(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3930556号
(P3930556)
(45)発行日　平成19年6月13日(2007.6.13)　(24)登録日　平成19年3月16日(2007.3.16)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 31/70	(2006.01)	A61K	31/70	
A61L 15/44	(2006.01)	A61L	15/03	
A61P 17/02	(2006.01)	A61P	17/02	
A61P 27/02	(2006.01)	A61P	27/02	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	107

請求項の数 9　(全 9 頁)

(21)出願番号　特願平5-516357
(86)(22)出願日　平成5年3月16日(1993.3.16)
(65)公表番号　特表平7-504909
(43)公表日　平成7年6月1日(1995.6.1)
(86)国際出願番号　PCT/GB1993/000541
(87)国際公開番号　WO1993/018777
(87)国際公開日　平成5年9月30日(1993.9.30)
審査請求日　平成12年3月7日(2000.3.7)
審判番号　不服2005-961(P2005-961/J1)
審判請求日　平成17年1月14日(2005.1.14)
(31)優先権主張番号　9205800.7
(32)優先日　平成4年3月17日(1992.3.17)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(73)特許権者　596114037
ブリテイツシユ・テクノロジー・グループ・リミテツド
イギリス国、ロンドン・エス・イー・１・６・ビー・ユー、ニユーイントン・コーズウエイ・１０１
(74)代理人　100062007
弁理士　川口　義雄
(72)発明者　フアーガスン，マーク・ウイリアム・ジエームズ
イギリス国、エス・ケイ・４・４・ピー・エル、チエシヤー、ストツクポート、ヒートン・ムーア、ピール・モート・ロード・１３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】線維疾患の治療へのマンノースホスフェート類の使用

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
細胞外マトリックスの蓄積および高レベルのトランスフォーミング成長因子β１またはβ２を伴う線維疾患を有する哺乳類の治療に使用するためのマンノース－６－または１－ホスフェートまたは薬学的に許容し得るその塩またはエステルを含む薬剤組成物。
【請求項２】
線維疾患が皮膚の創傷である請求項１の組成物。
【請求項３】
線維疾患が目の疾患である請求項１の組成物。
【請求項４】
治療が創傷治癒を促進することである請求項１～３の組成物。
【請求項５】
マンノース－６－ホスフェートまたは薬学上許容し得るその塩もしくはエステルを含む、創傷治癒における瘢痕形成の軽減に使用するための薬剤組成物。
【請求項６】
薬学的に許容し得るベヒクルまたはキャリアーを含む、注入もしくは注射器による適用用の無菌溶液、クリームもしくはゲルまたは無菌点眼溶液の形態の請求項１ないし５のいずれかに記載の組成物。
【請求項７】
マンノース－６－もしくは１－ホスフェートまたは薬学上許容し得るその塩もしくはエス

