(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2004 年12 月16 日 (16.12.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/108129 A1

(51) 国際特許分類[7]: A61K 31/39, 45/00, 31/343, A61P 9/00, 9/10, 27/02, 37/06, 43/00, A61L 27/14, 27/28, 31/04, 31/08 // C07D 327/04

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/007264

(22) 国際出願日: 2003 年6 月9 日 (09.06.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 有限会社 循環器研究所 (CARDIOVASCULAR INSTITUTE, LTD.) [JP/JP]; 〒272-0022 千葉県 市川市鬼越 ２丁目２１番４ Chiba (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 内田 康美 (UCHIDA,Yasumi) [JP/JP]; 〒274-0063 千葉県 船橋市習志野台 ２−３０−１７ Chiba (JP). 内田 晴子 (UCHIDA,Haruko) [JP/JP]; 〒274-0063 千葉県 船橋市習志野台 ２−３０−１７ Chiba (JP).

(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); 〒103-0013 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 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, 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, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (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

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) **Title:** STEM CELL INVASION INHIBITOR

(54) **発明の名称:** 幹細胞侵入防止薬

(57) **Abstract:** It is intended to provide an inhibitor of the invasion of bone marrow-origin vascular stem cells or inflammatory cells into vessel wall, a blood vessel restenosis inhibitor and a preventive or a remedy for angitis or carditis, each containing a phthalein pigment compound as the active ingredient; an instrument for treating blood vessels which is coated with a resin containing a phthalein pigment compound or made of this resin, and so on. By using such a drug as described above, the restenosis of a blood vessel occurring after angiogenesis, etc. can be effective prevented. Moreover, it is possible thereby to prevent the progress and breakage of a lesion of angitis, carditis or arteriosclerosis, for which no efficacious preventive or therapeutic method has been established so far, microvascular ischemic diseases, etc. By performing a medical treatment such as angiogenesis with the use of the above-described instrument for treating blood vessels, the occurrence of blood vascular restenosis can be effectively prevented.

(57) **要約:** 本発明は、フタレイン系色素化合物を有効成分とする骨髄由来の血管幹細胞又は炎症性細胞の血管壁侵入防止剤、血管再狭窄防止剤、血管炎又は心筋炎の予防又は治療剤、及びフタレイン系色素化合物を含有する樹脂で被覆するか又は当該樹脂で作製された血管治療用器具等に関する。 本発明の薬剤を用いれば、血管形成術等により生じる血管の再狭窄を効果的に防止することができ、また、有効な予防法や治療法の無い血管炎、心筋炎、動脈硬化病変の進展と崩壊、微小血管性虚血性疾患等が防止可能である。また、本発明の血管治療用器具を用いて血管形成術等の医学的処置を行うことにより、血管再狭窄の発生を効果的に防止することができる。

WO 2004/108129 A1

明　細　書

幹細胞侵入防止薬

技術分野

本発明は、血液中を流れている骨髄由来の血管幹細胞又は炎症性細胞の血管壁又は心臓などの臓器への侵入を防止することにより、血管形成術やバイパス術後の再狭窄、血管狭窄等を伴う各種血管病変及びそれに伴う虚血性疾患の予防又は治療に有用な薬剤及び当該薬剤を被覆した血管治療用器具に関する。

背景技術

近年、血管形成術やバイパス術等に基づく機械的血管損傷により、血管壁、特に内膜が肥厚し、再狭窄が発生することが、臨床的にも動物実験でも確認され問題となっている。従来、斯かる再狭窄は、中膜に存在している平滑筋細胞が内膜内へ遊走増殖し、膠原繊維化して引き起こされると考えられ、これまでに抗血液凝固剤や血小板凝集抑制剤、細胞増殖抑制剤等の薬剤が臨床で検討されてきたが、いずれも十分な効果は得られていないのが現状である。

また、血管壁内膜の肥厚や管腔狭窄を伴う血管病によって、しばしば高血圧症、脳卒中、狭心症、心筋梗塞、四肢の壊死が引き起こされる。斯かる血管病としては、例えば川崎病、大動脈炎症候群、動脈硬化性病変（プラーク）等が知られている。

炎症性増殖性血管病である川崎病は、日本人に多く、幼児や小児に発病するという特徴を有し、冠動脈瘤が高率に生じ、続いて狭窄がおこり狭心症や心筋梗塞を発症する悲劇的な疾患である（Kawasaki T: Kawasaki Disease Nankoudou Co, Tokyo, 1988, p68-70; Kato H: J Pediatr 1986, 108: 923-928）。冠動脈瘤は血管壁の炎症による破壊でおこり、狭窄は内膜をふくむ高度の線維性肥厚による

(Uchida Y: Coronary Angioscopy, Futura Publishing Co, NY, 2000, P125-129; Ishikawa H: Circulation 1991, 84(Suppl II): 15) と考えられているが、有効な予防法や治療法は知られていない。

炎症性増殖性血管病である大動脈炎症候群は、日本人の女性に多く発病する予防法や根治的治療法が無い血管病である。血管炎は太い血管のほとんどに起こり、冠動脈、大動脈、肺動脈、脳動脈、頚動脈などの狭窄を引き起こす。炎症は、外膜を主座とし、内膜肥厚が起こる。しかしながら、内膜肥厚や狭窄の機序は不明であり (Ishikawa K: Circulation 1978, 57:27-30) 、やはり有効な予防法や治療法は知られていない。

また、同様の血管炎として、巨細胞動脈炎、拘縮性関節炎に伴う動脈炎などがある (Barkley BH: Circulation 1973, 43: 1014) 。

動脈硬化性病変 (プラーク) は、内膜の線維性肥厚と脂質の沈着により狭窄が起こると考えられ、狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、閉塞性末梢動脈症を引き起こす。

また、冠微小循環障害による狭心症は、閉経期の女性に多く発病するが、この疾患では、冠細動脈の中膜の平滑筋が増加し肥厚が起こっていることや内皮機能障害があることが明らかにされている (Cannon ROI: Am J Cardiol, 1988, 61: 1335-1349; Mohri M: Lancet, 1998, 351: 1165-1169; Rosono JM: J Am Coll Cardiol, 1996, 28: 1500-1505) 。しかしながら、中膜平滑筋細胞がなぜ増加するのかそして肥厚がなぜ起こるのかについては不明であり、また、その予防法や治療法は確立されていない。

