицерин, хлорид калия, пропиленгликоль, хлорид натрия и т. п., так что эквивалентное содержание хлорида натрия в растворе находится в диапазоне 0,9±0,2%.

Подходящие антиоксиданты и стабилизаторы включают бисульфит натрия, метабисульфит натрия, тиосульфит натрия, тиомочевину и т. п. Подходящие смачивающие и осветляющие агенты включают полисорбат 80, полисорбат 20, полоксамер 282 и тилоксапол. Подходящие увеличивающие вязкость агенты включают декстран 40, декстран 70, желатин, глицерин, гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксиметилпропилцеллюлозу, ланолин, метилцеллюлозу, вазелиновое масло, полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, карбоксиметилцеллюлозу и т. п.

#### Пероральное введение

[0178] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рассмотрены композиции подходящие для пероральной доставки раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, таблетки, которые включают энтеросолюбильное покрытие, например, стойкое к воздействию желудочного сока покрытие, так что композиции могут доставить полинуклеотид, например, в желудочно-кишечный тракт пациента. Например, такое введение может привести к местному воздействию, в основном местному введению полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, непосредственно в пораженный отдел желудочно-кишечного тракта пациента. Такое введение в некоторых вариантах осуществления может в основном исключить нежелательное системное всасывание полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части.

[0179] Например, предложена таблетка для перорального введения, которая содержит гранулы (например, по меньшей мере частично состоит из гранул), которая включает раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмысловой олигонуклеотид, например, антисмысловой олигонуклеотид, который включает нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 и фармацевтически приемлемые инертные наполнители. На такую таблетку можно нанести энтеросолюбильное покрытие. Рассматриваемые таблетки могут включать фармацевтически приемлемые инертные наполнители, такие как наполнители, связующие, разрыхлители и/или смазывающие вещества, а также окрашивающие агенты, разделительные агенты, агенты для нанесения покрытия, подсластители, вкусовые вещества, такие как экстракт винтергрена, апельсина, ксилит, сорбит, фруктоза и мальтодекстрин и отдушки, консерванты и/или антиоксиданты.

[0180] В некоторых вариантах осуществления рассматриваемые фармацевтические препараты включают внутригранулярную фазу, которая включает раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмысловой олигонуклеотид, например, антисмысловой олигонуклеотид, который включает нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NOs: 1-23 или SEQ ID NOs: 40-43 и фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый наполнитель. Например, раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмысловой олигонуклеотид и наполнитель можно смешать, необязательно, с другими инертными наполнителями и сформировать в гранулы. В некоторых вариантах

осуществления внутригранулярную фазу можно сформировать с помощью мокрого гранулирования, например, с добавлением жидкости (например, воды) к смеси полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, и наполнителя и затем комбинацию сушат, размалывают и/или просеивают и получают гранулы. Специалист в данной области техники должен понимать, что для приготовления внутригранулярной фазы можно использовать другие методики.

[0181] В некоторых вариантах осуществления рассматриваемые препараты включают внегранулярную фазу, которая может включать один или большее количество фармацевтически приемлемых инертных наполнителей и которую можно смешать с внутригранулярной фазой с получением раскрытого препарата.

[0182] Раскрытый препарат может включать внутригранулярную фазу, которая включает наполнитель. Типичные наполнители включают, но не ограничиваются только ими, целлюлозу, желатин, фосфат кальция, лактозу, сахарозу, глюкозу, маннит, сорбит, микрокристаллическую целлюлозу, пектин, полиакрилаты, декстрозу, ацетат целлюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозу, частично предварительно желатинизированный крахмал, карбонат кальция и др., включая их комбинации.

[0183] В некоторых вариантах осуществления раскрытый препарат может включать внутригранулярную фазу и/или внегранулярную фазу, которая включает связующее, которое обычно может действовать для удерживания вместе ингредиентов фармацевтического препарата. Типичные связующие, предлагаемые в настоящем изобретении, могут включать, но не ограничиваются только ими, следующие: крахмалы, сахара, целлюлозу или модифицированную целлюлозу, такую как гидроксипропилцеллюлоза, лактоза, предварительно желатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза низкой степени замещения, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, гидроксисахара и др., включая их комбинации.

[0184] Рассматриваемые препараты, например, которые включают внутригранулярную фазу и/или внегранулярную фазу, могут включать разрыхлитель, такой как но не ограничиваясь только ими, крахмал, целлюлоза, сшитый поливинилпирролидон, натриевая соль гликолята крахмала, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, альгинаты, кукурузный крахмал, натриевая соль кроскармелозы, сшитая карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза низкой степени замещения, камедь акации и др., включая их комбинации. Например, внутригранулярная фаза и/или внегранулярная фаза может включать разрыхлитель.

[0185] В некоторых вариантах осуществления рассматриваемый препарат включает внутригранулярную фазу, включающую раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмысловый олигонуклеотид и инертные наполнители выбраны из числа следующих: маннит, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза и натриевая соль гликолята крахмала или их комбинации,

и внегранулярную фазу, включающую одну или большее количество из следующих: микрокристаллическая целлюлоза, натриевая соль гликолята крахмала и стеарат магния или их смеси.

[0186] В некоторых вариантах осуществления рассматриваемый препарат может включать смазывающее вещество, например, внегранулярная фаза может включать смазывающее вещество. Смазывающие вещества включают, но не ограничиваются только ими, тальк, диоксид кремния, жиры, стеарин, стеарат магния, фосфат кальция, диоксид кремния, силикат кальция, фосфат кальция, коллоидный диоксид кремния, стеараты металлов, гидрированное растительное масло, кукурузный крахмал, бензоат натрия, полиэтиленгликоли, ацетат натрия, стеарат кальция, лаурилсульфат натрия, хлорид натрия, лаурилсульфат магния, тальк и стеариновую кислоту.

[0187] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический препарат содержит энтеросолюбильное покрытие. Обычно энтеросолюбильные покрытия образуют барьер для перорального лекарственного средства, который регулирует положение, в котором лекарственное средство всасывается в пищеварительном тракте. Энтеросолюбильные покрытия могут включать полимер, который разлагается с разными скоростями в соответствии с pH. Энтеросолюбильные покрытия могут включать например, ацетат-фталат целлюлозы, сополимеры метилакрилат-метакриловая кислота, ацетат-сукцинат целлюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, сополимеры метилметакрилат-метакриловая кислота, сополимеры этилакрилат-метакриловая кислота, сополимер метакриловой кислоты типа C, поливинилацетат-фталат и ацетат-фталат целлюлозы.

[0188] Типичные энтеросолюбильные покрытия включают марки Opadry<sup>®</sup> AMB, Акрил-EZE<sup>®</sup>, Eudragit<sup>®</sup>. В некоторых вариантах осуществления энтеросолюбильное покрытие может составлять от примерно 5% до примерно 10%, от примерно 5% до примерно 20%, от 8 до примерно 15%, от примерно 8% до примерно 20%, от примерно 10% до примерно 20% или от примерно 12 до примерно 20%, или примерно 18% от массы рассматриваемой таблетки. Например, энтеросолюбильные покрытия могут включать сополимер этилакрилат-метакриловая кислота.

[0189] Например, в рассмотренном варианте осуществления предлагается таблетка, которая содержит или в основном состоит из от примерно 0,5% до примерно 70%, например, от примерно 0,5% до примерно 10% или от примерно 1% до примерно 20 мас.% раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида или его фармацевтически приемлемой соли. Такая таблетка может содержать например, от примерно 0,5% до примерно 60 мас.% маннита, например, от примерно 30% до примерно 50 мас.% маннита, например, примерно 40 мас.% маннита; и/или от примерно 20% до примерно 40 мас.% микрокристаллической целлюлозы или от примерно 10% до примерно 30 мас.% микрокристаллической целлюлозы. Например, раскрытая таблетка может содержать внутригранулярную фазу, которая содержит от примерно 30% до примерно 60%, например, от примерно 45% до примерно 65 мас.% или, альтернативно, от примерно 5 до примерно 10 мас.% раскрытого полинуклеотида,

комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, от примерно 30% до примерно 50% или, альтернативно, от примерно 5% до примерно 15 мас.% маннита, от примерно 5% до примерно 15% микрокристаллической целлюлозы, от примерно 0% до примерно 4% или от примерно 1% до примерно 7% гидроксипропилметилцеллюлозы и от примерно 0% до примерно 4%, например, от примерно 2% до примерно 4 мас.% натриевой соли гликолята крахмала.

[0190] В другом рассмотренном варианте осуществления фармацевтический препарат таблетки для перорального введения раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, включает внутригранулярную фазу, где внутригранулярная фаза включает раскрытый полинуклеотид, комплементарный к ПЛ-34 или его части, или его фармацевтически приемлемую соль (такую как натриевая соль) и фармацевтически приемлемый наполнитель и который также может включать внегранулярную фазу, которая может включать фармацевтически приемлемый инертный наполнитель, такой как разрыхлитель. Внегранулярная фаза может включать компоненты, выбранные из числа следующих: микрокристаллическая целлюлоза, стеарат магния и их смеси. Фармацевтическая композиция также может включать энтеросолюбильное покрытие, составляющее примерно от 12% до 20 мас.% от массы таблетки. Например, фармацевтически приемлемая таблетка для перорального применения может содержать примерно от 5% до 10 мас.% раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида или его фармацевтически приемлемой соли, примерно от 30% до 50 мас.% маннита, примерно от 10% до 30 мас.% микрокристаллической целлюлозы и энтеросолюбильное покрытие, включающее сополимер этилакрилат-метакриловая кислота.

[0191] В другом примере фармацевтически приемлемая таблетка для перорального введения может включать внутригранулярную фазу, содержащую от примерно 5 до примерно 10 мас.% раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида, или его фармацевтически приемлемой соли, примерно 40 мас.% маннита, примерно 8 мас.% микрокристаллической целлюлозы, примерно 5 мас.% гидроксипропилметилцеллюлозы и примерно 2 мас.% натриевой соли гликолята крахмала; внегранулярную фазу, содержащую примерно 17 мас.% микрокристаллической целлюлозы, примерно 2 мас.% натриевой соли гликолята крахмала, примерно 0,4 мас.% стеарата магния; и энтеросолюбильное покрытие на таблетке, включающее сополимер этилакрилат-метакриловая кислота.

[0192] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может включать энтеросолюбильное покрытие, содержащее примерно 13% или примерно 15%, 16%, 17% или 18 мас.%, например, AcyrLEZE® (см., например, PCT Publication No. WO2010/054826, которая во всей своей полноте включена в настоящее изобретение в качестве ссылки).

[0193] Скорость, с которой растворяется покрытие и высвобождается активный

ингредиент является скоростью растворения. В одном варианте осуществления рассматриваемая таблетка может обладать профилем растворения, например, при исследовании с помощью аппарата USP/EP типа 2 (лопастного) при 100 об/мин и 37°C в фосфатном буфере при pH, равном 7,2, состоящим от примерно 50% до примерно 100% полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, высвобождающегося через период времени, составляющий от примерно 120 мин до примерно 240 мин, например, через 180 мин. В другом варианте осуществления рассматриваемая таблетка может обладать профилем растворения, например, при исследовании с помощью аппарата USP/EP типа 2 (лопастного) при 100 об/мин и 37°C в разбавленной HCl при pH, равном 1,0, при котором через 120 мин полинуклеотид, комплементарный к IL-34 или его части, в основном не высвобождается. В другом варианте осуществления рассматриваемая таблетка может обладать профилем растворения, например, при исследовании с помощью аппарата USP/EP типа 2 (лопастного) при 100 об/мин и 37°C в фосфатном буфере при pH, равном 6,6, состоящим от примерно 10% до примерно 30% или не более примерно 50% полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, высвобождающегося через 30 мин.

[0194] Рассматриваемые препараты, например, таблетки, в некоторых вариантах осуществления при пероральном введении пациенту могут привести в плазме пациента к минимальной концентрации полинуклеотида, комплементарного к IL-34 или его части, например, IL-34 антисмыслового олигонуклеотида. В другом варианте осуществления раскрытые препараты при пероральном введении пациенту местно доставляются в ободочную кишку или прямую кишку пациента, например, в пораженную или больную область пациента.