テルを含む創傷手当用品。
【請求項８】
創傷に当てるための包帯、絆創膏、吸収パッド、または高分子手当用品の形態の請求項７の創傷手当用品。
【請求項９】
請求項１～５のいずれかの特定の治療用の請求項７もしくは８の創傷手当用品。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の背景】
１．発明の技術分野
本発明は、特定の公知の化合物を、創傷を治癒することおよび、組織中の細胞外マトリックスの蓄積に関連する特定のその他の状態を治療することという新規の目的に使用することに関する。
【０００２】
２．関連技術の記載
ヒトおよび他の哺乳類の創傷は通常かなり早く治癒するとはいえども、見苦しい瘢痕組織をしばしば残すのが問題である。成長因子が線維疾患に関係することが知られている。成長因子またはその抗体を投与することによる、線維疾患の影響を改善するためのいろいろな提案が成されてきた。例えば以下の文献を参照されたい。Ｗ．Ａ．Ｂｏｒｄｅｒ等［Ｎａｔｕｒｅ ３４６ ３７１－３７４（１９９０）］は、急性メサンギウム増殖性糸球体腎炎（細胞への免疫学的傷害によって引き起こされると考えられている腎臓の炎症）における細胞外マトリックス生成は、トランスフォーミング成長因子（ＴＧＦ）－β１の生成の増加に関係し、抗－ＴＧＦ－β１の投与によって抑制されることを示した。Ｅ．Ｋｏｖａｃｓ著，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ １２ （１） １７－２３ （１９９１）は、特定のサイトカイン類（例えば、ＴＮＦ－α）の影響を抗体でブロックすることにより、組織傷害の動物モデルにおいて線維症が減少したと結論づけた。ＰＣＴ出願公開番号ＷＯ ９１／０４７４８（ＬａＪｏｌｌａ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ）は組織中の細胞外マトリックスの蓄積に関係する病状を血小板由来成長因子（ＰＧＤＦ）またはＴＧＦ－β１に対する抗体を用いて治療することを提案した。治療された疾患は、線維疾患全般であり、糸球体腎炎、成人呼吸窮迫症候群、肝硬変、線維細胞疾患、線維症、線維ガン、フィブロイド、線維腺腫、および線維肉腫を含む。その他の線維症状態も挙げられている。また、該方法はケロイド瘢痕（創傷が張力下のとき形成するおよび／または遺伝的な素因のある人に起こる、皮膚の硬い、不規則な瘢痕組織）のような過度の瘢痕形成を治療または予防するのにも使用し得る。Ｍ．Ｓｈａｈ，Ｄ．Ｍ．ＦｏｒｅｍａｎおよびＭ．Ｗ．Ｊ．Ｆｅｒｇｕｓｏｎ著，Ｔｈｅ Ｌａｎｃｅｔ ３３９ ２１３－２１４（１９９２年１月２５日）は、ＴＧＦ－β１および－β２を無力化する抗体を投与することによる創傷の瘢痕形成の制御について記載している。
【０００３】
成長因子が作用する際の生物学的メカニズムはよく理解されてはいない。Ｃ．Ｃ．Ｂａｓｃｏｍ等，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｎｄ Ｃｅｌｌｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ９ ５５０８－５５１５（１９８９）参照。
【０００４】
ＴＧＦ－β１は、アミノ酸（ａａ）残基２７８と２７９との間の開裂によって成熟タンパクに変換される３９０アミノ酸のプレープロープロテインとして合成されることが知られている。しかしながら、生体内で単離されたＴＧＦ－β１は、ペプチド結合の開裂にもかかわらず、その中のプロー領域が依然として成熟分子と会合した高分子量の潜伏性複合体（ＬＴＧＦ－β１）として主に見出される。ＴＧＦ－β２およびβ－３もまた潜伏形態を有する。３者とも、カチオン－非依存性マンノース－６－ホスフェート／インシュリン－様成長因子ＩＩレセプターと呼ばれる原形質膜レセプターに結合することが示された。結合はプロー領域中のグリコシレーション部位にくっついたマンノース－６－ホスフェート

残基を介して起こり、ＴＧＦ－β１およびＴＧＦ－β２の場合にはレセプターに対する抗体によって抑制されることが示された。ＴＧＦ－β１の場合、結合はマンノース－６－ホスフェート自身によって抑制される。Ｐ．Ａ．ＤｅｎｎｉｓおよびＤ．Ｂ．Ｒｉｆｋｉｎ著，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８８，５８０－５８４（１９９１）、Ｍ．Ｎ．Ｌｉｏｕｂｉｎ，Ｈ．Ｍａｒｑｕａｒｄｔ，Ｒ．Ｒｏｔｈ，Ｋ．Ｓ．Ｋｏｖａｃｉｎａ及びＡ．Ｆ．Ｐｕｒｃｈｉｏ著，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｅｌｌｕｌａｒ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ４５，１１２－１２１（１９９１）およびＫ．Ｍｉｙａｚａｎｏ等，Ａｎｎａｌｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ５９３，５１－５８（１９９０）参照。ＴＧＦ類の成熟活性形態の生体内発生を抑制することが望ましいのかどうか、または、マンノース－６－ホスフェートレセプター結合が成熟タンパクを活性化する唯一の手段であるのかどうかは明確ではない。この文献の中でＴＧＦ－β１がいろいろなｐＨ条件下で活性化されることが示唆された。“Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ １”（Ｍ．Ｂ．ＳｐｏｒｎおよびＡ．Ｂ．Ｒｏｂｅｒｔｓ編），Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ １９９０，中、第４１９～４７２頁、“Ｔｈｅ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍｉｎｇ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ βｓ”の４３２頁およびそこで引用された文献参照。また、Ｋ．Ｍｉｙａｚａｎｏ等，上掲，５５頁参照。彼等はプラスミン、カテプシンＤおよびグリコシダーゼのような酵素による活性化に言及した。これらの著者はまた、高濃度のシアル酸またはマンノース－６－ホスフェートが潜伏形態を活性化することを示唆している。

