

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

A 0 1 K 67/027  
A 6 1 K 35/30  
A 6 1 K 38/22  
A 6 1 P 25/00  
A 6 1 P 25/28

F I

A 0 1 K 67/027  
A 6 1 K 35/30  
A 6 1 P 25/00  
A 6 1 P 25/28  
A 6 1 P 43/00 1 2 1

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全16頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2003-546653(P2003-546653)  
(21)国際出願番号 PCT/JP2002/012308  
(22)国際出願日 平成14年11月26日(2002.11.26)  
(31)優先権主張番号 特願2001-364563(P2001-364563)  
(32)優先日 平成13年11月29日(2001.11.29)  
(33)優先権主張国 日本国(JP)  
(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ, TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC ,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,B R,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR ,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM, TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(71)出願人 503360115  
独立行政法人科学技術振興機構  
埼玉県川口市本町4丁目1番8号  
(71)出願人 899000079  
学校法人慶應義塾  
東京都港区三田2丁目15番45号  
(74)代理人 110000084  
特許業務法人アルガ特許事務所  
(72)発明者 岡野 栄之  
東京都文京区本駒込6-13-15-104  
(72)発明者 戸山 芳昭  
東京都世田谷区用賀1-10-25-402

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脊髄損傷サルモデルの作成法及びその利用

(57) 【要約】

サルの頸髄の硬膜を露出し、当該硬膜上に荷重をかける脊髄損傷サルモデルの作成法、こうして作成された脊髄損傷サルモデル及びこのモデルを用いた脊髄損傷治療薬の評価方法。

本発明によれば、ヒトに近く、ヒトの脊髄損傷モデルとして有用なサルが作成できた。また当該モデルを用いれば、種々の薬物の脊髄損傷に対する治療効果が適確に評価できる。このモデルを使用することにより、ヒト神経幹細胞の移植療法が、脊髄損傷に有効であることがはじめて確認できた。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

サルの頸髄の硬膜を露出し、当該硬膜上に荷重をかけることを特徴とする脊髄損傷サルモデルの作成法。

## 【請求項 2】

荷重が、15～25gのおもりを20～60mm上からかけるものである請求項1記載の作成法。

## 【請求項 3】

脊髄損傷サルが、ヒトの脊髄損傷と同様の運動機能障害を有するものである請求項1又は2記載の作成法。

## 【請求項 4】

請求項1～3のいずれか1項記載の方法により作成された脊髄損傷サルモデル。

## 【請求項 5】

請求項4記載の脊髄損傷サルモデルに被検薬を投与することを特徴とする脊髄損傷治療薬の評価方法。

## 【請求項 6】

神経幹細胞を脊髄の損傷部位に移植することを特徴とする脊髄損傷の治療法。

## 【請求項 7】

神経幹細胞及び神経栄養因子を脊髄の損傷部位に移植することを特徴とする脊髄損傷の治療法。

## 【発明の詳細な説明】

## 技術分野

本発明は脊髄損傷サルモデルの作成方法、当該方法により得られるサルモデル及びサルモデルを用いる脊髄損傷治療薬の評価方法に関する。

## 背景技術

脊髄損傷には、交通事故、スポーツ、労災などの外傷性のものと、炎症、出血、腫瘍、脊椎変形などの非外傷性のものとがあるが、その多くは外傷性である。脊髄損傷の症状としては、運動機能障害及び知覚障害がある。

脊髄損傷の治療手段としては、脳保護剤、脳代謝改善剤等による対症療法が主であり、脊髄損傷により失なわれた神経細胞を回復させる治療法は存在しない。

一方、脊髄損傷における神経細胞に関する研究も進んでおり、成体の脊髄損傷では、内在性神経幹細胞が脊髄内に存在するにもかかわらず、そこからニューロンやオリゴデンドロサイトの新生は起きず、アストロサイトの増生のみが起き、これがグリア瘢痕となり、ニューロンの軸索伸長を妨げていることが知られている。

損傷脊髄内におけるニューロンの再生に成功した例としては、ラット脊髄損傷に対してラット胎児脊髄を移植したところ有効であったことが報告されているのみである(Diener PS, Bregman BS, J. Neurosci., 18(2):779-793(1998)、同J. Neurosci., 18(2), 763-778(1998))。

