

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2009年4月2日 (02.04.2009)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2009/041037 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 47/48 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
 A61K 31/737 (2006.01) A61P 9/04 (2006.01)
 A61K 38/00 (2006.01) A61P 19/00 (2006.01)
 A61K 39/395 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
 A61K 47/26 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
 A61K 47/42 (2006.01)

大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内 Osaka (JP). 馬原 淳 (MAHARA, Atsushi) [JP/JP]; 〒5658565 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内 Osaka (JP). 加藤 良仁 (KATO, Yoshihito) [JP/JP]; 〒1038433 東京都中央区日本橋本町3-4-14 興和株式会社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2008/002652

(22) 国際出願日:

2008年9月25日 (25.09.2008)

(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2007-249275 2007年9月26日 (26.09.2007) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立循環器病センター総長が代表する日本国 (JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF NATIONAL CARDIOVASCULAR CENTER) [JP/JP]; 〒5658565 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 Osaka (JP). 興和株式会社 (KOWA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒4608625 愛知県名古屋市中区錦三丁目6番29号 Aichi (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山岡 哲二 (YAMAOKA, Tetsuji) [JP/JP]; 〒5658565 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内 Osaka (JP). 斯波 真理子 (SHIBA, Mariko) [JP/JP]; 〒5658565

(74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号共同ビル 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, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(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, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(54) Title: DRUG FOR SUPPRESSING PATHOGEN OCCURRING <I>IN VIVO</I>

(54) 発明の名称: 体内に存在する病因物質の低下剤

(57) Abstract: It is intended to provide a drug for actively metabolizing or excreting a pathogen occurring *in vivo*. Namely, a compound, which comprises (A) an adsorbent for a pathogen occurring in the blood or lymph and (B) a ligand specific for an organ or a cell capable of metabolizing or excreting the above-described pathogen that are bonded together via or without via a linker, and a drug containing the same.

(57) 要約: 本発明は、体内中に存在する病因物質を積極的に代謝又は排泄させるための薬剤を提供することにある。本発明は、(A) 血中又はリンパ液中に存在する病因物質の吸着剤と、(B) 当該原因物質を代謝又は排泄する能力を有する臓器又は細胞に特異的なリガンドとを、リンカーを介して又は介さずに結合させてなる化合物、及びこれを含む医薬に関する。

WO 2009/041037 A1

明 細 書

体内に存在する病因物質の低下剤

技術分野

[0001] 本発明は、体内に存在する病因物質を積極的に代謝又は排泄させるための薬剤に関する。

背景技術

[0002] 脂質、糖質、タンパク質、内分泌物質の代謝異常によって引き起こされる疾患は極めて多い。通常、正常人のこれら物質の体内濃度は一定に保たれており、過剰分は特異的な代謝経路によって能動的に体外へ排出される。しかし、何らかの原因でこの代謝経路に異常が生じると代謝されるべき物質が体内で循環し蓄積するため、その物質濃度は増加し、多くの疾患が誘発される。例えば、血清脂質の主としてコレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸などが異常に増加した状態を示す高脂血症もその疾患の一つである。その基準は、空腹時の血清LDLコレステロール値が 140mg/dl 以上を高LDLコレステロール血症、トリグリセライド値が 150mg/dl 以上を高トリグリセライド血症という。特に高LDLコレステロール血症は冠動脈疾患や脳血管障害の主要な原因であると考えられており、血中LDLコレステロール濃度の是正によりこれらの疾患の罹患頻度が低下するいくつかのエビデンスが得られている。

[0003] 高脂血症の治療には、スタチン系薬剤、フィブラート系薬剤、ニコチン酸、陰イオン交換樹脂、コレステロール吸収阻害薬、プロブコール、デキストラン硫酸、イコサペント酸エチル等、種々の薬剤が用いられているが、プラバスタチン、シンバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン等のスタチン系薬剤が最近の治療剤の中心をなしている。スタチン系薬剤の中でも、ピタバスタチン又はその塩類は強いHMG-CoAリダクターゼ阻害作用を有し、血中コレステロール低下剤として有用であることが知られている（特許文献1）。動脈硬化学会のガイドライ

ンでは、患者の有する動脈硬化のリスクの数により、目標LDLコレステロール値が限定されている。高リスク群に対しては、これらのスタチンを用いても、目標を達成できるのは約25%の患者のみである。ホモ型の家族性高コレステロール血症は、LDL受容体遺伝子が欠損している遺伝病であり、その作用機序がLDL受容体の活性化を介しているスタチン類等の薬物による治療は無効であることが知られている。通常、肝実質細胞表面に存在するLDL受容体を介して血中LDL（低比重リポタンパク質）が肝臓中に取り込まれ、過剰なLDLは胆汁として排泄されるが、この患者はその機能が欠損している。また、血清コレステロール値は600～1000mg/dlの高値を示し、幼少期より進行する動脈硬化症により、若年齢で心筋梗塞が引き起こされる。

[0004] この疾患に対する治療法としては、欠損したLDL受容体を導入する遺伝子治療の臨床試験が行われているが、遺伝子治療に対する安全性は確立されておらず、実用化にはまだ多くの問題が残る。また、肝臓移植による治療も考えられるが、患者の肝機能そのものは正常であるため、倫理的な問題などもあり現実的ではない。このような重篤な高コレステロール血症患者の治療には、LDLアフェレーシスが用いられている。これはLDLを特異的に吸着するカラム（デキストラン硫酸セルロースカラム）に血液を流すことにより、LDLのみを吸着除去するものであり、長期間安全に継続できる。しかし、これは体外循環を用いた血漿交換療法であり、患者が5～6才になるまでは適用できない。そのため生下時より進行する動脈硬化には対応できない。さらに、治療費が高額で身体的にも負担が大きく、患者のQOLの向上という面からも新たな治療方法の確立が望まれる。

[0005] 透析患者では何らかの原因により、生体内で水、電解質の代謝異常と種々の窒素代謝産物の蓄積、腎臓が関与している種々のホルモンの異常がみられる。生体にとって有毒物質は通常、腎臓、肝臓、消化管などから排泄されるが、腎不全患者では、腎臓より有毒物質を排泄するのに長時間を要し、そのために腎機能障害の悪化、他臓器への悪影響をきたし、生命の危機に陥った

りする。

[0006] このような場合、持続的携帯式腹膜透析と血液透析が最も一般的な治療法として定着している。2004年12月末日の日本透析医学会統計によれば、慢性透析患者数は248,166人、20年以上の生存者は15,899人（6.7%）、最長透析歴患者は37年3ヵ月となっている。

[0007] 透析期間の長期化に伴い、近年、顕在化してきた合併症の一つに透析アミロイドーシスがある。腎不全患者は、腎機能の低下・障害により、ベータ2ミクログロブリンという中分子タンパク質の排泄が悪化し、血液中のベータ2ミクログロブリン濃度が高くなっている。ベータ2ミクログロブリンの物質の蓄積は、透析アミロイドーシスを発症し、アミロイド繊維が全身のいたるところに沈着し、痛み・痺れを伴う、骨・神経・関節障害が現れ、患者のQOLは著しく低下する。

[0008] 透析アミロイドーシス治療には、原因物質であるベータ2ミクログロブリンの除去が行われており、ベータ2ミクログロブリンの除去能の高い透析方法の導入、血液濾過透析（HDF）の導入、ハイパフォーマンスマンブレンという透析膜の孔径の大きなダイアライザーの使用等が早期より開始されている。また、オンラインHDFという、血液中の血漿成分を積極的に取り出し、それとほぼ当量の補液を血液に還流させる際に、透析液をクリーンに浄化する治療法も普及し始めているが、重篤な場合には外科的治療が実施されている。これらの治療法は、治療費が高額で身体的にも負担が大きく、患者のQOLの向上という面からも新たな治療方法の確立が望まれる。

[0009] 一方、体外循環医療カラムの治療効果を上げる補助用具も用いられており、ベータ2ミクログロブリンに選択的に結合するヘキサデシル基固定化セルロースビーズ（製品名：リクセル、登録商標）が用いられている（特許文献2）。ヘキサデシル基固定化セルロースビーズを用いた血液吸着療法により、透析アミロイドーシス患者の関節痛等が改善することも報告されている。しかし、これらの体外循環医療カラムの治療効果を上げる補助用具は、抗凝固剤併用もしくは、体外循環医療カラムに抗血栓性を付与することが必要で

ある。抗凝固剤の使用は、患者に負担を強いるものであり、汎用されている抗凝固剤であるヘパリンに対して、ショック症状を呈する患者が存在するため、新たな治療方法の確立が望まれる。

[0010] また、重篤な高脂血症患者におけるLDLの除去や透析アミロイドーシス患者におけるベータ2ミクログロブリンの除去のように、何らかの代謝異常や排泄機能不全、除去困難等により体内に過剰に存在する物質を除去する治療法において、一般的には人工透析や各種アフェレーシスが行われているものの、上述の通り患者のQOLの問題や、高額な医療費が必要になるという問題も抱えており、人工透析や各種アフェレーシス療法に代わる新たな治療手段の確立が強く望まれている。

