

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2010年6月24日(24.06.2010)

(10) 国際公開番号  
WO 2010/071230 A1

- (51) 国際特許分類:  
C08F 220/26 (2006.01) A61K 45/00 (2006.01)  
A61K 9/127 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)  
A61K 31/409 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/071517
- (22) 国際出願日: 2009年12月17日(17.12.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2008-321500 2008年12月17日(17.12.2008) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 学校法人慶應義塾(KEIO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1088345 東京都港区三田二丁目15番45号 Tokyo (JP). 国立大学法人東京大学(THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 上田政和 (UEDA, Masakazu) [JP/JP]; 〒1608582 東京都新宿

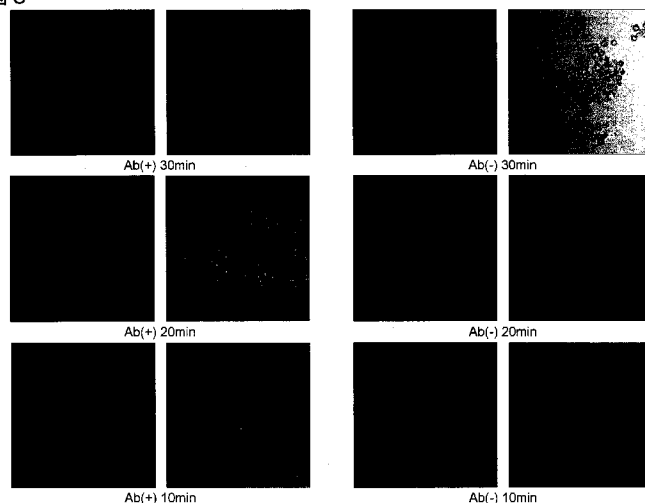
- 区信濃町35番地慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 荒井恒憲(ARAI, Tsunenori) [JP/JP]; 〒2238522 神奈川県横浜市港北区日吉三丁目14番1号慶應義塾大学 理工学部内 Kanagawa (JP). 松田祐子(MATSUDA, Sachiko) [JP/JP]; 〒1608582 東京都新宿区信濃町35番地慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 石原一彦(ISHIHARA, Kazuhiko) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 平木祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門4丁目3番20号 神谷町MTビル19階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,

[続葉有]

(54) Title: PHOTODYNAMIC THERAPEUTIC AGENT SHOWING ACCUMULATION OF CELL-SPECIFIC FUNCTIONS

(54) 発明の名称: 細胞特異的能動集積性を有する光線力学療法剤

図3



(57) Abstract: Provided is a cancer cell-specific high-molecular-weight polymer compound, which contains a photosensitizer for photodynamic therapy and wherein antibodies to cancer cell-specific antigens are bound to the surface. This compound is intended for a photodynamic therapeutic agent, low concentrations of which are capable of reaching cancer tissues through the use of active targeting in which the complications that accompany photodynamic therapy, such as sunlight hypersensitivity, are unlikely to occur.

(57) 要約: 本発明は、日光過敏症等の光線力学療法に伴う合併症を起こしにくいアクティブターゲティングにより低濃度で癌組織に到達し得る光線力学的療法剤の提供を目的としてなされた光線力学療法用光感受性物質を含み、表面に癌細胞特異的抗原に対する抗体が結合した癌細胞特異的高分子ポリマー化合物である。

WO 2010/071230 A1



SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,  
VN, ZA, ZM, ZW.

CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保  
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ,  
NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,  
GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL,  
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ,

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正を受理した際には再公開される。(規則 48.2(b))

## 明 細 書

## 発明の名称

細胞特異的能動集積性を有する光線力学療法剤

## 技術分野

本発明は、光線力学的治療に関し、光感受性物質を含み、表面に細胞特異的抗原に対する抗体を有する 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（以下、MPC と略記）に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体からなる光線力学療法剤に関する。

## 背景技術

光線力学的治療法（PDT）とは、癌に集積性を示す光感受性物質とレーザー照射による光化学反応を利用し、機能温存を考慮に入れた侵襲の少ない治療法で、安全にかつ有効に施行できる。また、放射線等に比して繰り返し施行可能であること、抗癌剤のように毒性もないという利点があり、新しい低侵襲治療として期待されている。

分子学的には、レーザー光線を癌部に照射すると、集積した腫瘍親和性光感受性物質は基底状態の一重項状態から分子内のエネルギーレベルが上昇し、励起状態の三重項状態に変換される。この状態に達すると、光感受性物質は光活性化され、直接的な活性フリーラジカルの生成、あるいは間接的な分子内エネルギー変換によって基底状態の三重項酸素（ $^3O_2$ ）を高活性の一重項酸素（ $^1O_2$ ）へ変換させる。これら 2 つの光活性化反応は同時に起こり、どちらの生成体とも直接細胞を傷害する作用を示す。

現在日本では、光線力学的治療剤として、フォトフリンとレザフィリンという 2 つの薬が認可されており、どちらの薬も腫瘍組織には正常組織のおよそ 4 倍取り込まれることが知られている。フォトフリンを用いた場合は投与の約 48 時間後、レザフィリンを用いた場合は投与の約 4 時間後にレーザー照射を行う。正常組織は癌組織と比べて早い時間に薬が排泄されるので、この時間差を利用して腫瘍を

選択的に治療する。フォトフリンを使用した PDT は微少浸潤気管支内非小細胞性肺癌、部分的または完全閉塞の食道癌、他の肺腫瘍、中皮腫、バレット食道の早期食道癌、皮膚癌、乳癌、結腸直腸癌、婦人科悪性腫瘍等に応用されている。しかし、合併症として日光過敏症があり、このためフォトフリンで投与後 2~3 週間、レザフィリンで約 1 週間は直射日光を避けるなど、遮光が必要である。

また、体内の構成成分では、水の吸収が 200nm 付近までと 700nm 付近より長波長にある。酸化ヘモグロビンの吸収は、400nm、600nm 付近に二峰性のピークがある。もともと生体由来の組織の影響が少ないのは 650~700nm 近辺であり、より深部病変の治療を目指し、長波長領域での吸収端を有する光感受性物質の開発が望まれている。フォトフリンの吸収は 630nm、レザフィリンは 664nm である。一方、ベルテポルフィンも吸収が 690nm にあり、より適していると言える（特許文献 1~3 を参照）。ベルテポルフィンも光感受性物質であり商品名ビスダイン（登録商標）（NOVARTIS）として加齢黄斑変性症の治療に利用されているが、癌への応用は現在のところ認可されていない。しかし、ビスダインではヒトの血液を用いた *in vitro* 試験において、10  $\mu$ g/ml の濃度で軽度~中等度の補体活性が認められ、100  $\mu$ g/ml 以上の濃度で有意な補体活性化が認められている。補体活性化によるアナフィラキシー反応発現の危険性を排除できない為、大量投与はできない。

光線力学的治療法において、光線力学的治療剤のための光感受性物質をリポソームに内包させて投与することが報告されていた（特許文献 4 及び 5 を参照）。しかしながら、現在までに、これらのリポソーム製剤を実際に静脈投与により生体に投与し、アクティブターゲティングにより細胞特異的に癌組織に到達し、癌の光線力学的治療に成功したという報告はない。

一方、生体適合性の高いポリマーとして、MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体である水溶性ポリマーが開発されている（特許文献 6 及び 7 を参照）。該ポリマーは、現在では発明以降すでに 10 年以上経過し、医療用材（人工膀胱、人工腎臓、人工心臓など）の構成医療材料として広く利用されており、安全性や安定性などは証明されている。このポリマーは、疎水性と親水性のユニットを有する。

特許文献 1 特表 2006-507307 号公報

- 特許文献 2 特表 2007-522137 号公報  
特許文献 3 特表 2008-501727 号公報  
特許文献 4 特開 2006-56807 号公報  
特許文献 5 特開 2007-277218 号公報  
特許文献 6 特開 2003-137816 号公報  
特許文献 7 特開 2004-175752 号公報