【０００５】

本発明の知識なしでは関連性が自明ではないさらなる先行技術は「発明の要約」の欄の後に言及する。

【０００６】

【発明の要約】

マンノース－６－ホスフェート（Ｍ－６－Ｐ）が、瘢痕組織の形成を緩和または抑制しながら、創傷を治癒するのを促進する（早める）のに役立つことが今や発見された。本明細書中、「マンノース」という用語はもっぱら天然のＤ－異性体を示す。マンノース－１－ホスフェートもまた、創傷を治癒するのを促進するのに役立つが、抗－瘢痕形成効果を有するとは限らない。マンノースホスフェート（本明細書中で使用するこの用語は集合的に６－および１－ホスフェートを指す)はそれ自体で、薬学的に許容し得る塩、例えばモノナトリウムもしくはジナトリウム塩または創傷領域にマンノースホスフェートを放出するのに効果的ないかなる生体前駆体すなわち「プロドラッグ」形態として使用し得る。

【０００７】

本発明は従って、特許出願が出願された適当な国の特許法で通常使用されるいかなる用語で表現されたにしても、前述のように新規の用途を含む。また本発明はこの目的のための特定の処方、特に、上述のようなマンノースホスフェートを含むクリームまたはゲル（ベヒクルまたはキャリヤーを含む）、無菌溶液（生理学上許容し得る希釈剤を含む）ならびに創傷手当用品および移植片材料も含む。

【０００８】

【従来技術の付加的な記載】

ＰＣＴ特許出願公開ＷＯ ９０／０１９３８（Ａｕｓｔｒａｌｉａｎ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）は糖ホスフェート類、特にマンノース－６－ホスフェートまたはグルコース－１－ホスフェートの抗炎症または免疫抑制療法への使用に関する。その中で使われている「抗炎症」という用語は打撲、虫刺され等、によって引き起こされた腫脹を減らすことを意味せず、むしろ、多発性硬化症および慢性リウマチを含む自己免疫疾患の疑いに対するおよび移植片宿主拒絶反応に対する薬剤の働きを指す。

【０００９】

ＰＣＴ特許出願ＷＯ ９１／０９６０４（Ｐｅｒｓｔｏｒｐ ＡＢ）は、マンノース－６－ホスフェートを含む広い範囲のすべての糖ホスフェートの、水腫、血管漏れ、火傷およ

び眼の網膜の（不特定の）ダメージのような組織のダメージを含む広い範囲の状態を治療するための使用に関する。実施例がなく、記載の全ては明らかに科学的真実性を欠いている。

【００１０】

関連性はさらに少ないが他の従来技術として以下の特許明細書がある。

【００１１】

ＥＰ－Ａ　２３０　０２３（Ｍａｒｉｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ　Ｉｎｃ．）は創傷を治癒することを強めるためのポリスルフェート化ポリサッカライドに言及しており、一つの例はマンノースペンタスルフェートである。ＥＰ－Ａ　２２１　７２８（Ｓｉｌｖｅｔｔｉ）は創傷を治癒するためのモノサッカライド、例えば、マンノースおよびスターチ加水分解物の組成物を提案する。ＵＳ－Ａ　４　８８９　８４４（Ｓｉｌｖｅｔｔｉ）は開示において同様であるがさらに限定された請求の範囲を有する。ＧＢ－Ａ　２　０４８　０７０は糖、好適にはいかなる食料雑貨店からでも購入される形態の糖、好ましくはサッカロースおよび抗菌剤、例えばポヒドン－ヨウドを含む創傷を治癒する組成物に関する。ＧＢ－Ａ　２　０９２　００１はナトリウムフルクトース－１，６－ジホスフェートの火傷患者の治療への使用に関する。ＵＳ－Ａ　４　７０３　０４０はフルクトース－１，６－ジホスフェートを使用して成人呼吸窮迫症候群を治療した。特開昭５９－２５４７７（日清製粉）は制ガン剤としてのマンノース－１－ホスフェートの長鎖ヒドロカルビルホスフェート誘導体に関する。