[0011] 特発性拡張型心筋症（DCM）は、心臓の内腔が著しく拡張して心筋の収縮不全を起こし、うっ血性心不全の臨床像を呈する予後不良の慢性進行性疾患である。1999年の旧厚生省の調査によれば患者数は全国推計で17,700人であるが、無症状の患者が多いため、実際の患者数はもっと多いものと考えられている。

[0012] DCMの根本治療法としては、今のところ脳死した心臓提供者からの心臓移植が代表的なものであるが、国内では脳死という概念が広く一般に浸透しているとはいえないため心臓移植手術がなかなか行われていない状況にあり、世界的にみても心臓提供者が心臓移植を必要とする患者に比べて少ないという問題がある。また、心臓移植は医療保険の対象外であるため、心臓提供者が見つかって患者は大きな経済的負担を負うことになる。さらに、仮に心臓移植手術が成功しても、免疫抑制剤を一生服用し続けなければならない、免疫力低下により感染症に罹患し易くなることが大きな問題として残っている。このため、内科的療法としてアンジオテンシン変換酵素阻害薬とベータ遮断薬などが併用されて効果を挙げているが（非特許文献1）、体質・症状の進行状態により期待した効果が得られない場合もあり、また、進行を遅らせることしかできないため、内科的療法によってDCMを根本的に治療する手段の確立が強く望まれている。

特許文献1：特開平 1－2 7 9 8 6 6 号公報

特許文献2：特開平 9－2 6 6 9 4 8 号公報

非特許文献1：Med. J. Aust., 2001, 174, 459－466

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0013] 本発明は、体内に存在する病因物質の体内濃度を積極的に低下させるための薬剤を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0014] 本発明者らは、かかる事情に鑑み鋭意検討の結果、体内に存在する病因物質を、本来の代謝経路とは異なる別の経路へと積極的に誘導する薬剤を提供することができれば、新規なメカニズム（メタボリックスイッチング機構と呼ぶ）に基づく該病因物質の体内レベル低下剤として有効に利用できるのではないかと着想した。そして、LDLの吸着剤であるデキストラン硫酸に肝細胞アシアロオロソムコイドレセプターリガンドであるガラクトースを修飾した化合物が、血中LDLを肝細胞へと誘導し、肝臓で分解させることで、血中LDLレベルを優位に低下させることを見出した。
- [0015] また、ベータ2ミクログロブリンの吸着剤であるベータ2ミクログロブリン抗体を修飾させたデキストラン硫酸を、肝細胞特異的なリガンドの一つであるLDLと同時に投与することによって生成するLDL－デキストラン硫酸－ベータ2ミクログロブリン抗体の複合体が、ベータ2ミクログロブリンを肝細胞へ積極的に取り込ませることを見出した。
- [0016] さらに、抗体を特異的に認識するプロテインAを導入したデキストラン硫酸を、肝細胞特異的なリガンドの一つであるLDLと同時に投与することによって生成するLDL－デキストラン硫酸－プロテインAの複合体が、過剰に体内に存在し、病因となっている抗体を肝細胞へ積極的に取り込ませることを見出した。

このことから、血中又はリンパ液中に存在する病因物質の吸着剤と、当該病因物質を代謝又は排泄する能力を有する臓器又は細胞に特異的なリガンド

とをリンカーを介して又は介さずに結合させた化合物は、血中又はリンパ液中の病因物質レベルの低下剤として利用でき、その結果当該病因物質による疾患の治療が可能になることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0017] すなわち、本発明は、（Ａ）血中又はリンパ液中に存在する病因物質の吸着剤と、（Ｂ）当該病因物質を代謝又は排泄する能力を有する臓器又は細胞に特異的なリガンドとを、リンカーを介して又は介さずに結合させた化合物を提供するものである。

また本発明は、当該化合物を有効成分とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質の体内レベル低下剤を提供するものである。

また、本発明は、当該化合物を有効成分とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療剤を提供するものである。

また本発明は、当該化合物及び薬学的に許容される担体を含有する、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療用医薬組成物を提供するものである。

また、本発明は、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療薬製造のための、当該化合物の使用を提供するものである。

また本発明は、血中又はリンパ液中に存在する病因物質低下剤製造のための、当該化合物の使用を提供するものである。

また、本発明は、当該化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質の体内レベル低下方法を提供するものである。

さらに本発明は、当該化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療方法を提供するものである。

発明の効果

[0018] 本発明によれば、人工透析や各種アフェレーシスによらず、薬剤の体内投

与によって、血中又はリンパ液中に過剰に存在する病因物質レベルを低下させることができる。より具体的には、デキストラン硫酸にガラクトースを修飾した本発明化合物は、優れたLDL低下作用を示し、新たな高脂血症治療剤として利用できる。特に、これまでLDLアフェレーシスにより血中LDLを除去しなければならなかったホモ型家族性高脂血症のような重篤な高脂血症患者であっても、効果的に血中LDLレベルを低下させることができる。

[0019] 一方、LDLとデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体を同時に投与することによって生成するLDL-デキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体の複合体は、優れたベータ2ミクログロブリン低下作用を示し、新たなアミロイドーシス治療剤として利用できる。特に、これまでベータ2ミクログロブリンの除去能を有するハイパフォーマンスタイプの人工腎臓やヘキサデシル基固定化セルロースビーズにより、血中ベータ2ミクログロブリンを除去しなければならなかった重篤な透析アミロイドーシス患者であっても、効果的に血中ベータ2ミクログロブリンレベルを低下させることができる。

[0020] さらに、LDLとデキストラン硫酸-プロテインAを同時に投与することによって生成するLDL-デキストラン硫酸-プロテインAの複合体は、過剰に体内に存在し、病因になっている抗体に対する優れた低下作用を示し、新しい治療薬、例えば特発性拡張型心筋症治療薬として利用できる。特に、これまで心臓移植などの外科的治療以外に有効な内科的療法がなかった患者の血中の抗体レベルを低下させることができる。

図面の簡単な説明

[0021] [図1]は、高脂血症モデルマウスに対するデキストラン硫酸-ガラクトース注射後のコレステロール量変化を示す図である。

[図2]は、合成したデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体をSDS-PAGEにより泳動した結果を示す図である。

[図3]は、LDLおよびデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体に

よりH e p G 2細胞へベータ2ミクログロブリンが取り込まれた結果を示す図である。

[図4]は、合成したデキストラン硫酸ープロテインAをS D S - P A G Eにより泳動した結果を示す図である。

[図5]は、L D Lおよびデキストラン硫酸ープロテインAにより抗体が取り込まれた結果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

[0022] 血中又はリンパ液中に存在する病因物質とは、代謝異常、排泄機能不全、除去困難、又は異常増殖等の理由により、血中又はリンパ液中に過剰に存在することで生体機能に悪影響を及ぼす物質のことである。具体的には、高脂血症患者におけるL D Lや酸化L D L、アミロイドーシス患者におけるベータ2ミクログロブリン、拡張型心筋症における抗心筋自己抗体、ガラクトース血症患者におけるガラクトース、糖原病患者におけるグリコーゲンと乳酸、乳糖不耐症患者における乳糖、果糖不耐症患者におけるショ糖や果糖、フェニルケトン尿症患者におけるフェニルアラニン、メープルシロップ尿症患者における α -ケト酸、ヒスチジン血症患者におけるヒスチジン、プロピオン酸血症患者におけるプロピオン酸、メチルマロン酸血症患者におけるメチルマロン酸、ポルフィリン症におけるポルフィリン、全身性エリテマトーデス、強皮症、多発性筋炎や慢性関節リウマチなどの自己免疫疾患における自己抗体、ヘモシデローシス患者におけるヘモシデリン、W i l s o n病における銅、高カリウム血症におけるカリウム、高カルシウム血症におけるカルシウム、高マグネシウム血症におけるマグネシウム、脂溶性ビタミン過剰症における脂溶性ビタミン等が挙げられる。

[0023] 当該病因物質の吸着剤とは、血中やリンパ液中で上記病因物質を吸着する能力を有する物質であり、例えばL D L吸着剤としては、アスパラギン酸、グルタミン酸等を含むアニオン性ポリペプチド、デキストラン硫酸等のポリサッカライド等アニオン性基を有する高分子あるいは低分子化合物、カルボキシル基などのアニオン性基を含むポリマーなどが挙げられ、これらのうち

