

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-172344  
(P2018-172344A)

(43) 公開日 平成30年11月8日(2018.11.8)

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
**A 6 1 K 38/02 (2006.01)** A 6 1 K 38/02 4 C 0 8 4  
**A 6 1 P 9/10 (2006.01)** A 6 1 P 9/10

審査請求 有 請求項の数 4 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2017-72001(P2017-72001)  
 (22) 出願日 平成29年3月31日(2017.3.31)

(71) 出願人 504145364  
 国立大学法人群馬大学  
 群馬県前橋市荒牧町四丁目2番地  
 (74) 代理人 100126505  
 弁理士 佐貫 伸一  
 (74) 代理人 100100549  
 弁理士 川口 嘉之  
 (72) 発明者 茂木 精一郎  
 群馬県前橋市荒牧町四丁目2番地 国立大  
 学法人群馬大学内  
 Fターム(参考) 4C084 AA02 BA44 CA04 DA33 MA66  
 NA14 ZA36 ZC54

最終頁に続く

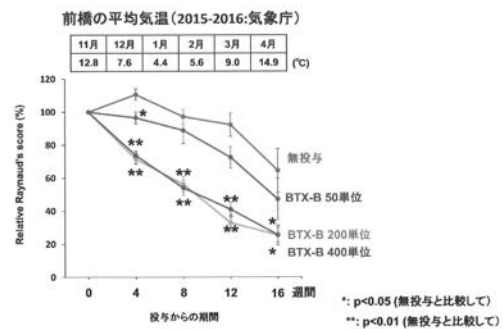
(54) 【発明の名称】 B型ボツリヌス毒素を用いたレイノー現象の治療

(57) 【要約】

【課題】レイノー現象の安価で効能に優れた治療薬を提供すること。

【解決手段】B型ボツリヌス毒素を有効成分として含むレイノー現象治療用医薬組成物。

【選択図】図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

B型ボツリヌス毒素を有効成分として含むレイノー現象治療用医薬組成物。

**【請求項 2】**

注射剤である、請求項 1 に記載のレイノー現象治療用医薬組成物。

**【請求項 3】**

患部に局所投与される、請求項 1 または 2 に記載のレイノー現象治療用医薬組成物。

**【請求項 4】**

B型ボツリヌス毒素の投与量が 1 部位あたり 200 ~ 400 単位である、請求項 3 に記載のレイノー現象治療用医薬組成物。

10

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は医薬に関し、具体的にはB型ボツリヌス毒素を用いたレイノー現象の治療薬に関する。

**【背景技術】****【0002】**

レイノー現象は、手指の小動脈の攣縮が起こり、末端部が一過性に虚血になり、その後、再還流が起こることによって、手指の色調が発作的に変化する現象である。寒冷刺激や精神的ストレスによって誘導される。手指の小動脈の虚血再還流によって、白（虚血）、紫（チアノーゼ）、赤（再還流）の三相性の色調に変化する。長期間にわたって疼痛、痺れを来すために患者の日常生活に著しい影響を及ぼし、極度のQOLの低下をもたらす。末梢血流低下による循環障害を来しやすく、また軽微な外傷によって潰瘍を生じやすい。レイノー現象に伴う指尖部潰瘍は難治例が多い。細菌感染を起こした場合には、潰瘍が拡大し骨髄炎や関節炎を伴い、指趾切断に至る可能性もある。また、創部の細菌感染から敗血症を呈し、生命予後を左右することもあるため早期の適切な治療が重要である。

20

**【0003】**

レイノー現象に対する現状行われている薬物治療としては、一般的にはビタミンE製剤（ニコチン酸トコフェロールなど）、カルシウム拮抗薬（ニフェジピンなど）、プロスタグランジン製剤（内服；リマプロスト、ベラプロスト、注射；アルプロスタジル）、セロトニン拮抗薬（塩酸サルボグレラート）、血小板凝集抑制薬（シロスタゾール、ジピリダモール）などの血管拡張作用、抗血小板作用のある薬剤や抗凝固薬のアルガトロバンの点滴、エンドセリン受容体拮抗薬（ボセンタン）などが使用されているが、これらの内服薬、点滴薬は有効性が低い。