## 発明の開示

本発明は日光過敏症等の光線力学療法に伴う合併症を起こしにくいアクティブターゲティングにより低濃度で癌組織に到達し得る光線力学的療法剤の提供を目的とする。

本発明者らは、光線力学的療法(PDT)において生じる合併症である日光過敏症、及び光感受性物質としてベルテポルフィンを用いた場合の合併症であるアナフィラキシー反応発現を低減させる方法について鋭意検討を行った。本発明者らは、その結果、MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体であるポリマーに光感受性物質を内包させ、表面に癌細胞に特異的に発現する抗原に対する抗体を結合させたものを光線力学的療法に用いてみた。

具体的には、親水性の MPC、疎水性の n-ブチルメタクリレート (MBA) 及び活性エステルを持つ p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレート (MEONP) とで構成されているポリマーを使用した。本発明においては、該ポリマーを PMBN ( poly[2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)-co-n-butylmethacrylate (BMA)-co-p-nitrophenyloxycarbonyl poly(ethyleneglycol)methacrylate (MEONP)] ) あるいは MPC ポリマーという。該ポリマーは活性エステルを持ち、タンパク質と結合させることができる。タンパク質が結合し、ベルテポルフィンを内包した PMBN (MPC ポリマー) は静脈内投与され、抗原抗体反応又はリガンドレセプター反応により癌部に集積する。そのことにより、より少ない投与量での最大の効果が期待できる為、日光過敏症の軽減又は短縮に効果があると思われる。また、ベルテポルフィンは吸収波長が 690nm と長いため、進行胃癌、進行大腸癌、進行肺癌、脳腫瘍などより深部にあ

る癌や進行した癌にも応用が期待できる。さらに、癌抗原に特異的な抗体を結合させた PMBN (MPC ポリマー) は、選択的に癌部に到達するため、投与量も少なく済み、アナフィラキシー反応の発現も抑えられる。

タンパク質結合ベルテポルフィン PMBN (MPC ポリマー) を使った PDT は、治療後の組織機能の低下や侵襲が少なく、また治療後の副作用に対する処置も短くて済むため、患者の QOL を高くする治療法として期待できる。

すなわち、本発明は以下のとおりである。

[1] 光線力学療法用光感受性物質を含み、表面に癌細胞特異的抗原に対する抗体が結合した癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[2] 高分子ポリマーが MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体である [1] の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[3] 高分子ポリマーが MPC と n-ブチルメタクリレートの共重合体である [2] の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[4] 高分子ポリマーがリポソーム又はリポソーム様の高分子会合体である [1] の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[5] さらに、活性エステル基を含有するモノマー化合物を含む [1] ~ [4] のいずれかの癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[6] 活性エステル基を含有するモノマー化合物が p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレートである [5] の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[7] 癌細胞特異的抗原に対する抗体が抗 EGFR 抗体、抗 EpCAM 抗体及び抗 c-erbB-2 抗体からなる群から選択される、[1] ~ [6] のいずれかの癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[8] 癌細胞特異的抗原に対する抗体が活性エステル基を含有するモノマー化合物の活性エステル基を介して結合している、[1] ~ [7] のいずれかの癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[9] 光線力学療法用光感受性物質がベルテポルフィンである [1] ~ [8] のいずれかの癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。

[10] [1] ~ [9] のいずれかの癌細胞特異的高分子ポリマー化合物を含む、光

線力学療法剤。

[1 1] 静脈注射製剤である、[1 0]の光線力学療法剤。

[1 2] MPC、n-ブチルメタクリレート及び活性エステル基を含有するモノマー化合物を混合し、PMBN (MPC ポリマー) を製造し、次いで、癌細胞特異的抗原に対する抗体と混合し、p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレートの活性エステル基に前記抗体を結合させ、さらに、光線力学療法用光感受性物質を混合し、PMBN (MPC ポリマー) に該光線力学療法用光感受性物質を内包させることを含む、光線力学療法剤の製造方法。

[1 3] 活性エステル基を含有するモノマー化合物が p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレートである[1 2]の光線力学療法剤の製造方法。

[1 4] 癌細胞特異的抗原に対する抗体が抗 EGFR 抗体、抗 EpCAM 抗体及び抗 c-erbB-2 抗体からなる群から選択される、[1 2]又は[1 3]の光線力学療法剤の製造方法。

[1 5] 光線力学療法用光感受性物質がベルテポルフィンである[1 2]~[1 4]のいずれかの光線力学療法剤の製造方法。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願 2008-321500 号の明細書および/または図面に記載される内容を包含する。

#### 図面の簡単な説明

図 1 は、類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) 組織内分布の検討の結果を示す図である。図 1 A は抗 EGFR 抗体を結合させた PMBN (MPC ポリマー) の結果を示し、図 1 B は抗 EGFR 抗体を結合させない MPC ポリマーの結果を示す。

図 2 は、ヒト類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) ・レーザー治療の検討の結果を示す図である。

図 3 は、培養細胞を用いたベルテポルフィン PMBN (MPC ポリマー) の取込み試験の結果を示す図である。

図 4 は、ヒト大腸癌モデルを用いた抗体を結合したか又はしないベルテポルフ

イン-PMBN (MPC ポリマー) を用いたレーザー治療の結果を示す図である。

図5は、ヒト類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) ・レーザー治療の検討の結果 (マウス生存率) を示す図である。

図6は、ビスダイン、ベルテポルフィンを含むポリマー (抗体なし) (Ab(-)ベルテポルフィン-PMBN) およびベルテポルフィンを含むポリマー (抗体あり) (Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN) の1時間後の皮膚への取り込みを示す図である。

図7は、ビスダイン、ベルテポルフィンを含むポリマー (抗体あり) (Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN) の腫瘍への集積を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明はリポソーム又はリポソーム様の会合体を形成するポリマーを用いることができる。

リポソームは、通常、膜状に集合したリン脂質、糖脂質等の脂質層を有する閉鎖小胞を意味する。本発明のリポソームとしては公知のリポソームを用いることができる。本発明のリポソームが構成する脂質としては、例えば、フォスファチジルコリン類、フォスファチジルエタノールアミン類、フォスファチジン酸類、長鎖アルキルリン酸塩類、ガングリオシド類、糖脂質類、フォスファチジルグリセロール類、コレステロール類等が挙げられ、フォスファチジルコリン類としては、ジミリストイルフォスファチジルコリン、ジパルミトイルフォスファチジルコリン、ジステアロイルフォスファチジルコリン等が挙げられ、フォスファチジルエタノールアミン類としては、ジミリストイルフォスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルフォスファチジルエタノールアミン、ジステアロイルフォスファチジルエタノールアミン等が挙げられ、フォスファチジン酸類、長鎖アルキルリン酸塩類としては、ジミリストイルフォスファチジン酸、ジパルミトイルフォスファチジン酸、ジステアロイルフォスファチジン酸、ジセチルリン酸等が挙げられ、ガングリオシド類としては、ガングリオシドGM1、ガングリオシドGD1a、ガングリオシドGT1b等が挙げられ、糖脂質類としては、ガラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、ラクトシルセラミド、フォスファチド、グロ