マクロファージや樹状細胞等の炎症性細胞も骨髄由来の分化細胞であるが、これらが血管壁内に侵入し、動脈硬化の進展に関与していることは以前からよく知られていた。最近では、流血中に存在する血管幹細胞が内腔から内膜に侵入し、血管形成術やバイパス術に伴う再狭窄や動脈硬化性病変の一因となっていることが明らかにされている (Sata M: Nature Medicine 2002, 8(4): 403-409) 。人工血管移植に伴う再狭窄にも血管幹細胞の侵入が関与していることが明らかにさ

れている（Shimizu K:Nature Medicine 2001, 7:738-741）。また、本発明者らは、血管幹細胞がベータアクチン陽性であることを見出した。血管幹細胞である根拠としては、ＣＤ３４、factor 8、vimentinなどにも陽性であり、血管を構築している各種細胞に分化する能力を有しているからである(内田 康美:血管 2002, 26: 22)。さらに、本発明者は血管幹細胞が神経幹細胞であることを示すＧＦＡＰ(glial fibrillary acid protein)陽性であること、また、それが血管壁や心筋内にも侵入することも見出している。そして、バルーンやステントなどによる血管形成術における再狭窄においては、当該血管幹細胞が、１）血管内腔から内膜への侵入のみでなく、２）外膜に存在する毛細血管から外に遊走し、外膜側から中膜と内弾性板を貫き内膜に侵入し、３）肥厚した内膜に形成された新生血管から遊走し、アルファアクチン陽性化、ついで、膠原線維となり再狭窄を引き起こす。そして、１）の外膜からの侵入が主体を演じていることを報告している（Uchida Y et al: Circulation J, 2002, 66(Suppl I): 273）。

また、炎症が動脈硬化に関係し、それには、骨髄由来の幹細胞が炎症性細胞に分化し関与することも示唆され（Ehara S: Ciculation J 2002, 66(Suppl I): 142; Libby P: Circulation J 2002, 66(Suppl I): 32-33）、本発明者らにおいても、犬の血管炎モデルにおいて、外膜からのベータアクチン陽性幹細胞が内膜に侵入し、内膜肥厚を惹起することを見出している（特開２００３－７９６４７号公報）。更に、本発明者らは、冠微小血管性虚血モデルを犬で作成することに成功し、このモデルでは、臨床におけると同様、細動脈中膜平滑筋の著明な増加がみられ、それは外膜からのベータアクチン陽性幹細胞の侵入によることも見出している。

このように、最近では、血管再狭窄や血管肥厚、狭窄を伴う血管病等には、血管幹細胞や炎症性細胞の血管壁への侵入が、深く関係していると考えられる。

本発明は、血管幹細胞や炎症性細胞の血管壁や心臓などの臓器への侵入を防止することにより、血管形成術やバイパス術後の再狭窄、炎症による血管狭窄等の

各種血管病変の予防又は治療に有用な薬剤を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明者らは斯かる実情に鑑み、血管外膜に容易に浸透し、血管幹細胞や炎症性細胞の血管壁内への侵入を防止する作用を有する化合物を探索した結果、現在、臨床検査試薬として用いられているフタレイン系色素化合物に血管幹細胞や樹状細胞等の血管壁への侵入を抑制し、狭窄や再狭窄を抑制する効果があることを見出した。そしてまた、これらの色素化合物を含む樹脂で被覆するか又は当該樹脂で作製された薬剤溶出ステント等を作成して、それを血管内に挿入することにより、効果的に再狭窄等を防止できることを見出した。

すなわち本発明は、フタレイン系色素化合物を有効成分とする骨髄由来の血管幹細胞又は炎症性細胞の血管壁侵入防止剤を提供するものである。

また本発明は、上記色素化合物を有効成分とする血管再狭窄防止剤、血管炎又は心筋炎の予防又は治療剤、微小血管性虚血性心疾患の予防又は治療剤、血管新生病の予防又は治療剤、神経系幹細胞由来細胞による増殖性疾患の予防又は治療剤、移植片の拒絶反応防止剤、臓器移植に伴う動脈硬化防止剤を提供するものである。

また本発明は、上記色素化合物を含有する樹脂で被覆してなる血管治療用器具を提供するものである。

また本発明は、上記色素化合物を含有する樹脂で作製された血管治療用器具を提供するものである。

また本発明は、上記血管治療用器具を用いることを特徴とする経皮経管的動静脈形成術又は動静脈バイパス術を提供するものである。

また本発明は、患者に、上記血管治療用器具を用いた医学的処置を施行することを特徴とする血管再狭窄の防止方法を提供するものである。

また本発明は、患者に、上記色素化合物を投与することを特徴とする炎症性血

管心臓病の処置方法を提供するものである。

図面の簡単な説明

図１は、バルーンによる犬冠動脈形成術に伴う細胞侵入に対するフェノールスルホンフタレインの防止効果を示す図である（術後１週間目、アザン染色。４００倍。目盛り：１０μm）。

（A）：形成術非施行部位。M：中膜、A：外膜、矢頭：内弾性板。

（B）：形成術施行部位。 M：中膜、A：外膜、矢印：侵入している多数の細胞。

（C）：形成術後フェノールスルホンフタレイン投与部位。M：中膜、A：外膜、細胞の侵入はほとんど見られない。

図２は、バルーンによる冠動脈形成術に伴う内膜肥厚による狭窄に対するフェノールスルホンフタレインの防止効果を示す図である（施行４週間目、アザン染色。４００倍）。

（A）：フェノールスルホンフタレイン非投与例。M：中膜、A：外膜、I：肥厚した内膜、矢印：内弾性板。

（B）：フェノールスルホンフタレイン投与例。M：中膜、A：外膜、矢印：内弾性板、内膜肥厚はごく軽度。

図３は、フェノールスルホンフタレインを投与しなかった例の肥厚内膜における血管幹細胞の各種免疫染色像を示す図である（１０００倍）。

A：骨髄由来であることを示すＣＤ３４陽性細胞。

B：神経幹細胞であることを示すＧＦＡＰ陽性細胞。

C：繊維芽細胞であることを示すvimentin陽性細胞。

Ｅ－Ｇ：幼若平滑筋細胞であることを示すbeta-SM actin陽性細胞。

H：成熟平滑筋細胞であることを示すalpha-SM actin 陽性細胞。

図４は、フェノールスルホンフタレイン含有光重合型樹脂製ステントを示す図である（目盛り：１mm）。

Ａ：２：内径０．８ｍｍのステント。

Ｂ：拡張用バルーンカテーテルにステントをかぶせたもの

１：バルーンカテーテル、３：ガイドワイヤー

図５は、有孔バルーンカテーテルの模式図である。

１：圧力供給手段、２：薬剤供給手段、３：穿刺用針、４：連結手段、５：バルーン、６：噴出細孔、７：ガイドワイヤー

発明を実施するための最良の形態

本発明薬剤の有効成分であるフタレイン系色素化合物としては、例えばフェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン、フェノールフタレイン等が挙げられ、このうち、腎臓排泄能検査用の臨床的薬として日常用いられているフェノールスルホンフタレイン、肝臓排泄能検査用の臨床検査試薬として日常用いられているブロモスルホフタレインが特に好ましい。