30

**【0004】**

近年、A型ボツリヌス毒素の局所注入によってレイノー現象の症状が顕著に改善した報告が散見された（非特許文献 1 ~ 6）。ボツリヌス毒素は、ボツリヌス菌から産生される神経毒素で、神経終末からエンドサイトーシスによって取り込まれ、シナプス小胞のシナプス前膜への融合に直接関与するたん白質の複合体（融合複合体）の特定部位を切断し、シナプス小胞からのCa 依存性アセチルコリンの放出を阻害する。その結果、神経筋伝達を阻害し、筋の麻痺をきたす。毒素型により切断するたん白質が異なり、B型ボツリヌス毒素はVAMP（vesicle-associated membrane protein: synaptobrevin: シナプス小胞膜たん白質の一つ）を、A型ボツリヌス毒素はSNAP-25（synaptosome-associated protein of molecular weight 25,000 dalton: シナプス前膜に存在する膜結合たん白質の一つ）を特異的に切断することで、末梢のコリン作動性神経終末からのアセチルコリン放出を抑制し、神経筋伝達を阻害することにより筋の麻痺をきたす。このようにアセチルコリン放出抑制のメカニズムは異なるものの、神経筋伝達の阻害作用は両毒素型とも同様であると考えられている。

40

**【0005】**

レイノー現象では、ボツリヌス毒素が血管平滑筋への情報伝達を遮断することによって、

50

指趾の小動脈の攣縮（一過性収縮）を抑制し、末梢循環を改善させることが期待される。また、ボツリヌス毒素が、痛みや痺れの原因となる神経伝達物質（サブスタンスPなど）を抑制することによってレイノー現象の痛み、痺れも改善することが期待される。

【0006】

本発明者らは、10人のレイノー現象をもつ患者に対してA型ボツリヌス毒素を手指基部に注入する医師主導自主研究を行った。レイノー現象の見られる指1本を選択し、その基部の左右に10単位ずつ（合計20単位）A型ボツリヌス毒素の皮下注入を行った。レイノースコアによるレイノー症状の重症度（頻度、色調、持続時間など）と痛み・痺れ（VAS）は、投与前と比較して投与4週間後では有意に低下し、その効果は16週間持続して観察された。冷水負荷直後から20分後の皮膚温度の回復度は、投与前と比べて、4週間後では有意に上昇していた。指尖部潰瘍（5例）は12週間後までに全て上皮化した。全ての症例で筋力低下や疼痛などの副作用はみられなかった。この自主研究によって、A型ボツリヌス毒素10単位局所注入の安全性や有効性を確認することができた（非特許文献7）。

10

【0007】

B型ボツリヌス毒素は、値段がA型の約6割と安いこと、効果発現が早いこと、疼痛への効果が高いことなどが知られている。しかし、これまでにB型ボツリヌス毒素のレイノー現象に対する治療効果を検証した報告はない。特許文献1にはボツリヌス毒素のレイノー現象への利用が開示されているが、A型が主に使用されており、実際の臨床データは示されていない。

また、B型ボツリヌス毒素の使用量（単位）はA:B=1:20~40ぐらいの比率で使用すると、ほぼ同等の効果を有すると考えられている（非特許文献8）が、レイノー現象に対する治療効果を示す濃度は不明である。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】特表2007-517890

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Arch Dermatol. 2012; 148: 426-428.

【非特許文献2】J Hand Surg. 2010; 35A: 2085-2092.

30

【非特許文献3】Plast Reconstr Surg. 2009; 124: 191-201.

【非特許文献4】J Hand Surg. 2009; 34A: 446-452

【非特許文献5】Plast Reconstr Surg. 2007; 119: 217-226.

【非特許文献6】Eur J Clin Invest. 2004; 34: 312-313.

