

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02011/068208

発行日 平成25年4月18日 (2013. 4. 18)

(43) 国際公開日 平成23年6月9日 (2011. 6. 9)

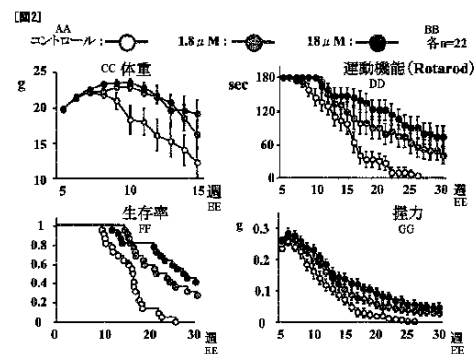
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/454 (2006.01)	A 6 1 K 31/454	4 C 0 8 6
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
A 6 1 K 31/4196 (2006.01)	A 6 1 K 31/4196	
A 6 1 K 31/422 (2006.01)	A 6 1 K 31/422	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁) 最終頁に続く		

出願番号 特願2011-544335 (P2011-544335)	(71) 出願人 504139662 国立大学法人名古屋大学 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番
(21) 国際出願番号 PCT/JP2010/071702	(74) 代理人 100114362 弁理士 萩野 幹治
(22) 国際出願日 平成22年12月3日 (2010. 12. 3)	(72) 発明者 祖父江 元 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 国立大 学法人名古屋大学内
(31) 優先権主張番号 特願2009-277101 (P2009-277101)	(72) 発明者 南山 誠 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 国立大 学法人名古屋大学内
(32) 優先日 平成21年12月5日 (2009. 12. 5)	(72) 発明者 勝野 雅央 愛知県名古屋市千種区不老町 1 番 国立大 学法人名古屋大学内
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 球脊髄性筋萎縮症治療薬

(57) 【要約】

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) に対する新たな治療戦略を提供することを課題とする。トリプタン又はその薬理的に許容される塩を有効成分として含有する球脊髄性筋萎縮症治療薬が提供される。



AA... CONTROL
BB... EACH n=22
CC... BODY WEIGHT
DD... MOTOR FUNCTION
EE... WEEKS
FP... SURVIVAL RATE
GG... GRIP STRENGTH

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

トリプタン又はその薬理的に許容される塩を有効成分として含有する、球脊髄性筋萎縮症治療薬。

【請求項 2】

トリプタンがナラトリプタン、スマトリプタン、ゾルミトリプタン、エレトリプタン又はリザトリプタンである、請求項 1 に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

【請求項 3】

トリプタンがナラトリプタン、スマトリプタン又はリザトリプタンである、請求項 1 に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

【請求項 4】

有効成分がナラトリプタン塩酸塩である、請求項 1 に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

【請求項 5】

長期間に亘って連続的に投与されることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

【請求項 6】

球脊髄性筋萎縮症治療薬を製造するための、トリプタン又はその薬理的に許容される塩の使用。

【請求項 7】

球脊髄性筋萎縮症の患者に対して、トリプタン又はその薬理的に許容される塩を治療上有効量投与するステップを含む、球脊髄性筋萎縮症の治療法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は球脊髄性筋萎縮症に対して有効な医薬及びその用途に関する。本出願は、2009年12月5日に提出された日本国特許出願第2009-277101号に基づく優先権を主張するものであり、当該特許出願の全内容は参照により援用される。

【背景技術】

【0002】

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA: spinal and bulbar muscular atrophy) は成人男性に発症する下位運動ニューロン疾患であり、アンドロゲン受容体 (AR) 遺伝子内のCAG繰り返し配列の異常伸長を原因とするポリグルタミン病の一つである。ポリグルタミン病に共通する分子病態として変異蛋白質の細胞内蓄積やヒストンのアセチル化障害などによる転写障害などいくつかの病態仮説が提示されているが、神経変性の機序についてはまだ不明な点が多い。

【0003】

神経変性疾患をはじめ多くの疾患に対して、未解明の病態を解明する一つ的手段としてcDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析が用いられている。本発明者らは、SBMAのモデルマウス (ヒト変異ARトランスジェニックマウス、特許文献1) の各病期 (発症前、発症初期、発症後期) の脊髄から抽出したmRNAを用いてマイクロアレイ解析を行い、病態関連遺伝子を探索した結果として、対照と比較して発症前より発現変動に有意な差を認める遺伝子を抽出し、そのうち発症前から対照と比較し有意に発現の亢進のみられる遺伝子としてcalcitonin gene-related polypeptide 1 (CGRP1) を同定したことを報告した (第50回日本神経学会総会にて報告。非特許文献1を参照)。詳しくは、まずRT-PCRによりDNAマイクロアレイ結果の裏付けを行い、SBMAマウス脊髄においてmRNAレベルでCGRP1の発現が亢進していることを確認した。次に、SBMAの培養細胞モデル (SHSY5Y-mutant AR stable cell line) においてもアンドロゲン添加による変異AR誘発によりCGRP1の発現が亢進することが示された。そこで、上記モデル細胞におけるCGRP1の発現をRNAi法で抑制し生存率アッセイ (viability assay) を行ったところ、CGRP1の発現抑制によりSBMAモデル細胞の生存率 (viability) が改善した。次に、マウス個体におけるCGRP1の病態への関与につい

10

20

30

40

50

て検討した。SBMAモデルマウスとCGRP1ノックアウトマウスを交配し、AR97Q^(+/-)/CGRP1^(+/+)およびAR97Q^(+/-)/CGRP1^(-/-)マウスを作製し、表現型 (phenotype) の解析を行ったところ、AR97Q^(+/-)/CGRP1^(-/-)マウスではAR97Q^(+/-)/CGRP1^(+/+)マウスに比べ運動機能 (rotarod task)、体重、握力、行動量 (cage activity)、生存率において有意な改善が認められた (図4、5を参照)。尚、CGRP1は体内に広く分布し、血管拡張作用、胃酸分泌の制御、インスリン作用の拮抗、骨リモデリングなどの多彩な機能を有する神経ペプチドである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2004/016083号パンフレット