デキストラン硫酸又はその塩が特に好ましい。デキストラン硫酸としては分子量 3,000~200,000 のものが挙げられるが、このうち分子量 3,000~50,000 のものが好ましく、分子量 36,000~50,000 のものがさらに好ましい。また、デキストラン硫酸 1 分子あたりの硫黄原子の含有量が、3~10 重量%のものが好ましい。さらにデキストラン硫酸の塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩が挙げられ、このうちナトリウム塩が好ましい。また、ベータ 2 ミクログロブリン吸着剤としては、特異的に認識するペプチドや抗体、さらには、特異的な吸着作用のある水酸化リン酸カルシウム等が挙げられ、抗体の吸着剤としては、抗体と特異的結合するプロテイン A を挙げることができる。

[0024] 前記病因物質を代謝又は排泄する能力を有する臓器又は細胞としては、肝臓、肝細胞、腎臓、腎細胞、脾臓、肺、尿細管が挙げられる。このうち、肝臓、肝細胞、腎臓、腎細胞等がより好ましく、特に肝臓、肝細胞が特に好ましい。

[0025] 当該臓器又は細胞に特異的なリガンドとしては、前記臓器又は細胞に存在するレセプターに結合するリガンドが挙げられ、このうち、前記臓器又は細胞に存在するレセプターに結合し、取り込まれる能力を有するリガンドが好ましい。このように、リガンド自体が、前記臓器又は細胞に結合した後、取り込まれる能力があれば、そのリガンドに結合している病因物質も一緒に取り込まれるからである。

[0026] そのようなリガンドのうち、例えば肝臓又は肝細胞に特異的なリガンドとしては、アシアロオロソムコイドレセプターリガンド（ガラクトース、ラクトース、モノガラクトシルジアシルグリセロール、アガロース、カラギーナン等）、LDL、Fas、アルブミン、ApoE、ApoB等が挙げられる。これらのうち、アシアロオロソムコイドレセプターリガンドであるガラクトース、あるいはLDLが好ましい。

[0027] 前記吸着剤とリガンドとは、リンカーを介して結合させてもよいし、直接結合させてもよい。リンカーとしては、例えば、プロピレンジアミン、トリ

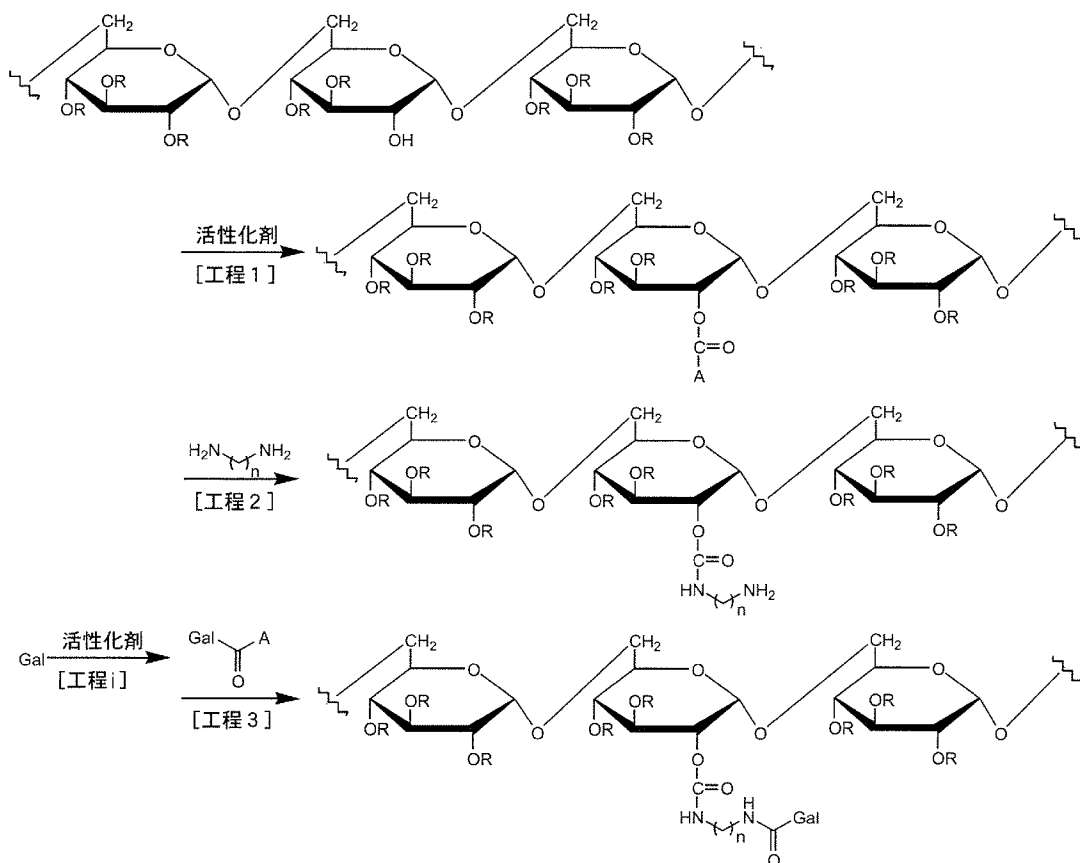
メチレンジアミン、ヘキサメチレンジアミン、ポリエチレングリコール等のジアミン又はグリコールの両端にカルボニル基を介したものが挙げられる。具体的には、 $-\text{CONH}-(\text{CH}_2)_l-\text{NHCO}-$ 、 $-\text{CO}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m-\text{OCO}-$ （ここで l 、 m は $1 \sim 100$ の数を示す）が挙げられる。

[0028] 前記吸着剤とリガンドとの結合（リンカーを介する場合も含む）は、例えばアミド結合の形成反応、ウレタン結合の形成反応、尿素結合の形成反応、エステル結合の形成反応、ジスルフィド結合の形成反応、エーテル結合の形成反応等の共有結合を形成する形成反応、抗体抗原反応による吸着、イオン性結合、疎水性相互作用などの非共有結合を形成する形成反応等、特にその構造を限定することなく行われる。例えばデキストラン硫酸とガラクトースの結合の場合には、リンカーを介し、ウレタン結合の形成反応によりリガンドと吸着剤を結合させることがより好ましい。

以下に、デキストラン硫酸にガラクトースを導入する場合の反応例を示す。

[0029]

[化1]



[0030] (式中、Rはスルホン酸残基又は水素原子を示し、Aは脱離基を示し、nは1～100の整数を示す。)

[0031] 工程1はデキストラン硫酸に活性化剤を作用させ、デキストラン硫酸の一部にアミノ基と反応する中間体を導入する反応である。

ここで、活性化剤とは水酸基を活性化させるために使用される試薬であれば制限はなく、例えばカルボニルジイミダゾール(CDI)、N,N'-ジサクシイミジルカルボネート(DSC)等が挙げられ、イミダゾールカルバメート基、およびサクシイミジルカルバメート基が導入される。反応溶媒は、ホルムアミド、DMSO等を使用することができる。反応温度は0～40℃で行うことができ、25～37℃で行うことが好ましい。反応時間は0.5～12時間、特に1～3時間が好ましい。

[0032] 工程2は、工程1で得たカルボニル基を有するデキストラン硫酸にアルキレンジアミンを作用させ、アミド基を形成させる反応である。

ここで、アルキレンジアミンとしては、直鎖で炭素数1～100のものを使用することができ、好ましくは炭素数3～50のアルキレンジアミンを使用することが好ましい。反応溶媒は、ホルムアミド、DMSO等を使用することができる。反応温度は0～40℃で行うことができ、25～37℃で行うことが好ましい。反応時間は0.5～24時間、特に5～16時間が好ましい。

また、工程1と工程2はワンポットで同時に行ってもよい。

[0033] 工程iは、ガラクトースに活性化剤を作用させ、ガラクトースにアミノ基と反応する中間体を導入する反応である。

ここで、活性化剤は前記と同様である。反応溶媒は、ホルムアミド、DMSO等を使用することができる。反応温度は0～40℃で行うことができ、25～37℃で行うことが好ましい。反応時間は0.5～12時間、特に1～3時間が好ましい。