唯一の成功例をヒトに応用しようとする、移植に必要な大量のヒト胎児脊髄を確保する必要はある。ヒト胎児脊髄の大量確保は現実的でなく、実際には応用できない。

従って、本発明の課題は、よりヒトに近い動物における脊髄損傷モデルを作成し、よりヒトに応用できる脊髄損傷の治療法を提供することにある。

## 発明の開示

そこで本発明者は、サルの脊髄損傷モデルを作成すべく種々検討した結果、サルの頸髄の硬膜を露出し、その上に荷重をかける手術をすると、そのサルはヒトの脊髄損傷と同様の運動機能障害を示し、ヒト脊髄損傷のモデルとして有用であり、このサルを用いれば脊髄損傷治療薬の評価が確実にできることを見出した。さらにヒト神経幹細胞を当該サルの脊髄損傷部位に移植したところ、運動機能の改善及びニューロンの新生が認められることを見出し、本発明を完成するに至った。

10

20

30

40

50

すなわち、本発明は、サルの上頸髄の硬膜を露出し、当該硬膜上に荷重をかけることを特徴とする脊髄損傷サルモデルの作成法及びかくして作成された脊髄損傷サルモデルを提供するものである。

また本発明は、脊髄損傷サルモデルに被検薬を投与することを特徴とする脊髄損傷治療薬の評価方法を提供するものである。

さらに、本発明は、神経幹細胞を脊髄の損傷部位に移植することを特徴とする脊髄損傷の治療法を提供するものである。

発明を実施するための最良の形態

本発明の脊髄損傷モデルに用いられるサルとしては、特に限定されず、キツネザル、インドリ、アイアイ、ロリス、メガネザル等の原猿類；マーモセット、オマキザル、オナガザル、テナガザル、オランウータン等の真猿類が挙げられるが、真猿類が特に好ましい。

脊髄損傷サルモデルを作成するには、まずサルの上頸髄の硬膜を露出する。この手術は麻酔下に行なわれる。まず、サルの後頭部の毛を剃り、頸椎（C1～C8）のうちのいずれかの椎弓を抜去して硬膜を露出する。頸椎C1～C8のうち、C3～C8のいずれかの椎弓を抜去するのが好ましい。

露出した硬膜上に荷重をかけることにより、脊髄に損傷を与える（図1参照）。荷重は15～25gのおもりを20～60mm上から、特に18～25gのおもりを30～60mm上から落下させてかけるのが、ヒトの脊髄損傷モデルを作成するうえで好ましい。一定荷重を一定長さ上から落下させてかけるために、インパクトを用いて行うのが好ましい。

荷重をかけることにより脊髄に損傷を与えた後のサルは、手術部を縫合する。

かくして得られた脊髄損傷サルモデルは、MRI撮像、組織染色により脊髄に明らかな損傷が認められ、その損傷は長期間持続し回復しない。

また、脊髄損傷サルモデルは、ヒトの脊髄損傷患者と同様の運動機能障害を呈する。例えば、移動能力、回転運動能力、座位の保持、起立行動、跳躍運動能力、ものを取る能力、餌を取る能力、ものを握る能力などの総合評価で明らかに運動機能障害を呈する。より具体的には、餌を与えるという刺激に対する餌を取る行動、ものを握る能力が明らかに低下する等の障害が生じる。

かように、本発明の脊髄損傷サルモデルはヒトの脊髄損傷と同様な症状を呈することから、ヒトの脊髄損傷に対する治療薬の評価に有用である。例えば、被検薬をこのサルモデルに投与した後、経過を観察することにより、当該被検薬に治療効果があるか否かを評価できる。

ここで被検薬としては、神経再生活性のある因子（低分子量化合物を含む）各種神経栄養因子、神経細胞成長因子、神経細胞成長促進物質等が挙げられる。また投与手段としては、経口、注射等の他、損傷部位への直接投与、移植等が挙げられる。

経過観察手段としては、前記運動機能改善効果の観察、MRI、筋電図が挙げられる。

本発明者は、当該サルモデルの損傷部位にヒト神経幹細胞を移植することにより、損傷部位にニューロンが新生し、明らかに運動機能障害等の症状が改善されることを見出した。ヒト神経幹細胞としては、例えばWeissらにより開発されたニューロスフェア法（Science 255:1707-1710 (1992)）により得られたヒト神経幹細胞を用いることができる。神経幹細胞の移植時期は、脊髄損傷作成後であればよいが、1週間以上経過してから移植した方が移植神経幹細胞の生存、分化の面からも有効である。このことは、臨床応用上特に重要である。