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】第50回日本神経学会総会 プログラム・抄録集、259頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明の課題は、球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) に対する新たな治療戦略を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者らは、CGRP1はSBMAモデルマウスの神経症状発症前から病態に強く関与している遺伝子でありSBMAの治療における新しい標的 (ターゲット) になると考えた。この着眼点に基づき、CGRP1の阻害がSBMAに対する有効な治療戦略になると仮定し、細胞レベル及び動物レベルの実験を通して検討を重ねた。始めにトリプタン系薬剤のCGRP1を阻害する活性に注目するとともに、SBMAが慢性疾患でありその治療には持続的な効果を発揮する薬剤が好ましいと考え、効果の持続時間の長いナラトリプタンを候補薬剤としてSBMAに対するその薬効を調べることにした。結果、SBMAモデル細胞を用いた実験により、ナラトリプタンが細胞の生存率を有意に改善することが判明した。一方、SBMAモデルマウスにナラトリプタンを投与したところ、SBMAの病態を著明に抑制した。特筆すべきことに、ナラトリプタンを投与したSBMAモデルマウスの生存率は、CGRP1遺伝子を欠損させたモデルマウス (AR97Q^(+/-)/CGRP1^(-/-)マウス) の生存率を凌駕していた。即ち、分子標的としたCGRP1遺伝子を欠損させた場合よりも、ナラトリプタンによってCGRP1の発現を抑制した場合の方が生存率が高いという、驚くべき現象を認めた。このことは、当該薬剤がSBMAに対して極めて有効であることを示唆する。以上の知見を得た後、他のトリプタン系薬剤の効果を比較した。その結果、程度の差はあるものの、SBMAに対する治療効果はトリプタン系薬剤に共通する特性であることが明らかとなった。換言すれば、広くトリプタン系薬剤がSBMAの治療に有効であることが判明した。検討を進めた結果、作用メカニズムに関する有益且つ重要な知見が得られ、トリプタン系薬剤の有効性が更に裏付けられた。ここで、トリプタン系薬剤は偏頭痛の治療薬として認可・臨床応用されている薬剤であり、その適用法として「長期間に亘る連続的な投与」は想定されていない。また、長期間に亘って連続的に投与された場合の効果は不明である。本発明者らの検討の末に見出された知見、即ち「トリプタン系薬剤の長期間に亘る連続的投与がSBMAに対する治療効果を発揮すること」は、従来の適用とは全く異なる上に、従来の使用実績からは到底予想できない、トリプタン系薬剤の使用目的・使用態様を提供するものであり、その意義は極めて大きい。

【0008】

以下に列挙する本発明は主として以上の成果・知見に基づく。

[1] トリプタン又はその薬理的に許容される塩を有効成分として含有する、球脊髄性筋萎縮症治療薬。

[2] トリプタンがナラトリプタン、スマトリプタン、ゾルミトリプタン、エレクトリブ

10

20

30

40

50

タン又はリザトリプタンである、[1]に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

[3]トリプタンがナラトリプタン、スマトリプタン又はリザトリプタンである、[1]に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

[4]有効成分がナラトリプタン塩酸塩である、[1]に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

[5]長期間に亘って連続的に投与されることを特徴とする、[1] ~ [4]のいずれか一項に記載の球脊髄性筋萎縮症治療薬。

[6]球脊髄性筋萎縮症治療薬を製造するための、トリプタン又はその薬理的に許容される塩の使用。

[7]球脊髄性筋萎縮症の患者に対して、トリプタン又はその薬理的に許容される塩を治療上有効量投与するステップを含む、球脊髄性筋萎縮症の治療法。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 9 】

【図 1】SBMAモデル細胞に対するナラトリプタン塩酸塩の効果を示すグラフ。ナラトリプタン塩酸塩はCGRP1の転写抑制効果を示す（左）。また、細胞生存率を改善する（右）。

* $p < 0.01$ (Dunnett's testによる)

【図 2】SBMAモデルマウスに対するナラトリプタンの効果を示すグラフ。ナラトリプタン塩酸塩を自由飲水で投与したSBMAモデルマウスの体重変化（左上）、運動機能（Rotorod）の変化（右上）、生存率の推移（左下）、及び握力の変化（右下）を調べた。

【図 3】ナラトリプタン塩酸塩を自由飲水で投与したSBMAモデルマウス（右）及び無処理のSBMAモデルマウス（左）の脊髄（胸髄、15週）を抗CGRP抗体を用いて免疫染色した結果（倍率：400倍）。

【図 4】CGRP1遺伝子をノックアウトしたSBMAモデルマウスAR-97Q^(+/-)/CGRP^(-/-)（雄）の作製方法の概略。ノックアウトマウス（-/-）ではCGRP1の発現を認めないことを確認した（右下のグラフ）。

【図 5】SBMAモデルマウスにおいてCGRP1遺伝子をノックアウトした場合の表現型の変化を示すグラフ。ノックアウトマウスAR-97Q^(+/-)/CGRP^(-/-)の体重変化（左上）、運動機能（Rotorod）の変化（右上）、生存率の推移（左下）、及び握力の変化（右下）をSBMAモデルマウスAR-97Q^(+/-)/CGRP^(+/+)と比較した。

【図 6】SBMAモデル細胞に対する各種トリプタンの効果を示すグラフ。ナラトリプタン（左上）、スマトリプタン（左下）及びリザトリプタン（右上）はいずれもSBMAモデル細胞に対して治療効果を示した。

【図 7】細胞生存率アッセイ（ $n=6$ ）の結果（左）とLDHアッセイ（ $n=6$ ）の結果（右）のグラフ。* $p < 0.05$ (Dunnett's testによる) ** $p < 0.01$ (Dunnett's testによる)

【図 8】GFAPの免疫組織化学（上：染色像、下：画像解析結果のグラフ（ $n=6$ ））。* $p < 0.01$ (Dunnett's testによる)

【図 9】GFAPの免疫組織化学（上：染色像、下：画像解析結果のグラフ（ $n=6$ ））。* $p < 0.01$ (Dunnett's testによる)

【図 10】LDHアッセイ（ $n=3$ ）の結果のグラフ。* $p < 0.01$ (Dunnett's testによる)

【図 11】p-c-Junの免疫組織化学（上：染色像、下：画像解析結果のグラフ（ $n=6$ ））。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 0 】

本発明の第1の局面は球脊髄性筋萎縮症（以下、SBMA）の治療薬を提供する。「治療薬」とは、標的の疾病ないし病態であるSBMAに対する治療的又は予防的効果を示す医薬のことをいう。治療的効果には、SBMAに特徴的な症状又は随伴症状を緩和すること（軽症化）、症状の悪化を阻止ないし遅延すること等が含まれる。後者については、重症化を予防するという点において予防的効果の一つと捉えることができる。このように、治療的効果と予防的効果は一部において重複する概念であることから、明確に区別して捉えることは困難であり、またそうすることの実益は少ない。尚、予防的効果の典型的なものは、SBMAに特徴的な症状の再発を阻止ないし遅延することである。尚、SBMAに対して何らかの治療的