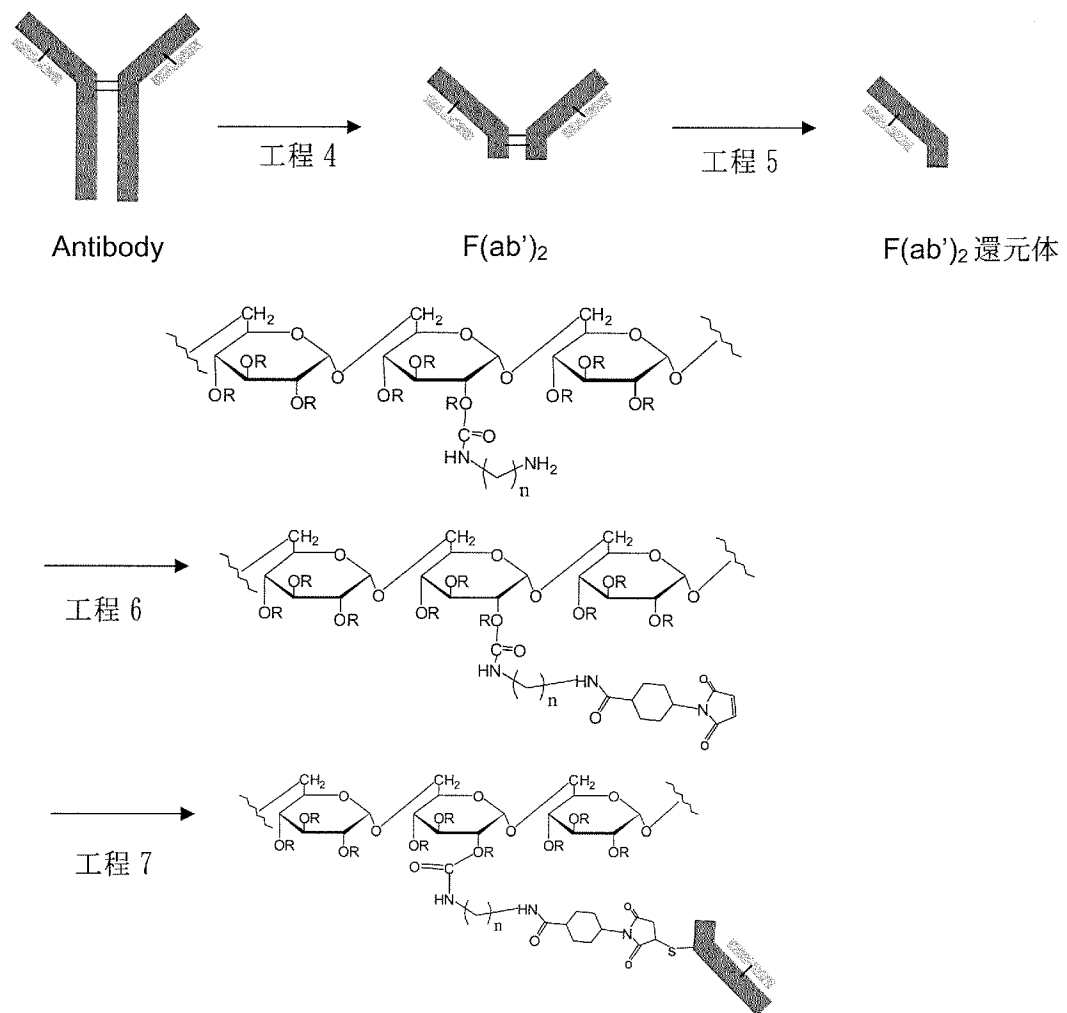
[0034] 工程3は、工程2で得られた化合物のアミノ基と工程iで得られた化合物でウレタン結合を形成させ、目的のデキストラン硫酸にガラクトースを導入した化合物を得る反応である。

ここで、反応溶媒は、ホルムアミド、DMSO等を使用することができる。反応温度は0～40℃で行うことができ、25～37℃で行うことが好ましい。反応時間は0.5～24時間、特に15～21時間が好ましい。

[0035] デキストラン硫酸1モルに対して、ガラクトースを150～200モル反応させることが好ましい。デキストラン硫酸1モルに対して、ガラクトース1～20モルを修飾したものが好ましい。

[0036]

[化2]



[0037] 工程 4 は、抗体に切断試薬を作用させ抗体の F_c 領域を切断する反応である。ここで、切断試薬としては F_c 領域の一部もしくはすべてを切断できる化学薬品ならびに酵素等であれば制限はなく、特にペプシンが好ましい。反応溶媒はリン酸緩衝液やトリス緩衝液など反応を阻害することなく、抗体の活性を保持できる溶媒を使用することができる。反応温度は、 $0 \sim 100^\circ\text{C}$ で行うことができ、 $25 \sim 40^\circ\text{C}$ で行うことが好ましい。反応時間は、 $0.5 \sim 48$ 時間、特に $24 \sim 48$ 時間が好ましい。

[0038] 工程 5 は、工程 4 で得られた $F(ab')_2$ 抗体に対して、還元剤を作用させジスルフィド結合を切断する反応である。

ここで、還元剤は、抗体のジスルフィド結合を切断できる試薬を指し、特

に２－メルカプトエチルアミンやジチオスレイトール等を使用することが好ましい。反応時間は、３０分から１２時間で行うことができ、６０分～９０分で行うことが好ましい。また、反応温度は４～４０℃、特に３０～４０℃が好ましい。

[0039] 工程６は、工程２で得られたアミノ基導入デキストラン硫酸に対して活性化剤を作用させ、工程５で得られた抗体と反応できる中間体を作製する反応である。

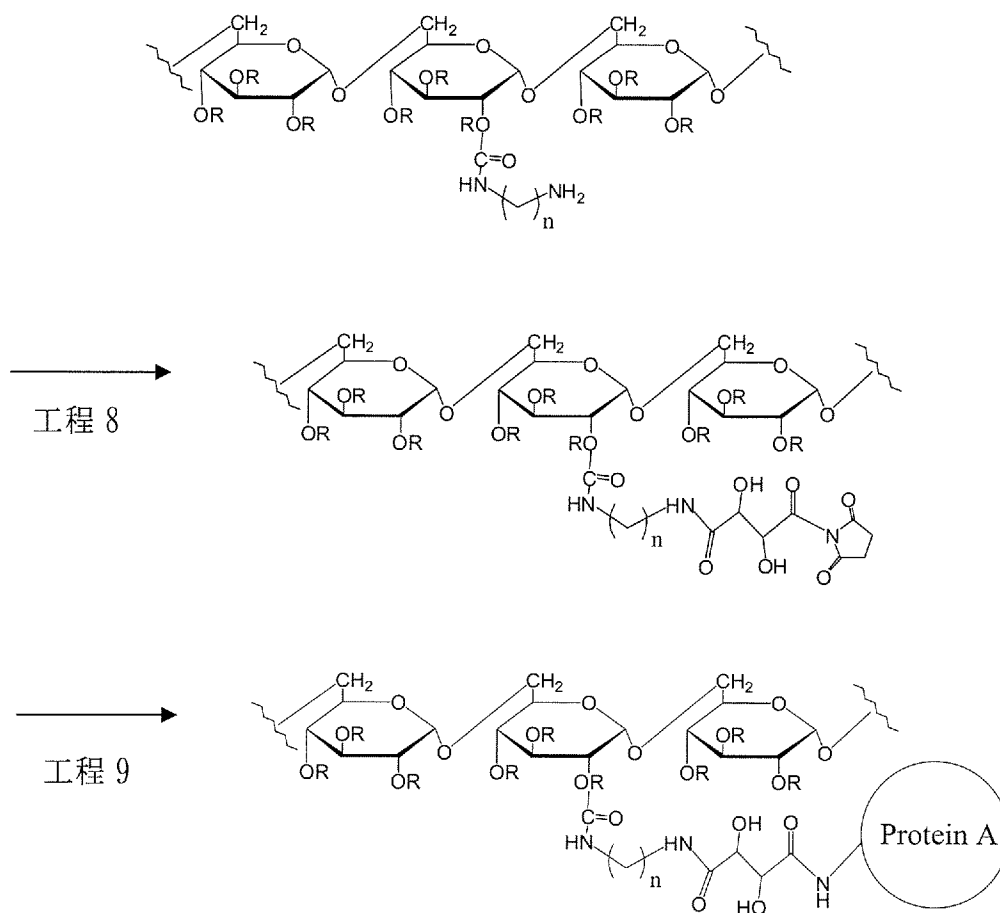
ここで、活性化剤としてはアミノ基を活性化させるために使用される試薬であれば制限はなく、例えばスルホサクシイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサノール１－カルボキシレート（s u l f o－SMCC）、Ｎ－サクシイミジル（４－ヨードアセチル）アミノベンゾエート等が挙げられる。反応溶媒は、水、DMSO等を使用することができる。反応温度は０～５０℃で行うことができ、２５～３７℃で行うことが好ましい。反応時間は０．５～１２時間、特に１～５時間が好ましい。

[0040] 工程７は、工程６で得られた化合物と工程５で得られたチオール基でチオエーテル結合を形成させ、目的のデキストラン硫酸にF（a b'）₂抗体を導入した化合物を得る反応である。

ここで、反応溶媒はDMSO、緩衝液を使用することができる。反応温度は０～５０℃で行うことができ、２５～３７℃で行うことが好ましい。反応時間は０．５～７２時間、特に１２～４０時間が好ましい。F（a b'）₂抗体１モルに対してデキストラン硫酸を１０００～２０００モル反応させることが好ましい。

[0041]

[173]



[0042] 工程 8 は、工程 2 で得られたアミノ基導入デキストラン硫酸に対して活性化剤を作用させ、プロテイン A と反応できる中間体を作製する反応である。

ここで、活性化剤としてはアミノ基を活性化させるために使用される試薬であれば制限はなく、例えばジサクシイミジル タータレート（DST）、グリコビス（サクシイミジルサクシネート）（EGS）等が挙げられる。反応溶媒は、水、DMSO等を使用することができる。反応温度は0～50℃で行うことができ、25～37℃で行うことが好ましい。反応時間は0.5～12時間、特に1～3時間が好ましい。