[0195] В некоторых вариантах осуществления способы, предлагаемые в настоящем изобретении, дополнительно могут включать введение по меньшей мере одного другого средства, которое предназначено для лечения заболеваний и нарушений, раскрытых в настоящем изобретении. В одном варианте осуществления рассматриваемое другое средство можно вводить совместно (например, последовательно или одновременно).

[0196] Рассматриваемые средства включают иммуносупрессорные средства, включая глюкокортикоиды, цитостатики, антитела, средства, действующие на иммунофилины, интерфероны, опиоиды, связывающие TNF белки, микофенолят и малые биологические средства. Например, рассматриваемые иммуносупрессорные средства включают, но не ограничиваются только ими, следующие: такролимус, циклоспорин, пимекролимус, сиролимус, эверолимус, микофеноловая кислота, финголимод, дексаметазон, флударабин, циклофосфамид, метотрексат, азатиоприн, лефлуномид, терифлуномид, анакинра, антитимоцитарный глобулин, антилимфоцитарный глобулин, муромонаб-CD3, афутузумаб, ритуксимаб, теплизумаб, эфализумаб, даклизумаб, базиликсимаб, адалимумаб, инфликсимаб, цертолизумаб пэгол, натализумаб и этанерцепт. Другие рассматриваемые средства включают антибиотики, средства против диареи, слабительные, обезболивающие средства, добавки железа и добавки кальция или витамин

D или B-12.

#### Дозировка и частота введения

[0197] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются типичные дозировки фармацевтических композиций для применения для лечения фиброза, например, фиброза легких, синовиального фиброза или кишечинального фиброза у нуждающегося в нем пациента, включающего введение полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34, или его части, например, ПЛ-34 антисмысловой композиции (например, ASOs, содержащих SEQ ID NO: 40-43, или их фармацевтически приемлемой соли). Типичные препараты включают дозированные формы, которые включают или в основном состоят из от примерно 35 мг до примерно 500 мг раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида. Например, в настоящем изобретении рассмотрены препараты, которые включают примерно 35 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг, 140 мг, 150 мг, 160 мг, 170 мг, 180 мг, 190 мг, 200 мг или 250 мг раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида. В одном варианте осуществления препарат может включать примерно 40 мг, 80 мг или 160 мг раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления препарат может включать не менее 100 мкг раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида. Например, препараты могут включать примерно 0,1 мг, 0,2 мг, 0,3 мг, 0,4 мг, 0,5 мг, 1 мг, 5 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг или 25 мг раскрытого полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, например, ПЛ-34 антисмыслового олигонуклеотида. Вводимое количество зависит от таких переменных, как тип и тяжесть подвергающегося лечению заболевания или показания, общее состояние здоровья и размер пациента, активности *in vivo* полинуклеотида, комплементарного к ПЛ-34 или его части, фармацевтического препарата и пути введения. Начальную дозу можно увеличить до превышающей верхнее предельное значение для быстрого установления желательного уровня в крови или уровня в ткани. Альтернативно, начальная доза может быть меньше оптимальной и дозу можно непрерывно повышать в течение курса лечения. Дозу для человека можно оптимизировать, например, в обычном исследовании в фазе I с повышением дозы от 40 мг до 160 мг. Частота введения может меняться в зависимости от таких факторов, как путь введения, вводимое количество и подвергающееся лечению заболевание. Типичные частоты введения составляют один раз в сутки, один раз в неделю и один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления проводят введение один раз в сутки в течение 7 дней.

#### Способы диагностики

[0198] Настоящее изобретение также относится к способам диагностики пациента с воспалительным и/или фиброзным заболеванием, которые основаны на определении уровней сигнала экспрессии ПЛ-34 в одном или большем количестве биологических образцов пациента. При использовании в настоящем изобретении термин "сигнал

экспрессии IL-34" означает любой показатель экспрессии гена IL-34 или активности гена или генного продукта. Генные продукты IL-34 включают RNA (например, mRNA), пептиды и белки. Показатели экспрессии гена IL-34, которые можно оценить, включают, но не ограничиваются только ими, состояние гена IL-34 или хроматина, взаимодействие гена IL-34 с компонентами клетки, которые регулируют экспрессию гена, уровни экспрессии генного продукта IL-34 (например, уровни экспрессии IL-34 RNA, уровни экспрессии белка IL-34) или взаимодействие IL-34 RNA или белка с транскрипционной, трансляционной или пост-трансляционной системой. Показатели активности генного продукта IL-34 включают, но не ограничиваются только ими, оценку сигнальной активности IL-34 (например, оценку активации CSF1R или фосфорилирования MAPK1/MAPK3) и оценку связывания рецептора IL-34 (например, связывания CSF1R).

[0199] Регистрацию сигнала экспрессии IL-34 можно провести по методикам *in vivo*, *in vitro* или *ex vivo*. В предпочтительном варианте осуществления способы, предлагаемые в настоящем изобретении, можно провести *in vitro*. Методики регистрации могут включать регистрацию в крови, сыворотке, фекалиях, ткани или клетках пациента. Регистрацию можно провести путем измерения сигнала экспрессии IL-34 в цельной ткани, эксплантатах ткани, клеточных культурах, диссоциированных клетках, клеточных экстрактах или жидкостях организма, включая кровь или сыворотку. Рассматриваемые методики регистрации включают анализы, при которых определяют уровни экспрессии генного продукта IL-34, такие как вестерн-блоттинг, FACS, ELISA, другие количественные анализы связывания, анализы роста ткани или клеток, нозерн-блоттинг, количественная или полуколичественная полимеразная цепная реакция, методики медицинской визуализации (например, MRI) или методики иммунного окрашивания (например, иммуногистохимическая или иммуноцитохимическая).

#### Перечень типичных вариантов осуществления

[0200] Настоящее изобретение дополнительно описано с помощью следующих неограничивающих типичных вариантов осуществления:

Вариант осуществления 1. Полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность в соответствии с:

а. 5'-CTTTGGGCCGACACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3) или

б. 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5),

где по меньшей мере один цитидин нуклеотидной последовательности химически модифицирован и по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-МОЕ) нуклеозид;

или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 2. Полинуклеотид по варианту осуществления 1, где не более 10 нуклеозидов химически модифицированы.

Вариант осуществления 3. Полинуклеотид по варианту осуществления 1 или 2, включающий шесть 2'-МОЕ нуклеозидов.

Вариант осуществления 4. Полинуклеотид по варианту осуществления 1 или 2,



включающий восемь 2'-МОЕ нуклеозидов.

Вариант осуществления 5. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-4, включающий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих:

a. 5'-СхТхТхТхGGGCXGCACCAGСхТхТхСх-3' (SEQ ID NO: 40), где Сх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин;

b. 5'-СхТхТхTGGGCXGCACCAGCTхТхСх-3' (SEQ ID NO: 41), где Сх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин и Х означает 5-метилцитидин;

c. 5'-ТхСхСхАхTGACCXGGAAGCAхGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 42), где Сх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, Ах означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)аденозин, Тх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин; и

d. 5'-ТхСхСхATGACCXGGAAGCAGхТхТх-3' (SEQ ID NO: 43), где Сх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)цитидин, Тх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)тимидин, Gх означает 2'-*O*-(2-метоксиэтил)гуанозин и Х означает 5-метилцитидин;

или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 6. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-5, где полинуклеотид комплементарен к IL-34.

Вариант осуществления 7. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-6, где полинуклеотид представляет собой IL-34 антисмысловой олигонуклеотид.

Вариант осуществления 8. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-7, где полинуклеотид представляет собой IL-34 siRNA.

Вариант осуществления 9. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-8, где по меньшей мере одна межнуклеотидная последовательность полинуклеотида выбрана из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфороамидатная связь и аминоалкилфосфороамидатная связь, тиофосфороамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боранофосфатная связь.

Вариант осуществления 10. Полинуклеотид по варианту осуществления 9, где по меньшей мере одной межнуклеотидной связью полинуклеотида является фосфоротиоатная связь.

Вариант осуществления 11. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-10, где все межнуклеотидные связи полинуклеотида являются фосфоротиоатными связями.

Вариант осуществления 12. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-11, где полинуклеотид содержит 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов.

Вариант осуществления 13. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-11, где полинуклеотид содержит 20 нуклеотидов или 20-25, 20-30, 20-35, 25-30, 25-35 или 30-35 нуклеотидов.

Вариант осуществления 14. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-13, где полинуклеотид содержит не более 20, 25 или 30 нуклеотидов.

Вариант осуществления 15. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-13, где полинуклеотид содержит от 20 до 25 нуклеотидов.

Вариант осуществления 16. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-13, где полинуклеотид содержит 20 нуклеотидов.

Вариант осуществления 17. Фармацевтическая композиция, включающая (а) полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-16 или его фармацевтически приемлемую соль и (b) фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

Вариант осуществления 18. Фармацевтическая композиция по варианту осуществления 17, где фармацевтическая композиция применима для местного, парентерального, перорального, пульмонального, интратрахеального, внутриназального, чрескожного или интрадуоденального введения.

Вариант осуществления 19. Способ лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в нем пациента, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту эффективного количества полинуклеотида по любому из вариантов осуществления 1-16 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 17-18.

Вариант осуществления 20. Способ по варианту осуществления 19, где воспалительное заболевание связано с измененной экспрессией IL-34.

Вариант осуществления 21. Способ по варианту осуществления 19 или 20, где воспалительное заболевание связано с увеличенной экспрессией IL-34.

Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 19-21, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит.

Вариант осуществления 23. Способ по любому из вариантов осуществления 19-21, где воспалительным заболеванием является остеоартрит.

Вариант осуществления 24. Способ по любому из вариантов осуществления 19-23, где способ ингибирует выработку воспалительного цитокина в клетках пациента.

Вариант осуществления 25. Способ по любому из вариантов осуществления 19-24, где способ уменьшает или ингибирует опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ в клетках пациента.

Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 19-25, где способ уменьшает или ингибирует опосредуемую с помощью IL-34 передачу сигнала рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSFR-1) в клетках пациента.

Вариант осуществления 27. Способ по любому из вариантов осуществления 24-26, где клеткой является интестинальная клетка.

Вариант осуществления 28. Способ по любому из вариантов осуществления 24-26, где клеткой является интестинальная стромальная клетка.

Вариант осуществления 29. Способ по любому из вариантов осуществления 24-26, где клетка образует часть интестинальной фиброзной стриктуры.

Вариант осуществления 30. Способ уменьшения или устранения фиброзной стриктуры у пациента, страдающего от воспалительного заболевания, способ включает введение эффективного количества полинуклеотида по любому из вариантов осуществления 1-16 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 17-18.

Вариант осуществления 31. Способ по варианту осуществления 27, где фиброзная стриктура расположена в кишечнике.

Вариант осуществления 32. Способ по варианту осуществления 30 или 31, где воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии, синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание.

Вариант осуществления 33. Способ по варианту осуществления 32, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит.

Вариант осуществления 34. Способ по варианту осуществления 32, где воспалительным заболеванием является остеоартрит.

Вариант осуществления 35. Способ по варианту осуществления 32, где воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника.

Вариант осуществления 36. Способ по варианту осуществления 32, где воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, гастродуоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еуноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии.

Вариант осуществления 37. Способ по варианту осуществления 30, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона.

Вариант осуществления 38. Способ по варианту осуществления 30, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

Вариант осуществления 39. Способ предупреждения или лечения фиброза, способ

включает введение нуждающемуся в нем пациенту терапевтически эффективного количества полинуклеотида по любому из вариантов осуществления 1-16 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 17-18.

Вариант осуществления 40. Способ по варианту осуществления 39, где фиброзом является интестинальный фиброз.

Вариант осуществления 41. Способ по варианту осуществления 39, где фиброзом является фиброз легких.

Вариант осуществления 42. Способ по варианту осуществления 39, где фиброзом является синовиальный фиброз.