10

20

30

40

50

効果又は予防的効果、或いはこの両者を示す限り、SBMA治療薬に該当する。

【0011】

本発明の医薬の治療対象はSBMAである。SBMAの病態は脊髄前角細胞や顔面神経核、舌下神経核の変性、脱落であり、その原因はアンドロゲン受容体(AR)第1エクソン内のCAGリピートの異常延長である(La Spada, A.R., Wilson, E.M., Lubahn, D.B., Harding, A.E., and Fischbeck, K.H. (1991). Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 352, 77-79.)。ARのCAGリピート数は、正常では12~34程度であるが患者では40~62程度に延長している。このためSBMAは、ハンチントン病や脊髄小脳変性症などと並んで、ポリグルタミン病と呼ばれ、これらの疾患においては表現促進現象(anticipation)やCAGリピート数のばらつき(体細胞モザイク)(Tanaka, F., Reeves, M.F., Ito, Y., Matsumoto, M., Li, M., Miwa, S., Inukai, A., Yamamoto, M., Doyu, M., Yoshida, M., Hashizume, Y., Terao, S., Mitsuma, T., and Sobue, G. (1999). Tissue-specific somatic mosaicism in spinal and bulbar muscular atrophy is dependent on CAG-repeat length and androgen receptor--gene expression level. *Am. J. Hum. Genet.* 65, 966-973.)、主に神経組織が選択的に障害されるという、共通の病態が観察される。また、他のポリグルタミン病と同様SBMAにおいても、CAGリピート数は筋力低下の発症年齢と負の相関を示し、年齢補正した重症度とは正の相関を示す(Doyu, M., Sobue, G., Mukai, E., Kachi, T., Yasuda, T., Mitsuma, T., and Takahashi, A. (1992). Severity of X-linked recessive bulbospinal neuronopathy correlates with size of the tandem CAG repeat in androgen receptor gene. *Ann. Neurol.* 32, 707-710.)。

10

20

【0012】

本発明の医薬は有効成分としてトリプタン又はその薬理的に許容される塩を含む。換言すれば、トリプタン系薬剤が有効成分であることにより特徴付けられる。トリプタン系薬剤は、共通した薬理作用として5-HT_{1B/1D}受容体に対する選択的なアゴニスト作用を有し、偏頭痛の治療薬として利用されている。偏頭痛に対するトリプタン系薬剤の作用機序は、以下の三点、即ち(1)脳硬膜血管壁に存在する5-HT_{1B}受容体に作用し、選択的に頭蓋内の血管を収縮させること、(2)頭蓋血管周囲の三叉神経に存在する5-HT_{1D}受容体に作用し、神経ペプチド(CGRPやサブスタンスP)の遊離を抑制し、血管の拡張と炎症を抑制すること、(3)脳幹の三叉神経節に存在する5-HT_{1D}受容体に作用し、三叉神経を伝導する疼痛シグナルを抑制すること、であると考えられている。本発明は、その病態や発症機構など、あらゆる点において偏頭痛と相違するSBMAに対してトリプタン系薬剤を用いるものであり、その産業的価値は勿論のこと、医学的見地からの意義も極めて大きい。

30

【0013】

トリプタンの例はナラトリプタン、スマトリプタン、ゾルミトリプタン、エレトリプタン、リザトリプタンである。また、薬理的に許容される塩の例としてナラトリプタン塩酸塩、スマトリプタンコハク酸塩、臭化水素酸エレトリプタン、安息香酸リザトリプタンを挙げることができる。以上の例示は、「薬理的に許容される塩」が限定解釈されるために用いられるべきではない。即ち、「薬理的に許容される塩」は、広義に解釈されるべきであり、酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等、各種の塩を含む用語である。酸付加塩の例としてはトリフルオロ酢酸塩塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、臭化水素酸塩などの無機酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、酒石酸塩などの有機酸塩が挙げられる。金属塩の例としてはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩などのアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、亜鉛塩が挙げられる。アンモニウム塩の例としてはアンモニウム、テトラメチルアンモニウムなどの塩が挙げられる。有機アミン付加塩の例としてはモルホリン付加塩、ペペリジン付加塩が挙げられる。アミノ酸付加塩の例としてはグリシン付加塩、フェニルアラニン付加塩、リジン付加塩、アスパラギン酸付加塩、グルタミン酸付加塩が挙げられる。

40

50

【0014】

尚、いくつかのトリプタン系薬剤は、以下の通り、片頭痛及びノ又は群発頭痛に対する医薬としての販売・使用実績がある。

イミグラン（登録商標）錠50（グラクソ・スミスクライン株式会社）、イミグラン（登録商標）点鼻液20（グラクソ・スミスクライン株式会社）、イミグラン（登録商標）注3（グラクソ・スミスクライン株式会社）、ゾーミック（登録商標）錠2.5mg（アストラゼネカ株式会社）、ゾーミック（登録商標）錠RM2.5mg（アストラゼネカ株式会社）、レルパックス（登録商標）錠（ファイザー製薬株式会社）、マクサルトル（登録商標）錠 10mg（エーザイ株式会社）、マクサルトルPD（登録商標）錠 10mg（エーザイ株式会社）、アマージ（登録商標）錠2.5mg（グラクソ・スミスクライン株式会社）

10

【0015】

本発明の医薬の製剤化は常法に従って行うことができる。製剤化する場合には、製剤上許容される他の成分（例えば、担体、賦形剤、崩壊剤、緩衝剤、乳化剤、懸濁剤、無痛化剤、安定剤、保存剤、防腐剤、生理食塩水など）を含有させることができる。賦形剤としては乳糖、デンプン、ソルビトール、D-マンニトール、白糖等を用いることができる。崩壊剤としてはデンプン、カルボキシメチルセルロース、炭酸カルシウム等を用いることができる。緩衝剤としてはリン酸塩、クエン酸塩、酢酸塩等を用いることができる。乳化剤としてはアラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、トラガント等を用いることができる。懸濁剤としてはモノステアリン酸グリセリン、モノステアリン酸アルミニウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウム等を用いることができる。無痛化剤としてはベンジルアルコール、クロロブタノール、ソルビトール等を用いることができる。安定剤としてはプロピレングリコール、アスコルビン酸等を用いることができる。保存剤としてはフェノール、塩化ベンザルコニウム、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチルパラベン等を用いることができる。防腐剤としては塩化ベンザルコニウム、パラオキシ安息香酸、クロロブタノール等と用いることができる。