[0043] 工程 9 は、工程 8 で得られた化合物とプロテイン A のアミノ基でアミド結合を形成させ、目的のデキストラン硫酸にプロテイン A を導入した化合物を得る反応である。

ここで、反応溶媒としてはDMSO、緩衝液を使用することができる。反

応温度は0～50℃で行うことができ、4～37℃で行うことが好ましい。
反応時間は、0.5～72時間、特に12～40時間が好ましい。プロテインAに対して、デキストラン硫酸を0.5～100モル反応させることが好ましい。

[0044] 本発明化合物を投与すると、血中又はリンパ液中において、前記吸着剤の作用により病因物質を吸着し、かつ前記リガンドの作用により前記臓器又は細胞に結合し、取り込まれる。その後、病因物質がその臓器又は細胞において代謝又は排泄される結果、血中又はリンパ液中から病因物質の体内レベルが低下する。従って、本発明化合物は、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療剤として有用である。

[0045] 本発明における好ましい実施形態としては、LDL吸着剤とアシアロオロソムコイドレセプターリガンドとをリンカーを介して又は介さずに結合した化合物が挙げられる。特に、デキストラン硫酸とガラクトースとをリンカーを介して又は介さずに結合した化合物（以下、デキストラン硫酸ーガラクトース修飾体ともいう。）が好ましい。これによると、優れたLDL低下作用を示し、高脂血症の予防及び／又は治療剤とすることができる。すなわち、デキストラン硫酸ーガラクトース修飾体のデキストラン硫酸部に血中LDLが吸着し、これが肝臓に到達すると、今度はデキストラン硫酸ーガラクトース修飾体のガラクトース部が、肝細胞表面に広く存在するアシアロオロソムコイドレセプターに作用し、従来LDLが作用する部位ではない経路から薬剤が代謝経路をスイッチングするメカニズム（メタボリックスイッチング機構）に基づいて血中LDLが肝細胞内に取り込まれ、肝臓で分解される。この機構において高分子量体であるデキストラン硫酸ーガラクトース修飾体の側鎖には複数のガラクトース部が導入されているため、アシアロオロソムコイドレセプターに対する修飾体側鎖のガラクトースの結合は、ガラクトース単体での結合よりも促進される。このため、高分子化合物であるデキストラン硫酸ーガラクトース修飾体は肝臓を介してより効率的に血中LDLを低減することが可能になる。

[0046] また、別の好ましい実施形態としては、ベータ2ミクログロブリン吸着剤と肝細胞特異的なリガンドもしくはリガンドに吸着できる分子を併せ持つ化合物が挙げられる。特に、ベータ2ミクログロブリン抗体で修飾したデキストラン硫酸と肝細胞特異的なリガンドであるLDLから構成される複合体が好ましい。これによると、優れたベータ2ミクログロブリン取り込み作用を示し、透析アミロイドーシスの予防及び／又は治療剤とすることができる。すなわち、ベータ2ミクログロブリン抗体で修飾したデキストラン硫酸のデキストラン硫酸部に別途投与された、あるいは体内に存在しているLDLが吸着して上記複合体が生成し、このベータ2ミクログロブリン抗体部分がベータ2ミクログロブリンを吸着する。そして、これが肝細胞に到達すると、今度はこの複合体のLDL部が、肝細胞表面に広く存在するLDLレセプターに作用し、ベータ2ミクログロブリンがメタボリックスイッチング機構に基づいて肝細胞内に取り込まれ、肝臓で分解される。また、予め、ベータ2ミクログロブリン抗体ーデキストラン硫酸ーLDL複合体を作製しておき、これを投与してもよい。

[0047] さらにまた、別の好ましい実施形態としては、抗体吸着剤と肝細胞特異的なリガンドもしくはリガンドに吸着できる分子を併せ持つ化合物が挙げられる。特に、プロテインAで修飾したデキストラン硫酸と肝細胞特異的なリガンドであるLDLから構成される複合体が好ましい。これによると、優れた抗体取り込み作用を示し、例えば特発性拡張型心筋症の予防及び／又は治療剤とすることができる。すなわち、プロテインAで修飾したデキストラン硫酸のデキストラン硫酸部に別途投与された、あるいは体内に存在しているLDLが吸着して上記複合体が生成し、このプロテインA部分が抗体を吸着する。そして、これが肝細胞に到達すると、今度はこの複合体のLDL部が、肝細胞表面に広く存在するLDLレセプターに作用し、抗体がメタボリックスイッチング機構に基づいて肝細胞内に取り込まれ、肝臓で分解される。また、予め、プロテインAーデキストラン硫酸ーLDL複合体を作製しておき、これを投与してもよい。

- [0048] このようにメタボリックスイッチング機構では血中に蓄積した病因物質にとって直接関与する経路ではない代謝経路へと化合物が代謝誘導することによってその物質の代謝・排出を促進させることができる。
- [0049] 本発明の医薬は、本発明化合物を有効成分とするものであり、この投与形態は、特に限定されず治療目的に応じて適宜選択でき、例えば、経口用固形製剤、経口用液体製剤、注射剤、坐剤、外用剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、貼付剤とのいずれでもよく、これらの投与形態は、薬学的に許容される担体を配合し、当業者に公知慣用の製剤方法により製造できる。
- [0050] 経口用固形製剤を調製する場合は、本発明化合物に賦形剤、必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を加えた後、常法により錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等を製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、賦形剤としては、乳糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、デンプン、微結晶セルロース、珪酸等を、結合剤としては、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ゼラチン液、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、シェラック、リン酸カルシウム、ポリビニルピロリドン等を、崩壊剤としてはカンテン末、炭酸水素ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド等を、滑沢剤としては精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ砂、ポリエチレングリコール等を、着色剤としては、 β -カロチン、黄色三二酸化鉄、カルメラ等を、矯味剤としては白糖、橙皮等を例示できる。
- [0051] 経口用液体製剤を調製する場合は、本発明化合物に矯味剤、緩衝剤、安定化剤、保存剤等を加えて常法により内服液剤、シロップ剤、エリキシル剤等を製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば矯味剤としては白糖等が、緩衝剤としてはクエン酸ナトリウム等が、安定化剤としてはトラガント等が、保存剤としてはパラオキシ安息香酸エステル等が挙げられる。
- [0052] 注射剤を調製する場合は、本発明化合物にpH調節剤、安定化剤、等張化

剤等を添加し、常法により皮下、筋肉及び静脈内注射剤を製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えばpH調節剤としては、リン酸ナトリウム等が、安定化剤としてはピロ亜硫酸ナトリウム等が、等張化剤としては、塩化ナトリウム、等が例示できる。

[0053] 坐薬を調製する場合は、本発明化合物に担体、界面活性剤を加えて常法により製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、担体としてはポリエチレングリコール、ハードファット等を、界面活性剤としてはポリソルベート80等を例示できる。

[0054] 外用剤を調製する場合は、本発明化合物に基剤、水溶性高分子、溶媒、界面活性剤、保存剤等を加えて、常法により液剤、クリーム剤、ゲル剤、軟膏剤等を製造することができる。基剤としては、流動パラフィン、白色ワセリン、精製ラノリン等が、水溶性高分子としてはカルボキシビニルポリマー等が、溶媒としてはグリセリン、水等が、界面活性剤としてはポリオキシエチレン脂肪酸エステル等が、保存剤としては、パラオキシ安息香酸エステル等が挙げられる。

[0055] 点眼剤を調製する場合は、本発明化合物にpH調節剤、安定化剤、等張化剤、保存剤等を加えて常法により製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、pH調節剤としては、リン酸ナトリウム等を、安定化剤としては、ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA等を、等張化剤としては、塩化ナトリウム等を、保存剤としては、クロロブタノール等を例示できる。

[0056] 点鼻剤を調製する場合は、本発明化合物にpH調節剤、安定化剤、等張化剤、保存剤等を加えて常法により製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、pH調節剤としてはリン酸ナトリウム等を、安定化剤としては、ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA等を、等張化剤としては、塩化ナトリウム等を、保存剤とし

ては、塩化ベンザルコニウム等を例示できる。

[0057] 点耳剤を調製する場合は、本発明化合物にpH調節剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤、保存剤等を加えて常法により製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、pH調節剤及び緩衝剤としてはリン酸ナトリウム等を、安定化剤としてはピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA等を、等張化剤としては、塩化ナトリウム等を、保存剤としては、塩化ベンザルコニウム等を例示できる。