斯かる本発明の色素化合物は、後記実施例に示すように、機械的血管損傷や炎症に起因する骨髄由来の血管幹細胞又は樹状細胞等の炎症性細胞の血管壁（外膜、中膜及び内膜）への侵入を抑制する作用を有し、これに基づく血管の狭窄や再狭窄を抑制する効果を発揮する。従って、本発明の色素化合物は血管幹細胞又は炎症性細胞の血管壁への侵入防止剤となり得る。ここで、骨髄由来の炎症性細胞としては、樹状細胞、マクロファージ等が挙げられる。

斯かる作用を有する本発明色素化合物を投与することにより、幹細胞の内側への侵入とその過程で生じる中膜破壊、平滑筋細胞から膠原線維への形質変換及び内膜の肥厚が抑制され、更に新生血管の形成が抑制される。従って、本発明の色素化合物は、血管形成術やバイパス術等に基づく、内膜肥厚やそれによる血管再狭窄を有効に防止する血管再狭窄防止剤となり得、また、膠原線維による、過剰な血管新生に起因する増殖性網膜症、先天性動静脈瘻の増悪化や栄養血管新生による固形腫瘍の増殖促進等の炎症性、代謝性、先天性の増殖促進血管新生などに

よる血管増殖性疾患の予防又は治療剤として有用である。例えば、川崎病、大動脈症候群、巨細胞動脈炎、拘縮性関節炎に伴う動脈炎などの血管炎、動脈硬化性病変（プラーク）、心筋炎、冠微小循環障害を含む微小血管性虚血性心疾患、モヤモヤ病、糖尿病性網膜症などの微小血管新生病等の予防又は治療剤となり得る。

また、移植血管の動脈硬化にも幹細胞の侵入が関係していることが報告されており（SaiharaA：Nature Medicine, 2001, 7(4): 382-383）、幹細胞は、臓器移植における拒絶反応にも、関与していると考えられることから、本発明の色素化合物は、臓器移植等における移植片の拒絶反応防止剤となり得、更にはこれに伴う動脈硬化症の予防又は治療剤となり得る。

更に、上記血管幹細胞は、神経幹細胞であることを示すＧＦＡＰ(glial fibrillary acid protein)陽性であることから、本発明の色素化合物は、グリオーマ等の神経系幹細胞由来細胞による増殖性疾患治療剤ともなり得る。

本発明の薬剤は、フタレイン系色素化合物を単独、又は二種以上を併用して用いることができる。

また、本発明の色素化合物が有する血管幹細胞等の血管壁内侵入防止作用は、同様の薬理効果を有するとされている、分子内に基－SO_3^-を有するスルホン酸系アゾ色素、例えばエバンスブルー、トリパンブルー、トリパンレッド等を組み合わせて用いると、当該作用が増強され、好ましい。

ここで、本発明の色素化合物とスルホン酸系アゾ色素との配合比は、重量比で１：０．１～１：１００、特に１：０．５～１：１が好ましい。

また更に、公知の免疫抑制剤、免疫調整薬、コラーゲン合成阻害薬、抗癌剤等を組み合わせることにより、血管幹細胞等の血管壁内侵入防止作用を更に増強させることができる。ここで用いられる免疫抑制剤としてはシロリムス、パクリタキセル、タクロリムス、アザチオプリン、シクロスポリン、シクロホスファミド、ミコフェノール酸モフェチル、グスペリムス、ミゾリビン、トラニラスト、

ペミロラスト等が挙げられ、好ましくはシロリムス、パクリタキセル、タクロリムス挙げられる。免疫調整剤としてはレフルノミド、インターフェロン等が挙げられ、コラーゲン合成阻害剤としてはハルフギノン等が挙げられ、抗癌剤としてはアクチノマイシン等が挙げられる。

尚、本発明色素化合物と上記免疫抑制剤等との配合比は、重量比で１：０．０１～１：１０、特に１：０．１～１：１が好ましい。

本発明の色素化合物と上記の薬剤を併用して用いる場合には、単一の製剤中に含まれるように調製されてもよく、それぞれを別個の製剤として調製し、それらを併用するものでもよい。

本発明の薬剤は、製薬上許容し得る担体と共に注射若しくは経直腸等の非経口投与又は固形若しくは液体形態での経口投与のための製薬組成物として処方することができる。

注射剤は、液剤（無菌水又は非水溶液）、乳剤及び懸濁剤の形態とすることができ、これらに用いられる非水担体、希釈剤、溶媒又はビヒクルとしては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油等の植物油、オレイン酸エチル等の注射可能な有機酸エステルが挙げられる。また、該組成物には防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤等の補助剤を適宜配合することができる。

また、経口投与製剤としては、例えば錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤等の固形製剤、溶液剤、シロップ剤、エリキシル剤、油性若しくは水性懸濁剤等の液剤を例示できる。

斯かる薬剤は、これらの投与形態のうち、注射剤として用いるのが好ましく、静脈内投与、動脈内投与、グラフト内局所投与、有孔バルーンカテーテルによる加圧局所投与等が更に好ましく、特に図５に示すような有孔バルーンカテーテル（特願２００２－１９０２３５号）を用いて投与するのが好ましい。

本発明の薬剤の投与量は、投与される成分の性状、投与経路、所望の処置期間及びその他の要因によって左右されるが、一般に色素成分として一日当り約０．

１～１００mg／kg，特に約０．２～１０mg／kgが好ましい。また、所望によりこの一日量を２～４回に分割して投与することもできる。

本発明の血管治療用器具としては、一般に血管形成術に用いられる治療器具の表面をフタレイン系色素化合物の１種又は２種以上を含有する樹脂で被覆コーティングしてなるもの、或いは当該色素含有樹脂を材料として作製された治療器具が挙げられる。