【００１２】

上記の従来技術は、グルコース、ガラクトース、マンノース、グルコース－６－ホスフェート、ガラクトース－６－ホスフェートおよびグリセロール－３－ホスフェートが創傷を治癒することに有意な効果を有さないという、動物実験に基く本発明による知見の観点から検討することが必要である。

【００１３】

【図面の簡単な説明】

図は、マンノース－６－または１－ホスフェート、グルコースおよびコントロールで処置したラットの創傷について、コラーゲンの合成および沈着の尺度である放射能ラベルされたヒドロキシプロリンのカウント数を損傷後の時間に対してプロットしたグラムである。

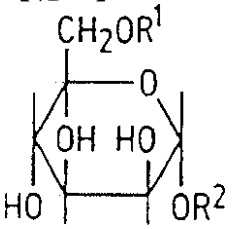
【００１４】

【好ましい実施態様の記載】

本発明で使用されるマンノース－６－または１－ホスフェートは式（１）

【００１５】

【化１】



（1）

［式中、R^1およびR^2の一方は水素であり、他方はＰＯ（ＯＨ）$_2$である］を有する。

【００１６】

遊離のリン酸または薬学上許容し得るそのモノ－またはジ－塩、例えば、ナトリウム、カルシウム、マグネシウムまたはバリウム塩の形態で投与し得る。生体前駆体、すなわちマンノースホスフェートに（体に適用した後に）その場で転換される化合物の形態であってもよい。これは、例えば、マンノースホスフェートの糖アルコール基を適当な酸に結合させてエステルを形成させることによって達成され得る。このエステル結合はマンノースホスフェートのホスフェート結合よりも加水分解しやすい。加水分解、酵素または治療しようとしている線維症状態の体内の或る場所に特に皮膚の創傷に広がっている他の条件下においてマンノースホスフェートを放出し得る他の化合物の形態は化学者には自明であり、

本発明の目的のためのマンノースホスフェートの定義に含まれる。

【００１７】

創傷治癒において、マンノースホスフェートを素早く、すなわち、切開、負傷、等の後できるだけ早く、通常４８時間以内、好ましくは２４時間以内、そして最も好ましくは１２時間以内に適用することが望ましいであろうことが予期される。創傷領域中に損傷後数日間、例えば３または４日までの間に、マンノースホスフェートをほぼ一定の濃度で保つことが望ましいと考えられる。したがって、マンノースホスフェートを持続的に放出する処方物が好ましい。マンノースホスフェートを非常にゆっくり放出する処方物は恐らくあまり適当でないが、臨界濃度を迅速に放出しその後ゆっくり放出する処方物は場合により適当で有り得る。いずれにせよ、ゆっくりの放出は恐らく、他の線維疾患の治療に役立つであろう。

【００１８】

本発明のマンノースホスフェートの好ましい処方物は、クリーム、軟膏およびゲルを含み、これらは水性または油性のベヒクルまたはキャリヤーを用いるいかなる一般的な方法で処方され得、防腐剤および創傷治療で一般的な他の薬剤もまた含み得る。本発明の処方物は適当な一般的な希釈剤、特に生理学的食塩水で処方され得る無菌の注射液、マンノースホスフェートおよびヒアルロン酸または他の高分子流体キャリヤーまたは希釈剤の無菌の注射溶液、ローションおよびペーストを含む。マンノースホスフェートを適用するのに特に便利な方法は、含浸させた創傷手当用品例えば、包帯、プラスター、吸収性パッド、または例えば、コラーゲン、ヒアルロン酸、アルギン酸ナトリウムまたはポリ塩化ビニルの高分子またはヒドロゲル手当用品、で有り得る。マンノースホスフェートは、例えば、含浸によって手当用品に含まれ、通常は使用されるまで無菌状態下で貯蔵される。内部の治療のために、キャリヤーとして高分子物質およびマンノースホスフェートを含む移植片が示唆される。マンノース－６－ホスフェートは、アルカリ性以外の条件ならば溶液、ゲルまたは他の湿った形態の中の加水分解に対して安定であり、マンノース－１－ホスフェートは安定であると考えられる。