[0058] 貼付剤を調製する場合は、本発明化合物に粘着剤、溶媒、架橋剤、界面活性剤等を加えて常法により含水型貼付剤、プラスター貼付剤等を製造することができる。そのような添加剤としては、当該分野で一般的に使用されているものでよく、例えば、粘着剤としてはポリアクリル酸部分中和物、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸2-エチルヘキシル、スチレン-イソプレンスチレンブロック共重合体等を、溶媒としてはグリセリン、水等を、架橋剤としては、ジヒドロキシアルミニウムアミノアセテート、乾燥水酸化アルミニウムゲル等を、界面活性剤としては、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等を例示できる。

[0059] 本発明の医薬の投与量は年齢、体重、症状、投与形態及び投与回数などによって異なるが、通常は成人に対して本発明化合物として1日1～1000mgを1回又は数回に分けて経口投与又は非経口投与するのが好ましい。

実施例

[0060] 以下、実施例により本発明を詳細に説明する。本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

[0061] 実施例1 デキストラン硫酸-ガラクトース結合体の合成

25mLの溶媒ホルムアミド中に、分子量3万6千～5万の可溶性デキストラン硫酸（125mg、2.5～3.4 μ mol）、リンカー分子として1,6-ヘキサメチレンジアミンを67.4（mg）（581 μ mol）、及び活性化剤として、1,1'-カルボニルジイミダゾール（78mg、484 μ mol）を添加し、37℃、19時間反応し、デキストラン硫酸の側

鎖の水酸基に対してリンカー 1, 6-ヘキサメチレンジアミンを導入した。

次いで、10 mL のホルムアミド中に D- (+) -ガラクトース (34.7 mg、193 μmol) を添加し、活性化剤として 1, 1'-カルボニルジイミダゾール (37.5 mg、232 μmol) を添加し、37°C、2 時間反応させた。その後、ヘキサメチレンジアミンを導入したデキストラン硫酸 (56 mg、1.1~1.5 μmol) を添加して、37°C、21 時間反応させ、定法により精製・単離し、標題の化合物 (33 mg、0.6~0.9 μmol 、収率 55%) を得た。

[0062] $^1\text{H-NMR}$: デキストラン硫酸、ガラクトースのプロトン (δ 3.2~5.2 ppm)、リンカーのメチレンのプロトン (δ 1.2~1.6 ppm)

[0063] 実施例 2 血中 LDL 低下作用

実施例 1 で合成した薬剤の毒性や有効性を調べるため、LDL 受容体・アポ E ダブルノックアウトマウス ($n=2$) に対して 2 g/L のデキストラン硫酸-ガラクトース溶液 (0.1 mL) および、コントロールとして 2 g/L のデキストラン硫酸溶液 (0.1 mL) を 1 回頸動脈より注射し、血中コレステロール値をコレステロールオキシダーゼ・DAOS 法によりモニターした。その結果を、図 1 に示す。

図 1 から、デキストラン硫酸-ガラクトース修飾体を投与した群においてのみ、2 日にわたって、コントロール (非修飾デキストラン硫酸の投与群) に比較して、優位な血中コレステロール値の低下が認められた。

[0064] 実施例 3 デキストラン硫酸-ベータ 2 ミクログロブリン抗体の合成

ペプシン酵素固定化樹脂を 20 mM の酢酸緩衝液 (pH 4.5) により洗浄し、1 mL の酢酸緩衝液 (pH 4.5) に懸濁させ、ベータ 2 ミクログロブリン抗体 50 μg を添加し、37°C で 24 時間インキュベートした。その後、15000 rpm で 3 分間遠心し、上澄み 1 mL を回収し、100 mM のトリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) を 30 μL 加えて中和させた。その後、プロテイン A 固定化カラムに未反応物を精製し、F(ab')₂ 抗体を得た。次いで、得られた F(ab')₂ 抗体 190 μg に対して、2-メルカプト

エチルアミンを12mg加え、PBSで1mLとした。37℃で2時間インキュベートした後に、セファデックスG-25カラムで精製し、限外濾過膜（3kDaカット）を用いて濃縮してF（ab'）₂還元型抗体溶液を500μL得た。

次いで、実施例1で示した条件と同様の手順により作製したヘキサメチレンジアミンを導入したデキストラン硫酸（72mg、1.0~1.3μmol）に対して、sulfoSMCC（100mg、229μmol）を添加し、15mLのリン酸緩衝液中で37℃、5時間反応させ、限外濾過膜（3kDaカット）により濃縮後、アミノ基を活性化したデキストラン硫酸500μLを得た。その後、F（ab'）₂還元型抗体溶液を500μLと混合し、37℃で40時間反応させた。その後5mMのシステイン溶液を当量加えて、37℃で5時間反応させた後に、限外濾過膜により反応物を濃縮し標題の化合物（79μg（BCA法によるタンパク定量より算出））を得た。図2に、合成したデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体をSDS-PAGEにより泳動した結果を示す。

[0065] 実施例4 血中ベータ2ミクログロブリン低下作用

ヒト肝細胞であるHepG2細胞を96穴プレートに4.5×10³個/穴の密度で播種し、24時間インキュベートした。その後、培地1mLに低密度リポ蛋白質（LDL）（0.1μg、1.8pmol）とフルオレセイン修飾ベータ2ミクログロブリン（F-βIIMG）（31μg、2.6nmol）、合成したデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体（DexS-βIIMG）（2.3μg、26nmol）を加えて、96穴プレートに添加し、37℃で3時間インキュベートした。その後、細胞を100μLのリン酸緩衝液で洗浄した後、細胞を溶解させてその溶液の蛍光強度を測定した。その結果を図3に示す。

図3より、コントロールとなるLDLが添加されていない培地およびデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体が添加されていない培地に比べて、LDLおよびデキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体が添加さ

れた培地の場合では、細胞内へベータ2ミクログロブリンが多く取り込まれることが認められた。つまり、ベータ2ミクログロブリンは、LDL-デキストラン硫酸-ベータ2ミクログロブリン抗体複合体によりHepG2細胞へ特異的に取り込まれたことがわかる。

[0066] 実施例5 デキストラン硫酸-プロテインAの合成

実施例1で示した条件と同様の手順により作製したヘキサメチレンジアミンを導入したデキストラン硫酸（1.4mg、23nmol、アミノ化率61.3%/ユニット）に対して、DST（4.4mg、12.88μmol）を添加し、200μLの0.2M炭酸ナトリウム酸緩衝（pH9.4）中で室温、1時間反応させ、限外濾過膜（30kDa）により精製・濃縮後、アミノ基を活性化したデキストラン硫酸250μLを得た。その後、プロテインA溶液を100μL（1mg、23nmol）と混合し、37℃で40時間反応させた。その後、限外濾過膜（50kDa）により精製し反応物を濃縮し標題の化合物（169μg（BCA法によるタンパク定量より算出））を得た。図4に、合成したデキストラン硫酸-プロテインAをSDS-PAGEにより泳動した結果を示す。

[0067] 実施例6 血中抗体低下作用

ヒト肝細胞であるHepG2細胞を96穴プレートに 4.5×10^3 個/穴の密度で播種し、24時間インキュベートした。その後、低密度リポプロテイン不含血清10%を含む培地（LDL不含培地）を100μL加えて、3時間あるいは24時間インキュベートした。その後、LDL不含培地1mLに低密度リポプロテイン（LDL）（0.1μg、1.8pmol）とフルオレセイン修飾ウサギ抗マウスIgG抗体（27.3μg、182pmol）、合成したデキストラン硫酸-プロテインA（2.04μg、18.2pmol）を加えて、96穴プレートに100μL加えて37℃で3時間インキュベートした。その後、細胞を100μLのリン酸緩衝液で洗浄し、細胞を溶解させてその溶液の蛍光強度を測定した。その結果を図5に示す。

図5より、デキストラン硫酸-プロテインAが添加されていない培地、お

よびLDLが添加されていない培地に比べて、LDLおよび合成したデキストラン硫酸ープロテインAが添加された培地では、有意に蛍光修飾抗体の取り込みが増加していることがわかる。つまり、合成したデキストラン硫酸ープロテインAは、LDLーデキストラン硫酸ープロテインA複合体形成により、抗体をHepG2細胞へ特異的に取り込ませる能力があることがわかる。