20

【0016】

製剤化する場合の剤形も特に限定されない。剤形の例は錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、注射剤、外用剤、及び座剤である。本発明の医薬には、期待される治療効果（又は予防効果）を得るために必要な量（即ち治療上有効量）の有効成分が含有される。本発明の医薬中の有効成分量は一般に剤形によって異なるが、所望の投与量を達成できるように有効成分量を例えば約0.1重量%～約95重量%の範囲内で設定する。

30

【0017】

本発明の医薬はその剤形に応じて経口投与又は非経口投与（静脈内、動脈内、皮下、皮内、筋肉内、又は腹腔内注射、経皮、経鼻、経粘膜など）によって患者に適用される。これらの投与経路は互いに排他的なものではなく、任意に選択される二つ以上を併用することもできる（例えば、経口投与と同時に又は所定時間経過後に静脈注射等を行う等）。全身投与によらず、局所投与することにもよい。局所投与として、目的の組織への直接注入又は塗布を例示することができる。

40

【0018】

本発明の医薬の投与量及び投与スケジュールは、期待される治療効果が得られるように設定される。治療上有効な投与量の設定においては一般に患者の症状、年齢、性別、及び体重などが考慮される。尚、当業者であればこれらの事項を考慮して適当な投与量を設定することが可能である。例えば、成人（体重約60kg）を対象として一日当たりの有効成分量が約1mg～約300mg、好ましくは約5mg～約200mgとなるよう投与量を設定することができる。後述の実施例に示す通り、本発明の医薬においては長期間に亘る連続的な投与が有効であることが示唆された。そこで、長期間に亘って連続的な投与が行われるように投与スケジュールを作成することが好ましい。「長期間に亘る連続的な投与」とは、トリプタン系薬剤の従来投薬方法、即ち症状又はその兆候が現れたときに投与する（単回投与）のとは異なり、長期間に亘る投薬期間内に複数回の投薬を行うことを意味する。ここでの「

50

長期間」とは1週間以上の期間を意味し、具体的には例えば1月～数年の間で投与期間を設定することができる。一日当たりの投与回数は例えば1～5回とする。SBMAが慢性疾患であり、その治療のためには薬剤が常に作用していることが好ましいことや有効成分の血中半減期を考慮すれば、投与スケジュールとして連日投与を採用することが好ましい。但し、患者の状態や経過によっては、投与しない日を設けることにしてもよい(即ち、隔日投与などの投与スケジュールを採用してもよい)。

【0019】

以上の記述から明らかな通り本出願は、SBMAの患者に対して本発明の医薬を治療上有効量投与することを特徴とする、SBMAの治療法も提供する。

【実施例】

【0020】

CGRP1は球脊髄性筋萎縮症(SBMA)モデルマウスの神経症状発症前から病態に強く関与している遺伝子である。SBMAの治療における標的としてCGRP1が有望であるとの考えの下、CGRP1の阻害がSBMAに対する有効な治療戦略になると仮定し、以下の実験を行った。

【0021】

1. SBMAモデル細胞に対するCGRP1インヒビターの効果

細胞レベル及び動物(マウス)レベルでCGRP1がSBMAの病態に関与することが示唆されたことから、SBMAの治療法の確立を目指し、CGRP1を抑制する薬剤を探索した。CGRP1を抑制できる可能性のある薬剤として片頭痛薬のトリプタンを候補とした。ナラトリプタン(ナラトリプタン塩酸塩、グラクソ・スミスクライン社)はトリプタンの中でも血中濃度半減期が長く副作用の少ない薬剤であり脳血液関門を通過しやすいことから、慢性疾患であるSBMAに適応しやすいと考えられた。そこで、まずSBMAモデル細胞における、ナラトリプタンの効果を検討した。

【0022】

(1) SBMAモデル細胞におけるナラトリプタンのCGRP1発現抑制効果

SBMAのモデル細胞(SH-SY5Y mAR97Q stable cell line(神経芽細胞腫SH-SY5YにSBMAの原因タンパクである変異アンドロゲンレセプター(mAR)の遺伝子を導入し安定発現細胞株として作製したもの))を5%FCS、20 μ Mレチノイン酸及び1nM DHTを添加したD-MEM/F-12培地で培養し、2日後に各濃度(0, 100nM, 1 μ M, 10 μ M)のナラトリプタン塩酸塩(Toronto Research Chemicals)を添加し、16時間後に細胞を回収した。各細胞のmRNAをRneasy Mini Kit(キアゲン)を用いて抽出し、SuoverScript III(インビトロジェン)を用いてcDNAを調製した後、iCycler(バイオ・ラッド)によるリアルタイムRT-PCRにてCGRP1発現量を比較した。プロトコールは各メーカーのものに従った。結果を図1左に示す。ナラトリプタン塩酸塩はCGRP1の転写を有意に抑制した。

【0023】

(2) SBMAモデル細胞におけるナラトリプタンの細胞生存率(cell viability)に対する効果

SBMAのモデル細胞(SH-SY5Y mAR97Q stable cell line)を10%FCS添加D-MEM/F-12培地を用いて24ウェルプレートに播種した。翌日、5%FCS、20 μ Mレチノイン酸及び1nM DHTを添加したD-MEM/F-12培地に交換し、各濃度(0, 100nM, 1 μ M, 10 μ M)のナラトリプタン塩酸塩(Toronto Research Chemicals)を添加した(0日目)。翌日(1日目)に培地と薬剤の交換を行い、2日目にWST-1を各ウェルに50 μ l滴下混合し、4時間37 $^{\circ}$ Cで培養した後、反応液を96ウェルプレートに移し、PowerScan HT(大日本製薬)にて吸光度測定した。プロトコールはメーカーのものに従った。結果を図1右に示す。ナラトリプタン塩酸塩は細胞生存率を有意に改善した。

【0024】

2. SBMAモデルマウスに対するCGRP1インヒビターの効果

SBMAモデルマウス(ヒト変異ARのトランスジェニックマウス:AR-97Q)(WO2004/016083、Katsuno,M., et al.(2002). Testosterone Reduction Prevents Phenotypic Expression in a Transgenic Mouse Model of Spinal and Bulbar Muscular Atrophy.