Вариант осуществления 43. Способ по варианту осуществления 39, где фиброз выбран из группы, состоящей из следующих: фиброз почек, фиброз сердца, эндомикардиальный фиброз, миелофиброз, ретроперитонеальный фиброз и нефрогенный системный фиброз.

Вариант осуществления 44. Способ по любому из вариантов осуществления 39-43, где пациент страдает от ревматоидного артрита.

Вариант осуществления 45. Способ по любому из вариантов осуществления 39-43, где пациент страдает от остеоартрита.

Вариант осуществления 46. Способ по любому из вариантов осуществления 39-43, где пациент страдает от болезни Крона.

Вариант осуществления 47. Способ по любому из вариантов осуществления 19-46, где полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально.

Вариант осуществления 48. Способ по варианту осуществления 47, где полинуклеотид вводят внутрисуставно.

Вариант осуществления 49. Способ по варианту осуществления 47, где полинуклеотид вводят ректально.

Вариант осуществления 50. Способ по варианту осуществления 47, где полинуклеотид вводят перорально.

Вариант осуществления 51. Применение полинуклеотида по любому из вариантов осуществления 1-17 или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания.

Вариант осуществления 52. Применение по варианту осуществления 51, где воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии или синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS

воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание.

Вариант осуществления 53. Применение по любому из вариантов осуществления 51-52, где пациент страдает от ревматоидного артрита.

Вариант осуществления 54. Применение по любому из вариантов осуществления 51-52, где пациент страдает от остеоартрита.

Вариант осуществления 55. Применение по любому из вариантов осуществления 51-52, где пациент страдает от болезни Крона.

Вариант осуществления 56. Применение по варианту осуществления 52, где воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника.

Вариант осуществления 57. Применение по варианту осуществления 56, где воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, гастроудоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еуноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии.

Вариант осуществления 58. Применение по варианту осуществления 57, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона.

Вариант осуществления 59. Применение по варианту осуществления 57, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

Вариант осуществления 60. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-17 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного средства.

Вариант осуществления 61. Полинуклеотид по варианту осуществления 60 для применения для лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в нем пациента.

Вариант осуществления 62. Полинуклеотид по варианту осуществления 61, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит или остеоартрит.

Вариант осуществления 63. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-17 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения воспалительного заболевания.

Вариант осуществления 64. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 63, где воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит, диабет (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии или синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого,

повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание.

Вариант осуществления 65. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 64, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит.

Вариант осуществления 66. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 64, где воспалительным заболеванием является остеоартрит.

Вариант осуществления 67. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 64, где воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника.

Вариант осуществления 68. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 67, где воспалительная болезнь кишечника выбрана из группы, состоящей из следующих: болезнь Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, гастроуденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еюноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит и колит неопределенной этиологии.

Вариант осуществления 69. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 68, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона.

Вариант осуществления 70. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 68, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

Вариант осуществления 71. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-17 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения фиброза.

Вариант осуществления 72. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 71, где фиброзом является интестинальный фиброз.

Вариант осуществления 73. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 71, где фиброзом является фиброз легких.

Вариант осуществления 74. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 71, где фиброзом является синовиальный фиброз.

Вариант осуществления 75. Полинуклеотид для применения, описанного в варианте осуществления 71, где фиброз выбран из группы, состоящей из следующих: фиброз почек, фиброз сердца, эндомиокардиальный фиброз, миелофиброз, ретроперитонеальный фиброз и нефрогенный системный фиброз.

Вариант осуществления 76. Полинуклеотид для применения, как указано в любом из вариантов осуществления 60-75, где полинуклеотид следует вводить внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально.

Вариант осуществления 77. Полинуклеотид для применения, как указано в вариантах осуществления 76, где полинуклеотид следует вводить внутрисуставно.

Вариант осуществления 78. Полинуклеотид для применения, как указано в вариантах осуществления 76, где полинуклеотид следует вводить ректально.

Вариант осуществления 79. Полинуклеотид для применения, как указано в вариантах осуществления 76, где полинуклеотид следует вводить перорально.

Вариант осуществления 80. Полинуклеотид для применения, как указано в любом из вариантов осуществления 60-79, где пациентом является человек.

#### ПРИМЕРЫ

[0201] Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующими примерами. Примеры приведены только для иллюстративных целей и их не следует считать каким-либо образом ограничивающими объем или содержание настоящего изобретения.

Пример 1: Структура и исследование IL-34 3-14-3 и 4-12-4 антисмысловых олигонуклеотидов

[0202] IL-34 антисмысловые олигонуклеотиды с SEQ ID NOs: 40-43, комплементарные к последовательностям IL-34 mRNA мыши и человека, разработаны и получены коммерческими изготовителями.

[0203] Блокирование экспрессии IL-34 исследовали в линиях клеток HT-29 человека и RAW 264.7 мыши. Клетки HT-29 (ATCC Manassas, Virginia, USA) выращивали в среде McCoy's 5A (Lonza, Verviers, Belgium) с добавлением 10% FBS, 1% P/S (все фирмы Lonza) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере. Мышинные макрофаги RAW264.7 (ATCC Manassas, Virginia, USA) выращивали в модифицированной Дульбекко среде Игла (1 г/л глюкозы) с добавлением 10% FBS, 1% P/S и 1% заменимых аминокислот (NEA) (все фирмы Lonza) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере. Линию клеток карциномы ободочной кишки мыши MC-38 (ABMGood, Richmond, Canada) выращивали в среде DMEM с добавлением 10% FBS и 1% P/S и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0204] Клетки оставляли без обработки или трансфицировали специфическим IL-34 ASO или скремблированным ASO с использованием среды Opti-MEM и реагента липофектамина 3000 (Life Technologies, Milan, Italy) в соответствии с инструкциями изготовителя. Экстрагировали всю RNA и белок.

[0205] Блокирование исследовали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном масштабе времени (RT-PCR) в клетках HT-29. RT-PCR проводили следующим образом: постоянное количество RNA (0,5 мкг/образец) ретро-транскрибировали в комплементарную DNA (cDNA). 1 мкл cDNA/образец после этого амплифицировали по следующему протоколу: денатурация в течение 1 мин при 95°C; ренатурация в течение 30 с при 60°C, затем 30 с удлинения при 72°C. Использовали следующие последовательности праймера: IL-34 прямая, 5'-ACAGGAGCCGACTTCAGTAC-3' (SEQ ID NO: 29); IL-34 обратная, 5'-ACCAAGACCCACAGATACCG-3' (SEQ ID NO: 30); β-актин прямая, 5'-AAGATGACCCAGATCATGTTTGAGACC-3' (SEQ ID NO: 31); и β-актин обратная, 5'-AGCCAGTCCAGACGCAGGAT-3' (SEQ ID NO: 32). Экспрессию mRNA рассчитывали относительно экспрессии β-актина mRNA.

[0206] Клетки HT-29 трансфицировали IL-34 ASOs человека с SEQ ID NO: 40, 41, 42 или 43, или отрицательным контролем скремблированным олигонуклеотидом (SRC AS; 5'-AACACGTCTATACGC-3' (SEQ ID NO: 33)) в течение 24 ч. Транскрипты IL-34 исследовали с помощью RT-PCR и значения нормировали на  $\beta$ -актин.

[0207] Блокирование также исследовали с помощью вестерн-блоттинга в клетках HT-29 и клетках RAW 264.7. Вестерн-блоттинг проводили следующим образом: после трансфекции клетки лизировали на льду в буфере, содержащем 10 mM HEPES (pH 7,9), 10 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 0,2 mM EGTA и 0,5% Nonidet P40 с добавлением 1 mM дитиотреитола, 10 мг/мл аprotинина, 10 мг/мл лейпептина, 1 mM фенилметилсульфонилфторида, 1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> и 1 mM NaF. Лизаты осветляли центрифугированием при 4°C, 12000×g в течение 30 мин и разделяли электрофорезом на полиакриламидном геле с использованием 10% додецилсульфата натрия. IL-34 регистрировали с использованием мышиных антител к IL-34 человека (конечное разведение 1:1000; Abcam Cambridge, UK) в комбинации с конъюгированными с пероксидазой хрена (HRP) вторичными моноклональными антителами IgG (конечное разведение 1:20000; Dako, Milan, Italy). Реакцию HRP исследовали с помощью набора для чувствительной усиленной хемилюминесценции (Pierce, Rockford, IL). После анализа пятна отделяли и исследовали с использованием мышиных антител к  $\beta$ -актину человека (конечное разведение 1:5000; Sigma-Aldrich), затем с использованием конъюгированных с HRP вторичных моноклональных антител IgG (конечное разведение 1:20000; Dako).

[0208] Блокирование IL-34 посредством IL-34 ASOs дополнительно исследовали при болезни Крона с фиброзными стриктурами и связанными с раком фибробластами. Кишечные фибробласты выделяли из эксплантатов рака ободочной кишки или CD с фиброзными стриктурами (FS CD). Использовали свежие или взятые между пассажами 3 и 8 фибробласты. Фибробласты выращивали в среде DMEM с большим содержанием глюкозы с UltraGlutamine с добавлением 10% FBS, 1% P/S (Lonza) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере. Фибробласты отделяли с использованием раствора трипсин/EDTA, исследованного для блокирования IL-34.

Пример 2: Структура и исследование IL-34 гзпмерных антисмысловых олигонуклеотидов

[0209] В этом примере описано исследование способности антисмысловых олигонуклеотидов (ASOs), комплементарных к транскриптам IL-34 mRNA, блокировать экспрессию IL-34 в HT-29 и в линиях клеток AGS желудочно-кишечного рака, а также в моноклеарных клетках собственной слизистой оболочки (LPMCs), выделенных из ткани воспаленной ободочной кишки пациентов, пораженных язвенным колитом (UC).

[0210] Получали антисмысловые олигонуклеотиды, комплементарные к транскриптам IL-34 mRNA человека, мыши, яванского макака (и других видов). Полученные ASOs представляли собой одноцепочечные олигодезоксирибонуклеотиды, которые направлялись на ту же последовательность в IL-34 mRNA и модифицированы, чтобы содержать полную фосфоротиоатную основную цепь и модификации 2'-О-



метоксиэтил (2'-МОЕ) сахара на концах 5' и 3'.

[0211] Исследовали 4 разные ASOs (SEQ ID NOs: 17, 19, 42 и 43), как описано ниже. Последовательности исследуемых ASOs приведены в таблице 1, где X=5-метилцитидин; Cx=2'-О-МОЕ цитидин; Tx:=2'-О-МОЕ тимидин; Gx=2'-О-МОЕ гуанозин; и Ax=2'-О-МОЕ аденозин.

ТАБЛИЦА 1

Seq ID NO:	Последовательность	Описание
17	5'-TxCxCxAxTxGACCXGGAAGCxAxGxTxTx-3'	5-10-5 МОЕ гэпмер
19	5'-TxCxCxAxTxGxACCXGGAAGxСxAxGxTxTx-3'	6-8-6 МОЕ гэпмер
42	5'-TxCxCxAxTGACCXGGAAGCAxGxTxTx-3'	4-12-4 МОЕ гэпмер
43	5'-TxCxCxATGACCXGGAAGCAGxTxTx-3'	3-14-3 МОЕ гэпмер

[0212] Линию клеток колоректального рака HT-29 и линию клеток рака желудка AGS (ATCC, Manassas, USA) выращивали в средах McCoy's 5A и RPMI 1640 соответственно (Lonza, Verviers, Belgium) с добавлением 10% FBS, 1% P/S (Lonza) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0213] Мононуклеарные клетки собственной слизистой оболочки (LPMCs) выделяли из биоптатов, взятых из ткани воспаленной ободочной кишки пациентов с язвенным колитом (UC), как ранее описали Dinallo et al., *J Crohns Colitis*. 2019 May 27;13(6):772-784. LPMCs повторно суспендировали в RPMI 1640 с добавлением 10% FBS, 1% P/S и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере. Для оценки способности IL-34 ASOs понижаяще регулировать экспрессию IL-34, HT-29, AGS и UC полученные у пациентов LPMCs трансфицировали исследуемым IL-34 ASOs или соответствующим контролем скремблированным антисмысловым олигонуклеотидом (все использовали в концентрации 200 нМ) в течение 24 ч с использованием среды Opti-MEM и реагента липофектамина 3000 (Life Technologies, Milan, Italy) в соответствии с инструкциями изготовителя. В конце клетки собирали и экстрагировали всю RNA с использованием набора PureLink mRNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) в соответствии с инструкциями изготовителя. Постоянное количество RNA обратно транскрибировали в комплементарную DNA (сDNA) и амплифицировали с помощью PCR в реальном масштабе времени по следующему протоколу: денатурация в течение 1 мин при 95°C; ренатурация в течение 30 с при 60°C, затем 30 с удлинения при 72°C. Использовали следующие последовательности праймера: IL-34: прямая, 5'-ACAGGAGCCGACTTCAGTAC-3' (SEQ ID NO: 29); обратная, 5'-ACCAAGACCCACAGATACCG-3'(SEQ ID NO: 30); β-актин: прямая, 5'-AAGATGACCCAGATCATGTTTGAGACC-3'(SEQ ID NO: 31); обратная, 5'-AGCCAGTCCAGACGCAGGAT-3'(SEQ ID NO: 32). Экспрессию RNA рассчитывали относительно гена "домашнего хозяйства" β-актина на основании алгоритма ΔΔCt.