請求の範囲

- [1] (A) 血中又はリンパ液中に存在する病因物質の吸着剤と、(B) 当該病因物質を代謝又は排泄する能力を有する臓器又は細胞に特異的なリガンドとを、リンカーを介して又は介さずに結合させてなる化合物。
- [2] 前記血中又はリンパ液中に存在する病因物質がLDLであり、前記リガンドがアシアロオロソムコイドレセプターリガンドである請求項1記載の化合物。
- [3] 前記リガンドがガラクトースである請求項2記載の化合物。
- [4] LDLの吸着剤がデキストラン硫酸又はその塩である請求項2又は3記載の化合物。
- [5] 前記血中又はリンパ液中に存在する病因物質がベータ2ミクログロブリンであり、前記リガンドがLDLである請求項1記載の化合物。
- [6] ベータ2ミクログロブリンの吸着剤がベータ2ミクログロブリン抗体で修飾されたデキストラン硫酸又はその塩である請求項5記載の化合物。
- [7] 前記血中又はリンパ液中に存在する病因物質が抗体であり、前記リガンドがLDLである請求項1記載の化合物。
- [8] 抗体の吸着剤がプロテインAで修飾されたデキストラン硫酸又はその塩である請求項7記載の化合物。
- [9] 請求項1記載の化合物を有効成分とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質の体内レベル低下剤。
- [10] 請求項2～4のいずれか1項記載の化合物を有効成分とする血中LDL低下剤。
- [11] 請求項5又は6に記載の化合物を有効成分とする血中ベータ2ミクログロブリン低下剤。
- [12] 請求項7又は8に記載の化合物を有効成分とする血中抗体低下剤。
- [13] 請求項1記載の化合物を有効成分とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療剤。
- [14] 請求項2～4のいずれか1項記載の化合物を有効成分とする高脂血症の予

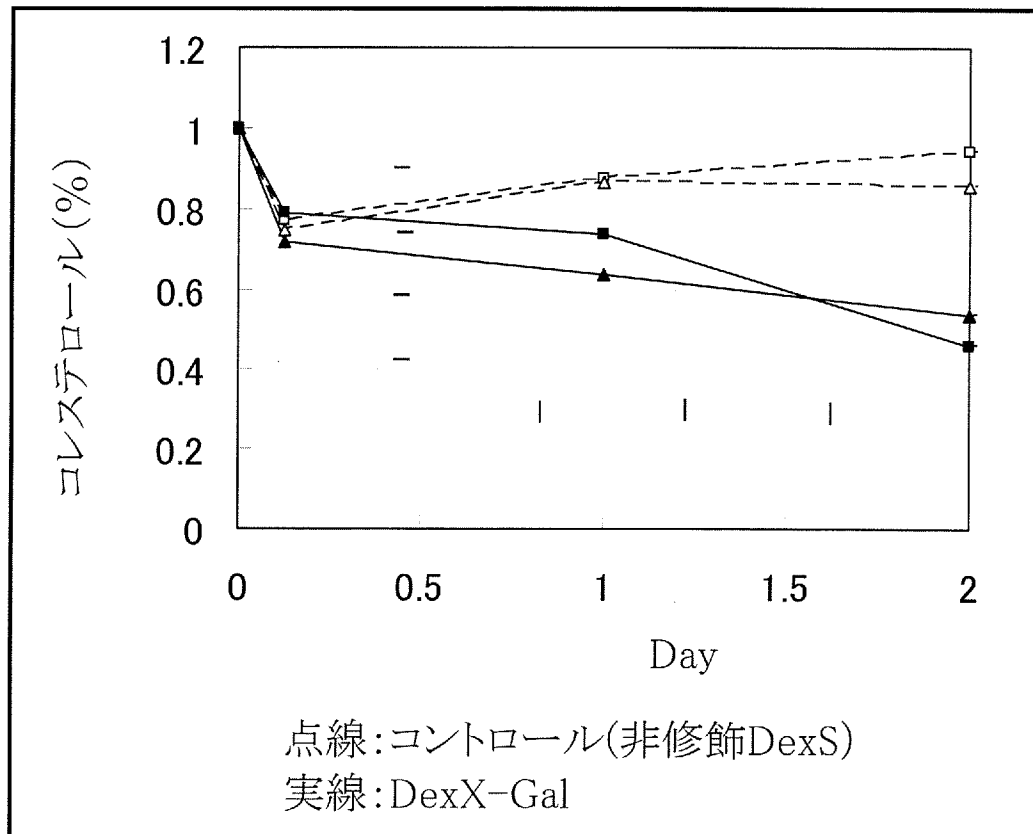
防及び／又は治療剤。

- [15] 請求項 5 又は 6 に記載の化合物を有効成分とする透析アミロイドーシスの予防及び／又は治療剤。
- [16] 請求項 7 又は 8 に記載の化合物を有効成分とする特発性拡張型心筋症の予防及び／又は治療剤。
- [17] 請求項 1 ～ 8 に記載の化合物及び薬学的に許容される担体を含有する、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療用医薬組成物。
- [18] 血中又はリンパ液中に存在する病因物質の体内レベル低下剤製造のための、請求項 1 記載の化合物の使用。
- [19] 血中 LDL 低下剤製造のための、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項記載の化合物の使用。
- [20] 血中ベータ 2 ミクログロブリン低下剤製造のための、請求項 5 又は 6 に記載の化合物の使用。
- [21] 血中抗体低下剤製造のための、請求項 7 又は 8 に記載の化合物の使用。
- [22] 血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療薬製造のための、請求項 1 記載の化合物の使用。
- [23] 高脂血症の予防及び／又は治療薬製造のための、請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項記載の化合物の使用。
- [24] 透析アミロイドーシスの予防及び／又は治療薬製造のための、請求項 5 又は 6 に記載の化合物の使用。
- [25] 特発性拡張型心筋症の予防及び／又は治療薬製造のための、請求項 7 又は 8 に記載の化合物の使用。
- [26] 請求項 1 記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質の体内レベル低下方法。
- [27] 請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中 LDL 低下方法。
- [28] 請求項 5 又は 6 に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、血

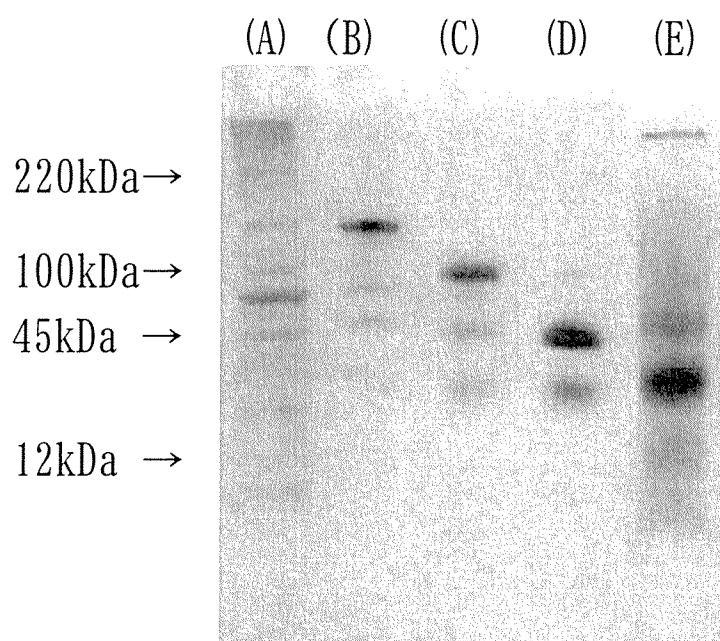
中ベータ 2 ミクログロブリン低下方法。

- [29] 請求項 7 又は 8 に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中抗体低下方法。
- [30] 請求項 1 に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、血中又はリンパ液中に存在する病因物質に起因する疾患の予防及び／又は治療方法。
- [31] 請求項 2 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、高脂血症の予防及び／又は治療方法。
- [32] 請求項 5 又は 6 に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、透析アミロイドーシスの予防及び／又は治療方法。
- [33] 請求項 7 又は 8 に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする、特発性拡張型心筋症の予防及び／又は治療方法。

[図1]



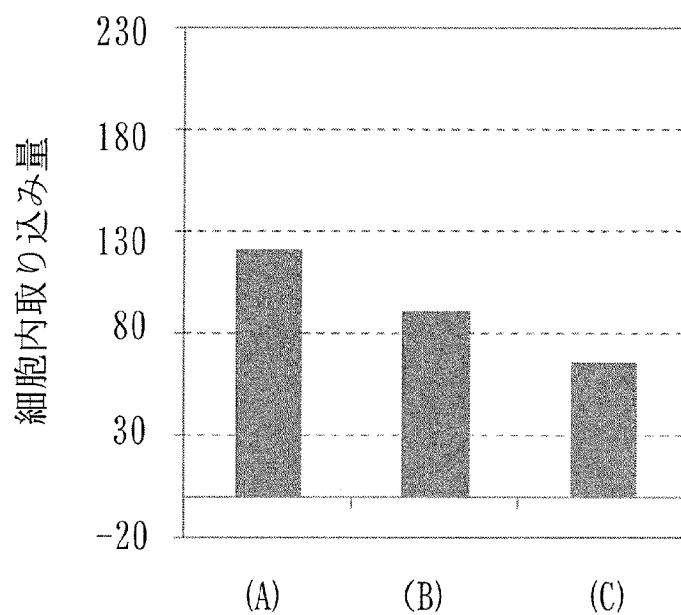
[図2]



SDS-PAGE の結果（銀染色）

- (A) : 標準物質（分子量マーカー）
- (B) : 抗 β 2ミクログロブリン抗体
- (C) : $F(ab')_2$ 抗体
- (D) : $F(ab')_2$ 還元体
- (E) : 合成物