移植用量としては $10^5 \sim 10^6$ 細胞が好ましい。移植は1～数回行ってよい。また、種々の神経栄養因子、例えば、BDNF（Brain-derived neurotrophic factor、脳由来神経栄養因子）、NT-3（Neurotrophin-3、ニューロトロフィン-3）等を20ng併用してもよい。

より具体的な移植方法としては、神経幹細胞を損傷部空洞内に注入する方法、あらかじめ細胞の分化誘導を行うためにコラーゲンゲル中で幹細胞を三次元培養し、損傷部にゲルとともに移植する方法等が挙げられる。

10

20

30

40

50

## 実施例

次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれに何ら制限されるものではない。

### 実施例 1 ( 脊髄損傷サルモデルの作成 )

#### ( 1 ) マーモセットの手術

塩酸キシラジン・塩酸ケタミンによる混合麻酔もしくはイソフルレンによる吸入麻酔下に、第 5、6 頸椎切除後硬膜を露出する。重錘 20 g を 50 mm より第 5 頸髄レベル硬膜上に落下させ、頸髄損傷モデルを作成する。椎弓切除部の硬膜上に人工硬膜を置き、追層縫合し閉創する。損傷後は膀胱直腸機能が改善するまで用手的に排尿させ、感染防止に抗生物質を適宜投与する。

10

#### ( 2 ) 脊髄損傷前後の MRI 像及び組織染色像

マーモセットの 20 g - 50 mm による脊髄損傷前後の MRI 像を図 2 に示す。その結果、手術前にはなかった損傷が、手術 33 日後でも存在し、明確に脊髄損傷が生じていることがわかる。また、脊髄損傷後の脊髄断面についての一般組織像 (ヘマトキシリン - エオシン染色) (左側) 及びグリア線維性酸性蛋白質 (GFAP) (緑色) / - チューブリン III (赤) 二重染色像 (右側) を図 3 に示す。その結果、脊髄に空洞が生じており、神経細胞が消失していることがわかる。

( 3 ) 表 1 に示す評価項目を用い、26 点満点で運動機能を評価した。運動機能の評価にあたっては、餌を与える、目の前に棒を出す等の刺激をし、その刺激に対する運動機能が十分か否かを判断することにより行った。その結果を図 5 に示す。図 5 から明らかのように、20 g - 50 mm による損傷のマーモセットは、長期間にわたって運動機能障害が継続していた。

20

表1

マーモセット脊髄損傷モデル運動機能評価表

以下を用いて移動する 右前肢 左前肢 右後肢 左後肢	
ケージの中を柵の間に落ちずに移動する	
平面上で回転運動する	10
座位の保持をする	
殿部を浮かせて起立する	
跳躍運動をする	
連続した跳躍運動をする	
腹臥位時に前肢を前に出す	
以下を挙上して目の前のものを取ろうとする 右前肢 左前肢	
以下を用いて餌を取る 右前肢 左前肢	20
以下を用いてケージによじ登る 右前肢 左前肢 右後肢 左後肢	
止まり木に掴まる	
以下を用いてケージの柵にしがみつく 右前肢 左前肢 右後肢 左後肢	30
仰臥位から自力で腹臥位になる	
ケージ内を柵から柵へ正確に飛び移る	
合計 ( 26 点満点)	

## 実施例 2 ( ヒト神経幹細胞移植療法 )

( 1 ) 実施例 1 で得られた脊髄損傷マーモセットに神経幹細胞を移植した。すなわち、損傷手術 10 日後であって運動機能障害がおきていることを確認したマーモセットの脊髄損傷部空洞に、ヒト神経幹細胞  $1 \times 10^5 / \mu\text{l}$  含有液を  $5 \mu\text{l}$ 、10 分かけて注入した ( 40 移植群 )。対照として、培養液のみを  $5 \mu\text{l}$  注入したものを非移植群とした。