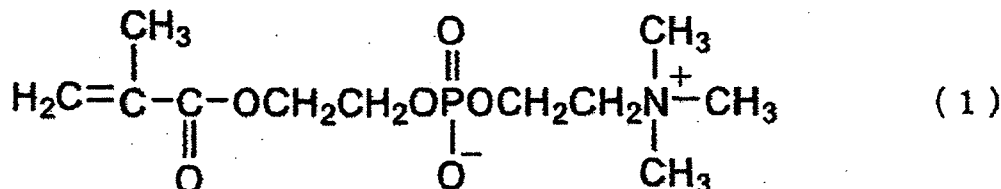


ボシド等が挙げられ、フォスファチジルグリセロール類としては、ジミリスチルフォスファチジルグリセロール、ジパルミチルフォスファチジルグリセロール、ジステアロイルフォスファチジルグリセロール等が挙げられる。このうち、フォスファチジン酸類、長鎖アルキルリン酸塩類、ガングリオシド類、糖脂質類、コレステロール類はリポソームの安定性を上昇させる効果を有する。リポソームは、薄膜法、逆層蒸発法、エタノール注入法、脱水-再水和法、超音波照射法、エクストルージョン法、フレンチプレス法、ホモジナイゼーション法等の公知の方法により製造することができるが、このうち、超音波照射法、エクストルージョン法、フレンチプレス法、ホモジナイゼーション法等を用いて、リポソームの粒子径を調節することも可能である。本発明のリポソームの平均粒径は 30～500nm、好ましくは 50～300nm、さらに好ましくは 70～150nm である。

上記のように、MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する高分子ポリマーを PMBN または MPC ポリマーという。該ポリマーは、疎水性のユニット及び親水性のユニットを有し、疎水性のユニットでベルテポルフィン等の疎水性物質と結合しつつ、親水性のユニットにより水溶性を維持できるという特徴を有する。PMBN (MPC ポリマー) は、MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有し、MPC と疎水性単量体との構成モル比が 20/80～95/5 であり、好ましくは 30/70～80/20 である。PMBN (MPC ポリマー) については、特開 2004-175752 号公報に記載されており、該公報の記載に基づいて製造することができる。

MPC は、下記の式 (1) で示される。

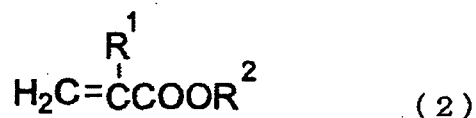
化 1



MPC と共重合させる疎水性単量体としては、メチル (メタ) アクリレート、エチル (メタ) アクリレート、ブチル (メタ) アクリレート、ドデシル (メタ) アクリレート、セチル (メタ) アクリレート、ステアリル (メタ) アクリレート、

シクロヘキシル（メタ）アクリレート、2-エチルヘキシル（メタ）アクリレート等の各種モノアルキル（メタ）アクリレート；グリシジル（メタ）アクリレート、（メタ）アクリロイルオキシエチルトリメトキシシラン等の反応性官能基含有（メタ）アクリレート；2-（メタ）アクリロイルオキシエチルブチルウレタン、2-（メタ）アクリロイルオキシエチルベンジルウレタン、2-（メタ）アクリロイルオキシエチルフェニルウレタン等のウレタン変性（メタ）アクリレートジエチルフマレート、アクリロニトリル等が挙げられる。この中でも疎水性単量体としては、式（2）で表されるアルキル（メタ）アクリレートが好ましく、さらに、n-ブチルメタクリレート（BMA）が好ましい。

化2



[式中、R<sup>1</sup>はHまたはCH<sub>3</sub>であり、R<sup>2</sup>はHまたは炭素数1から18のアルキル基である。]

また、本発明に用いる疎水性単量体としては前記の疎水性単量体の2種以上を混合して用いてもよい。

共重合体としては、ランダム共重合体、ブロック共重合体のいずれの形態でもよく、ランダム共重合体が好ましい。

本発明に用いる共重合体において、MPCと疎水性単量体との構成モル比が20/80～95/5であり、好ましくは30/70～80/20である。MPCが20モル%未満では得られる共重合体の水への溶解性が低くなり、95モル%を超えるとMPCポリマーを含む組成物の再溶解性が悪くなるので好ましくない。

本発明に用いる共重合体の重量平均分子量は、好ましくは1000～5000000、より好ましくは10000～500000である。

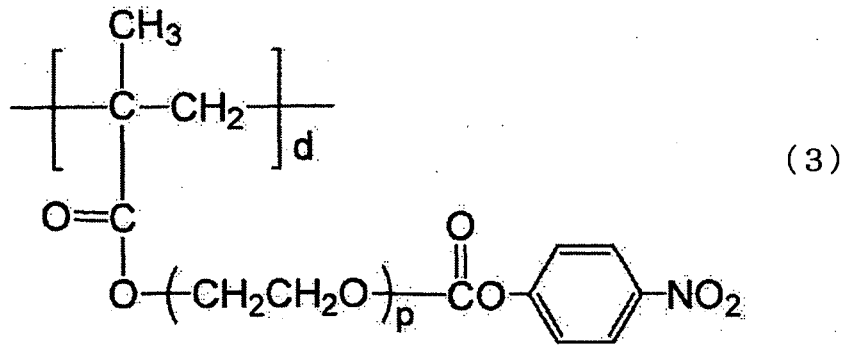
前記共重合体は、前記単量体を、公知の溶液重合、塊状重合、乳化重合、懸濁重合等の方法を用いて、必要に応じて重合系を不活性ガス、例えば、窒素、アルゴンで置換し、通常重合温度10～100℃、重合時間10分間～48時間の条件でラジカル重合させる方法等により調製することができる。重合にあたっては重合開始

剤を用いることができ、重合開始剤としては、2,2'-アゾビス(2-アミジノプロパン)二塩酸塩、4,4'-アゾビス(4-シアノ吉草酸)、2,2'-アゾビス(2-(5-メチル-2-イミダゾリン-2-イル)プロパン)二塩酸塩、2,2'-アゾビス(2-(2-イミダゾリン-2-イル)プロパン)二塩酸塩、2,2'-アゾビスイソブチルアミド二水和物、過硫酸アンモニウム、過硫酸カリウム、過酸化ベンゾイル、ジイソプロピルペルオキシジカーボネート、*t*-ブチルペルオキシ-2-エチルヘキサノエート、*t*-ブチルペルオキシピバレート、*t*-ブチルペルオキシジイソブチレート、過酸化ラウロイル、アゾビスイソブチロニトリル、2,2'-アゾビス(2,4-ジメチルバレロニトリル)、*t*-ブチルペルオキシネオデカノエート(商品名「パーブチル ND」、日油(株)製)又はこれらの混合物等を用いることができる。前記重合開始剤には各種レドックス系の促進剤を用いてもよい。重合開始剤の使用量は、単量体組成物 100 重量部に対して 0.01~20 重量部が好ましい。生成した共重合体、再沈澱法、透析法、限外濾過法など一般的な精製法により精製することができる。

さらに、本発明の高分子ポリマーは、表面に癌細胞特異的抗原に対する抗体を結合させるための官能基を有している必要がある。官能基としては、例えば活性エステル基が挙げられる。「活性エステル基」とは、エステル基の片方の置換基に酸性度の高い電子求引性基を有しており求核反応に対して活性化されたエステル基をいう。活性エステル基としては、*p*-ニトロフェニル活性エステル基、*N*-ヒドロキシスクシンイミド活性エステル基、フタル酸イミド活性エステル基、5-ノルボルネン-2,3-ジカルボキシイミド活性エステル基等が挙げられる。この中でも、*p*-ニトロフェニル活性エステル基又は *N*-ヒドロキシスクシンイミド活性エステル基が好ましく、特に *p*-ニトロフェニル活性エステル基が好ましい。本発明の高分子ポリマーを製造する際に、重合反応の際に活性エステル基を含有するモノマー化合物を混合し、共重合すればよい。

活性エステル基を含有する化合物としては、例えば、下記式(3)：

化3



[式中、dは0.01~0.30(好ましくは0.01~0.20)であり、pは1~10の整数を表す。]

で表される構成単位(p-ニトロフェニルオキシカルボニルオキシエチレンメタクリレート(MEONP))由来のポリマーが挙げられる。本発明の高分子ポリマーを製造する際に、上記式(1)又は(2)の共重合体に、さらに上記式(3)のモノマー構成単位を含有するよう重合させて共重合体を製造すればよい。上記式中、dの値は、共重合体を構成する全モノマー構成単位数に対する上記式(3)の構成単位数の比を示す。