【００１９】

本発明が手術等の原因で生ずるひどい裂創および火傷を含む皮膚の創傷に関して非常に重要であるが、線維皮膚疾患例えば、光ダメージ（これは線維組織の増加の特定の作動体を調節する（ｕｐ－ｒｅｇｕｌａｔｅ）と考えられる）および刺激物、その開示内容が参考として本明細書中に包含されるおよびＰＣＴ出願公開ＷＯ　９１／０４７４８（Ｌａ　Ｊｏｌｌａ）に関連して上記の他の疾患にもまた適用し得る。ついでながら、Ｌａ　Ｊｏｌｌａ出願の請求項１は細胞外マトリックスが集積された組織とＴＧＦ－βの細胞外マトリックス生成活性を抑制する薬剤とを接触させることを記載している。本発明で使用されるマンノースホスフェートはこの定義の中に入らないと考えられる。

【００２０】

本発明の特に重要な面は眼の線維疾患治療、特に、緑内障または眼の組織中の涙が網膜の収縮および瞬きと共に線維症を導く外－網膜形成を導く疾患の治療にある。本発明はマンノースホスフェート、好ましくは６－ホスフェート、またはその塩または生体前駆体の無菌目薬溶液を含む。

【００２１】

靭帯間膜を治癒することもまたマンノースホスフエート、好ましくは６－ホスフエートまたはその塩または生体前駆体によって改善される。

【００２２】

マンノースホスフェートの適用モードは、通常は、例えば創傷（その内側および／または周り）に対して局所的であるが、場合により、皮下もしくは皮内注射または移植が、患部組織によりよく到達するために要求され得る。極端な場合、筋肉内注射または静脈内注射を行ってもよい。予備のデータは、低もしくは中濃度のマンノース－６－ホスフェートが創傷治癒において瘢痕形成を早めるおよび減らすために要求されることが示唆される。好ましくは、マンノースホスフェートは１０～６０ｍＭ濃度で、治療の少なくとも最初の３

日間は少なくとも１日２回患部領域に適用される。
【００２３】
以下の実施例は本発明を説明する。実施例中でホスフェートとはモノナトリウム塩を指す。ただし、実施例６のグリセロール－３－ホスフェートはジナトリウム塩である。
【００２４】
【実施例】
実施例１
成熟　Ｓｐｒａｇｕｅ　Ｄａｗｌｅｙラットの脇腹に長さ１ｃｍの切開傷を４つつけた。各傷は、下のｐａｒｎｉｃｕｌｏｕｓ　ｃａｒｎｏｓｉｓの深さまで達していた。各動物において、１つの創傷はコントロールとして治療せずに残した。他の３つの創傷は、周りの皮膚にそれぞれ無菌生理学的食塩水中のマンノース－６－ホスフェート、グルコース－６－ホスフェートおよびマンノース－１－ホスフェートを皮下および皮内注射して治療した。各傷を、損傷後０、１および２日目に３回治療した。ラットを６種の異なった濃度すなわち、注射毎に各動物に対して０．５、１、５、２０、５０および１００ミリモルの濃度の各試薬で治療した。ラットの全てを創傷治癒後７日目殺し、創傷を切除した。創傷組織を液体窒素中で素早く凍結し、凍結切開し、マクロファージおよび単球（炎症応答の指標）を検出するために、ラミニン（基底膜を染色し創傷中の新生血管形成を強調する細胞外マトリックス分子）、フィブロネクチン（細胞外マトリックス分子の存在量およびその配置の指標を与える、初期細胞外マトリックス分子）およびコラーゲン（瘢痕組織の基礎成分）に対するいろいろな抗体で染色した。
【００２５】
２０ｍＭのマンノース－６－ホスフェートが、促進した治癒、コラーゲン繊維の良好な配列の最高結果を与え、正常の皮膚組織の回復もみられ、同じ試薬５０ｍＭがほぼ同程度の結果を与えた。多分不十分な投与量であるために濃度が低いとほとんど効果がない。他方、１００ｍＭはコントロールよりも悪い結果を与える。
【００２６】
マンノース－１－ホスフェートはコントロールよりも良く働く。それは創傷治癒を促進するが、瘢痕形成にはなにも効果がない。コラーゲン繊維の配列は悪く、単球およびマクロファージに対しても効果がない。
【００２７】
グルコース－６－ホスフェートは創傷治癒を僅かに促進したが、マンノースホスフェートほど良くない。
【００２８】
実施例２
２０ｍＭのマンノース－１－ホスフェート（Ｍ－６－Ｐ）、マンノース－１－ホスフェート（Ｍ－１－Ｐ）およびグルコース（Ｇ）をラットの別個の切開傷に実施例１に記載したように３日間注射した。コントロールとして注射されていない創傷もまた存在した。非ホスホリル化糖の代表であるグルコースを比較のために使用した。創傷を３日および１、２、３、４、６および１０週目に収集した。結果は、創傷中へコラーゲンが早期沈着されることが明らかなように、Ｍ－６－ＰおよびＭ－１－Ｐが創傷治癒を促進することを確認した。さらに、Ｍ－６－Ｐで治療した創傷における単球およびマクロファージの数は僅かに上昇した（１週間後の創傷では平均２４９の単球およびマクロファージ、コントロールの創傷中の２０１と比較されたい）。４、６および１０週間後に試験したＭ－６－Ｐ治療した動物の創傷は、真皮中のコラーゲンの繊維の組織化および配列の点でＭ－１－Ｐ－およびＧ－治療したものよりも改善されていた。Ｇ－治療された創傷の治癒はコントロールに比較して遅く、コントロールに比較して僅かに改善された瘢痕形成を示した。
【００２９】
実施例３
創傷に上記のようにＭ－６－Ｐ、Ｍ－１－ＰおよびＧを２０ｍＭ注射した。コントロールとして注射していない創傷もまた使用した。ラットに^{3}Ｈ－ヒドロキシプロリン（１μＣ