【非特許文献7】J Dermatol. 2016; 43(1): 56-62.

【非特許文献8】Toxicon. 2015; 107(Pt A): 77-84.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明はレイノー現象の安価で効能に優れた治療薬を提供することを課題とする。

40

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者は上記課題を解決すべく鋭意検討を行った結果、B型ボツリヌス毒素がレイノー現象の治療において安全性かつ有効性を有することを見出し、さらに、レイノー現象に対する治療効果を示すB型ボツリヌス毒素の容量、濃度を明らかにしたことにより、本発明を完成させるに至った。すなわち、本発明は、B型ボツリヌス毒素を有効成分とするレイノー現象治療用医薬組成物を提供する。

【発明の効果】

【0012】

レイノー現象は、末梢動脈の一過性攣縮によって手指の色調が変化する現象であり、長期

50

間にわたって疼痛、痺れを来すために患者の日常生活に著しい影響を及ぼし、極度のQOLの低下をもたらす。認可されている治療薬を使用していたとしても多くの症例においてレイノー現象の発現を抑えることができず、症状が増悪すること多く、確立した有効な治療法がないことが問題となっている。このように、既存の治療法で改善のみられないレイノー現象に対して、B型ボツリヌス毒素の局所注入療法を行うことによってレイノー現象の痺れ、痛み、冷感といった症状の改善が期待できる。また、レイノー現象によって引き起こされる様々な合併症（手指潰瘍、細菌感染、壊疽など）も予防、治療することが可能となる。治療期間の短縮、患者の負担軽減、医療費用の節約にもつながる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

10

【図1】 B型ボツリヌス毒素投与によるレイノースコアの変化を示すグラフ。

【図2】 B型ボツリヌス毒素投与によるVAS (Visual Analogue Scale) の変化を示すグラフ。

【図3】 B型ボツリヌス毒素投与による冷水負荷前後の皮膚温度の回復量の変化を示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明はB型ボツリヌス毒素を有効成分として含むレイノー現象治療用医薬組成物を提供する。

レイノー現象は手指の色調変化などにより臨床的に診断でき、その重篤度はレイノースコアなどによって診断できる。

20

【0015】

ボツリヌス毒素は、嫌気性細菌のボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) が産生する毒素群を包括する総称的な名称であり、現在のところ、免疫学的に異なる7種類の神経毒血清型 (A、B、C、D、E、FおよびG) が見出されている。

本発明では、ボツリヌス菌によって産生される分子量約150kDaのB型ボツリヌス毒素を使用可能であるが、非毒素タンパク質とB型ボツリヌス毒素とタンパク質との複合体 (分子量約500kDa) を使用することもできる。

B型ボツリヌス毒素はボツリヌス菌から精製することによって得られたものでもよいし、遺伝子組み換えで生産されたものでもよい。また、B型ボツリヌス毒素はレイノー現象治療効果を有する限り、部分タンパク質や変異体であってもよい。

30

B型ボツリヌス毒素は商業的に入手し得る製剤を使用することもでき、例えば、商品名ナーブロック (エーザイ) を使用することもできる。

【0016】

本発明のレイノー現象治療用医薬組成物は、任意の剤形で製剤化されていてよい。剤形としては、例えば、液剤、懸濁剤、注射剤が挙げられるが注射剤が好ましい。製剤化にあたっては、例えば、希釈剤、安定化剤、界面活性剤等の薬理的に許容される添加剤を使用することができる。

【0017】

また、本発明のレイノー現象治療用医薬組成物は、他のレイノー現象治療薬の有効成分を含有してもよい。そのような成分としては、例えば、ビタミンE、カルシウム拮抗薬、プロスタグランジン、セロトニン拮抗薬、血小板凝集抑制薬などの血管拡張作用、抗血小板作用のある薬剤や抗凝固薬、エンドセリン受容体拮抗薬などが挙げられる。