癌細胞特異的抗原が発現する癌の種類は限定されず、例えば、脳・神経腫瘍、皮膚癌、胃癌、肺癌、肝癌、リンパ腫・白血病、結腸癌、膵癌、肛門・直腸癌、食道癌、子宮癌、乳癌、副腎癌、腎癌、腎盂尿管癌、膀胱癌、前立腺癌、尿道癌、陰茎癌、精巣癌、骨・骨肉腫、平滑筋腫、横紋筋腫、中皮腫等が挙げられる。

癌細胞の表面に発現する腫瘍細胞に特異的な抗原としては、例えば、EGFR(上皮細胞増殖因子)、EpCAM、c-erbB-2、CCR5、CD19、HER-3、HER-4、PSMA、CEA、 $\beta$ hCG、CD20、CD33、CD30、CCR8、TNF- $\alpha$ 前駆体、STEAP、メソテリン、A33抗原、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、Ly-6、CD63等が挙げられる。この中でもEGFR、EpCAM及びc-erbB-2が好ましい。EGFRは扁平上皮癌細胞に発現し、EpCAMは広く癌細胞に発現し、c-erbB-2は腺癌に発現する。

本発明の高分子ポリマーは、これらの癌細胞特異的抗原に対する抗体が表面に結合しており、アクティブターゲティングにより癌細胞を指向する。すなわち、細胞特異的能動集積性を有する。

抗体は、公知の方法で作製することができ、好ましくはモノクローナル抗体である。抗体は、高分子ポリマーの活性エステル基と抗体を構成するアミノ酸のA

ミノ基を共有結合により PMBN (MPC ポリマー) に結合させればよい。抗体の高分子ポリマーへの結合は、リン酸緩衝液等の緩衝液中で、高分子ポリマーと抗体を混合させればよい。反応は、例えば 3~37°C で 1 時間~24 時間行えばよい。高分子ポリマーと抗体との混合比は限定されないが、例えば、高分子ポリマー 10mg に対して、抗体を 0.1~5 mg 混合すればよい。結合した抗体量は以下のようにして決定することができる。抗体結合の際に、抗体のアミノ基との反応により、リリースされる p-ニトロフェノールは紫外線 400nm に吸収を持ち、これを測定すればおおよその結合量を数値化することができる。また、透析等によって未反応の抗体を分離した後に、抗体を直接定量することで結合量を求めることができる。さらに、未反応の抗体も含めた状態で、液体クロマトグラフィーによって分離することでおおよその結合量を求めることができる。

さらに、本発明の高分子ポリマーは、脂溶性 (疎水性) の PDT 治療用光感受性物質を含む。脂溶性の光感受性物質は、高分子ポリマーの疎水性部分と結合する。脂溶性の光感受性物質が高分子ポリマーの疎水性部分に結合することにより、高分子ポリマーは脂溶性の光感受性物質を内包した粒子状物質となる。

脂溶性の PDT 治療用光感受性物質としては、プロトポルフィリン、ベンゾポルフィリン等のポルフィリン類、ベルテポルフィン等が挙げられる。また、これらの薬剤を混合して用いてもよい。この中でも、ベルテポルフィンが好ましい。本発明において、ベルテポルフィンを含み、抗体が表面に結合した PMBN (MPC ポリマー) を、

例えば Ab (+) ベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) と呼ぶ。

本発明は、光線力学的治療用光感受性物質を含み、表面に癌細胞特異的抗原に対する抗体が結合した腫瘍細胞特異的高分子ポリマー化合物であって、高分子ポリマーが MPC に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体である癌細胞特異的高分子ポリマー化合物を含む光線力学療法剤である癌治療用医薬組成物を含む。該医薬組成物は、生理食塩水、リン酸緩衝塩溶液等の適当な緩衝液に溶解させ、必要に応じて医薬的に許容できる添加物を添加する。添加物としては、有機溶媒等の溶解補助剤、酸、塩基等の pH 調整剤、アスコルビン酸等の安定剤、グルコース等の賦形剤、塩化ナトリウム等の等張化剤などが挙げ

られる。

本発明の医薬組成物は、あらかじめ静脈注射により治療を受けようとする被験体に全身投与すればよいが、特定の癌組織部位に局所投与してもよい。医薬組成物の投与量は限定されず、例えば光線力学的治療用光感受性物質で数  $\mu\text{g/ml}$  ~ 数  $\text{mg/ml}$  に調製した医薬組成物を数  $\mu\text{l}$  ~ 数  $\text{ml}$  投与するか、又は直接標的部位に注入等により投与すればよい。投与方法は、限定されず、静脈注射、筋肉注射、皮下注射、経口投与等により投与すればよい。この中でも静脈注射が好ましい。本発明の光線力学療法剤は、静脈注射した場合でも、アクティブターゲティングにより癌組織に到達し、癌の治療効果を発揮し得る。すなわち、本発明の光線力学療法剤は、好ましくは静脈注射製剤である。

本発明の医薬組成物を投与すると、高分子ポリマーの癌細胞特異的抗原に対する抗体が癌細胞を指向し、癌細胞に結合し、ある場合は癌細胞中に取り込まれ、癌細胞中で光感受性物質を放出し、光感受性物質が癌細胞内に集積する。また、ある場合は癌細胞の周囲で光感受性物質を放出し、光感受性物質が癌細胞の周囲に集積する。

医薬組成物の投与後、0.5時間~72時間後に被験体に光を照射し、光線力学的治療を行う。照射する光は、用いた光感受性物質に応じて適宜決定することができる。すなわち、光感受性物質の吸収波長の波長を有する光を照射すればよい。例えば、光感受性物質がベルテポルフィンの場合、690nmの波長の光を、フォトフリンの場合、630nmの波長の光を投与すればよい。投与する光としては、例えば半導体レーザー、色素レーザー等が発する光が挙げられる。具体的には、Nd-YAG（イットリウム・アルミニウム・ガーネット）レーザー、CO<sub>2</sub>レーザー、アルゴン・ダイ・レーザー、エキシマ・レーザー等を用いることができる。被験体の全身に光を照射してもよいし、光ファイバーを含むカテーテルを血管等を通じて体内に挿入し、光ファイバーを通じて、腫瘍患部に局所的に光を照射してもよい。

本発明の光線力学療法剤は、例えば、内視鏡手術により粘膜の癌部を切除した粘膜の初期癌において、粘膜下に癌が残っている症例、すなわち、粘膜切除術断端陽性例に対する追加療法として有用である。

さらに、本発明の医薬組成物を投与した後に、光を照射する代わりに、超音波

を照射してもよい。ベルテポルフィン等の光感受性物質に超音波を照射することにより、フリーラジカルが発生し、癌細胞の増殖を抑えることができる。超音波は体内の深部に到達するので、深部の癌の治療に有用である。例えば、本発明の医薬組成物を生体に投与した後、腫瘍患部に向け超音波を照射すればよい。限定されないが、超音波の強さは  $0.1 \sim 10 \text{ W/cm}^2$ 、好ましくは  $1 \sim 5 \text{ W/cm}^2$  であり、超音波の照射時間は数秒から数百秒である。

本発明を以下の実施例によって具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

#### 実施例1 ベルテポルフィン封入 PMBN (MPC ポリマー) の作製

p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレート (MEONP) の合成

0.01mol のエチレングリコールモノメタクリレートを 20mL のクロロホルムに溶解させ、 $-30^\circ\text{C}$  まで冷却した。溶液を  $-30^\circ\text{C}$  に保ち、予め作製しておいた 0.01mol の p-ニトロフェニルクロロフォーマート及び 0.01mol のトリエチルアミン及びクロロホルム 20mL の均一溶液を滴下した。 $-30^\circ\text{C}$  にて 1 時間反応させ、室温でさらに 2 時間溶液を攪拌した。次いで、反応液から塩をろ過により除去し、溶媒を除去して p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレート (MEONP) を得た。