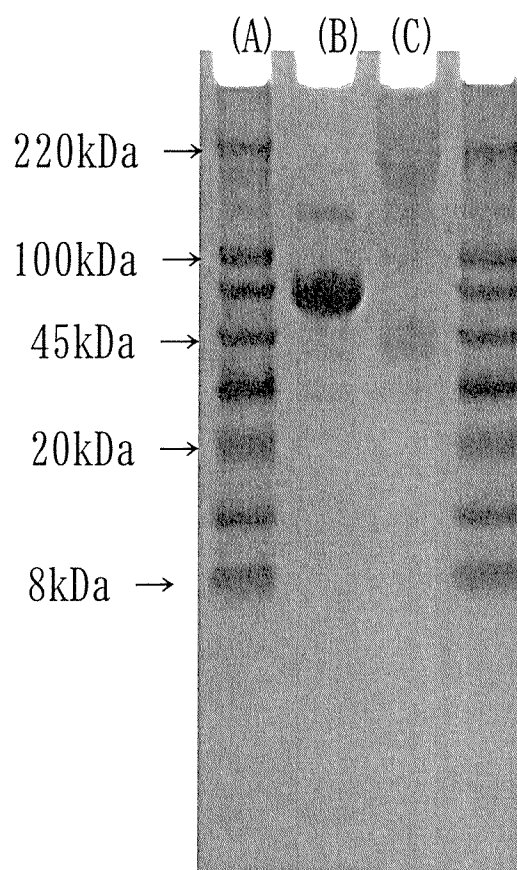
[図3]



HepG2細胞に対する β 2 ミクログロブリンタンパクの取り込み効果

- (A) 培地にLDL、F- β IIMGおよびDexS- β IIMGを加えた結果
- (B) 培地にLDLおよびF- β IIMGを加えた結果
- (C) 培地にF- β IIMGおよびDexS- β IIMGを加えた結果

[図4]



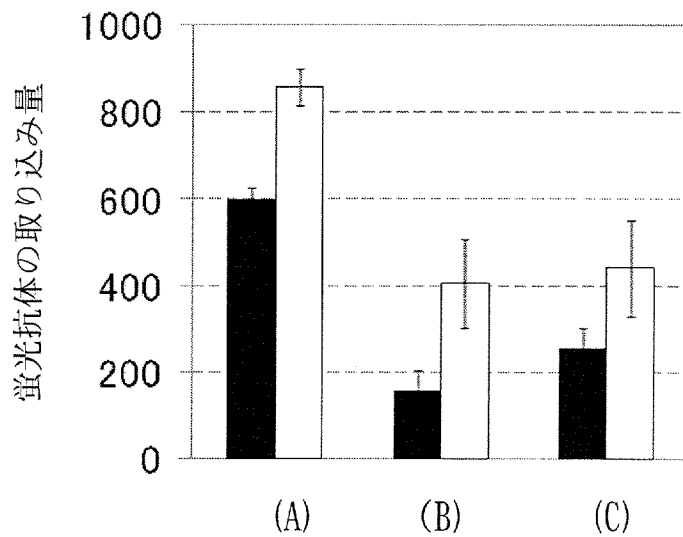
SDS-PAGEの結果（CBB染色）

(A) : 標準物質（分子量マーカー）

(B) : プロテインA

(C) : デキストラン硫酸-プロテインA

[図5]



HepG2細胞に対する蛍光標識抗体の取り込み量の定量結果
(HepG2細胞をLDL不含培地でプレインキュベート3時間
(黒棒)、24時間(白棒))

(A) 培地にLDL、F-ABおよびDexS-PAを加えた結果

(B) 培地にLDLおよびF-ABを加えた結果

(C) 培地にF-ABおよびDexS-PAを加えた結果

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002652

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/48(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K47/26(2006.01)i, A61K47/42(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/04(2006.01)i, A61P19/00(2006.01)i, A61P19/02(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)

A61K47/48, A61K31/737, A61K38/00, A61K39/395, A61K47/26, A61K47/42, A61P3/06, A61P9/04, A61P19/00, A61P19/02, A61P43/00

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	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-509084 A (TRANSKARYOTIC THERAPIES INC.), 17 August, 1999 (17.08.99),	1, 9, 13, 17, 18, 22
Y	Full text; particularly, Claims; pages 11 to 17; examples & WO 96/39510 A1 & EP 832225 A1 & US 5817789 A & US 6027921 A & US 6262026 B1 & US 2001/025026 A1 & US 6858578 B2 & EP 832225 B1	1-25
Y	JP 11-507046 A (IMMUNOMEDICS INC.), 22 June, 1999 (22.06.99), Full text; particularly, Claims; examples & WO 96/40245 A1 & EP 837696 A1	1-25

☒ 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
28 November, 2008 (28.11.08)

Date of mailing of the international search report
09 December, 2008 (09.12.08)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002652

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 06-269500 A (GRACE & CO. W R), 27 September, 1994 (27.09.94), Full text; particularly, Par. No. [0006] & EP 570232 A2 & EP 570232 A3 & US 5418061 A	1-25
Y	JP 01-221400 A (CENT FOR MOLECULAR), 04 September, 1989 (04.09.89), Full text; particularly, Claims; page 6, lower right column; examples & EP 308208 A & US 4859449 A & EP 308208 B1 & JP 2519305 B2	1-25
Y	JP 09-266948 A (KANEBUCHI KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA), 14 October, 1997 (14.10.97), Full text; particularly, Par. No. [0003] & WO 97/27889 A1 & EP 819439 A1 & JP 09-313604 A & US 2004/226874 A1 & US 6878269 B2 & US 2005/145573 A1 & EP 819439 B1 & EP 1611908 A2 & US 7279106 B2 & JP 4035191 B2	1-25
Y	JP 2002-504831 A (BAXTER INT INC.), 12 February, 2002 (12.02.02), Full text; particularly, Claims; examples & WO 97/17980 A1 & EP 862444 A1 & US 2003/125657 A1 & EP 862444 B1 & US 7022322 B2	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002652

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61P43/00(2006.01) i

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002652

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.: 26-33
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 26 to 33 are relevant to a method for treatment of a human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), 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 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

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, 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.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K47/48(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i,
A61K47/26(2006.01)i, A61K47/42(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/04(2006.01)i,
A61P19/00(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P43/00(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 (I P C))

Int.Cl. A61K47/48, A61K31/737, A61K38/00, A61K39/395, A61K47/26, A61K47/42, A61P3/06, A61P9/04, A61P19/00,
A61P19/02, A61P43/00

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 8 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 8 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 8 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)

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
X	JP 11-509084 A (TRANSKARYOTIC THERAPIES INC) 1999.08.17,	1, 9, 13, 17, 18, 22
Y	文献全体、特に、特許請求の範囲、第 1 1 頁～第 1 7 頁、実施例 & WO 96/39510 A1 & EP 832225 A1 & US 5817789 A & US 6027921 A & US 6262026 B1 & US 2001/025026 A1 & US 6858578 B2 & EP 832225 B1	1-25

☒ 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

2 8 . 1 1 . 2 0 0 8

国際調査報告の発送日

0 9 . 1 2 . 2 0 0 8

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
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)

北畑 勝彦

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 1

4 C

3 3 3 7

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
Y	JP 11-507046 A (IMMUNOMEDICS INC) 1999.06.22, 文献全体、特に、特許請求の範囲、実施例 & WO 96/40245 A1 & EP 837696 A1	1-25
Y	JP 06-269500 A (GRACE & CO W R) 1994.09.27, 文献全体、特に、[0006] & EP 570232 A2 & EP 570232 A3 & US 5418061 A	1-25
Y	JP 01-221400 A (CENT FOR MOLECULAR) 1989.09.04, 文献全体、特に、特許請求の範囲、第6頁右下欄、実施例 & EP 308208 A & US 4859449 A & EP 308208 B1 & JP 2519305 B2	1-25
Y	JP 09-266948 A (KANEBUCHI KAGAKU KOGYO KK) 1997.10.14, 文献全体、特に、[0003] & WO 97/27889 A1 & EP 819439 A1 & JP 09-313604 A & US 2004/226874 A1 & US 6878269 B2 & US 2005/145573 A1 & EP 819439 B1 & EP 1611908 A2 & US 7279106 B2 & JP 4035191 B2	1-25
Y	JP 2002-504831 A (BAXTER INT INC) 2002.02.12, 文献全体、特に、特許請求の範囲、実施例 & WO 97/17980 A1 & EP 862444 A1 & US 2003/125657 A1 & EP 862444 B1 & US 7022322 B2	1-25

法第8条第3項（P C T 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。

1. ☒ 請求の範囲 26-33 は、この国際調査機関が調査を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26～33は、治療による人体の処置方法に該当することから、PCT第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国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 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、
3. ☐ 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。

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そ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の範囲について作成した。
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。
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ので、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。
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ので、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。

☐ 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。