[0214] На фиг. 1, фиг. 2 и фиг. 3 приведены результаты анализа транскриптов IL-34 в клетках HT-29, клетках AGS и LPMCs при условиях обработки с помощью (CTR (контроль)=скремблированный ASO) 1=SEQ ID NO: 17, 2=SEQ ID NO: 19, 3=SEQ ID NO:

42, 4=SEQ ID NO: 43. Результаты показывают, что все четыре IL-34 ASOs приводят к значительному уменьшению содержания транскриптов IL-34 RNA в клетках HT-29, клетках AGS и LPMCs по сравнению с контролем. Данные показывают, что четыре гэпмера IL-34 ASOs способны эффективно понижающе регулировать экспрессию IL-34 в клетках рака и иммунных клетках человека и могут использоваться в соответствующих доклинических и клинических условиях.

Пример 3: Блокирование экспрессии IL-34 с помощью IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов

[0215] Способность IL-34 ASOs блокировать экспрессию IL-34 исследовали в клетках HT-29 (линия клеток аденокарциномы ободочной кишки человека), клетках THP-1 (линия клеток моноцитарного лейкоза человека), клетках RAW 264.7 (линия макрофагов мыши) и клетках MC-38 (линия клеток аденокарциномы ободочной кишки мыши).

[0216] Клетки HT-29 (ATCC HTB-38, Manassas, USA) выращивали в среде McCoy's 5A и среде RPMI 1640 с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 1% пенициллин/стрептомицин (P/S) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0217] Клетки THP-1 (ATCC TIB-202) выращивали в среде RPMI 1640 с добавлением 10 FBS и 1% P/S. Для индуцирования дифференциации макрофагов клетки обрабатывали с помощью 100 нг/мл 12-миристан-13-ацетата форбола (PMA) в течение 24 ч и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0218] Клетки RAW 264.7 (ATCC TIB-71) выращивали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) с добавлением 10% FBS, 1% P/S и 1% заменимых аминокислот (NEAA) (Lonza) и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0219] Клетки MC-38 (ABMGood, Richmond, Canada) выращивали в среде DMEM с добавлением 10% FBS и 1% P/S и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0220] Клетки оставляли без обработки или трансфицировали исследуемым IL-34 ASO или контролем скремблированным ASO с использованием среды Opti-MEM и реагента липофектамина 3000 в присутствии или при отсутствии специфических провоспалительных стимулов, таких как липополисахариды (LPS), пептидогликан (PGN) и поли I:C.

[0221] Затем клетки собирали и экстрагировали всю RNA для анализов с помощью RT-qPCR, проводимых следующим образом: постоянное количество RNA ретро-транскрибировали в комплементарную DNA (cDNA). 1 мкл cDNA/образец после этого амплифицировали по следующему протоколу: денатурация в течение 1 мин при 95°C; ренатурация в течение 30 с при 60°C, затем 30 с удлинения при 72°C. Использовали следующие последовательности праймера: IL-34 прямая, 5'-ACAGGAGCCGACTTCAGTAC-3' (SEQ ID NO: 29); IL-34 обратная, 5'-ACCAAGACCCACAGATACCG-3' (SEQ ID NO: 30); β-актин прямая, 5'-AAGATGACCCAGATCATGTTTGAGACC-3' (SEQ ID NO: 31); и β-актин обратная, 5'-AGCCAGTCCAGACGCAGGAT-3' (SEQ ID NO: 32). Экспрессию mRNA рассчитывали относительно экспрессии гена "домашнего хозяйства" β-актина на основании алгоритма

ΔΔCt..

[0222] Блокирование белка IL-34 исследовали с помощью вестерн-блоттинга, проводимого следующим образом: после трансфекции клетки лизировали на льду в буфере, содержащем 10 мМ HEPES (pH 7,9), 10 мМ KCl, 0,1 мМ EDTA, 0,2 мМ EGTA и 0,5% Nonidet P40 с добавлением 1 мМ дитиотреитола, 10 мг/мл апротинина, 10 мг/мл лейпептина, 1 мМ фенилметилсульфонилфторида, 1 мМ Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> и 1 мМ NaF. Лизаты осветляли центрифугированием при 4°C, 12000×g в течение 30 мин и разделяли электрофорезом на полиакриламидном геле с использованием 10% додецилсульфата натрия. IL-34 регистрировали с использованием мышинных антител к IL-34 человека или кроличьих антител к IL-34 человека в комбинации с в комбинации с конъюгированными с пероксидазой хрена (HRP) вторичными моноклональными антителами IgG. Реакцию HRP исследовали с помощью набора для чувствительной усиленной хемилюминесценции. После анализа пятна отделяли и исследовали с использованием мышинных антител к β-актину человека, затем с использованием конъюгированных с HRP вторичных моноклональных антител IgG. Для анализа интенсивности иммунореактивных полос использовали компьютерную сканирующую денситометрию.

[0223] Трансфекция клеток с IL-34 ASOs приводит к уменьшению экспрессии IL-34 RNA и белка.

Пример 4: Блокирование экспрессии IL-34 IL-34 антисмысловыми олигонуклеотидами в кишечных фибробластах

[0224] Блокирование IL-34 с помощью IL-34 ASOs дополнительно исследовали в связанных с колоректальным раком (CRC) фибробластах и болезни Крона с фиброзными стриктурами (FS CD), образованных из фибробластов.

[0225] Кишечные фибробласты человека выделяли из эксплантатов, образованных из поврежденной ткани пациентов с CRC и FS CD и фенотипически, как описано ранее. Во всех экспериментах использовали свежие или взятые вплоть до пассажа 8 и отделяли с использованием раствора трипсин/EDTA. Фибробласты человека фибробласты выращивали в среде DMEM большим содержанием глюкозы с добавлением 10% FBS, 1% P/S и поддерживали при 37°C с 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0226] Клетки оставляли без обработки или трансфицировали исследуемым IL-34 ASO или контролем скремблированными антисмысловыми олигонуклеотидами. Экстрагировали всю RNA для анализа с использованием RT-qPCR, как описано в примере 3. IL-34 ASOs приводили к уменьшению экспрессии IL-34 RNA по сравнению с контролем.

[0227] Также исследовали влияние IL-34 ASOs на синтез коллагена в фибробластах. Вкратце, 5×10<sup>4</sup> фибробластов помещали в каждую лунку 12-луночного планшета, оставляли для адгезии на 24 ч и затем оставляли без обработки или трансфицировали исследуемым IL-34 ASO или контролем скремблированными ASOs в течение 24-48 ч. Эффективность трансфекции определяли с помощью вестерн-блоттинга. Через 48 ч не содержащие клетки надосадочные жидкости собирали и определяли содержание коллагена с помощью имеющегося в продаже набора для ELISA. IL-34 ASOs уменьшает синтез белков

COL1A1 и COL3A1 в фибробластах по сравнению с контролем.

[0228] Также исследовали влияние IL-34 ASOs на гибель клеток. Для оценки гибели клеток фибробласты промывали в PBS, окрашивали антителами FITC-аннексин V и инкубировали с 5 мг/мл PI в течение 20 мин при 4°C. Флуоресценцию исследовали проточным цитометром. Клетки AV-/PI считали жизнеспособными клетками, клетки AV+/PI считали апоптическими и вторичные омертвевшие клетки характеризовали с помощью окрашивания AV+/PI+. Трансфекция FS CD фибробластов с IL-34 ASOs не влияет на жизнеспособность клеток.

[0229] Блокирование IL-34 в фибробластах с помощью IL-34 ASOs также приводит к уменьшению выработки коллагена без значительного влияния на жизнеспособность клеток.

Пример 5: Блокирование экспрессии IL-34 с помощью IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов

[0230] Этот пример иллюстрирует блокирование экспрессии IL-34 с помощью IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов *in vitro* в линии клеток синовиальной саркомы человека SW982 и в фибробластоподобных синовиоцитах человека HFSL-RA.

[0231] Клетки SW982 выращивали в среде Leibovitz's L15 с добавлением 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS). Культуры клеток держали во влажной атмосфере, содержащей 95% воздуха и 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Их активацию индуцировали с помощью предварительной обработки в течение 24 ч с помощью 10 нг/мл TNF $\alpha$ .

[0232] Клетки HFSL-RA выращивали в наборе среды для выращивания синовиоцитов (базальная среда с добавками для роста) и поддерживали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> во влажной камере.

[0233] Клетки оставляли без обработки или трансфицировали исследуемым IL-34 ASO или контролем скремблированными антисмысловыми олигонуклеотидами. Экстрагировали всю RNA для анализа с использованием RT-qPCR, как описано в примере 3. Блокирование белка IL-34 исследовали с помощью вестерн-блоттинга, как описано в примере 3.

[0234] IL-34 ASOs приводили к уменьшению экспрессии IL-34 RNA и белка по сравнению с контролем.

Пример 6: Исследование IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов *in vivo* в модели колита

[0235] Этот пример иллюстрирует блокирование IL-34 с помощью IL-34 ASO *in vivo* в модели на мышах вызванного с помощью TNBS колита.

[0236] IL-34 ASOs растворяли в забуференном фосфатом физиологическом растворе. Для перорального введения ASOs разбавляли раствором бикарбоната pH 9,5; для *i.p.* и для ректального введения ASOs разбавляли с помощью PBS.

[0237] В модели вызванного с помощью TNBS колита использовали самок мышей Balb/c в возрасте 7-9 недель. Для индуцирования колита у мышей 2 мг 2,4,6-

тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS) в 45% этаноле вводили немного анестезированным мышам через катетер 3,5F, введенный в прямую кишку. Наконечник катетера вставляли на 4 см от края анального отверстия и 150 мкл жидкости медленно вводили в ободочную кишку, после чего мышь удерживали в вертикальном положении в течение 30 с. Через 24 ч после индуцирования с помощью TNBS мыши исследуемой группы получали исследуемое IL-34 ASO или контроль.

[0238] Для оценки индуцирования и прогрессирования колита ежедневно регистрировали изменения массы тела и ткани собирали для гистологического исследования и анализа белка. Мышей умерщвляли в день 5.

[0239] Для гистологических исследований ткани, взятые у умерщвленных мышей, фиксировали в 10% растворе формалина (Sigma Aldrich), включали в парафин, нарезали на срезы тканей и окрашивали гематоксилином и эозином. Окрашенные срезы изучали на наличие колита по разным критериям, таким как наличие инфильтрации лимфоцитов, удлинения и/или искажения крипт, явного изъязвления и утолщения стенки кишечника. Степень воспаления на срезах ободочной кишки под микроскопом разделяли на составляющую от 0 до 4 следующим образом:

0: отсутствие воспаления;

1: низкий уровень инфильтрации лимфоцитов при обнаружении инфильтрации на <10% поля зрения под большим увеличением (hpf), изменения структуры не наблюдаются;

2: умеренная инфильтрация лимфоцит лимфоцитов при обнаружении инфильтрации на <10-25% hpf, удлинение крипта, утолщение стенки кишечника, не выходящее за границу слизистого слоя;

3: высокий уровень инфильтрации лимфоцитов при обнаружении инфильтрации на <25-50% hpf, утолщение стенки кишечника, выходящее за границу слизистого слоя;

4: выраженная степень инфильтрации лимфоцитов при обнаружении инфильтрации на >50% hpf, высокая плотность сосудов, удлинение крипта с деформацией, трансмуральное утолщение стенки кишечника с изъязвлением.