( 2 ) 移植後 7 日間運動機能観察したところ、移植群と非移植群間に明らかな運動機能の改善に差は見られなかった。移植後 10 週後、移植群で非移植群と比較して、有意な上肢運動機能の改善が得られた。すなわち、上肢筋及びリーチング ( 餌をとる動作 ) で移植群で良好な回復がみられた ( 図 5 )。

( 3 ) 移植 8 週後の脊髄断面についての一般組織染色像 ( ヘマトキシリン - エオシン染色 ) を図 4 に示す。図 3 の左側の像と対比すると、神経幹細胞移植により脊髄の神経細胞が回復していることがわかる。

( 4 ) 移植 8 週後のヒト神経幹細胞の分化状態を測定した結果を図 7 に示す。その結果、  
- チューブリン III、グリア線維酸性蛋白質 ( GFAP ) 及びオリゴデンドロサイト 50

( O l i g 2 ) に分化していた。この結果は、ヒト神経幹細胞を *in vitro* で分化させたときの分化状態 ( 図 6 ) と比較すると大きく異なっていた。

( 5 ) 移植細胞は損傷部位に生着し、頭尾側部にも多くの細胞が移動していた。図 4 及び図 6 より、移植細胞はニューロン、オリゴデンドロサイト、アストロサイトへと分化していることが判明した。

( 6 ) ヒト神経幹細胞移植後の棒状物を握る能力 ( バーグリップ試験 : J . N e u r o s c i . M e t h o d s 6 2 , 1 5 - 1 9 ( 1 9 9 5 ) ) の回復を測定したところ、非移植群に比べて、棒状物を握る能力が有意に回復していた ( 図 8 ) 。

( 7 ) ヒト神経幹細胞移植後の自発運動能 ( 赤外線センサーシステムによる ) の回復を測定したところ、非移植群に比べて有意に運動能が回復していることがわかる ( 図 9 ) 。

10

#### 産業上の利用可能性

本発明によれば、ヒトに近く、ヒトの脊髄損傷モデルとして有用なサルが作成できた。また当該モデルを用いれば、種々の薬物の脊髄損傷に対する治療効果が適確に評価できる。このモデルを使用することにより、ヒト神経幹細胞の移植療法が、脊髄損傷に有効であることがはじめて確認できた。

#### 【図面の簡単な説明】

図 1 は、脊髄に荷重をかけた状態を示す概念図である。

図 2 は、脊髄損傷前後の M R I 像を示す図である。

図 3 は、脊髄損傷後の脊髄断面についての一般組織染色像 ( ヘマトキシリン - エオシン染色 ) ( 左側 ) 及び G F A P ( 緑色 ) /  $\alpha$  - チューブリン I I I ( 赤 ) 二重染色像 ( 右側 ) 20  
を示す図である。