樹脂としては、進展性、屈曲性、透湿性を有して皮膜作成に適し、且つ生体内に適用しても支障がないものならば特に限定されるものではなく、生分解性材料、難生分解性材料、或いはこれらの混合物の何れでもよい。生物学的に難分解性の材料としては、例えばポリオレフィン系ポリマー（例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリブテン、ポリイソプレン、ＳＥＢＳ、ＳＩＳ、ポリオレフィン共重合体等）、アクリル系樹脂（例えば、ポリアクリル酸、ポリアクリル酸塩、ポリブチルアクリレート等）、フッ素樹脂（例えば、ポリテトラフルオロエチレン等）、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリウレタン、ポリアミド、ポリエステル、セルロース、ポリカーボネート、ナイロン、シリコーン樹脂、天然ゴムラテックス、ポリビニルアルコール、ポリプロラクトン、ポリビニルアセトアミド等が挙げられ、生分解性材料としては、例えばポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体、ポリ燐酸、ポリグルタミン酸、コラーゲン、ゼラチン、グルコサミノグリカン、ヒアルロン酸、フィブリン、アルギン酸、キチン、キトサン、フィブロイン及びこれらの塩等が挙げられる。このうち、特にポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ燐酸又はこれらとポリイソプレン等との混合物が好ましい。

上記樹脂をコーティングするために用いられる治療用器具としては、血管治療用に用いられ、血管内に留置することができるものであればその材質や形状は特に限定されるものではない。材質としては、生分解性（自己吸収性）、難分解性のいずれでもよく、例えば、ステンレススチール、ニッケル・チタン合金、タン

タリューム等の金属やセラミックス等の他、ポリ四フッ化エチレン、ポリ三フッ化エチレン、ポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、カーボンナノシート、カーボンナノチューブ等の難生分解性材料やポリ乳酸、ポリ燐酸、ポリグリコール酸、ポリリンゴ酸、ポリα－アミノ酸等の生分解性材料が挙げられる。

また、斯かる素材に、ウレタンジメタクリレート等の光重合性樹脂を混合して製造された光重合型の材料を用いることもでき、これを用いれば、血管内に入れた後特定の波長の光を照射することにより樹脂が硬化し、血管内腔を広げることができる。

また形状は、血管内壁に安定的に留置するに足る強度を有するものであれば特に限定されず、例えば網状体で構成される円筒状等の形状が好適に挙げられる。

斯かる本発明の血管治療用器具としては、具体的には、例えばステント、ステントグラフト、カテーテル、バルーン、人工血管等が挙げられ、このうち特にステント及び人工血管が好ましい。尚、ステントの形状は、コイル状、網筒状のいずれでもよく、剛性ステント、屈曲性ステントのいずれであってもよい。

色素含有樹脂の上記治療器具への被覆は、通常アルコール類、エーテル類、ジクロロメタン、シクロヘキサン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等のような有機溶媒に樹脂を溶解し、これに色素を混合して、室温又は必要に応じて加熱下で溶解させて色素含有樹脂溶液とし、これに治療器具を浸漬するか又は色素含有樹脂溶液を治療器具に噴霧することによりコーティングし、次いで乾燥し、滅菌することにより行われる。尚、コーティングは、治療器具を挿入直後から色素が遊出し、且つ長時間の溶出を持続させることを目的として、一度コーティングした後に、更に色素溶液或いは色素含有高分子溶液をコーティングして多層コーティングとするのが好ましい。例えば、二層コーティングとする場合には、最初に樹脂としてポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体（例えば、ＰＬＧＡ７５１０（Ｗａｋｏ社））を用いた色素含有樹脂溶液でコーティングして持続溶

出層（内層）を形成し、更に樹脂としてポリ乳酸（例えば、ＰＬＡ００１０（Ｗａｋｏ社））を用いた色素含有樹脂溶液でコーティングして急速溶出層（外層）を形成することが挙げられ、三層コーティングとする場合には、内層には樹脂としてポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体（例えば、ＰＬＧＡ７５１０（Ｗａｋｏ社））を用いた色素含有樹脂溶液を、中層にはポリブチルアクリレートを用いた色素含有樹脂溶液を、外層にはポリ乳酸（例えば、ＰＬＡ００１０（Ｗａｋｏ社））を用いた色素含有樹脂溶液を用いてコーティングしたものが好適に挙げられる（ここでいう内層とは、ステント側を云う）。

色素含有樹脂液における色素化合物の含有量は、再狭窄防止効果の点から、０．５～５０％、特に１０～２０％とするのが好ましい。

また、器具自体を色素含有樹脂で作製する場合、例えば、ステントを作製する場合には、上記の色素含有樹脂溶液にポリエチレンチューブ等を浸し、樹脂が硬化した後、当該チューブを抜き去ることにより行えばよい。尚、当該樹脂溶液には、上記したウレタンジメタクリレート等の光重合性樹脂を混合したものを用いるのが好ましい。

斯くして得られる本発明の血管治療用器具を用いて、経皮経管的動静脈形成術（冠動脈形成術、末梢動脈形成術、脳動脈形成術等）、動静脈バイパス移植手術（冠動脈バイパス術、末梢動脈バイパス術等）等の医学的処置を行うことにより、当該処置後の血管再狭窄の発生を有効に防止することができる。

実施例

実施例１　薬剤注入器を具備した有孔バルーンカテーテルによる局所投与実験

フェノールスルホンフタレインやブロモスルホフタレインは組織親和性が極めて強く、取り扱い中に、皮膚, 衣類や医療器具などに付着すると、それを取り除くことが極めて困難であり、臨床的に用いる場合には、外部に漏れないようにすることが必須である。そこで、投与の際に外部に漏れないように、閉鎖回路で投与できる装置が必要である。そこで、先に特許を申請してある外部に触れること

のない状態で経皮的に血管内の局所に選択的に投与できる有孔バルーンカテーテル（図５参照、特願２００２－１９０２３５号）を用いた。

（Ａ）冠動脈形成術に伴う幹細胞侵入防止実験

（１）実験方法

ネンブタール麻酔ビーグル犬を用いた。気管挿管をおこない、空気により人工呼吸を行った。ついで、右総頚動脈に８フレンチのシースを挿入した。それを介し８フレンチの誘導カテーテルを挿入し、冠動脈造影を行った。ついで、臨床で用いられている外径３ｍｍ、長さ２０ｍｍの冠動脈形成術用バルーンカテーテルを挿入し、バルーンを９気圧で膨らませ冠動脈前下行枝の遠位部から中間部を拡張せしめた。これにより、血管壁が損傷される。次いで、前述の５％フェノールスルホンフタレイン０．５ｍｌ、ないしは５％ブロモスルホフタレイン０．５ｍｌを入れた注射筒を取り付けた有孔バルーンカテーテルをガイドワイヤー先導で拡張部位に挿入し、３気圧で血管壁内に注入した。注入終了後、カテーテルを抜去し、頚部挿入部を縫合し、抗生物質を投与した。覚醒後、１週間ないしは１ヶ月間飼育し、再度、冠動脈造影を行い、心臓を摘出しホルマリン固定を行い、拡張部位の顕微鏡標本を作製した。ついで、アザン染色や各種の免疫染色を行った。