40

【0018】

本発明のレイノー現象治療用医薬組成物における有効成分 (B型ボツリヌス毒素) の濃度は特に制限されないが、例えば、0.1 ~ 100% (w/w)、0.5 ~ 50% (w/w)、または1 ~ 25% (w/w) であってよい。

【0019】

投与態様としては、特に制限されないが、例えば、手指等の患部に注射等で局所投与することが好ましい。

50

## 【 0 0 2 0 】

本発明のレイノー現象治療用医薬組成物の投与量はレイノー現象を治療できる限り特に制限されず、患者の年齢、性別、体重、重篤度等の諸条件に応じて適宜設定することができるが、有効成分の1部位あたりの投与量として200～400単位が好ましい。なお、1単位は、体重18～22gのマウスにボツリヌス毒素を腹腔内投与した場合の50%致死量に相当する。本発明のレイノー現象治療用医薬組成物は、1日1回又は複数回に分けて投与することができる。また、本発明のレイノー現象治療用医薬組成物は、数日又は数週間に1回の投与としてもよい。各回の投与時の投与量は、有効成分の投与量に換算して一定でもよく、差があってもよい。

## 【 実施例 】

10

## 【 0 0 2 1 】

以下、実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明の態様は以下には限定されない。

## 【 0 0 2 2 】

我々は、45人のレイノー現象をもつ患者に対してB型ボツリヌス毒素を手指基部に注入する研究を行った（群馬大学附属病院IRBにて承認（2015. 11. 1）。UMIN試験ID：UMIN000019985）。レイノー現象が強く見られる方の手を選択し、その手指間および1、5指外側の中手指節関節部（合計6部位）に合計250単位（1部位あたり50単位、両端は半量）、1000単位（1部位あたり200単位、両端は半量）、2000単位（1部位あたり400単位、両端は半量）のB型ボツリヌス毒素の皮下注入を行った。また、無処置群との比較を行った。上記の4グループに対して、ランダム化の割り付けを行った。患者には盲検で行った。

20

## 【 0 0 2 3 】

レイノースコアによるレイノー症状の重症度（頻度、色調、持続時間など）（表1、図1）と痛み・痺れを評価したVAS（表2、図2）では、200単位以上投与した群において、無投与群と比較して、投与4週後以降16週後まで継続して有意に低下した。ただし、50単位群と比較すると、レイノースコアにおいては観察期間中200単位以上投与した群において有意差が認められたが、VASにおいては50単位群と200単位以上投与した群との間に有意差はなかった。

## 【 0 0 2 4 】

## 【 表 1 】

30

表1. レイノースコアの投与前との比較 (%)

	投与日	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与	-	110.6±10.1	97.2±12.3	92.3±20.0	64.5±37.5
50U	-	96.6±10.7	88.9±23.6	72.5±20.0	61.6±32.1
200U	-	71.4±9.1	56.2±15.0	32.8±15.2	28.8±14.9
400U	-	73.8±10.7	54.0±20.0	41.0±18.8	30.5±15.5

40

## 【 0 0 2 5 】

## 【表 2】

表 2. VAS の投与前との比較 (%)

	投与前	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与	-	117.6±37.1	109.5±43.4	125.7±115.1	99.1±128.1
50U	-	84.3±27.1	62.8±33.9	47.1±27.6	34.6±35.0
200U	-	58.9±21.0	41.2±17.9	9.4±12.6	3.4±5.5
400U	-	71.0±27.0	46.5±33.0	27.2±22.2	16.3±17.9

10

## 【0026】

次に、冷水負荷試験において、冷水負荷直後から10分後の皮膚温度の回復度は、投与4週間後において、400単位群で無投与群、50単位群と比べて、有意に上昇した。冷水負荷試験においては8週後以降においては各群間において有意差はつかなかったが、投与用量に応じて改善される傾向が認められた。(表3、図3)

## 【0027】

## 【表 3】

表 3. 冷水負荷前後の皮膚温度の回復量の投与前との比較 (°C)