10

20

30

40

50

Neuron, 35, 843-854) に対するナラトリプタンの効果を検討した。ナラトリプタン塩酸塩 (Toronto Research Chemical) を所定の濃度 ($0 \mu\text{M}$ (コントロール), $1.8 \mu\text{M}$, $18 \mu\text{M}$) に水で溶解し、生後 5 週より SBMA マウス (雄) に任意に飲水させた。生後 5 週より毎週、以下の各項目を測定した。

(a) 体重

(b) 運動機能 (Rotorod): Economex rotarod (Colombus Instruments) を用いて回転 (16/分) するロッド上に各マウスを 3 分間乗せ落下するまでの時間を測定した。

(c) 生存率 (Survival rate): 各群のマウスの生存率を Kaplan-Meier を用いてデータ解析した。

(d) 握力 (Grip): 斉藤式マウス用握力測定装置 (MUROMACHI) を用いて測定した。

10

【0025】

体重、運動機能、生存率、握力の各評価において、ナラトリプタン塩酸塩の投与による有意な改善効果を認めた (図 2)。尚、抗 CGRP 抗体 (サンタクルーズ社 N-20 (1:200)) を使用し、自動免疫染色機ペンタナ XT システム ディスカバリー (ロシュ・ダイアグノスティックス) を利用して免疫染色したところ (SBMA モデルマウスの脊髄 (胸髄、15 週) のパラフィンブロックよりプレパラート切片を作製)、前角細胞に濃染していた CGRP1 はナラトリプタン投与マウスにおいて有意に減少していることが判明した (図 3)。

【0026】

3. CGRP1 のノックアウトによる表現型改善効果

SBMA モデルマウス (ヒト変異 AR のトランスジェニックマウス: AR-97Q) と CGRP1 ノックアウトマウス (CGRP KO) とを交配し、CGRP1 をノックアウトした SBMA モデルマウス AR-97Q^(+/-)/CGRP^(-/-) (雄) を作製した (図 4)。CGRP1 ノックアウトマウスは東京大学代謝生理化学教室の栗原裕基教授より譲渡を受けた。作製した AR-97Q^(+/-)/CGRP^(-/-) (雄) と SBMA モデルマウス AR-97Q^(+/-)/CGRP^(+/+) について生後 5 週より毎週、以下の各項目を測定した。

20

(a) 体重

(b) 運動機能 (Rotorod): Economex rotarod (Colombus Instruments) を用いて回転 (16/分) するロッド上に各マウスを 3 分間乗せ落下するまでの時間を測定した。

(c) 生存率 (Survival rate): 各群のマウスの生存率を Kaplan-Meier を用いてデータ解析した。

30

(d) 握力 (Grip): 斉藤式マウス用握力測定装置 (MUROMACHI) を用いて測定した。

【0027】

体重、運動機能、生存率、握力の各評価において、CGRP1 のノックアウトによる有意な改善効果を認めた (図 5)。注目すべきことに、AR-97Q^(+/-)/CGRP^(-/-) の生存率 (図 5) とナラトリプタンを投与した SBMA モデルマウスの生存率 (図 2) を比較すると、後者の方が改善効果が高い。即ち、分子標的とした CGRP1 遺伝子を欠損させた場合よりも、ナラトリプタンの投与によって CGRP1 の発現を抑制した場合の方が生存率が高くなるという、驚くべき現象を認めた。このことは、ナラトリプタンが SBMA に対して極めて有効であることを示唆する。

【0028】

40

4. 各種トリプタンの比較

ナラトリプタン以外のトリプタンも SBMA に対して薬効を示すか否かを調べた。スマトリプタン (Toronto Research Chemical) 及び安息香酸リザトリプタン (Toronto Research Chemical) を評価対象とした。SBMA のモデル細胞 (SH-SY5Y mAR97Q stable cell line) を Opti-MEM (インビトロジェン) 培地を用いて 24 ウェルプレートに播種した。翌日、 $20 \mu\text{M}$ レチノイン酸及び 1nM DHT を添加した Opti-MEM (インビトロジェン) 培地に交換した。この培地交換から 4 日後に各濃度 (0 , $1 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$) で各トリプタンを添加した (各 $n=6$)。投与 24 時間後に LDH アッセイを行った。いずれのトリプタンも SBMA モデル細胞に対する治療効果を示した (図 6)。即ち、SBMA に対する治療効果はトリプタン系薬剤に共通する特性であることが明らかとなった。尚、ナラトリプタンは低濃度で高い効果を示し

50

、特に有効であるといえる。

【0029】

5. CGRP1の作用部位の同定

CGRP1の作用部位を調べるため、細胞生存率アッセイ及びLDHアッセイを行った。細胞生存率アッセイでは、運動ニューロンのモデル細胞であるヒト神経芽細胞腫のSH-SY5YにCGRP1(ペプチド研究所)を投与した。培地はD-MEM/F12(Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12, GIBCO)に10%ウシ血清(FCS)、ペニシリン-ストレプトマイシン(各20U/ml, 20µg/ml, GIBCO)を添加したものをを用いた。24ウエルプレートに細胞を播種し、37細胞培養インキュベータに静置した。2日後、D-MEM/F12(5%ウシ血清含有)の培地にレチノイン酸(20µM)を添加することで分化を誘導するとともにアンドロゲン(DHT, 1nM)を同時添加した(0日目)。培地は2日目に交換し、4日目に各濃度(0, 10, 100, 1000nM)のCGRP1をD-MEM/F12、20µMレチノイン酸、1nM DHTの無血清培地下に投与した。投与2時間後にWST-1(Roche Applied Science)を各ウエルに50µl滴下混合し37細胞培養インキュベータに静置した。4時間後に反応液を96ウエルプレートに移し、PowerScan HT(大日本製薬)にて吸光度測定した。各プロトコールはメーカーのものに従った。

10

【0030】

LDHアッセイには、SBMAモデル細胞としてSH-SY5Yに変異アンドロゲンレセプター(AR-97Q)を遺伝子導入した安定細胞株(SH-SY5Y AR97Q stable cell line)を使用した。培地、実験方法は上記SH-SY5Yの実験と同様であり、4日目に各濃度(0, 10, 100, 1000nM)のCGRP受容体拮抗薬CGRP8-37(ペプチド研究所)をD-MEM/F12、20µMレチノイン酸、1nM DHTの無血清培地下に投与した。投与4時間後に各ウエルの培養液を96ウエルプレートに移し、ロシュの細胞障害性検出キットPLUS(LDH)を用い、PowerScan HT(大日本製薬)にて吸光度測定した。各プロトコールはメーカーのものに従った。