ｉ／３．７４ｇ）を、それぞれ創傷を収集する２４、１６および８時間前に腹腔内に注射した。３日、１、２、３、４、６および１０週目に創傷を顕微鏡下１ｍｍの周りの組織と共に収集した。コントロール（正常皮膚）試料もまた採った。試料をその後計量した。

【００３０】

図は切除した創傷に関してラベル化ヒドロキシプロリンの比活性（崩壊／分／ヒドロキシプロリンμｇ）を創傷収集時間に対してプロットしたものである。ラベルが殺す２４時間より前には取り込みに利用され得ないので、ヒドロキシプロリンの比活性はこの２４時間の間のコラーゲンの合成および蓄積（沈着）の正味速度を反映している。損傷から３日後、この創傷およびコントロールの速度は同じであった。コントロールの創傷（黒四角）の中の新しいコラーゲンの蓄積速度は急速に上昇して１４日目頃に最高値に、６週目まで高値のままであり、１０週目に正常の皮膚のコントロール（φ）のレベルまで戻った。Ｍ－６－Ｐ（＋）およびＭ－１－Ｐ（大きな影つき四角）は、損傷後２８日間癒えている創傷の中のコラーゲン蓄積を増加させたが、その後コントロールの創傷レベルに減った。これに対して、グルコース（*）を付加すると、損傷後最初の２週間に蓄積されたコラーゲンの量を僅かに減らし３および４週の間にコラーゲンを僅かに上昇させた。

【００３１】

実施例４

ホスフォリル化が必要かどうかを決定するために、マンノース（非ホスフォリル化）およびグリセルアルデヒド－３－ホスフェート（Ｇ－３－Ｐ）を治癒実験に使用した。創傷にマンノース２０ｍＭおよびＧ－３－Ｐ２０ｍＭを３日間上記のように注射し、７および１４日後に収集した。これらの分子の両方はグルコースと同様な結果を与えた。すなわち、マンノースのホスフォリル化は治癒の促進に必要であることを示唆する創傷治癒応答を遅らせ、抗－瘢痕形成活性を与えなかった。

【００３２】

実施例５

この実施例は創傷への適用回数の増加効果を示す。

【００３３】

実験ラットに上記のように創傷を付け、その創傷をなにもしないか（コントロール）、マンノース－６－ホスフェート（Ｍ－６－Ｐ）２０ｍＭ、マンノース－１－ホスフェート（Ｍ－１－Ｐ）２０ｍＭまたはマンノース２０ｍＭで治療した。しかしながら、０、１、２日目に１回投与するかわりに、創傷に０、１、２日に８時間毎に注射した。創傷を７および１４日後に収集し、ヒストロジーおよびイムノサイトケミストリーにかけた。