	投与前	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与	-	0.62±0.13	1.28±0.17	1.26±0.08	1.18±0.18
50U	-	0.84±0.11	1.52±0.37	1.58±0.48	1.69±0.39
200U	-	1.48±0.22	1.69±0.32	1.47±0.20	1.45±0.26
400U	-	2.09±0.24	2.40±0.48	2.11±0.44	1.92±0.30

20

## 【0028】

指尖部潰瘍はB型ボツリヌス毒素を200単位群(1部位200単位合計1000単位投与した群)、400単位群(1部位400単位合計2000単位投与した群)では、無投与群や50単位群(1部位50単位合計250単位投与した群)と比較して、早期に潰瘍が上皮化した。また、200単位群、400単位群においては投与後16週まで新生潰瘍は認められず、潰瘍改善率も100%であった。(表4~6)

30

## 【0029】

## 【表 4】

表 4. 合計潰瘍数の変化

	投与前	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与 (n=8)	3	7	5	5	4
50U (n=9)	5	3	3	4	3
200U (n=10)	3	0	0	0	0
400U (n=18)	13	3	1	1	0

40

## 【0030】

## 【表 5】

表 5. 新生潰瘍数

	投与日	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与 (n=8)	-	4	1	1	1
50U (n=9)	-	0	0	2	0
200U (n=10)	-	0	0	0	0
400U (n=18)	-	0	0	0	0

10

## 【0031】

## 【表 6】

表 6. 潰瘍改善率 (%)

	投与日	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与 (n=3)	-	0 (0/3)	0 (0/3)	0 (0/3)	0 (0/3)
50U (n=3)	-	33.3 (1/3)	33.3 (1/3)	66.7 (2/3)	66.7 (2/3)
200U (n=3)	-	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (3/3)
400U (n=6)	-	50 (3/6)	83.3 (5/6)	83.3 (5/6)	100 (6/6)

20

## 【0032】

最後に安全性についても、400単位群において手指筋力低下が1例あったのみであったが投与5日後に出現し、3週間後に軽快した。(表7)。

## 【0033】

## 【表 7】

表 7. 有害事象の発生状況 (人数 (発生事象))

	投与日	4週後	8週後	12週後	16週後
無投与	-	-	-	-	-
50U	-	-	-	-	-
200U	-	-	-	-	-
400U	-	1(筋力低下)	-	-	-

30

## 【0034】

これらの結果から、レイノー現象に対するB型ボツリヌス毒素の有効性、安全性が示唆され、レイノー現象に対するB型ボツリヌス毒素局所注入法が、より有効な治療法として確立することが期待される。さらに、ボツリヌス毒素治療の利点の一つとして、一回の注射で数か月間の効果が期待できることが挙げられる。

40

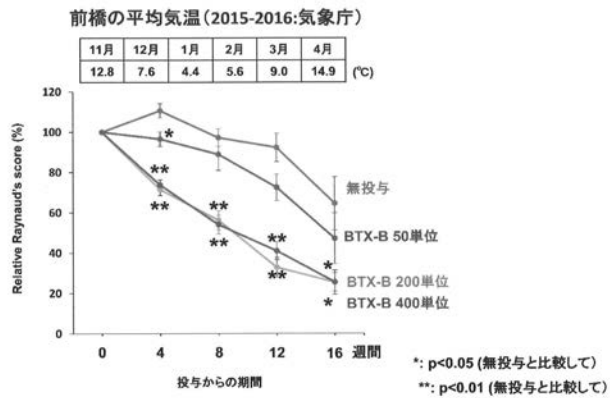
## 【0035】

また、強皮症の手指皮膚潰瘍に対する治療として使用されているボセンタンは、臨床試験では皮膚潰瘍の治療効果は証明されておらず、潰瘍の新生予防での適応となっている。また、ボセンタンを投与した約50%の患者で肝機能障害に起因する有害事象が現れることから慎重な投与が必要となること(Hamaguchi Y, Sumida T, Kawaguchi Y, Ihn H, Tanaka S, Asano Y, Motegi S, Kuwana M, Endo H, Takehara K. Safety and tolerability of bosentan for digital ulcers in Japanese patients with systemic sclerosis: Prospect