20

【0031】

結果を図7に示す。運動ニューロンのモデル細胞であるSH-SY5YにCGRP1を直接投与すると細胞の活性は低下し、SBMAモデル細胞(SH-SY5Yに変異アンドロゲン受容体(AR97Q)を遺伝子導入した定常発現細胞)にCGRPの受容体拮抗薬を投与すると細胞毒性が軽減された。この結果より、CGRP1は細胞表面の受容体を介して作用していることが示された。

【0032】

6. SBMAモデルマウス脊髄におけるGFAPの免疫組織化学

SBMAモデルマウス脊髄におけるGFAPの発現を調べた。まず、CGRP1コントロールSBMAモデルマウス(97Q CGRP^(+/+))、CGRP1ノックアウトSBMAモデルマウス(97Q CGRP^(-/-))、及びSBMAコントロールマウス(24Q)の各脊髄(胸髄、15週)のパラフィンブロックよりブレパート切片を作成した。一次抗体は抗GFAP抗体(Cell Signaling Technology, #3670(1:1000))を使用し、免疫染色はEnVision+ Kit(Dako)を用いた。プロトコールはメーカーのものに従った。免疫染色された胸髄水平断で中心管を一角とする前角側4分の1部分のGFAP陽性領域を画像解析ソフトWinROOF(三谷商事)により半定量し、コントロールと比較した。

30

【0033】

結果を図8に示す。GFAPはアストログリア特異的な中間径フィラメントであり、SBMAを含む神経疾患で増加することが知られている。GFAP増加は神経変性を反映する所見と考えられている。24Qマウスと97Qマウス(SBMAモデルマウス)の比較では明らかに97QマウスにおいてGFAPが濃染された。一方、97Qマウスにおいて、CGRP1のノックアウトによりGFAPの染色は軽減された。以上のように、SBMAモデルマウスのCGRP1遺伝子ノックアウトによって脊髄前角におけるGFAPが減少することが明らかとなった。

40

【0034】

7. ナラトリプタンを投与したSBMAモデルマウス脊髄におけるGFAPの免疫組織化学

ナラトリプタンを投与した場合のGFAPの発現変化を調べた。ナラトリプタンを投与したSBMAモデルマウス(97Qナラトリプタン)及び投与しないSBMAモデルマウス(97Qコントロール)、並びにSBMAコントロールマウス(24Qコントロール)について、脊髄(胸髄、15週)の

50

パラフィンブロックよりプレパラート切片を作成した。その他の方法は6.の実験と同様である。

【0035】

結果を図9に示す。ナラトリプタンの投与によってもGFAPの染色が軽減されることが示された。即ち、本治療により神経変性が抑止されることが更に裏付けられた。

【0036】

8. SBMAモデル細胞に対するJNK阻害薬SP-600125の効果

CGRP1がどのようなメカニズムを介して神経変性を惹起するかを解析した。SBMAモデル細胞に対し、6.の実験と同様の方法で4日目に各濃度(0, 0.01, 0.1 μM)のJNK阻害薬SP-600125(Calbiochem)を投与した。24時間後に各ウエルの培養液を96ウエルのプレートに移し、ロシュの細胞障害性検出キットPLUS(LDH)を用い、PowerScan HT(大日本製薬)にて吸光度測定した。各プロトコールはメーカーのものに従った。

10

【0037】

結果を図10に示す。SBMAモデル細胞に対しJNK阻害剤であるSP-600125を投与すると細胞毒性が軽減することが示された。即ち、神経変性の惹起にJNK経路が深く関与していることが明らかとなった。尚、JNKは細胞のストレスに応答するシグナルでアポトーシスなどに関与する。

【0038】

9. SBMAモデルマウス脊髄におけるp-c-Junの免疫組織化学

SBMAモデルマウスの病態へのJNK経路の関与について更に検討した。SBMAモデルマウス(97Q)、コントロールマウス(24Q)、CGRP1コントロールSBMAモデルマウス(97Q CGRP^(+/+))、CGRP1ノックアウトSBMAモデルマウス(97Q CGRP^(-/-))、ナラトリプタンを投与しないSBMAモデルマウス(97Qコントロール)、及びナラトリプタンを投与したSBMAモデルマウス(97Qナラトリプタン)について、脊髄(胸髄、15週)のパラフィンブロックよりプレパラート切片を作成した。一次抗体は抗p-c-Jun抗体(Cell Signaling Technology, #2361 (1:1000))を使用し、免疫染色はEnVision+ Kit(Dako)を用いた。プロトコールはメーカーのものに従った。免疫染色された胸髄水平断で中心管を一角とする前角側4分の1部分のp-c-Jun陽性領域を画像解析ソフトWinROOF(三谷商事)により半定量し、コントロールと比較した。

20

【0039】

結果を図11に示す。SBMAモデルマウスの脊髄運動ニューロンにおいてJNK経路の鍵となる転写因子c-Junの活性化物p-c-Junの濃染が認められた。CGRP1のノックアウトによりp-c-Junの染色は低下し、ナラトリプタンの投与によっても同様の結果となることが示され、細胞内ストレスの改善が示唆された。これらの検討により、CGRP1はJNKの活性化を介して神経細胞を障害すると考えられた。

30

【0040】

<まとめ>

以上の実験の結果、「トリプタン系薬剤はSBMAに対して治療効果を示し、中でもナラトリプタンの効果は高いこと」及び「SBMAに対する治療戦略としてトリプタン系薬剤の長期間に亘る連続的投与が有効であること」が明らかとなった。トリプタン系薬剤は偏頭痛の治療薬として認可・臨床応用されている薬剤であり、その適用法として「長期間に亘る連続的な投与」は想定されていない。上記知見は、従来適用とは全く異なることはもとより従来使用実績からは到底予想できない、トリプタン系薬剤の新たな用途を提供する。

40

【産業上の利用可能性】

【0041】

本発明の医薬はSBMAの治療に用いられる。SBMAはポリグルタミン病の一つである。ポリグルタミン病では、特定の遺伝子におけるCAGリピートの異常延長が原因であること、CAGリピート長が長いほど発症年齢が若年化し重症化すること、表現促進現象(世代を経るごとに発症年齢が若年化する現象)が認められること、神経組織が選択的に障害を受けると、及び神経細胞内に変異タンパク質の凝集が認められるとともに核内封入体が観察され