[0240] После лечения с помощью IL-34 ASOs у мышей наблюдался уменьшенный колит.

Пример 7: Исследование IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов *in vivo* в модели артрита

[0241] Этот пример иллюстрирует блокирование экспрессии IL-34 с помощью IL-34 антисмысловых олигонуклеотидов IL-34 ASO *in vivo* в моделях на животных вызванного коллагеном артрита (CIA).

[0242] IL-34 ASOs растворяли в забуференном фосфатом физиологическом растворе. Для перорального введения ASOs разбавляли раствором бикарбоната pH 9,5; для *i.p* и для ректального введения ASOs разбавляли с помощью PBS.

[0243] Использовали мышей DBA/1 в возрасте 8-12 недель. Животным вводили бычий коллаген типа II коллаген, эмульгированный в полном адьюванта Фрейнда (CFA) в день 0 (0,1 мг/0,1 мл/мышь, внутрикожно (ID) в основание хвоста) и повторно вводили *i.d*.

в день 21 коллаген, эмульгированный в IFA вместо CFA (0,1 мг/0,1 мл/мышь). Животных разделяли на группы по 10 в каждой на основании объема двух задних лап в день 29. ASOs и разбавитель вводили путем внутрисуставной инъекции в разных режимах от дня 29 до дня 42. Контрольное средство дексаметазон (0,3 мг/кг) вводили перорально. Артрит оценивали путем использования качественной системы оценки тяжести и объема задних лап (мл), измеренного плетизмометром, в дни 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41 и 43. Дополнительные анализы, которые можно провести, включают отделение и взвешивание задних лап, изучение биомаркеров (белок и/или mRNA) и гистопатологию.

[0244] Альтернативно использовали самок крыс Lewis массой  $180 \pm 20$  г. Животным вводили коллаген свиного типа II с неполным адьювантом Фрейнда в день 1 (0,2 мг/0,2 мл/крыса подкожно (SC) в основание хвоста) и повторно вводили в день 7 (0,1 мг/0,1 мл/крыса, SC). Животных разделяли на группы по 6 в каждой на основании объема двух задних лап в день 16 и затем начинали введение в день 17. Контрольное средство дексаметазон (0,3 мг/кг) вводили перорально один раз в сутки в течение 14 последовательных дней от дня 17 до дня 30. ASOs и разбавитель вводили путем внутрисуставной инъекции. Артрит оценивали путем использования качественной системы оценки тяжести и объема задних лап (мл), измеренного плетизмометром, в дни 1, 7, 10, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 и 30. Дополнительные анализы, которые можно провести, включают изучение биомаркеров (белок и/или mRNA) и гистопатологию.

[0245] У животных, которых лечили с помощью IL-34 ASOs, наблюдался уменьшенный артрит.

#### ЭКВИВАЛЕНТЫ

[0246] Настоящее изобретение можно осуществить в других конкретных формах без отклонения от существенных его характеристик. Поэтому предшествующие выше варианты осуществления следует считать иллюстративными, а не ограничивающими раскрытие, описанное в настоящем изобретении. Объем настоящего изобретения указан в прилагаемой формуле изобретения, а не предшествующим описанием и в настоящее изобретение включены все изменения, входящие в значение и объем эквивалентности формулы изобретения.

#### СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

X означает 5-метилцитидин; Ax означает 2'-О-(2-метоксиэтил)аденозин; Cx означает 2'-О-(2-метоксиэтил)цитидин; Gx означает 2'-О-(2-метоксиэтил)гуанозин; Tx означает 2'-О-(2-метоксиэтил)тимидин; Ау означает 2'-О-метиладенозин; Су означает 2'-О-метилцитидин; Гу означает 2'-О-метилгуанозин; Ту означает 2'-О-метилтимидин.

SEQ ID NO	Последовательность
1	5'-CTCACCAAGACCCACAG-3'
2	5'-GGCTTTGGGCCGCACCAGCT-3'
3	5'-CTTTGGGCCGCACCAGCTTC-3'
4	5'-TGGGCCGCACCAGCTTCAGG-3'

5	5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3'
6	5'-TGTTTCATGTACTGAAG-3'
7	5'-CTTTGGGCXGCACCAGCTTC-3'
8	5'-TCCATGACCXGGAAGCAGTT-3'
9	5'-cttTGGGCXGCACCAGCttc-3'
10	5'-ctttGGGCXGCACCAGcttc-3'
11	5'-cttTGGGCcgCACCAGCttc-3'
12	5'-cttTGGGCcGCACCAGCttc-3'
13	5'-ggcXGCACCAGCttc-3'
14	5'-cttTGGGCXGCACcag-3'
15	5'-tgaCCXGGAAGCAgtt-3'
16	5'-CxTxTxTxGxGGCXGCACCAGxCxTxTxCx-3'
17	5'-TxCxCxAxTxGACCXGGAAGCxAxGxTxTx-3'
18	5'-CxTxTxTxGxGxGCXGCACCAxGxCxTxTxCx-3'
19	5'-TxCxCxAxTxGxACCXGGAAGxCxAxGxTxTx-3'
20	5'-CxTxTxTxGxGxGxCxXGxCxAxCxCxAxGxCxTxTxCx-3'
21	5'-TxCxCxAxTxGxAxCxXGxGxAxAxGxCxAxGxTxTx-3'
22	5'-CyTyTyTyGyGGCXGCACCAGyCyTyTyCy-3'
23	5'-TyCyCyAyTyGACCXGGAAGCyAyGyTyTy-3'
24	CATCAGACGGGAAGCCTGGACTGTGGGTGGGGGCAGCCTCAGCCT CTCCAACCTGGCACCCACTGCCCGTGGCCCTTAGGCACCTGCTTGGG GTCCTGGAGCCCCTTAAGGCCACCAGCAAATCCTAGGAGACCGAGT CTTGGCACGTGAACAGAGCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTC GGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTCCGAGGGGCC TGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAAGGAAGACCCCGAAA GACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGAC TTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAA GGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCCAGCC ACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTG CCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACACACTGCT GGGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGC CCCGGGGCTTACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTCTTGGCGTG GCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATG AGGAGTGCCTGTCACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAG

	<p>GAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCCATCAACTACAAGA  TCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGAATCGCCAACGTCACCAGG  CTGAGGGGCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCT  TGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAG  GGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGC  TGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGT  GGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGC  TGGTGCGGCCAAAGCCCTGCTGGACAACTGCTTCCGGGTCATGGAG  CTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCA  GGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCAT  TGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCC  AGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGGTCAGGGCAC  AGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCTGGATGGTGACTGCGGA  TAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAG  ACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCCTGGGAGAGGACCCCTG  GGAAGGGTGTTCCTTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGGCT  CAGCTTCCTGCCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGAGG  GGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTTCT  CCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCC  TCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGA  GACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCCCAGCCTGGCAG  ACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTTGC  CATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTAACACCCCACTT  CCTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAA</p> <p>(NM_001172771.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант 2, mRNA)</p>
25	<p>CTCGAAGCTCGGCGTCTGTGATGGTCTACGGGGCTTTCGAGGTGATC  AGGCAGCGTCAGTCTTCAGCCGCTAAGCCGAGAAGGAGTCAGTCAG  AGAGCCTTGGGCCAGAGTTCCAGGGGCTCTGGGAGTGGCTGCCAGA  GCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAG  CGTCACCCAGCCCCAGATTCCGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCT  CCTGCTCCTTGGAAAGGAAGACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGG  CTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCC  CGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTT  GGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGC</p>



	<p>CCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTGCCCCGAGGCCATGTAGG  CCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGC  TCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGCCCCGGGGCTTCACCTGG  CTGCGCTATCTTGGGATCTTCCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCC  TTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCCTGTACAG  GGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACAT  GAAACACTACTTCCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGG  GGGTGTTTCAAGTTCGCCAACGTCACCAGGCTGCAGAGGGCCCAGGT  GAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGT  GCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTG  GAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAG  GGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTC  CCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCAAA  GCCCTGCTGGACAACCTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTAAGTCTC  CTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGC  CAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCC  ACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCA  CTCCACGGGCTCGGTGAGGCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTC  TTGCCCTGAGCACCTGGATGGTACTGCGGATAGGGGCAGCCAGA  CCAGCTCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGT  GGTGGGAGCCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTTTTCC  TTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCCTGCCTTCC  ATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTG  AAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCA  CTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGC  AGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCG  TGGCCATTCTATGACCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGG  CAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTC  CAGTTTCTTTTTTCTATTAACACCCCACTTCCTTTGGAAAAAAAAAA  AAAAAA</p> <p>(NM_001172772.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант 3, mRNA)</p>
26	<p>CATCAGACGGGAAGCCTGGACTGTGGGTGGGGGCAGCCTCAGCCT  CTCCAACCTGGCACCCACTGCCCGTGGCCCTTAGGCACCTGCTTGGG  GTCCTGGAGCCCCTTAAGGCCACCAGCAAATCCTAGGAGACCGAGT</p>

CTTGGCACGTGAACAGAGCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTC  
GGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTCCGAGGGGCC  
TGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAAGGAAGACCCCGAAA  
GACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGAC  
TTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAA  
GGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCCAGCC  
ACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTG  
CCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACACACTGCT  
GGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGC  
CCCGGGGCTTACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTCCTTGGCGTG  
GCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATG  
AGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAG  
GAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCCATCAACTACAAGA  
TCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGAATCGCCAACGTCACCAGG  
CTGCAGAGGGCCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGG  
TCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTC  
GAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGC  
TGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAA  
GGTGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGA  
AGCTGGTGCGGCCCAAAGCCCTGCTGGACAACCTGCTTCCGGGTCATG  
GAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTG  
GCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCT  
CATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCC  
CCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGGTCAGGGC  
ACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCTGGATGGTGACTGCG  
GATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTG  
AGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCCTTGGGAGAGGACCCC  
TGGGAAGGGTGTTTTTCTTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGG  
CTCAGCTTCTGCCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGA  
GGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTT  
CTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAG  
CCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGG  
GAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCCAGCCTGGC  
AGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTT  
GCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTAAACACCCCAC

	TTCCTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAA (NM_152456.2 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант 1, mRNA)
27	TCTAGAAACAATCTGAGCTGCTGTAGCGTGTGTCCCCCGCCTCCG AGAAGACTGTAGGCTGAACACACAACAGCCTGTCCCACACAGCATT TACTGCCACAGCCCCAAGGCACCTGCTCCAGGCCTTGAGCTGCTCA AAGCTTCCGGCGACGGCGACTGTAGAAGCCACATCCTGGCAGGTG AGCAGAGCTAGACTTCACGCTGAGCAGCTGCAGCCGAAGAAACCAG AGAAAGCGCCACCCAGCCCCAGATTCCAAGAGGCCTGCCTGCTGGG GACTCCCTTCTCTTCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTGAGACCCT CAAAGTCACTGTCTCACACCAGTTCCTGAGCTGCAATGGGACTGGCA GCCACTGCCCCCTGGCTGTCCTCCGCCCTGCCAAGCAGATAGGGCGG TAGCTACCCAGGAGTATCTGCCCCCTCAGCCTGGACCAGCCCTT TCTGGACTTGGTGGCCACCTTTGCTGACCTAAGGCCATGTAGTCCCT GGCTCAGGCCTCTGGACACACTTCTGGGGACAGTGCCTCTGCTCTCA GGGGGCACCCAGTGCACCACCATGCCCTGGGGACTCGCCTGGCTAT ACTGTCTTGGGATCCTACTTGACGTGGCTTTGGGAAACGAGAATTTG GAGATATGGACTCTGACCCAAGATAAGGAGTGTGACCTTACAGGCT ACCTTCGGGGCAAGCTGCAGTACAAGAACCGGCTTCAGTACATGAA ACATTA CT TCCCCATCAACTACAGGATTGCTGTGCCTTATGAGGGGG TACTCAGAGTGGCCAACATCACAAGGCTGCAGAAGGCTCACGTGAG TGAGCGAGAGCTTCGGTACCTGTGGGTCTTGGTGAGTCTCAATGCCA CTGAGTCTGTGATGGATGTA CT TCTCGAGGGCCACCCGTCCTGGAAG TATCTACAGGAGGTT CAGACATTGCTGGAGAACGTACAGCGGAGCC TCATGGATGTGGAGATTGGCCCTCACGTGGAAGCTGTGTTATCTCTT CTGAGTACTCCAGGCCTAAGCCTGAAGCTGGTGC GGCCCAAAGCCTT GCTGGACA ACTGCTTCCGGGTCATGGA ACTGCTGTACTGTTCTTGCT GTAAACA AAGCCCCATCTTAAAATGGCAGGACTGCGAGCTGCCAG GCTCCATCCCCACAGTCCGGGGTCCTTGATGCAATGTACAGCTACAA ATGTGTACCCTTTGTCTCGGCAGACCCCCACCTCCCTGCCCGGATCC CCAAGCTCAAGCCATGGCTCGTTGCCCTGAGCAATCTATGTATTGAC CCTGGGTCGGGCCACTGGATGCATTCAGAAACTGGCCTGGATCTGA GACCTTCTGGATGGTGGGTAGGTAGCCCCTTTAGGAAAGGCCTTCA GGGAAAGGCCTCCTGCCTTCTCTTCCACACCCAGGCTTCTGCCTTCT GGTGGTATCACGGAGCCTCAGGGGAGGGATGTGGAGGGGAGGGCTG

	<p>GTTGCTATCCCTTACAGCCACCTCTGCTTGTGGCCCGGTCCGAAATCT  GCAAACACTGTTGCCCCACAGGCGGGTGGCCAAGAACGACGGGGTG  CCTCCTAGGATCCCAGGACTTACTGGGGCTTTTCAGTTGTGCTGACT  GTGGGGTGCTGGGCCGAGGACCAACCAAATGCCGTATCTTGCCATG  ACGATGCTCTTCTGGTTCCTTTTTCTATTAATGGCCATTTATTTGGT  TTGGCTTGCAAAAAA  (NM_001135100.2 <i>Mus musculus</i> интерлейкин 34 (Ил34), транскрипт вариант  1, mRNA)</p>
28	<p>TCTAGAAACAATCTGAGCTGCTGTAGCGTGTGTCCCCGCCCTCCG  AGAAGACTGTAGGCTGAACACACAACAGCCTGTCCCACACAGCATT  TACTGCCACAGCCCCAAGGCACCTGCTCCAGGCCTTGAGCTGCTCA  AAGCTTCCGGCGACGGCGACTGTAGAAGCCACATCCTGGCAGGTG  AGCAGAGCTAGACTTCACGCTGAGCAGCTGCAGCCGAAGAAACCAG  AGAAAGCGCCACCCAGCCCCAGATTCCAAGAGGCCTGCCTGCTGGG  GACTCCCTTCTCTTCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTGAGACCCT  CAAAGTCACTGTCTCACACCAGTTCCTGAGCTGCAATGGGACTGGCA  GCCACTGCCCCCTGGCTGTCCTCCGCCCTGCCAAGCAGATAGGGCGG  TAGCTACCCCAGGAGTATCTGCCCCCTCAGCCTGGACCAGCCCTT  TCTGGACTTGGTGGCCACCTTTGCTGACCTAAGGCCATGTAGTCCCT  GGCTCAGGCCTCTGGACACACTTCTGGGGACAGTGCCTCTGCTCTCA  GGGGGCACCCAGTGCACCACCATGCCCTGGGGACTCGCCTGGCTAT  ACTGTCTTGGGATCCTACTTGACGTGGCTTTGGGAAACGAGAATTTG  GAGATATGGACTCTGACCCAAGATAAGGAGTGTGACCTTACAGGCT  ACCTTCGGGGCAAGCTGCAGTACAAGAACCGGCTTCAGTACATGAA  ACATTA CT TCCCCATCAACTACAGGATTGCTGTGCCTTATGAGGGGG  TACTCAGAGTGGCCAACATCACAAGGCTGCAGAAGGCTCACGTGAG  TGAGCGAGAGCTTCGGTACCTGTGGGTCTTGGTGAGTCTCAATGCCA  CTGAGTCTGTGATGGATGTA CT TCTCGAGGGCCACCCGTCCTGGAAG  TATCTACAGGAGGTT CAGACATTGCTGGAGAACGTACAGCGGAGCC  TCATGGCCGTTGGTGTACACCTGCCGGGACACGTA CT TGTGACCCTG  CTCAGCCAGCTGCCTGGCCTCCCCAGCCCATGGGCCAGATCATTGA  CACCAGCTGGGAGCTTCTGATGATGAAAGGATGTGGAGATTGGCCC  TCACGTGGAAGCTGTGTTATCTCTTCTGAGTACTCCAGGCCTAAGCC  TGAAGCTGGTGC GGCCCAAAGCCTTGCTGGACA ACTGCTTCCGGGTC  ATGGA ACTGCTGTA CT GTTCTTGCTGTAAACAAGCCCCATCTTAAA</p>

	<p>ATGGCAGGACTGCGAGCTGCCAGGCTCCATCCCCACAGTCCGGGG  TCCTTGATGCAATGTACAGCTACAAATGTGTACCCTTTGTCTCGGCA  GACCCCCACCTCCCTGCCCGGATCCCCAAGCTCAAGCCATGGCTCGT  TGCCCTGAGCAATCTATGTATTGACCCTGGGTCTGGGCCACTGGATGC  ATTCAGAACTGGCCTGGATCTGAGACCTTCTGGATGGTGGGTAG  GTAGCCCCTTTAGGAAAGGCCTTCAGGGAAAGGCCTCCTGCCTTCTC  TTCCACACCCAGGCTTCTGCCTTCTGGTGGTATCACGGAGCCTCAG  GGGAGGGATGTGGAGGGGAGGGCTGGTTGCTATCCCTTACAGCCAC  CTCTGCTTGTGGCCCGGTCCGAAATCTGCAAACACTGTTGCCCCACA  GGCGGGTGGCCAAGAACGACGGGGTGCCTCCTAGGATCCCAGGACT  TACTGGGGCTTTTCAGTTGTGCTGACTGTGGGGTGTGGGCCGAGGA  CCAACCAAATGCCGTATCTTGCCATGACGATGCTCTTCTGGTTCCTTT  TTCTATTAATGGCCATTTATTTGGTTTGGCTTGCAAAAAA  (NM_029646.3 Mus musculus интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант 2,  mRNA)</p>
29	5'-ACAGGAGCCGACTTCAGTAC-3'
30	5'-ACCAAGACCCACAGATACCG-3'
31	5'-AAGATGACCCAGATCATGTTTGAGACC-3'
32	5'-AGCCAGTCCAGACGCAGGAT-3'
33	5'-AACACGTCTATACGC-3'
34	5'-CTGCTCAACTTTCTGCGAAG-3'
35	5'-CTCATCTCCACATAGGTGTC-3'
36	5'-GGACACAGAGGTTTCAGTGG-3'
37	3'-GGTGACTTTGGAGACACAGG-5'
38	5'-GGAGAATGTTGTGCAGTTTGC-3'
39	3'-CGTTTGACGTGTTGTAAGAGG-5'
40	5'-CxTxTxTxGGGCXGCACCAGCxTxTxCx-3'
41	5'-CxTxTxTGGGCXGCACCAGCTxTxCx-3'
42	5'-TxCxCxAxTGACCXGGAAGCAxGxTxTx-3'
43	5'-TxCxCxATGACCXGGAAGCAGxTxTx-3'
44	<p>AGACGGGAAGCCTGGACTGTGGGTTGGGGGCAGCCTCAGCCTCTCC  AACCTGGCACCCACTGCCCGTGGCCCTTAGGCACCTGCTTGGGGTCC  TGGAGCCCCTTAAGGCCACCAGCAAATCCTAGGAGACCGAGTCTTG  GCACGTGAACAGAGCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTCGGAG</p>

AAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTCCGAGGGGCCTGCC  
AGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAGGAAGACCCCGAAAGACC  
CCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGC  
GGCCACCGCCCCCGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAAGGG  
CAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCCAGCCACT  
CCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTGCC  
CGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACACACTGCTGGG  
GACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGCCCC  
GGGGCTTCACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTCCTTGGCGTGGCC  
TTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGG  
AGTGCCTGTACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAGGAG  
CCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCATCAACTACAAGATCA  
GTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGAATCGCCAACGTCACCAGGCTG  
CAGAGGGCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCT  
TGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAG  
GGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGC  
TGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGT  
GGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGC  
TGGTGCGGCCCAAAGCCCTGCTGGACAACTGCTTCCGGGTTCATGGAG  
CTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCA  
GGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCAT  
TGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCC  
AGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGGTCAGGGCAC  
AGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCTGGATGGTGACTGCGGA  
TAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAG  
ACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCCTTGGGAGAGGACCCCTG  
GGAAGGGTGTTCCTTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGGCT  
CAGCTTCCTGCCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGAGG  
GGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTTCT  
CCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCC  
TCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGA  
GACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCCAGCCTGGCAG  
ACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTTGC  
CATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTAACACCCCACTT  
CCTTTGG

	NM_152456.3 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант 1, mRNA
45	AGACGGGAAGCCTGGACTGTGGGTTGGGGGCAGCCTCAGCCTCTCC AACCTGGCACCCACTGCCCCTGGCCCTTAGGCACCTGCTTGGGGTCC TGGAGCCCCTTAAGGCCACCAGCAAATCCTAGGAGACCGAGTCTTG GCACGTGAACAGAGCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTCGGAG AAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTCGAGGGGCCTGCC AGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAAGGAAGACCCCGAAAGACC CCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGC GGCCACCGCCCCCGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAAGGG CAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCAGCCACT CCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTGCC CGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACAACTGCTGGG GACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGCCCC GGGGCTTACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTCTTGGCGTGGCC TTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGG AGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAGGAG CCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCATCAACTACAAGATCA GTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGAATCGCCAACGTCACCAGGCTG AGGGCCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGG TGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGG CCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTG AATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGG AATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTG GTGCGGCCCAAAGCCCTGCTGGACAACCTGCTTCCGGGTTCATGGAGCT GCTGTAAGTCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGG ACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTG CAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCCAG CTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGGTCAGGGCACAG GGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCCCTGGATGGTGAAGTGCAGGATA GGGGCAGCCAGACCAGCTCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGAC TTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGG AAGGGTGTTCCTTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCA GCTTCTGCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGG ACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCT

	<p>GGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCC  TGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGAGAC  AGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCCCAGCCTGGCAGACTG  GGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATA  GTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTAACACCCCACTTCSTTT  GG</p> <p>NM_001172771.2 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  2, mRNA</p>
46	<p>ATGATCAGAGATGTCTGCATGAGGAACAGAGGCTGCTTTGTGGATTG  GGGAGCTCCCCATTAGCGGAGGCAGAGCCAGATTTCACTGAGCA  GCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTC  CGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAGGAAG  ACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTG  CCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCTCCACGCTGCCG  GGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGC  AGCCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCA  CCTCTGCTGCCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGA  CACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACA  CCACCATGCCCCGGGGCTTACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTC  CTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGAC  GCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTG  CAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCCATCAA  CTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTTCAAGATCGCCAAC  GTCACCAGGCTGCAGAGGGCCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGT  ATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGAC  GTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGG  AGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGT  CAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCCCCAGGGC  CAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCAAAGCCCTGCTGGACAACCTGCTTC  CGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGT  CCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCC  CAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCC  CCGTGGTCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCC  GGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCTGGATG  GTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGGAGTTCAA</p>