流血中の幹細胞が、血管平滑筋ベータアクチン陽性であり、血管形成術に伴う再狭窄に重要な関与をしていることを本発明者は既に見出していいる（Uchida Y：Circulation J 2002, 66(Suppl 1):273）。そこで、免疫染色を行い、幹細胞の内膜、中膜、外膜において、最も分布密度の高い部位における単位面積（250x 250um）当たりの数をかぞえ、薬剤投与群とバルーンにより拡張せしめ生理食塩水０．５ｍｌ注入のみを行った非投与群（対照群）とで比較し、Student t test $P<0.05$をもって有意差ありとした。

（２）成績

図１に、バルーンによる拡張１週間目の冠動脈断面を示す。対照例では外膜側

から内膜にむけて多数の細胞浸潤が見られる。一方、フェノールスルホンフタレイン局所投与例では見られない。

図２に、拡張４週間目の冠動脈断面像を示す。対照例では著明な内膜肥厚による狭窄がみられるが、フェノールスルホンフタレイン投与例では内膜肥厚による狭窄はごくわずかである。また、細胞浸潤もあまり見られない。

図３に、骨髄由来であることを示すＣＤ３４陽性細胞や幼若平滑筋細胞であることを示すベータアクチン陽性細胞の外膜からの侵入や新生血管からの侵入を示す。

表１に冠動脈内膜、中膜、外膜における幹細胞密度を示す。

非投与群では、外膜における分布密度が最も大であった。このことは、外膜からの侵入が重要であることを示す。フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインによりいずれの層においても幹細胞密度は非投与群より有意に少なかった。このことは、これら薬剤に侵入阻害作用が有ることを示す。

さらに、炎症細胞である樹状細胞をＣＤ４０抗体を用い免疫染色を行った。その結果、表１に示すごとく、フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインにより侵入が阻害されることが判明した。

表２に冠動脈造影による狭窄度を示す。フェノールスルホンフタレイン群とブロモスルホンフタレイン群により狭窄は有意に抑制された。

表１

薬物局所投与による冠動脈壁内ベータアクチン陽性幹細胞および樹状細胞の変化

	例数	幹細胞数	樹状細胞数(250×250 μm^2)
内膜			
非投与群	6	28.5±6.0	8.3±1.2
フェノールスルホンフタレイン	6	11.0±4.2*	0.2±0.0*
ブロモスルホフタレイン	6	14.8±6.1*	1.6±0.4*
中膜			
非投与群	6	22.0±5.2	4.3±1.0
フェノールスルホンフタレイン群	6	10.1±2.8*	0.0±0.0*
ブロモスルホフタレイン群	6	16.1±4.8	1.1±0.1
外膜			
非投与群	6	38.8±12.0	10.4±2.2
フェノールスルホンフタレイン群	6	19.3±6.3*	1.0±0.5*
ブロモスルホフタレイン群	5	22.0±6.2*	3.6±0.9*

非投与群との比較 * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

表２

薬剤投与による冠動脈狭窄後の変化

	例数	狭窄度（%）
非投与群	6	79.2±19.6
フェノールスルホンフタレイン群	6	10.1±2.5**
ブロモスルホフタレイン群	5	33.5±10.4*

（B）異物の冠動脈外膜投与による炎症性狭窄実験

（1）実験方法

麻酔ビーグル犬を用い、空気による人工呼吸下で、左第５肋間を切開し、心臓を露出せしめた。ついで、左冠動脈前下行枝中間部の外膜周辺にタルク粉末を投与した。これにより炎症が発生する。ついで、開胸部を閉塞し、薬剤内臓注射筒を具備する有孔バルーンを用い、（A）における実験と同じ条件でフェノールスルホンフタレインを注入した。麻酔から覚醒後、飼育し、１ヵ月後冠動脈造影を行い、心臓を摘出しホルマリン固定した。タルク投与部の顕微鏡標本を作製し、ベータアクチン染色を行い、ベータアクチン陽性細胞、すなわち、幹細胞密度を

調べた。

（2）成績

表3にベータアクチン陽性細胞密度を示す。フェノールスルホンフタレイン投与群では、非投与群とくらべ、陽性細胞密度は有意に少なかった。また、表4に示すごとく、狭窄度も有意に少であった。

表3

タルク投与部位のベータアクチン陽性幹細胞密度

	例数	幹細胞数（250×250 μm^2）
内膜		
非投与群	5	11.6±2.3
フェノールスルホンフタレイン投与群	5	2.0±0.8*
中膜		
非投与群	5	19.9±3.4
フェノールスルホンフタレイン投与群	5	2.6±0.7*
外膜		
非投与群	5	80.6±11.9
フェノールスルホンフタレイン投与群	5	12.2±3.4*

表4

タルク投与部位の狭窄度

	例数	狭窄度（%）
非投与群	5	42.5±10.1
投与群	5	10.4±2.7*

実施例2　フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインのヒト血管平滑筋細胞増殖抑制作用や抗血栓作用

エバンスブルーには血管平滑筋細胞増殖抑制作用や抗血栓作用があることを本発明者もそれをヒト冠動脈平滑筋細胞で証明した（国際公開第０１／９３８７１号パンフレット）。また、それは、細胞周期のＧ１を抑制することによることも証明した（同パンフレット）。フェノールスルホンフタレインやブロモスルホフタレインに同様の作用があるか否かを検討した。