50

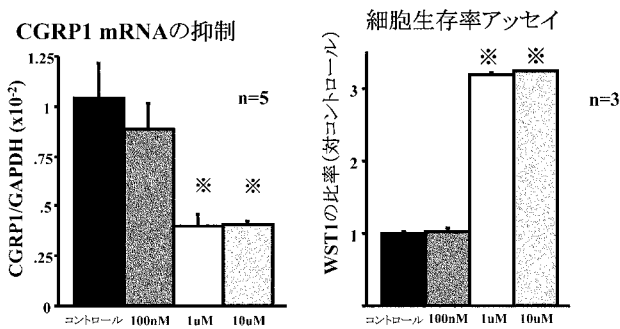
ることなど、多くの共通点が認められる。疾患原因をはじめとした、これらの共通点に鑑みれば、SBMAに対して有効であることが判明したトリプタン系薬剤が他のポリグルタミン病についても薬効を示すことが大いに期待される。

【 0 0 4 2 】

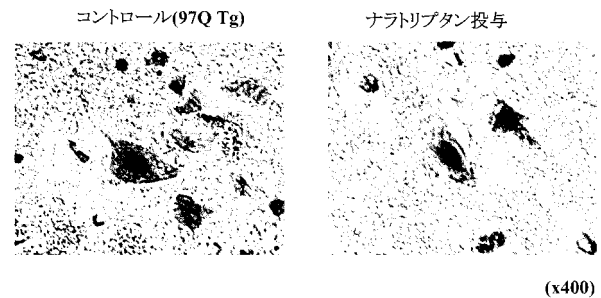
この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