	<p>CTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCTTGGGA  GAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTCCTTTGAGGGGGATTCTGTGCC  ACAGCAGGGCTCAGCTTCCTGCCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACC  TGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAG  CTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGG  GGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAGCTGTGG  GTTGCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCC  CAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTG  CCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTA  ACACCCCACTTCCTTTGG</p> <p>NM_001393493.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  4, mRNA</p>
47	<p>ATGATCAGAGATGTCTGCATGAGGAACAGAGGCTGCTTTGTGGATTG  GGGAGCTCCCCATTAGCGGAGGCAGAGCCAGATTCACACTGAGCA  GCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAGCCCCAGATTC  CGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTTGGAAAGGAAG  ACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTGCTTCTGGGCTG  CCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCTCCACGCTGCCG  GGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCTGCTCACTCCCGC  AGCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTGACTGAGTGACCA  CCTCTGCTGCCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTAGGCCTCTGTGGA  CACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGGGGACGAGGAACA  CCACCATGCCCCGGGGCTTCACCTGGCTGCGCTATCTTGGGATCTTC  CTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGTGGCCCTTGAC  GCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGGGACAAGCTG  CAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACTTCCCCATCAA  CTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGAATCGCCAAC  GTCACCAGGCTGAGGGCCCAGGTGAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATC  TGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTG  CTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGA  CGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGTGGAGGTCAG  CCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTTTGAATGCCCCAGGGCCAA  ACCTGAAGCTGGTGCGGCCAAAGCCCTGCTGGACA ACTGCTTCCGG  GTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCT  AACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCA</p>

	<p>GAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCCTCCGCCCC  GTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGG  TCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACCTGGATGGT  GACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGGAGTTCAACT  GGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCCCTTGGGAGA  GGACCCCTGGGAAGGGTGTTCCTTTGAGGGGGATTCTGTGCCAC  AGCAGGGCTCAGCTTCCTGCCTTCCATAGCTGTCATGGCCTCACCTG  GAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGGACACAGCTC  CTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCTAAAGGGGG  TACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGGCACAGCTGTGGGTT  GCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATGACCCCCCAG  CCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCA  CATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTCTATTAACA  CCCCACTTCCTTTGG</p> <p>NM_001393495.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  6, mRNA</p>
48	<p>CTCGAAGCTCGGCGTCTGTGATGGTCTACGGGGCTTTCGAGGTGATC  AGGCAGCGTCAGTCTTCAGCCGCTAAGCCGAGAAGGAGTCAGTCAG  AGAGCCTTGGGCCAGAGTTCCAGGGGCTCTGGGAGTGGCTGCCAGA  GCCAGATTTCACTGAGCAGCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAG  CGTCACCCAGCCCAGATTCCGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCT  CCTGCTCCTTGGAAAGGAAGACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGG  CTCAGACCTGCTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCC  CGGCTGTCCTCCACGCTGCCGGGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTT  GGGGCACCTGCTCACTCCCGCAGCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGC  CCTTCCCTGACTGAGTGACCACCTCTGCTGCCCGAGGCCATGTAGG  CCGTGCTTAGGCCTCTGTGGACACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGC  TCTCAGGGGGACGAGGAACACCACCATGCCCCGGGGCTTCACCTGG  CTGCGCTATCTTGGGATCTTCCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCC  TTTGGAGATGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCACTGTACG  GGTTTTCTGCGGGACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACAT  GAAACACTACTTCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGG  GGGTGTTTCAAGATCGCCAACGTCACCAGGCTGCAGAGGGCCCAGGT  GAGCGAGCGGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGT  GCCACTGAGTCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTG</p>

	<p>GAAGTACCTGCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAG  GGCCTCACGGATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTC  CCTCTTGAATGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGC GGCCCAA  GCCCTGCTGGACA ACTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTC  CTGCTGTAAACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGC  CAAGTCCTCAGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCC  ACCCAGCTGTACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCA  CTCCACGGGCTCGGTGAGGCCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTC  TTGCCCTGAGCACCTGGATGGTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGA  CCAGCTCCCACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGT  GGTGGGAGCCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGGTGTTTTTCC  TTTGAGGGGGATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCCTGCCTTCC  ATAGCTGTCATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTG  AAGGTGGATGGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCA  CTGTCCCCCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGC  AGTGAGGGCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCG  TGGCCATTCTATGACCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGG  CAGAGGGCGGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGATGCTCTTC  CAGTTTCTTTTTTCTATTAACACCCCACTTCCTTTGG</p> <p>NM_001172772.2 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  3, mRNA</p>
49	<p>ACACTGAGCAGCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAG  CCCCAGATTCCGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTT  GGAAAGGAAGACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTG  CTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCCT  CCACGCTGCCGGGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCT  GCTCACTCCCGCAGCCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTG  ACTGAGTGACCACCTCTGCTGCCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTA  GGCCTCTGTGGACACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGG  GGACGAGGAACACCACCATGCCCCGGGGCTTCACCTGGCTGCGCTA  TCTTGGGATCTTCCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGA  TGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTG  CGGGACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACT  ACTTCCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTT  AGAATCGCCAACGTCACCAGGCTGCAGAGGGCCCAGGTGAGCGAGC</p>

	<p>GGGAGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAG  TCGGTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCT  GCAGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACG  GATGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAA  TGCCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCCAAAGCCCTGCTG  GACAACTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAA  ACAAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTC  AGTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTG  TACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGG  CTCGGTGAGGCCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGA  GCACCCTGGATGGTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCC  ACAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAG  CCCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTCCTTTGAGGG  GGATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCCTGCCTTCCATAGCTGT  CATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGA  TGGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCC  CCGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGG  GCACAGCTGTGGGTTGCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCAT  TCTATGACCCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGG  CGGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTC  TTTTTTCTATTAACACCCCACTTCCTTTGG</p> <p>NM_001393494.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  5, mRNA</p>
50	<p>ACACTGAGCAGCTGCAGTCGGAGAAATCAGAGAAAGCGTCACCCAG  CCCCAGATTCCGAGGGGCCTGCCAGGGACTCTCTCCTCCTGCTCCTT  GGAAAGGAAGACCCCGAAAGACCCCAAGCCACCGGCTCAGACCTG  CTTCTGGGCTGCCATGGGACTTGCGGCCACCGCCCCCGGCTGTCCT  CCACGCTGCCGGGCAGATAAGGGCAGCTGCTGCCCTTGGGGCACCT  GCTCACTCCCGCAGCCAGCCACTCCTCCAGGGCCAGCCCTTCCCTG  ACTGAGTGACCACCTCTGCTGCCCCGAGGCCATGTAGGCCGTGCTTA  GGCCTCTGTGGACACACTGCTGGGGACGGCGCCTGAGCTCTCAGGG  GGACGAGGAACACCACCATGCCCCGGGGCTTCACCTGGCTGCGCTA  TCTTGGGATCTTCCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGA  TGTGGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTG  CGGGACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACT</p>

	<p>ACTTCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTC  AGAATCGCCAACGTCACCAGGCTGAGGGCCAGGTGAGCGAGCGGG  AGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCG  GTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGC  AGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGA  TGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATG  CCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCAAAGCCCTGCTGGA  CAACTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAAC  AAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCA  GTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGT  ACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGC  TCGGTGAGGCCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAG  CACCTGGATGGTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCA  CAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGC  CCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTTTTCTTTGAGGGG  GATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCTGCCTTCCATAGCTGTC  ATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGAT  GGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCC  CGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGG  CACAGCTGTGGGTTCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATT  CTATGACCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGC  GGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTT  TTTTCTATTAACACCCCACTTCTTTGG</p> <p>NM_001393496.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  7, mRNA</p>
51	<p>GGAAGGCGCTACAGACCCGCTGGCATAAGTGTAGCTGGGAGGGACACT  AAGATCAGATAGAGCAGGAAGGAAAGTGGTGTGGGGCGTGGGTGA  CTGAAGAGTCATTTTATCAAGTTGAAACCAGAATCCAGGATGATTTCG  ATCTCCTGAATGCCGGGCTGGAAAACCCAGCAACGAGCTTTGAAAA  CATATCACCCGGACACCAGGGGCAGAGGCTGTTCTGGGCGGGAGGT  TGTGCCTGCCCCACGGAGCGACAGAAGCGGGGAGACCAGACGTCGA  CCCTGAGGCGTGCCTCCTGGGGGGCTCCAGTGGCCGGCATGGGATCT  TGGGATCTTCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGT  GGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGG  GACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACT</p>

	<p>TCCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGA  ATCGCCAACGTCACCAGGCTGCAGAGGGCCAGGTGAGCGAGCGGG  AGCTGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCG  GTGCAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGC  AGGAGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGA  TGTGGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATG  CCCCAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCCAAAGCCCTGCTGGA  CAACTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAAC  AAAGCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCA  GTCTTGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGT  ACCCTCCGCCCCCGTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGC  TCGGTGAGGCCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAG  CACCTGGATGGTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCA  CAGGAGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGC  CCCCCTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTTTTCTTTGAGGGG  GATTCTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCTGCCTTCCATAGCTGTC  ATGGCCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGAT  GGGGACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCC  CGCCTAAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGG  CACAGCTGTGGGTTCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATT  CTATGACCCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGC  GGTGCCAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTT  TTTTCTATTAACACCCCACTTCTTTGG</p> <p>NM_001393497.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  8, mRNA</p>
52	<p>GGAAGGCGCTACAGACCCGCTGGCATAAGTTAGCTGGGAGGGACACT  AAGATCAGATAGAGCAGGAAGGAAAGTGGTGTGGGGCGTGGGTGA  CTGAAGAGTCATTTTATCAAGTTGAAACCAGAATCCAGGATGATTCTG  ATCTCCTGAATGCCGGGCTGGAAAACCCAGCAACGAGCTTTGAAAA  CATATCACCCGGACACCAGGGGCAGAGGCTGTTCTGGGCGGGAGGT  TGTGCCTGCCCCACGGAGCGACAGAAGCGGGGAGACCAGACGTCGA  CCCTGAGGCGTGCCTCCTGGGGGGCTCCAGTGGCCGGCATGGGATCT  TGGGATCTTCTTGGCGTGGCCTTGGGGAATGAGCCTTTGGAGATGT  GGCCCTTGACGCAGAATGAGGAGTGCACTGTCACGGGTTTTCTGCGG  GACAAGCTGCAGTACAGGAGCCGACTTCAGTACATGAAACACTACT</p>

TCCCCATCAACTACAAGATCAGTGTGCCTTACGAGGGGGTGTTCAGA  
ATCGCCAACGTCACCAGGCTGAGGGCCCAGGTGAGCGAGCGGGAGC  
TGCGGTATCTGTGGGTCTTGGTGAGCCTCAGTGCCACTGAGTCGGTG  
CAGGACGTGCTGCTCGAGGGCCACCCATCCTGGAAGTACCTGCAGG  
AGGTGGAGACGCTGCTGCTGAATGTCCAGCAGGGCCTCACGGATGT  
GGAGGTCAGCCCCAAGGTGGAATCCGTGTTGTCCCTCTTGAATGCC  
CAGGGCCAAACCTGAAGCTGGTGCGGCCCAAAGCCCTGCTGGACAA  
CTGCTTCCGGGTCATGGAGCTGCTGTACTGCTCCTGCTGTAAACAAA  
GCTCCGTCCTAAACTGGCAGGACTGTGAGGTGCCAAGTCCTCAGTCT  
TGCAGCCCAGAGCCCTCATTGCAGTATGCGGCCACCCAGCTGTACCC  
TCCGCCCCCGTGGTCCCCCAGCTCCCCGCCTCACTCCACGGGCTCGG  
TGAGGCCGGTCAGGGCACAGGGCGAGGGCCTCTTGCCCTGAGCACC  
CTGGATGGTGACTGCGGATAGGGGCAGCCAGACCAGCTCCCACAGG  
AGTTCAACTGGGTCTGAGACTTCAAGGGGTGGTGGTGGGAGCCCCC  
CTTGGGAGAGGACCCCTGGGAAGGGTGTTTTTCTTTGAGGGGGATT  
CTGTGCCACAGCAGGGCTCAGCTTCTGCCTTCCATAGCTGTCATGG  
CCTCACCTGGAGCGGAGGGGACCTGGGGACCTGAAGGTGGATGGGG  
ACACAGCTCCTGGCTTCTCCTGGTGCTGCCCTCACTGTCCCCCGCCT  
AAAGGGGGTACTGAGCCTCCTGTGGCCCGCAGCAGTGAGGGCACAG  
CTGTGGGTGCAGGGGAGACAGCCAGCACGGCGTGGCCATTCTATG  
ACCCCCCAGCCTGGCAGACTGGGGAGCTGGGGGCAGAGGGCGGTGC  
CAAGTGCCACATCTTGCCATAGTGGATGCTCTTCCAGTTTCTTTTTTC  
TATTAACACCCCCACTTCTTTGG

NM\_001393498.1 Homo sapiens интерлейкин 34 (IL34), транскрипт вариант  
9, mRNA

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полинуклеотид, который комплементарен к IL-34 или его части, содержащий нуклеотидную последовательность в соответствии с:

a. 5'-CTTTGGGCCGCACCAGCTTC-3' (SEQ ID NO: 3) или

b. 5'-TCCATGACCCGGAAGCAGTT-3' (SEQ ID NO: 5),

где по меньшей мере один цитидин нуклеотидной последовательности химически модифицирован и по меньшей мере один нуклеозид представляет собой 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-МОЕ) нуклеозид;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Полинуклеотид по п. 1, где не более 10 нуклеозидов химически модифицированы.