#### MPC ポリマーの作製

MPC、疎水性の n-ブチルメタクリレート (MBA) 及び活性エステルを持つ p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレート (MEONP) をモル比 60/20/20 で混合し、さらに重合開始剤として AIBN を用い、エタノールで希釈し、反応系をアルゴンで置換した後、 $60^\circ\text{C}$  にて 5 時間反応させ、共重合体を作製した。ポリマーの精製には、再沈殿法と膜透析法を用いた。

得られたポリマー 10mg を 1mg の抗 EGFR 抗体 (528、ATCC 登録番号: HB8509) を加えた PBS で final 5ml になるように溶解し、 $4^\circ\text{C}$  一晩反応させた。その後、20mg/ml ベルテポルフィン  $100 \mu\text{l}$  を加え、ベルテポルフィンが内包され、表面に抗 EGFR 抗体が結合した PMBN (MPC ポリマー) を得た。

実施例2 類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) 組織

## 内分布の検討

1 × 10<sup>7</sup> 個のヒト類上皮癌細胞 A431 を 6 週齢の BALB/c ノードマウスの皮下に投与した。皮下腫瘍が直径 5 mm 程度まで増殖した時点で実施例 1 で作製したベルテポルフィンを含む PMBN (MPC ポリマー) 300 μl を静脈注射し、組織を採取した。採取した組織を凍結乾燥し、乾燥重量を測定した。凍結乾燥組織に N,N-ジメチルホルムアミドを加え組織をホモジナイズし、ベルテポルフィンを溶出させた後 OD686nm で吸光度を測定、取り込み量を算出した。この際、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーと抗 EGFR 抗体を結合させない PMBN (MPC ポリマー) を用いた。

結果を図 1 に示す。図 1 A は抗 EGFR 抗体を結合させた PMBN (MPC ポリマー) の結果を示し、図 1 B は抗 EGFR 抗体を結合させない PMBN (MPC ポリマー) の結果を示す。図 1 に示すように、抗 EGFR 抗体を結合させない MPC ポリマーは腫瘍組織にはほとんど取り込まれなかったが、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーは腫瘍組織に大量に取り込まれた。

## 実施例 3 ヒト類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) ・レーザー治療の検討

1 × 10<sup>7</sup> 個のヒト類上皮癌細胞 A431 を 6 週齢の BALB/c ノードマウスの皮下に投与した。皮下腫瘍が 5 mm 程度まで増殖した時点で実施例 1 で作製したベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) 300 μl を静脈注射した。静脈注射 1 時間後に 640nm Fiber Coupled LD model (SONY) にて 75J/cm<sup>2</sup> のレーザー照射を行い、その後腫瘍径を測定した。この際、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーと抗 EGFR 抗体を結合させない MPC ポリマーを用いた。

図 2 に結果を示す。図 2 中、コントロールは、PMBN (MPC ポリマー) を投与しなかったノードマウスを示す。図 2 に示すように、コントロールでは腫瘍容積は経時的に増殖した。抗 EGFR 抗体を結合させない PMBN (MPC ポリマー) を投与した場合には、コントロールに比較すると腫瘍容積の増加は少なかったが、ある程度の増加が認められた。抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーを投与した場合は、腫瘍容積の増加はほとんど認められなかった。

## ベルテポルフィンの取込みの観察

培養用 24well dish に A431 をまき、接着するまで約 24 時間おいた。



1 ml の培地中に抗体あり、あるいはなしのベルテポルフィン PMBN (MPC ポリマー) 100  $\mu$  l を加え、10 分、20 分及び 30 分後に PBS で 3 回洗浄し、新しい培地を加えたのち 1 時間後に共焦点レーザー顕微鏡 Leica TCS-SP5 を用い、励起 488nm、蛍光 650-700nm にて観察した。

図 3 に蛍光観察像を示す。図 3 中、「Ab(+)」は、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーを投与した場合の結果、「Ab(-)」は、抗 EGFR 抗体を結合させない MPC ポリマーを投与した場合の結果を示す。それぞれ、10 分、20 分及び 30 分間 A431 細胞とベルテポルフィン MPC ポリマーを接触させた場合の細胞像を示す。図 3 に示すように、抗 EGFR 抗体を結合させた PMBN (MPC ポリマー) を用いた場合に、蛍光が強く染色され、ベルテポルフィンが大量に取り込まれた。

比較例 1 ヒト大腸癌細胞 WiDr を用いたベルテポルフィン PMBN (MPC ポリマー)・レーザー治療の検討

EGFR 低発現の株であるヒト大腸癌細胞 WiDr を用いて検討を行った。

1  $\times 10^7$  個のヒト大腸癌細胞 WiDr を 6 週齢の BALB/c ノードマウスの皮下に打った。

皮下腫瘍が 5 mm 程度になった際に実施例 1 で作製したベルテポルフィン MPC ポリマー 300  $\mu$  l を静脈注射した。この際、抗 EGFR 抗体を結合させた PMBN (MPC ポリマー) と抗 EGFR 抗体を結合させない MPC ポリマーを用いた。

静脈注射 1 時間後に 640nm Fiber Coupled LD model (SONY) にて 75J/cm<sup>2</sup> のレーザー照射を行い、腫瘍径を測定した。

図 4 に抗 EGFR 抗体を結合させたか、又は結合させない MPC ポリマーを投与した場合の結果を示す。

図 4 に示すように、EGFR 低発現株である、ヒト大腸癌細胞 WiDr を用いた場合は、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーの治療効果は認められなかった。

実施例 4 ヒト類上皮癌モデルを用いたベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー)・レーザー治療の検討 (生存率の検討)

1  $\times 10^7$  個のヒト類上皮癌細胞 A431 を 6 週齢の BALB/c ノードマウスの皮下に投与した。皮下腫瘍が 5 mm 程度まで増殖した時点で実施例 1 で作製したベルテポルフィン-PMBN (MPC ポリマー) 300  $\mu$  l を静脈注射した。静脈注射 1 時間後に 640nm

Fiber Coupled LD model (SONY)にて  $75\text{J}/\text{cm}^2$  のレーザー照射を行い、その後マウスの生存率を経時的にモニタした。この際、抗 EGFR 抗体を結合させた MPC ポリマーと抗 EGFR 抗体を結合させない PMBN (MPC ポリマー) を用いた。

図 5 にマウスの生存率の結果を示す。図 5 中「Ab(+)」及び「Ab(-)」は、それぞれ、抗 EGFR 抗体を結合した PMBN (MPC ポリマー) 及び抗 EGFR 抗体を結合しないポリマーの結果を示す。また、NC は PMBN (MPC ポリマー) を投与しないコントロールを示す。図 5 に示すように、抗 EGFR 抗体を結合した PMBN (MPC ポリマー) を投与したマウスで生存率が改善された。

#### 実施例 5 抗体を結合した PMBN (MPC ポリマー) とビスダインとの効果の比較

以下の方法で PMBN (MPC ポリマー) の組織内分布を検討した。

$1 \times 10^7$  個のヒト類上皮癌細胞 A431 を 6 週齢の BALB/c ヌードマウスの皮下に投与し、皮下腫瘍が直径 5 mm 程度まで増殖した時点で実施例 1 で作製したベルテポルフィンを含む PMBN (MPC ポリマー)  $300\ \mu\text{l}$  を静脈注射し、組織を採取した。採取した組織の重量を測定した後凍結乾燥し、組織に N, N-ジメチルホルムアミドを加え組織をホモジナイズし、ベルテポルフィンを溶出させた後 OD686nm で吸光度を測定、取り込み量を算出した。