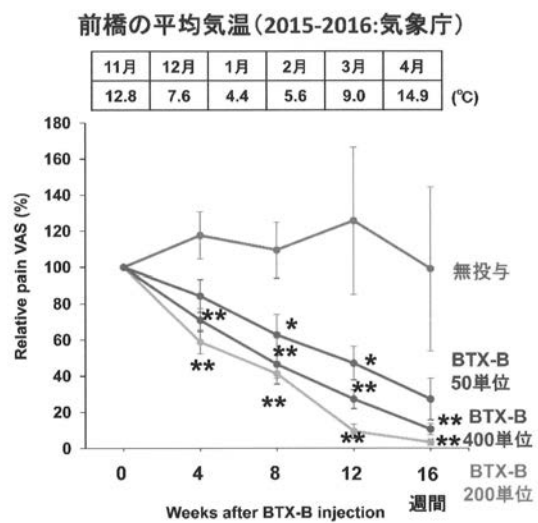
50

ive, multicenter, open-label study. J Dermatol 2016 in press)や、肝機能障害を有する患者には使用することができない。しかし、B型ボツリヌス毒素はこれまでの臨床試験ではこのような重篤な有害事象はみられていない点も違いとして挙げられる。

【 図 1 】

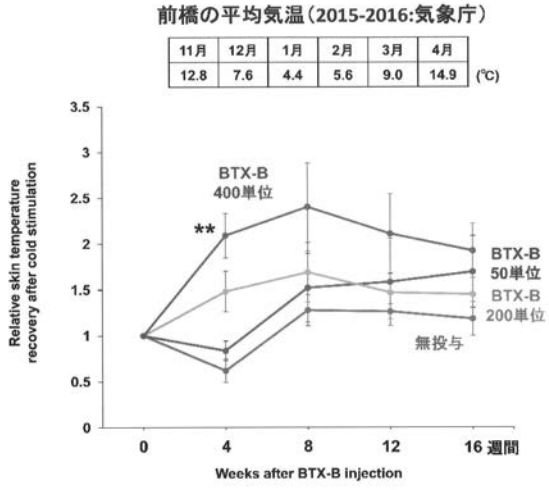


【 図 2 】





【 図 3 】



## フロントページの続き

特許法第30条第2項適用申請有り 第80回日本皮膚科学会東部支部学術大会プログラム・抄録集 第131頁 発行日 平成28年10月4日 第80回日本皮膚科学会東部支部学術大会 開催日 平成28年10月29～30日 日本研究皮膚科学会 第41回年次学術大会・総会プログラム 抄録集 第175頁 発行日 平成28年11月4日 日本研究皮膚科学会 第41回年次学術大会・総会 開催日 平成28年12月9～11日 ウェブサイトのアドレス [https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr\\_view.cgi?recptno=R000028566](https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr_view.cgi?recptno=R000028566) 掲載日 平成28年11月14日 臨床試験「全身性強皮症に伴う手指潰瘍に対するB型ボツリヌス毒素局所注入の効果と安全性を確認する試験」 試験日 平成28年11月～平成29年3月 試験場所 群馬大学医学部附属病院 厚生労働省「強皮症・皮膚線維化疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドライン作成事業」研究班2016年度班会議・厚生労働省「強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究」研究班2016年度班会議・第20回強皮症研究会議(SSc, Scleroderma Study Conference)合同会議プログラム第4頁 発行日 平成28年12月 厚生労働省「強皮症・皮膚線維化疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドライン作成事業」研究班2016年度班会議・厚生労働省「強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究」研究班2016年度班会議・第20回強皮症研究会議(SSc, Scleroderma Study Conference)合同会議 開催日 平成29年1月14日 掲載日 平成29年3月30日 ウェブサイトのアドレス <https://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.2340/00015555-2665>