本明細書の中で明示した論文、公開特許公報、及び特許公報などの内容は、その全ての内容を援用によって引用することとする。

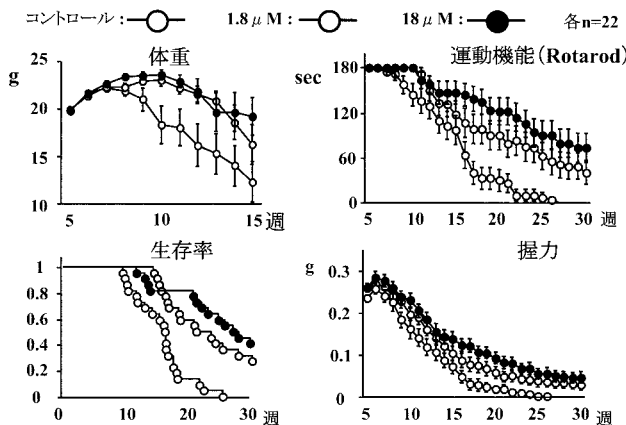
【 図 1 】



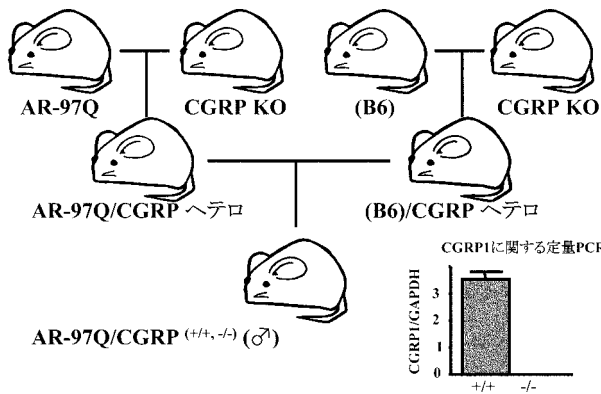
【 図 3 】



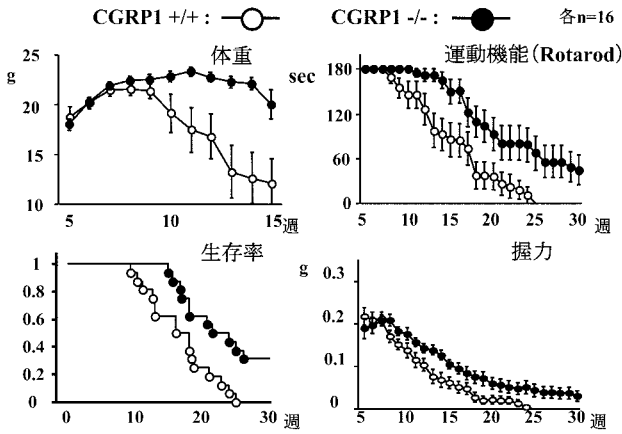
【 図 2 】



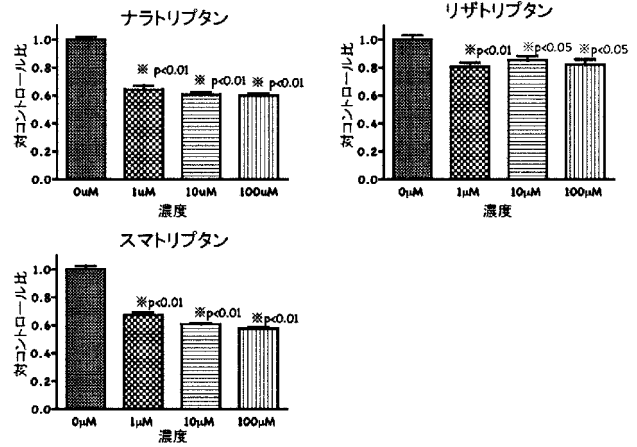
【 図 4 】



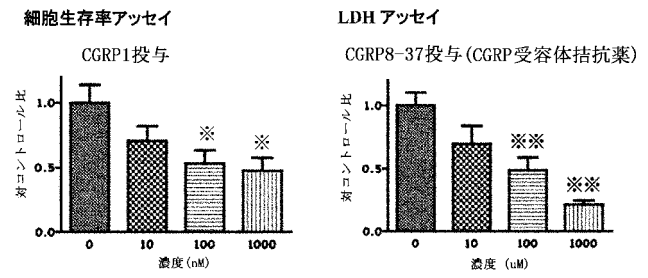
【 図 5 】



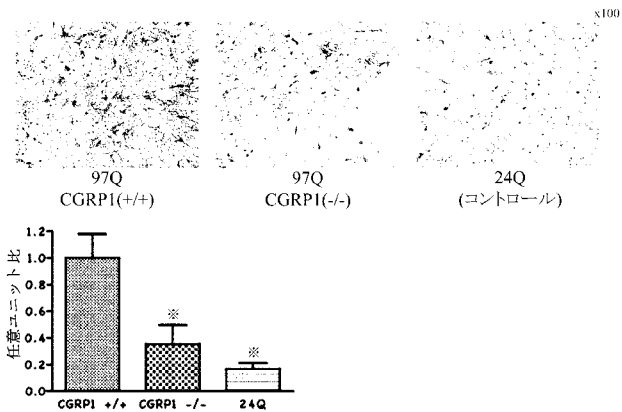
【 図 6 】



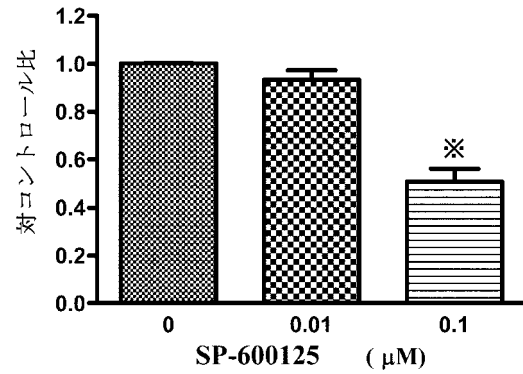
【 図 7 】



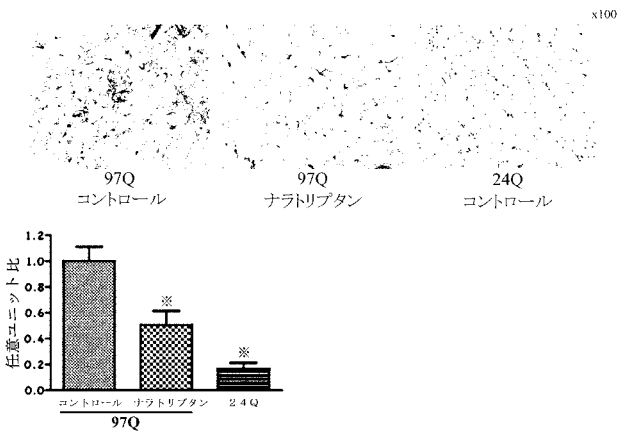
【 図 8 】



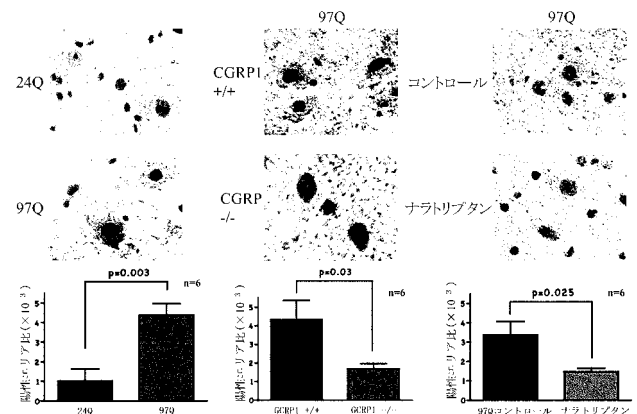
【 図 10 】



【 図 9 】



【 図 11 】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2010/071702
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K31/454(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/4045(2006.01)i, A61K31/4196(2006.01)i, A61K31/422(2006.01)i, A61P21/00(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) A61K31/454, A61K31/404, A61K31/4045, A61K31/4196, A61K31/422, A61P21/00 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 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2011 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	Makoto MINAMIYAMA, "Kyu Sekizusei Kin Ishukusho (SBMA) no Byotai Kanren Idenshi CGRP 1 no Kaiseki to Chiryo Hyoteki Kento", Program and Abstracts of the Meeting of the Japanese Society of Neurology, 2010, 51, 259	1-6
A	Makoto MINAMIYAMA, "Kyu Sekizusei Kin Ishukusho no Byotai Kanren Idenshi no Kaiseki", Program and Abstracts of the Meeting of the Japanese Society of Neurology, 2009.05, 50, 259	1-6
A	WO 2004/016083 A1 (Nagoya Industrial Science Research Institute), 26 February 2004 (26.02.2004), & JP 2006-131640 A & US 2006/0064767 A1 & US 2008/0182775 A1 & EP 1543722 A1	1-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 10 February, 2011 (10.02.11)		Date of mailing of the international search report 01 March, 2011 (01.03.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/071702

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 2007-504193 A (Boehringer Ingelheim International GmbH), 01 March 2007 (01.03.2007), & US 2005/0065094 A1 & US 2006/0234946 A1 & EP 1663208 A1 & WO 2005/023250 A1	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/071702

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 7 pertains to a method for treatment of the human body by therapy.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 0 / 0 7 1 7 0 2									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/454(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/4045(2006.01)i, A61K31/4196(2006.01)i, A61K31/422(2006.01)i, A61P21/00(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. A61K31/454, A61K31/404, A61K31/4045, A61K31/4196, A61K31/422, A61P21/00											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2011年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2011年	日本国実用新案登録公報	1996-2011年	日本国登録実用新案公報	1994-2011年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2011年										
日本国実用新案登録公報	1996-2011年										
日本国登録実用新案公報	1994-2011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) CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)											
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									
PA	南山誠, 球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の病態関連遺伝子 CGRP 1 の解析と治療標的検討, 日本神経学会総会プログラム・抄録集, 2010, 51, 259	1-6									
A	南山誠, 球脊髄性筋萎縮症の病態関連遺伝子の解析, 日本神経学会総会プログラム・抄録集, 2009.05, 50, 259	1-6									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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		の日の後に公表された文献									
「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		「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									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 10.02.2011		国際調査報告の発送日 01.03.2011									
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) 福井 悟	4C 9160								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3451									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2010/071702
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	WO 2004/016083 A1 (財団法人名古屋産業科学研究所) 2004.02.26, & JP 2006-131640 A & US 2006/0064767 A1 & US 2008/0182775 A1 & EP 1543722 A1	1-6
A	JP 2007-504193 A (ベーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング) 2007.03.01, & US 2005/0065094 A1 & US 2006/0234946 A1 & EP 1663208 A1 & WO 2005/023250 A1	1-6

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2010/071702

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 7 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、請求項7は、治療による人体の処置方法に関するものである。
2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2009年7月)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/02 (2006.01) A 6 1 P 25/02

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC13 BC60 BC69 GA01 GA07 GA09 MA01 MA04
 NA14 ZA20 ZA94

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。