（A）血管平滑筋細胞及び内皮細胞増殖に対する作用

（1）実験方法

ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＨＵＢＥＣ）１×１０^{5}／ｃｍ^{2}をＭＣＤＢ－１０４，１０％ＦＢＳ，ＥＣＧＦ（１００ｎｇ／ｍｌ），ＥＧＦ（１０ｎｇ／ｍｌ），ｈｅｐａｒｉｎ（１００ｎｇ／ｍｌ）を含む培地に蒔き、フェノールスルホンフタレインないしはブロモスルホフタレインを加え、３日間培養し、細胞数を数え、薬剤を加えない場合と比較した。同様にして、ヒト冠動脈平滑筋細胞１×１０^{5}／ｃｍ^{2}をＭＣＤＢ－１０４，１０％ＦＢＳ，ＥＧＦ（１０ｎｇ／ｍｌ）を含む培地３日間培養し、細胞数を数えた。

（2）成績

表５に示すごとく、フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインには、ヒト血管内皮細胞及び血管平滑筋細胞増殖に対する抑制作用は全く認められなかった。

表５

ヒト冠動脈平滑筋細胞および内皮細胞増殖に対するフェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン、エバンスブルーの抑制作用

	濃度（モル）					
	対照	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
平滑筋細胞						
フェノールスルホンフタレイン	3.81	4.08	4.02	4.17	3.88	3.65
ブロモスルホフタレイン	4.05	4.24	4.14	4.19	3.78	3.43
エバンスブルー	4.01	3.89	3.50*	1.00*	0.34**	0.07***
内皮細胞						
フェノールスルホンフタレイン	3.35	3.47	3.43	3.35	3.40	3.37
ブロモスルホフタレイン	3.50	3.34	3.59	3.52	3.43	3.44
エバンスブルー	3.66	3.50	3.11*	1.54*	0.98*	0.12**

* P<0.05, ** P<0.01対対照

（Ｂ）動脈血栓に対する作用

（1）実験方法

麻酔犬にフェノールスルホンフタレインないしはブロモスルホフタレイン１０ｍｇ／ｋｇ（臨床で腎機能検査に用いられる量の１００倍）を静脈投与し、右総頚動脈をドッターバルーンカテーテルにより内膜障害を作成し、３０分後、総頚

動脈を摘出し、そこに存在する血栓の湿重量を測定し、対照群のそれと比較した。

（2）成績

表6に示すごとく、フェノールスルホンフタレイン及びブルモスルフォフタレインには血栓形成抑制作用は認められなかった。

表6

フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインの血栓形成抑制作用

	例数	平均血栓量(mg)
対照群	4	230
フェノールスルホンフタレイン群	4	195
ブロモスルホフタレイン群	4	210

以上のことから、フェノールスルホンフタレイン及びブロモスルホフタレインには血管平滑筋細胞増殖抑制作用も抗血栓作用も無いことが判明した。

したがって、これら薬剤による再狭窄防止作用の機序は血管平滑筋増殖抑制作用によるのではなく、また、抗血栓作用によるのでもなく、幹細胞侵入遊走抑制作用によるものと判断される。

実施例3　フェノールスルホンフタレイン含有樹脂を用いた薬剤溶出ステントの作成

幹細胞の血管壁への侵入は4週間以上持続して起こっていることが判明している。したがって、幹細胞の侵入を完全に防止するには、4週間以上持続的に局所に溶出する仕組みを編み出す必要がある。そこで、この条件を満たす局所留置用のステントの開発を試みた。

（A）薬剤含有樹脂被覆ステント

（1）一層薬剤溶出ステント

樹脂：ポリ乳酸であるPLA0010、ポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体であるP

LGA5010及びPLGA7510、ポリビニールアルコール、ポリプロラクトン、ポリグリコール酸、ポリビニルアセトアミド、ゼラチン、ヒアルロン酸。

薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン、フェノールスルホンフタレインとエバンスブルーとの合剤。

溶媒：ジクロロメタン、シクロヘキサン、水、エタノール。

ステント：市販の冠動脈用ステント（ＰＳステント、ＮＩＲステント、テルモステント）。

薬剤含有液に市販のステントを拡張せしめた状態で５分間浸し、ついで乾燥せしめた。

（２）多層薬剤溶出ステント

薬剤を長時間溶出させるステントの作成である。

（イ）二層薬剤溶出ステント

内層用樹脂：ポリ乳酸であるPLA0010、ポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体であるPLGA7510及びPLGA5010(Wako)；薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルフォンフタレイン、フェノールスルホンフタレインとエバンスブルー。

溶媒：ジクロロメタン、シクロヘキサンのいずれか。

外層用樹脂：ポリビニールアルコール、ポリ乳酸であるPLA0010、薬剤：スルフォンフタレイン、ブロモスルホフタレイン、フェノールスルホンフタレインとエバンスブルー。溶媒としてジクロロメタン、シクロヘキサンのいずれか。

ステント：市販の冠動脈用ステント（ＰＳステント、ＮＩＲステント、テルモステント）。

（ロ）三層薬剤溶出ステント

内層用樹脂：ポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体であるPLGA7510。薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン。溶媒：ジクロロメタン、シクロヘキサンのいずれか。

中層用樹脂：ポリ乳酸／ポリグリコール酸共重合体であるPLGA5010、ポリ燐

酸、シリコンのいずれか。

外層用樹脂：ポリ乳酸であるPLA0010. 薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルフォンフタレイン、フェノールスルホンフタレインとエバンスブルーのいずれか。

溶媒：ジクロロメタン、シクロヘキサンのいずれか。

ステント：市販の冠動脈用ステント（ＰＳステント、ＮＩＲステント、テルモステント）。

（Ｂ）自己吸収型（生分解性）薬剤溶出ステント

含有薬剤を漸次溶出しつつ、ステント自体が自然にとけて消失するステントである。

ステント素材：PLGA5010ないしはPLGA7510、とポリイソプレンとの合剤。

薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン。

溶媒：ジクロロメタン、シクロヘキサン。

（Ｃ）光重合性自己吸収型薬剤溶出性ステント

柔軟性を有する部分的自己吸収性薬剤溶出ステントであり、細く折りたたんで挿入できる。血管内に入れた後特定の波長の光を照射すると、硬くなり血管内腔を広げることができるステントである。ごく細い血管にも用いられる。

ステント素材：PLA0010、PLGA5010、PLGA7510、のいずれかと光重合性樹脂であるウレタンジメタクリレートとの合剤。

薬剤：フェノールスルホンフタレイン、ブロモスルホフタレイン、両者のいずれかとエバンスブルー。

溶媒：ジクロロメタンまたはシクロヘキサン。

作成法：

PLA0010、PLGA5010、ないしはPLGA7510、ウレタンジメタアクリレート、フェノールスルホンフタレイン、ジクロロメタンを混合比1：０．５：０．２５：４で混合した溶液に外径０．２mm、０．８mm、１．５mmのポリエチレンチュ