用いた薬剤は、ビスダイン、ベルテポルフィンを含むポリマー(抗体なし)(Ab(-)ベルテポルフィン-PMBN)、ベルテポルフィンを含むポリマー(抗体あり)(Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN)であり、これらの正常組織(皮膚・筋肉)への取り込み及び腫瘍への集積を調べた。ビスダインは加齢黄斑変性症に対する治療薬で成分・含量 1 バイアル中ベルテポルフィン 15mg、添加物として乳糖 690 mg、エッグホスファチジルグリセロール 48.75 mg、ジミリストイルホスファチジルコリン 70.50 mg、パルミチン酸アスコルビン酸 0.15 mg、ジブチルヒドロキシトルエン 0.015 mg を加えて疎水性のベルテポルフィンを可溶化したものである。なお、ビスダイン、ベルテポルフィンを含むポリマー(抗体なし)(Ab(-)ベルテポルフィン-PMBN)、ベルテポルフィンを含むポリマー(抗体あり)(Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN)の効果の比較実験においては、ベルテポルフィンの使用量を合わせた。

結果を図 6 および 7 に示す、図 6 は、1 時間後の皮膚への取り込みを、図 7 は経時的な腫瘍への集積を示す。

図6に示すように、同量のベルテポルフィンを投与した場合、ベルテポルフィンを含むポリマーを用いることにより、抗体の有る無しに拘らず、皮膚への取り込みがビスダインと比較して半分に抑えられている。この結果、光過敏症が起こりにくくなると考えられる。これは、ビスダインと比べた場合の粒径が、抗体なしで40~60nm、抗体ありで100~120nmと大きくなっているためだと考えられる。

また、図7に示す腫瘍への集積の結果からわかるように、EGFR 高発現の A431 細胞に対する取り込みはビスダインとベルテポルフィンを含むポリマー（抗体あり）(Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN)で高く、一方、EGFR 陰性の H69 細胞ではベルテポルフィンを含むポリマー（抗体あり）(Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN)は、ほとんど取り込まれていなかった。この結果は、腫瘍への取り込み、集積は Enhanced Permeability and Retention (EPR; 特定のサイズを持った粒子が血管壁の隙間を通過し、腫瘍に蓄積すること)効果ではなく、抗体によるものであることを示す。

腫瘍 (A431) への取り込みと正常組織への取り込みの比を計算すると、腫瘍への取り込み/皮膚への取り込みの比は、ビスダインを用いた場合には 30 分後で 4.24 であるのに対し、Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN を用いた場合は 30 分後で 50.00、1 時間後ではビスダインを用いた場合が 5.96 であるのに対し、Ab(+))ベルテポルフィン-PMBN を用いた場合は 7.26 と高くなっていた。

#### 産業上の利用可能性

本発明の光線力学療法剤は、光感受性物質を内包し、表面に、癌細胞の表面に特異的に発現する抗原に特異的な抗体が結合している。そのため、光線力学療法剤を静脈注射により全身投与する場合でも、アクティブターゲティングにより少ない投与量で効率的に癌組織に光感受性物質を到達させることができる。本発明の光線力学療法剤を癌の治療に用いた場合、日光感受性の合併症が起こりにくくなる。また、光感受性物質としてベルテポルフィンを用いた場合、投与量を少なくすることができ、体内濃度も低く維持できるため、アナフィラキシー反応を誘発するおそれも少なくなる。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

## 請求の範囲

1. 光線力学療法用光感受性物質を含み、表面に癌細胞特異的抗原に対する抗体が結合した癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
2. 高分子ポリマーが 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(以下 MPC と略記)に基づく構成単位及び疎水性単量体に基づく構成単位を有する共重合体である請求項 1 記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
3. 高分子ポリマーが MPC と n-ブチルメタクリレートとの共重合体である請求項 2 記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
4. 高分子ポリマーがリポソーム又はリポソーム様の高分子会合体である請求項 1 記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
5. さらに、活性エステル基を含有するモノマー化合物を含む請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
6. 活性エステル基を含有するモノマー化合物が p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレートである請求項 5 記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
7. 癌細胞特異的抗原に対する抗体が抗 EGFR 抗体、抗 EpCAM 抗体及び抗 c-erbB-2 抗体からなる群から選択される、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
8. 癌細胞特異的抗原に対する抗体が活性エステル基を含有するモノマー化合物の活性エステル基を介して結合している、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
9. 光線力学療法用光感受性物質がベルテポルフィンである請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物。
10. 請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の癌細胞特異的高分子ポリマー化合物を含む、光線力学療法剤。
11. 静脈注射製剤である、請求項 10 記載の光線力学療法剤。
12. MPC、n-ブチルメタクリレート及び活性エステル基を含有するモノマー化合物を混合し、MPC ポリマーを製造し、次いで、癌細胞特異的抗原に対する抗

体と混合し、p-ニトロフェニルオキシカルボニルエチレングリコールメタクリレート  
の活性エステル基に前記抗体を結合させ、さらに、光線力学療法用光感受性  
物質を混合し、MPC ポリマーに該光線力学療法用光感受性物質を内包させること  
を含む、光線力学療法剤の製造方法。

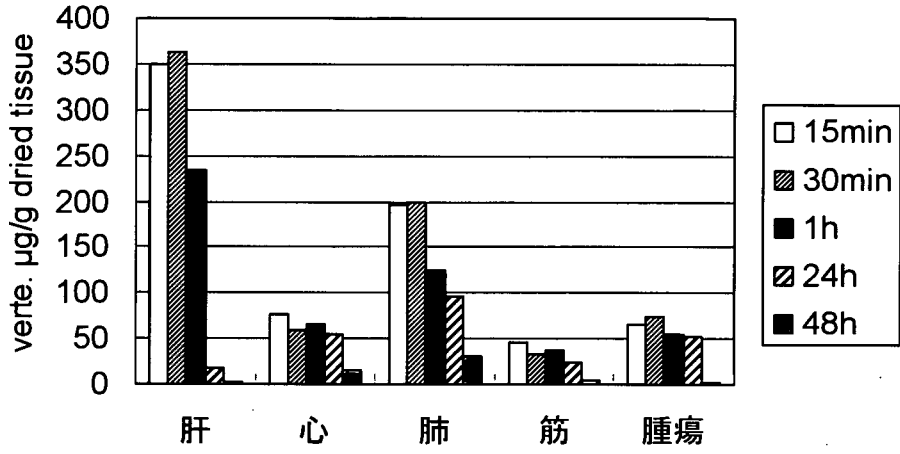
13. 活性エステル基を含有するモノマー化合物がp-ニトロフェニルオキシ  
カルボニルエチレングリコールメタクリレートである請求項12記載の光線力学  
療法剤の製造方法。

14. 癌細胞特異的抗原に対する抗体が抗EGFR抗体、抗EpCAM抗体及び抗  
c-erbB-2抗体からなる群から選択される、請求項12又は13に記載の光線力学  
療法剤の製造方法。