3. Полинуклеотид по п. 1 или 2, содержащий шесть 2'-МОЕ нуклеозидов.

4. Полинуклеотид по п. 1 или 2, содержащий восемь 2'-МОЕ нуклеозидов.

5. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-4, включающий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из следующих:

a. 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>GGGCXGCACCAGC<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 40), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

b. 5'-C<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>TGGGCXGCACCAGCT<sub>x</sub>T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 41), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин и X означает 5-метилцитидин;

c. 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>A<sub>x</sub>TGACCXGGAAGCA<sub>x</sub>G<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 42), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, A<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)аденозин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин; и

d. 5'-T<sub>x</sub>C<sub>x</sub>C<sub>x</sub>ATGACCXGGAAGCAG<sub>x</sub>T<sub>x</sub>T<sub>x</sub>-3' (SEQ ID NO: 43), где C<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)цитидин, T<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)тимидин, G<sub>x</sub> означает 2'-O-(2-метоксиэтил)гуанозин и X означает 5-метилцитидин;

или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-5, где полинуклеотид представляет собой IL-34 антисмысловой олигонуклеотид.

7. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-5, где полинуклеотид является частью комплекса IL-34 siRNA.

8. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-7, где по меньшей мере одна межнуклеотидная последовательность полинуклеотида выбрана из группы, состоящей из следующих: фосфоротиоатная связь, фосфородитиоатная связь, фосфотрисложноэфирная связь, алкилфосфонатная связь, аминоалкилфосфотрисложноэфирная связь, алкиленфосфонатная связь, фосфинатная связь, фосфоамидатная связь и аминоалкилфосфорамидатная связь, тиофосфорамидатная связь, тионоалкилфосфонатная связь, тионоалкилфосфотрисложноэфирная связь, тиофосфатная связь, селенофосфатная связь и боранофосфатная связь.



9. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-8, где все межнуклеотидные связи полинуклеотида являются фосфоротиоатными связями.

10. Фармацевтическая композиция, включающая (а) полинуклеотид по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемую соль и (b) фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

11. Способ лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в нем пациента, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту эффективного количества полинуклеотида по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по п. 10.

12. Способ по п. 11, где воспалительное заболевание связано с увеличенной экспрессией IL-34.

13. Способ по любому из п.п. 11-13, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит.

14. Способ по любому из п.п. 11-13, где воспалительным заболеванием является остеоартрит.

15. Способ по любому из п.п. 11-14, где способ (i) ингибирует выработку воспалительного цитокина в клетках пациента; (ii) уменьшает или ингибирует опосредуемый с помощью IL-34 воспалительный ответ в клетках пациента; и/или (iii) уменьшает или ингибирует опосредуемую с помощью IL-34 передачу сигнала рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSFR-1) в клетках пациента.

16. Способ по любому из п.п. 11-15, где клеткой является интестинальная клетка (например, интестинальная стромальная клетка) и/или образует часть интестинальной фиброзной стриктуры.

17. Способ уменьшения или устранения фиброзной стриктуры у пациента, страдающего от воспалительного заболевания, способ включает введение эффективного количества полинуклеотида по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по п. 10.

18. Способ по п. 17, где фиброзная стриктура расположена в кишечнике.

19. Способ по п. 17 или 18, где воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из следующих: воспалительная болезнь кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, остеоартрит, паучит (типа I и II), отторжение ткани или органа, рассеянный склероз, периодонтальное воспаление, периодонтит, пигментный виллезнодулярный синовит, гепатит, синусит, рак ободочной кишки, колоректальный рак, связанный с колитом рак ободочной кишки, спорадический колоректальный рак, заболевание коронарной артерии, синдром Шегрена (SS), ожирение, хроническое воспаление, саркоидоз легкого, повреждения кожи, CNS воспалительное заболевание и аутоиммунное заболевание.

20. Способ по п. 19, где воспалительным заболеванием является ревматоидный артрит.

21. Способ по п. 19, где воспалительным заболеванием является остеоартрит.

22. Способ по п. 19, где воспалительным заболеванием является воспалительная болезнь кишечника (например, болезнь Крона, гастродуоденальная болезнь Крона, колит (гранулематозный) Крона, воспалительная болезнь Крона, болезнь Крона с фиброзными стриктурами, язвенный колит, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, ишемический колит, диверсионный колит, болезнь Бехчета, микроскопический колит, язвенный проктит, проктосигмоидит, еуноилеит, левосторонний колит, панколит, илеоколит, илеит или колит неопределенной этиологии).

23. Способ по п. 22, где воспалительная болезнь кишечника представляет собой воспалительную болезнь Крона или болезнь Крона с фиброзными стриктурами.

24. Способ предупреждения или лечения фиброза, способ включает введение нуждающемуся в нем пациенту терапевтически эффективного количества полинуклеотида по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по п. 10.

25. Способ по п. 26, где фиброзом является фиброз легких, синовиальный фиброз или интестинальный фиброз.

26. Способ по п. 26, где фиброз выбран из группы, состоящей из следующих: фиброз почек, фиброз сердца, эндомикардиальный фиброз, миелофиброз, ретроперитонеальный фиброз и нефрогенный системный фиброз.

27. Способ по любому из п.п. 24-26, где пациент страдает от ревматоидного артрита.

28. Способ по любому из п.п. 24-26, где пациент страдает от остеоартрита.

29. Способ по любому из п.п. 24-26, где пациент страдает от болезни Крона.

30. Способ по любому из п.п. 11-29, где полинуклеотид вводят внутрисуставно, ректально, местно, парентерально, перорально, пульмонально, внутритрахеально, внутриназально, чрескожно или интрадуоденально.

31. Способ по любому из п.п. 11-30, где пациентом является человек.

32. Применение полинуклеотида по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания.

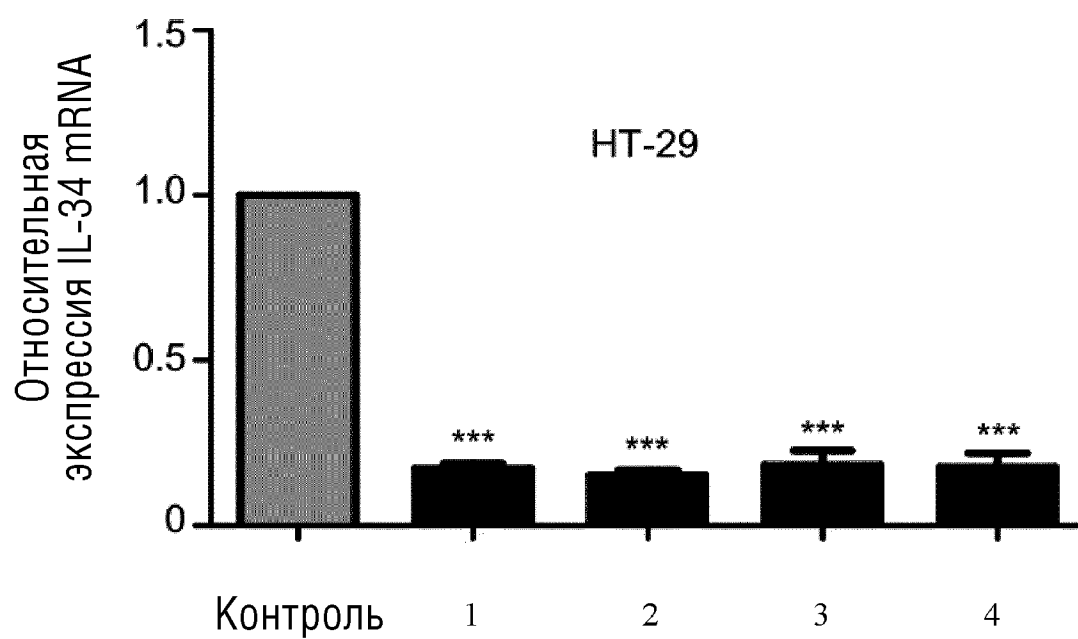
33. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного средства.

34. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения воспалительного заболевания.

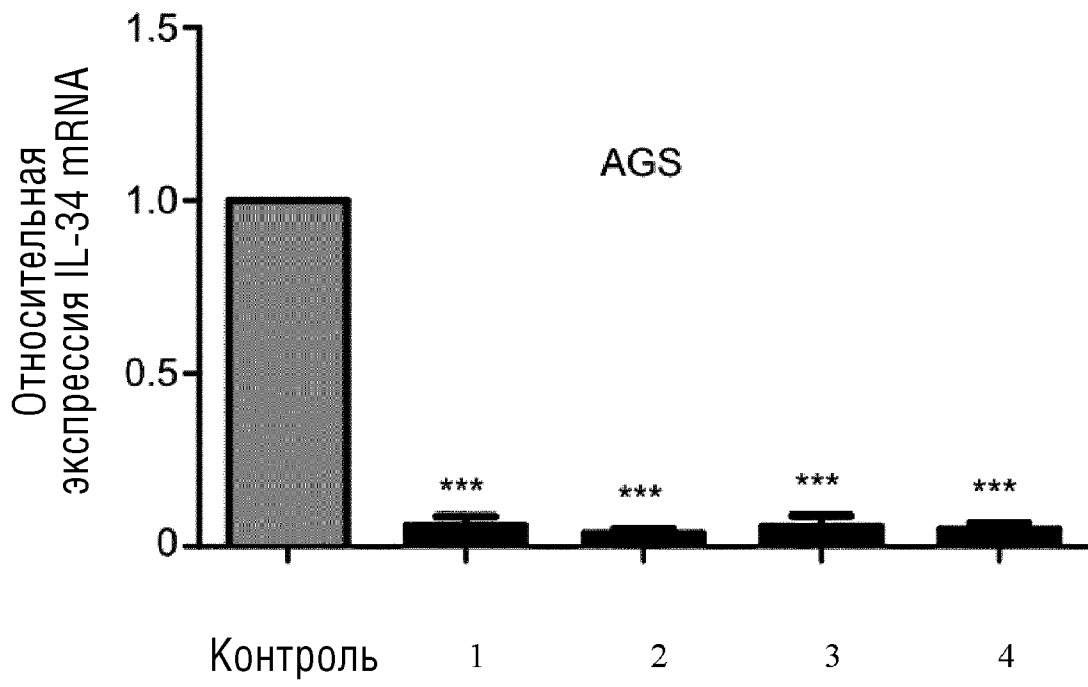
35. Полинуклеотид по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения фиброза.

По доверенности

ФИГ.1



ФИГ.2



ФИГ.3