ーブを５分間浸し乾燥せしめる。これを３回反復する。乾燥後、チューブを抜去するとステントができる。血管内に挿入後、石英ファイバーを介し、光を照射すると硬化する。

図４にその実例を示す。Ａは内径０．８ｍｍであり、従来のステントでは挿入できず再狭窄を予防できない１ｍｍ以下の血管にも留置できる。Ｂはそれを拡張用バルーンカテーテルに装着したものである。その他のステントについては薬剤溶出実験の表７に示す。

（Ｄ）薬剤溶出実験

作成した薬剤含有ステントを２５℃の恒温槽内の生理食塩水１０ｍｌ入り容器に入れ、薬剤の溶出状態を観察した。フェノールスルホンフタレインは赤色、ブロモスルホフタレインは青紫に着色する。表７に薬剤溶出の程度、溶出持続日数、ステントの自己崩壊の有無を示す。

表7

ステントからのフェノールスルホンフタレイン溶出と樹脂の崩壊実験

薬剤含有樹脂など	即溶出性	溶出持続時間	樹脂自己崩壊開始に要した時間
A．薬剤含有樹脂による被覆ステント			
1．一層ステント			
メチルアルコール	＋3	3時間	
ヒドロキシプロピルアルコール	＋3	1時間	
ポリブチルアクリレート	＋3	5日	
ポリビニールアルコール	＋3	30分	
ポリエチレングルコール	＋3	1時間	
ＰＬＡ００１０	＋2	7日	7日
ＰＬＧＡ５０１０	＋1	１２日	３０日
ＰＬＧＡ７５１０	＋1	１５日	２８日
ポリグリコール酸	0	４日	
ポリプロラクトン	0	5日	
ポリビニールアセトアミド	0	6日	
ニポラン１３１	＋3	3日	
ゼラチン	＋3	5時間	
ヒアルロン酸	＋3	6時間	
2．二重ステント			
ポリブチルアクリレート(内)＋ヒドロキシプロピリアルコール(外)	＋2	6日	
ＰＬＧＡ７５１０(内)＋ポリブチルアクリレート(外)	＋1	１４日	
ポリブチルアクリレート(内)＋ＰＬＧＡ７５１０(外)	＋2	5日	
ＰＬＧＡ５０１０(内)＋ＰＬＡ００１０(外)	＋2	３１日	7(外)－３５日(内)
ＰＬＧＡ７５１０(内)＋ＰＬＡ００１０(外)	＋2	６０日	8(外)－３５日(内)
3．三層ステント			
ＰＬＧＡ７５１０(内)＋ポリブチルアクリレート(中)＋ＰＬＡ００１０(外)	＋2	２４日	7(外)－３０日(内)
ＰＬＧＡ７５１０(内)＋シリコン(中)＋ＰＬＡ００１０(外)	＋2	２３日	３０日
B．自己吸収型薬剤溶出ステント			
ＰＬＡ７５１０＋ポリイソプレン	＋1	１５日	２５日
C．光重合性ステント			
ウレタンジメタアクリレート＋ＰＬＡ００１０	＋2	１６日	8日
ウレタンジメタアクリレート＋ＰＬＧＡ５０１０	＋1	３１日	１５日
D．2剤含有ステント			
フェノールスルホンフタレイン＋エバンスブルー＋ＰＬＡ００１０	＋3	7日	7日

内：内層、中：中層、外：外層、＋1：弱、＋2：中程度、＋3：強

（E）冠動脈への薬剤溶出ステント挿入実験

（1）実験方法

ネンブタール麻酔ビーグル犬を用い空気による人工呼吸下で、右総頚動脈より８フレンチの誘導カテーテルを挿入し、左冠動脈を造影した。ついで、薬剤溶出ステント（内層：５０％フェノールスルホンフタレイン含有ＰＬＧＡ７５１０、外層：５０％フェノールスルホンフタレイン含有PLA0010被覆）を左回旋枝に挿入し、９気圧で拡張せしめ留置した。麻酔より覚醒後飼育し、１ヵ月後、再度造影を行い、ステント挿入部位の最も狭窄の強い部位の狭窄度を計測し、薬剤で被覆しないステントを挿入した非溶出ステント群のそれと比較した。ついで、心臓を摘出しホルマリン固定した。ステント挿入部位の顕微鏡標本を作製し、血管平滑筋ベータアクチンを染色し、内膜、中膜、外膜において最も密度の高い部位の幹細胞の単位面積当たりの密度を調べ、薬剤で被覆しないステントを挿入した非溶出ステント群のそれと比較した。

（2）成績

表８にベーターアクチン陽性幹細胞の密度を示す。密度は、溶出ステント群で有意に少なかった。また、表９に示したごとく、狭窄度も有意に小であった。

表８

二層薬剤溶出ステント挿入冠動脈の血管幹細胞密度

	例数	幹細胞数(250×250 μm^2)
内膜		
非溶出ステント群	6	37.8±7.7
フェノールスルホンフタレイン群	6	7.1±3.2**
ブロモスルホフタレイン群	6	8.8±2.6**
中膜		
非溶出ステント群	6	22.2±7.0
フェノールスルホンフタレイン群	6	9.0±4.0*
ブロモスルホフタレイン群	6	8.6±5.0*
外膜		
非溶出ステント群	6	40.2±11.0
フエノールスルフォンフタレイ群	6	16.0±7.1*
ブロモスルホフタレイン群	6	20.3±9.9*

内層：PLGA7510. 外層：PLA0010. * P<0.05 ** P<0.05

表９

薬剤溶出ステント挿入冠動脈の狭窄度

	例数	狭窄度（％）
非溶出ステント群	6	85.0±6.2
フェノールスルホンフタレイン群	5	0±0.0***
ブロモスルホフタレイン群	6	11.2±3.1**

産業上の利用可能性

本発明の薬剤を用いれば、狭心症、心筋梗塞、末梢血管閉塞症、脳血管障害などの血行障害に対する血管形成術や自己血管や人工血管移植術により生じる血管の再狭窄を効果的に防止することができる。また、有効な予防法や治療法の無い血管炎に伴う狭窄や瘤形成、動脈硬化病変の進展と崩壊、微小血管性虚血性疾患等が防止可能であり、また局所投与が難しい血管新生病、グリオーマなど神経系増殖性疾患にあっては、動静脈内投与によっても防止が期待され、臨床上きわめて有用である。