15. 光線力学療法用光感受性物質がベルテポルフィンである請求項12～  
14のいずれか1項に記載の光線力学療法剤の製造方法。

図 1

A



B

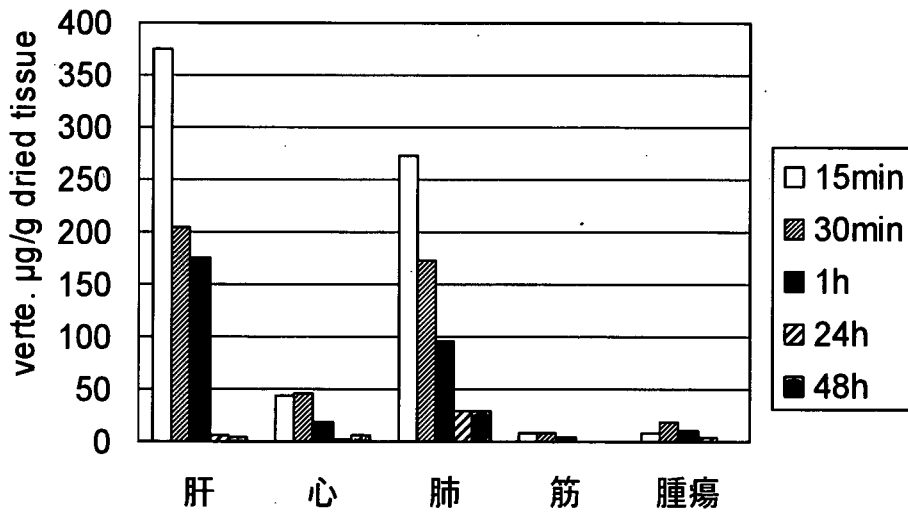
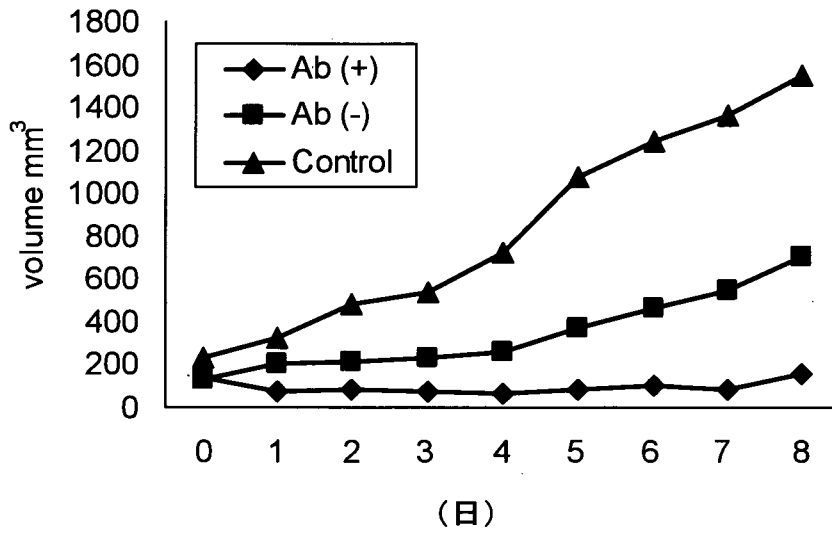
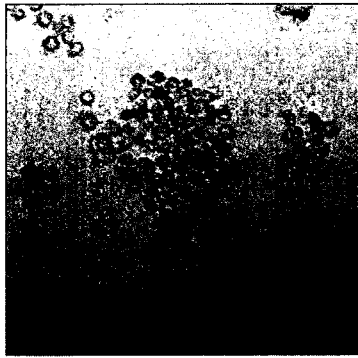


図 2



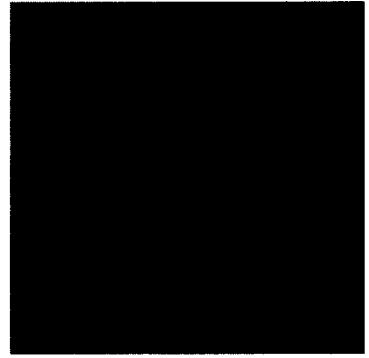
3



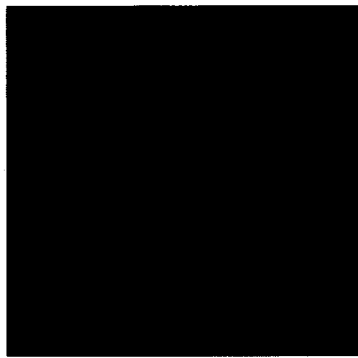
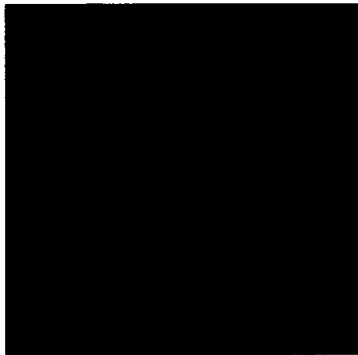
Ab(-) 30min



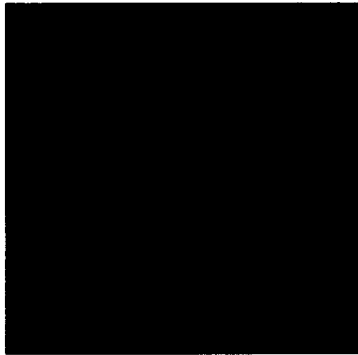
Ab(-) 20min



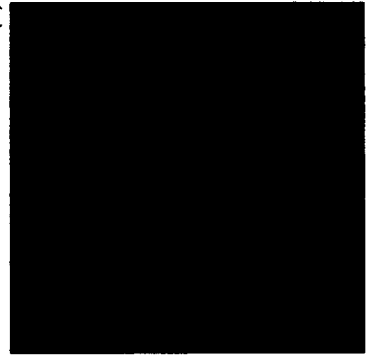
Ab(-) 10min



Ab(+) 30min



Ab(+) 20min



Ab(+) 10min

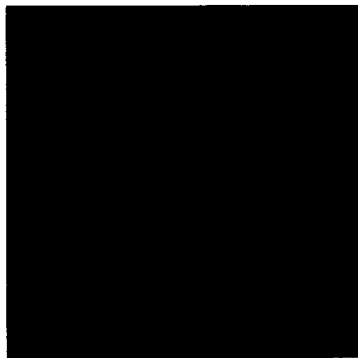
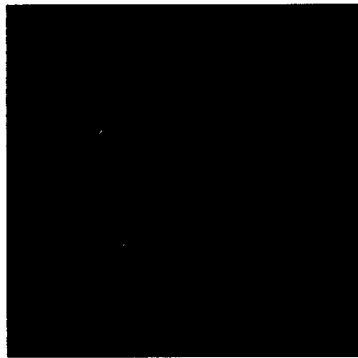