図 4 は、神経幹細胞移植 8 週後の脊髄断面についての一般組織染色像 ( ヘマトキシリン - エオシン染色 ) を示す図である。

図 5 は、脊髄損傷マーマセットの運動機能障害の経過を示す図である。

図 6 は、ヒト神経幹細胞を *in vitro* で分化させた場合の各種細胞への分化状態を示す図である。

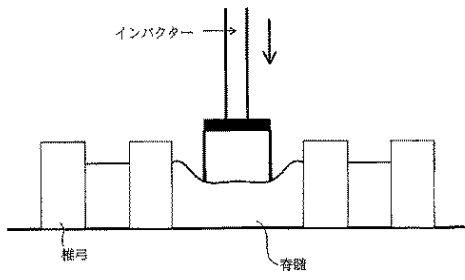
図 7 は、脊髄損傷部位に移植されたヒト神経幹細胞の分化状態を示す図である。

図 8 は、ヒト神経幹細胞移植後の棒状物を握る能力の回復を示す図である。

図 9 は、ヒト神経幹細胞移植後の自発運動能の回復を示す図である。

【 図 1 】

図 1



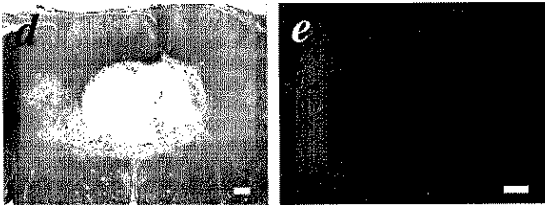
【 図 2 】

図 2



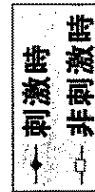
【 図 3 】

図 3



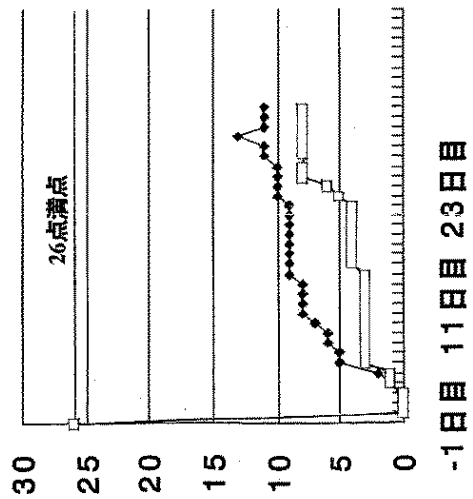
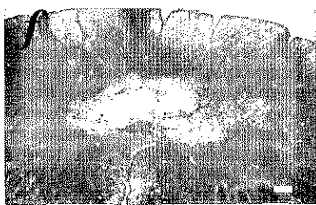
【 図 5 】

図 5



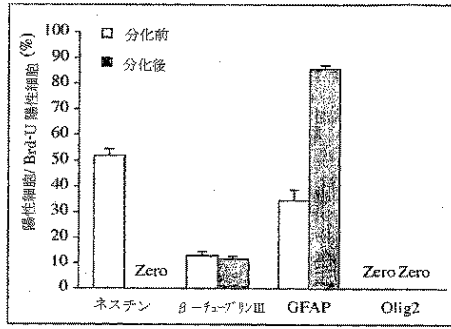
【 図 4 】

図 4



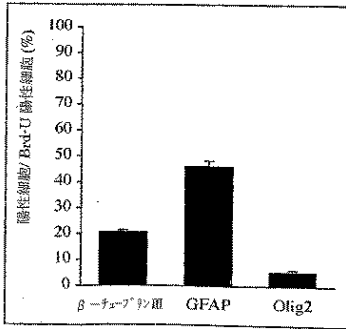
【 図 6 】

図 6



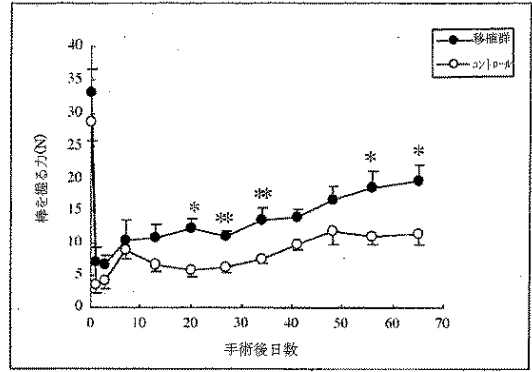
【 図 7 】

図 7



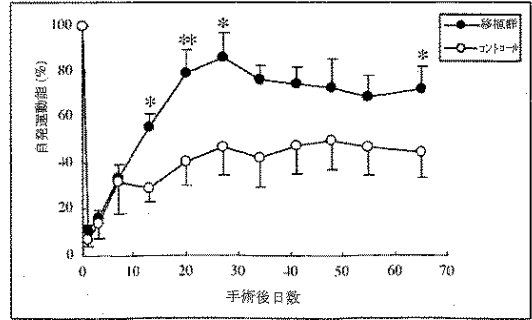
【 図 8 】

図 8



【 図 9 】

図 9





## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/12308

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. <sup>7</sup> A01K67/027, A61K35/30, A61K38/22, A61P25/00		
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) Int.Cl. <sup>7</sup> A01K67/027, A61K35/30, A61K38/22, A61P25/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1955-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2002 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2002 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2002		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JOIS, (SEKIZUI SONSHO*(DOBUTSU+MODERU)*(ATSURYOKU+KAJU), SEKIZUI APPAKU MODERU) (in Japanese), continued to extra sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	Ehime Medical Journal, Vol.19, No.2, (2000), pages 259 to 268	1,3-5 2
Y A	J. Neurosurg., Vol.59, (1983), pages 269 to 275	1,3-5 2
A	J. Biomechanics, Vol.25, No.10, (1992), pages 1165 to 1172	1-5
T	Experimental Medicine, Vol.20, No.9, (2002), pages 1301 to 1306	1-5
A	Society for Neuroscience Abstracts, Vol.27, No.1, (2001), p.962 & 31st Annual Meeting of the Society for Neuroscience San Diego, USA November 10-15, 2001	1-5
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* "A" "E" "L" "O" "P"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance earlier document but published on or after the international filing date 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) document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"I" 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 24 February, 2003 (24.02.03)		Date of mailing of the international search report 11 March, 2003 (11.03.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP02/12308