【００３４】

上記のように、マンノース－６－ホスフェート（Ｍ－６－Ｐ）は（Ｍ－１－Ｐと同様に）創傷の中の早期にコラーゲンが蓄積され、瘢痕形成を著しく減らすことによりアッセイしたように創傷治癒を促した。創傷の中のコラーゲンの組織は大きく改善され、Ｍ－６－Ｐの抗－瘢痕形成効果は０、１、２日に１回注射による治療した創傷よりもよい。これらのデータは損傷後最初の３日間マンノース－６－ホスフェートをより頻繁に適用すると改善された抗瘢痕形成効果を与えることを示唆した。他の治療はいかなる抗－瘢痕形成効果も有さない。

【００３５】

実施例６

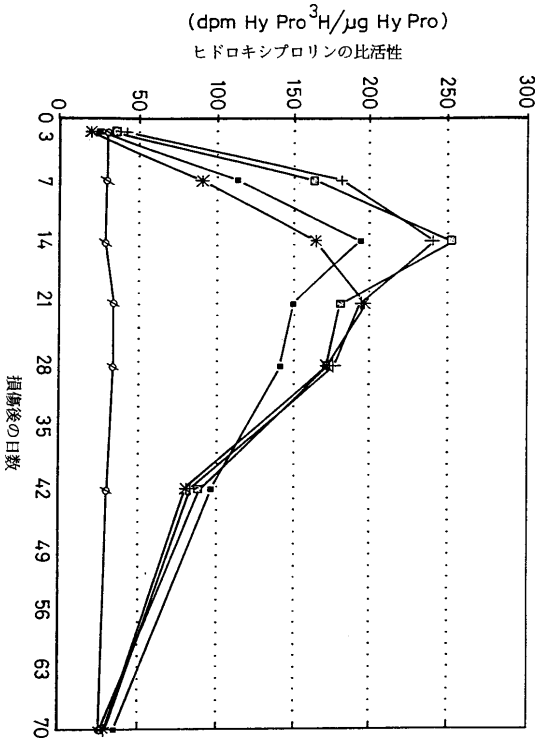
この実施例は他のホスホリル化糖の効果を比較する。この実験は全て上記と同様にして行った。創傷は処理しないか（コントロール）、またはグリセロール－３－ホスフェート２０ｍＭ、ガラクトース－６－ホスフェート２０ｍＭ，マンノース－６－ホスフェート２０ｍＭまたはガラクトース２０ｍＭのいずれかで治療した。創傷を損傷後７および１４日目ならびに６および８週目に収集した。２つの群の動物、損傷後０、１および２日目に８時間毎に注射をした群と、損傷後０、１および２日目に１度注射した群を研究した。全ての組織検査切片を結合組織染色および上記のイムノサイトケミストリーによって分析した。

【００３６】

その結果、損傷後０、１および２日目に８時間毎にＭ－６－Ｐ２０ミリモルを適用すると最高の結果が得られることを確認した。創傷治癒は創傷の中のコラーゲンの早期蓄積によって促進され、治療は顕著な抗－瘢痕形成活性を有した。創傷は真皮の中のコラーゲンの繊維のより正常な組織化を示した。

【００３７】

ガラクトース、ガラクトース－６－ホスフェートおよびグリセロール－３－ホスフェートは効果を示さず、創傷は治癒速度および最終瘢痕形成の結果において、コントロールにくらべて同等であるか、どちらかと言えば僅かに悪い。



フロントページの続き

合議体
審判長　内田　俊生
審判官　福井　悟
審判官　谷口　博

(56)参考文献　国際公開第９１／０４７４８（WO, Ａ1）
国際公開第９１／１５２３３（WO, Ａ1）
国際公開第９０／１０４５６（WO, Ａ1）
Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｔｏｄａｙ, １２（１）, ｐｐ. １７－２３（１９９１）
Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. USA, ８８, ｐｐ. ５８０－５８４（１９９１）

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
A61K 31/70 - 31/739
A61L 15/00 - 15/64