図 4

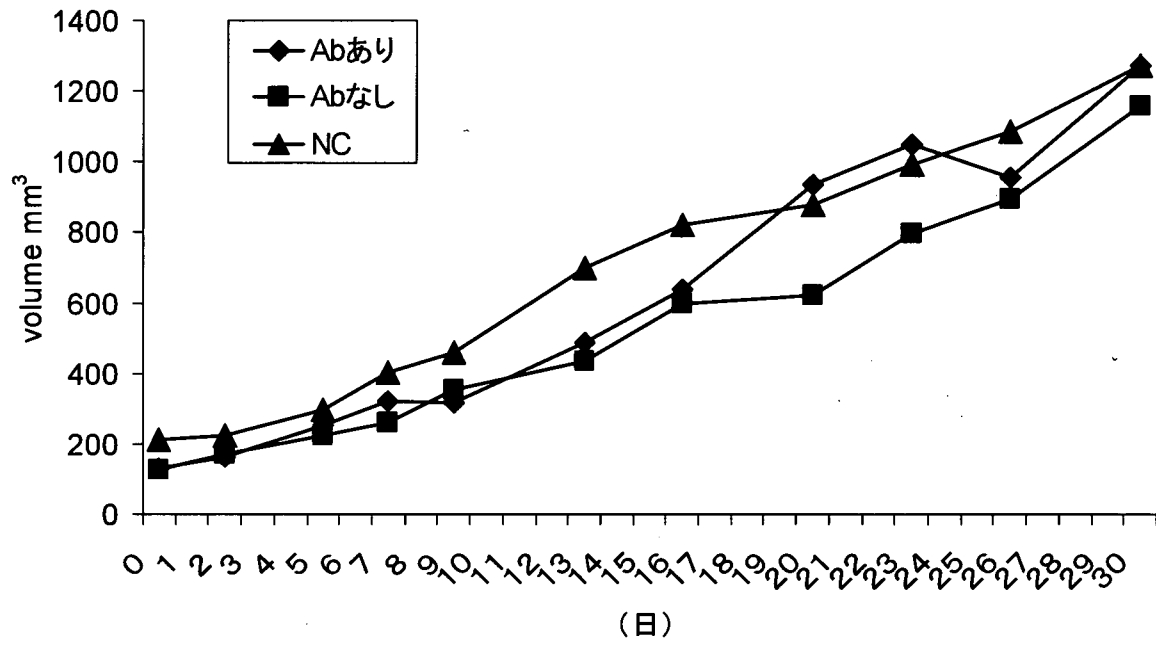


図 5

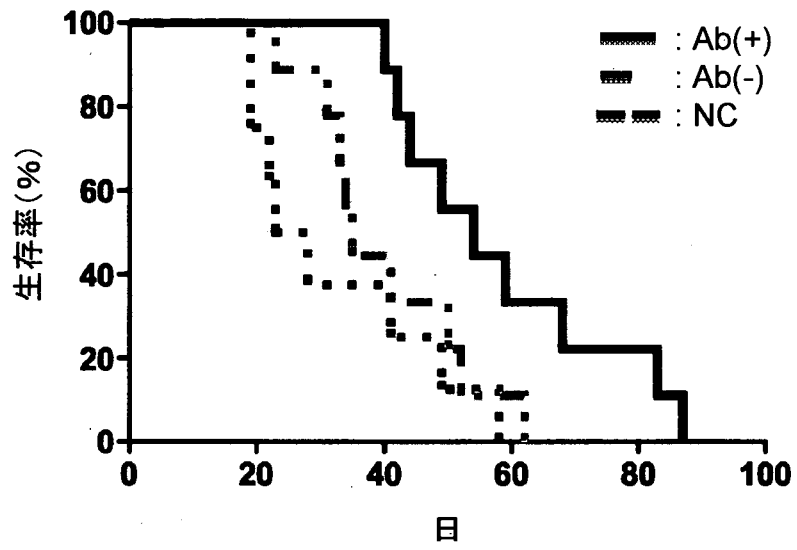


図 6

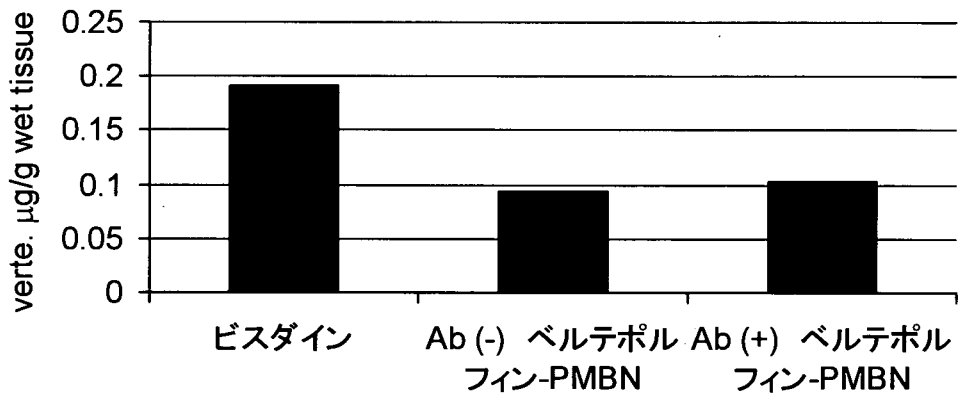
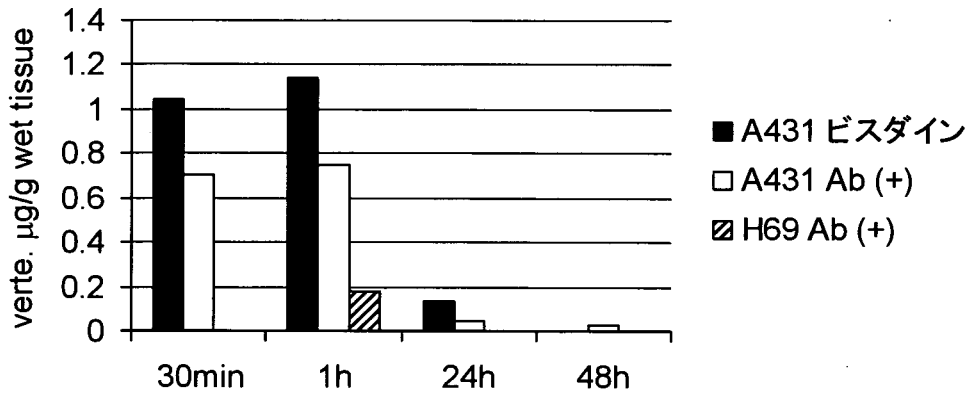


図 7



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2009/071517

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C08F220/26(2006.01) i, A61K9/127(2006.01) i, A61K31/409(2006.01) i,  
A61K39/395(2006.01) i, A61K45/00(2006.01) i, A61K47/48(2006.01) i, A61P35/00  
(2006.01) i

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

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08F20/00-22/40, A61K9/127, A61K31/409, A61K39/395, A61K45/00, A61K47/48,  
A61P35/00, C08L1/00-101/16

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus (STN), REGISTRY (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-522717 A (Biomira Inc.), 29 July 2004 (29.07.2004), claims 1 to 29 & US 2002/0160039 A1 & WO 2002/043699 A2	1-15
A	WO 2007/099661 A1 (The University of Tokyo), 07 September 2007 (07.09.2007), claims 1 to 13 & US 2009/0018216 A1	1-15
A	JP 2001-206885 A (Japan Science and Technology Corp.), 31 July 2001 (31.07.2001), claims 1 to 10 & US 2003/0153547 A1 & EP 1253150 A1 & WO 2001/055151 A1	1-15

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
30 March, 2010 (30.03.10)

Date of mailing of the international search report  
13 April, 2010 (13.04.10)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/071517

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-98676 A (Kazuhiko ISHIHARA), 05 April 2002 (05.04.2002), claims 1 to 13; paragraph [0027] (Family: none)	1-15
A	JP 10-114800 A (NOF Corp.), 06 May 1998 (06.05.1998), claims 1 to 5; paragraph [0009] (Family: none)	1-15
A	JP 2005-91236 A (Kazuhiko ISHIHARA), 07 April 2005 (07.04.2005), claims 1 to 3; paragraph [0025] (Family: none)	1-15
A	JP 2007-314736 A (Kazuhiko ISHIHARA), 06 December 2007 (06.12.2007), claims 1 to 13 (Family: none)	1-15

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C08F220/26(2006.01)i, A61K9/127(2006.01)i, A61K31/409(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61K47/48(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C08F 20/00-22/40, A61K9/127, A61K31/409, A61K39/395, A61K45/00, A61K47/48, A61P35/00, C08L 1/00-101/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2010年
日本国実用新案登録公報	1996-2010年
日本国登録実用新案公報	1994-2010年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus(STN), REGISTRY(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2004-522717 A (バイオミラ, インコーポレイテッド) 2004.07.29, 請求項1-29 & US 2002/0160039 A1 & WO 2002/043699 A2	1-15
A	WO 2007/099661 A1 (国立大学法人東京大学) 2007.09.07, 請求の範囲1-13 & US 2009/0018216 A1	1-15

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

30.03.2010

国際調査報告の発送日

13.04.2010

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

久保田 英樹

4 J

3776

電話番号 03-3581-1101 内線 3457

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2001-206885 A (科学技術振興事業団) 2001.07.31, 請求項 1 - 10 & US 2003/0153547 A1 & EP 1253150 A1 & WO 2001/055151 A1	1-15
A	JP 2002-98676 A (石原一彦) 2002.04.05, 請求項 1 - 13, 【0027】 (ファミリーなし)	1-15
A	JP 10-114800 A (日本油脂株式会社) 1998.05.06, 請求項 1 - 5, 【0009】 (ファミリーなし)	1-15
A	JP 2005-91236 A (石原一彦) 2005.04.07, 請求項 1 - 3, 【0025】 (ファミリーなし)	1-15
A	JP 2007-314736 A (石原一彦) 2007.12.06, 請求項 1 - 13 (ファミリーなし)	1-15