C (Continuation), DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Spine, Vol.20, No.21, (1995), pages 2318 to 2327	1-5

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/12308

**Box I 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.: 6, 7  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 6 and 7 pertain to methods for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
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 II 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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP02/12308

**Continuation of B. FIELDS SEARCHED**

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

BIOSIS, (SPINAL CORD INJURY MODEL, SPINAL CORD INJURY\*REGENERATION\*  
TRANSPLANTATION\*NEURAL STEM CELL SPINAL CORD INJURY\*MONKEY)

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/12308	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl <sup>7</sup> A01K67/027, A61K35/30, A61K38/22, A61P25/00			
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 <sup>7</sup> A01K67/027, A61K35/30, A61K38/22, A61P25/00			
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			
日本国実用新案公報 1955-1996			
日本国公開実用新案公報 1971-2002			
日本国実用新案登録公報 1996-2002			
日本国登録実用新案公報 1994-2002			
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)			
JOIS, (脊髄損傷*(動物+モデル)*(圧力+荷重), 脊髄圧迫モデル)			
BIOSIS, (SPINAL CORD INJURY MODEL, SPINAL CORD INJURY*REGENERATION*TRANSPLANTATION*NEURAL STEM CELL SPINAL CORD INJURY*MONKEY)			
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 請求の範囲の番号	
Y A	愛媛医学, Vol.19, No.2, (2000), p.259-268	1,3-5 2	
Y A	J. Neurosurg., Vol.59, (1983), p.269-275	1,3-5 2	
A	J. Biomechanics, Vol.25, No.10, (1992), p.1165-1172	1-5	
T	実験医学, Vol.20, No.9, (2002), p.1301-1306	1-5	
<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、一般的な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 24.02.03		国際調査報告の発送日 11.03.03	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 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) 関根 裕	2B   9414
		電話番号 03-3581-1101	内線 3236

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/12308
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 請求の範囲の番号
A	Society for Neuroscience Abstracts, Vol.27, No.1, (2001), p. 962 & 31st Annual Meeting of the Society for Neuroscience San Diego, USA November 10-15, 2001	1-5
A	Spine, Vol.20, No.21, (1995), p.2318-2327	1-5

国際調査報告	国際出願番号 PCT/J P 0 2 / 1 2 3 0 8
<p>第 I 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)</p> <p>法第 8 条第 3 項 (PCT 17 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。</p> <p>1. <input checked="" type="checkbox"/> 請求の範囲 <u>6, 7</u> 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、請求の範囲 6, 7 は、手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法に該当するから、PCT 17 条 (2) (a) (i) 及び PCT 規則 39.1 (iv) の規定により、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。</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ 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、</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ 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。</p>	
<p>第 II 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)</p> <p>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。</p> <p>1. <input type="checkbox"/> 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の範囲について作成した。</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 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の範囲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。</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 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の範囲のみについて作成した。</p> <p>4. <input type="checkbox"/> 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の範囲について作成した。</p> <p>追加調査手数料の異議の申立てに関する注意</p> <p><input type="checkbox"/> 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。</p> <p><input type="checkbox"/> 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。</p>	

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.<sup>7</sup> F I  
A 6 1 P 43/00 A 6 1 K 37/24

- (72) 発明者 中村 雅也  
東京都大田区田園調布 1 - 2 - 1 0
- (72) 発明者 野村 達次  
東京都渋谷区神宮前 6 - 3 5 - 3 - 3 0 8
- (72) 発明者 谷岡 功邦  
神奈川県川崎市麻生区王禅寺西 6 - 8 - 2 6
- (72) 発明者 安東 潔  
東京都武蔵野市吉祥寺本町 1 - 3 6 - 1 1
- (72) 発明者 金村 米博  
大阪府吹田市佐竹台 3 - 5 - 8

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) 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 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 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。