また、本発明の血管治療用器具は、長期間留置することが可能であり、これを用いて血管形成術（冠動脈形成術、末梢動静脈形成術、脳動静脈形成術等）や血管バイパス術（冠動脈バイパス術、末梢動静脈バイパス術等）等の医学的処置を行うことにより、血管再狭窄の発生を効果的に防止することができる。

請求の範囲

１．フタレイン系色素化合物を有効成分とする骨髄由来の血管幹細胞又は炎症性細胞の血管壁侵入防止剤。

２．フタレイン系色素化合物を有効成分とする血管再狭窄防止剤。

３．フタレイン系色素化合物を有効成分とする血管炎又は心筋炎の予防又は治療剤。

４．血管炎が、川崎病、大動脈炎症候群、巨細胞動脈炎、拘縮性関節炎に伴う動脈炎又は動脈硬化性病変（プラーク）である請求項３記載の予防又は治療剤。

５．フタレイン系色素化合物を有効成分とする微小血管性虚血性疾患の予防又は治療剤。

６．フタレイン系色素化合物を有効成分とする血管新生病の予防又は治療剤。

７．血管新生病が、モヤモヤ病又は糖尿病性網膜症である請求項６記載の予防又は治療剤。

８．フタレイン系色素化合物を有効成分とする神経系幹細胞由来細胞による増殖性疾患の予防又は治療剤。

９．フタレイン系色素化合物を有効成分とする移植片の拒絶反応防止剤。

１０．フタレイン系色素化合物を有効成分とする臓器移植に伴う動脈硬化症の予防又は治療剤。

１１．更にスルホン酸系アゾ色素を含むものである請求項１～１０のいずれか１項記載の薬剤。

１２．更に免疫抑制剤、免疫調整薬、コラーゲン合成阻害薬及び／又は抗癌剤等を含むものである請求項１～１０のいずれか１項記載の薬剤。

１３．フタレイン系色素化合物が、フェノールスルホンフタレイン又はブロモスルホフタレインである請求項１～１２のいずれか１項記載の薬剤。

１４．フタレイン系色素化合物を含有する樹脂で被覆してなる血管治療用器

具。

１５．フタレイン系色素化合物を含有する樹脂で作製された血管治療用器具。

１６．血管治療用器具が人工血管、ステント又はステントグラフトである請求項１４又は１５記載の血管治療用器具。

１７．カーボンナノシート、自己吸収性材料及び光重合型材料から選ばれる素材からなるものである請求項１４～１６のいずれか１項記載の血管治療用器具。

１８．フタレイン系色素化合物が、フェノールスルホンフタレイン又はブロモスルホフタレインである請求項１４～１７のいずれか１項記載の血管治療用器具。

１９．フタレイン系色素化合物を含有する樹脂を被覆するか又は当該樹脂で作製された血管治療用器具を用いることを特徴とする経皮経管的動静脈形成術又は動静脈バイパス術。

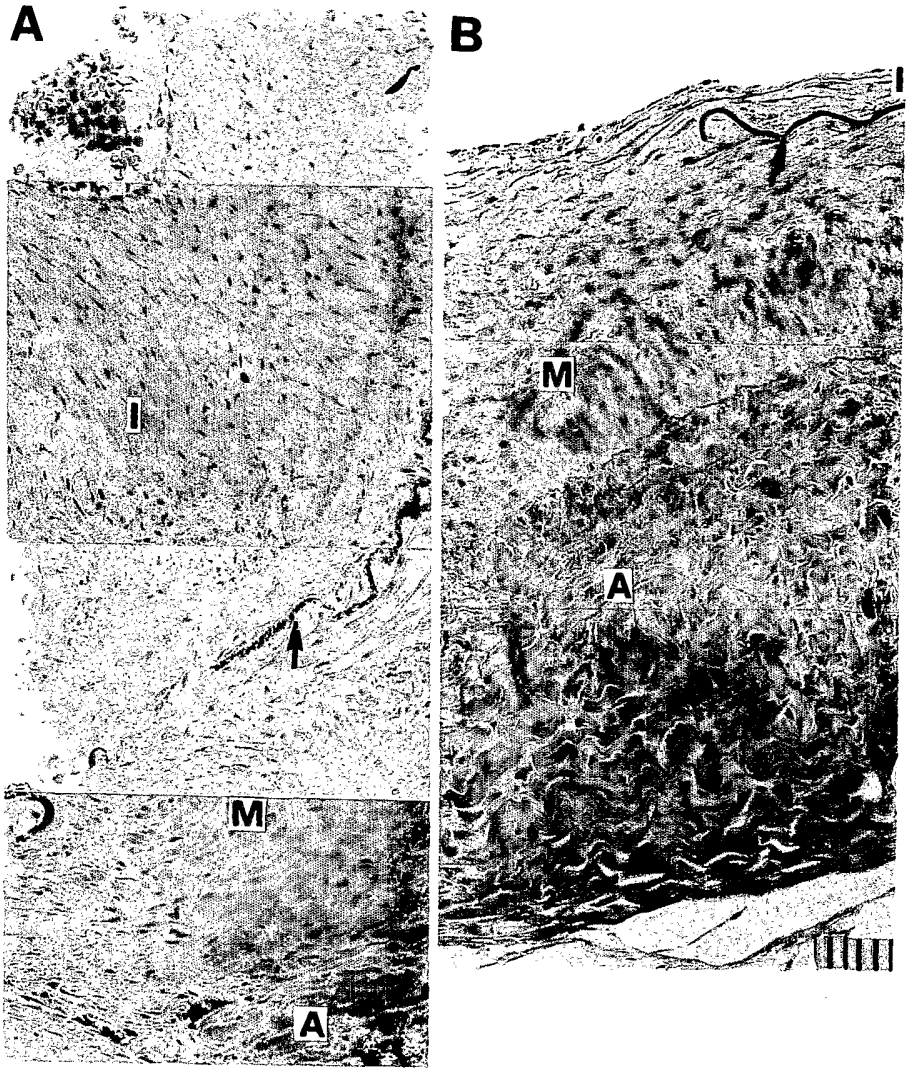
２０．患者に、フタレイン系色素化合物を含有する樹脂を被覆するか又は当該樹脂で作製された血管治療用器具を用いた医学的処置を施行することを特徴とする血管再狭窄の防止方法。

２１．患者に、フタレイン系色素化合物を投与することを特徴とする炎症性血管心臓病の処置方法。



図 1

図2



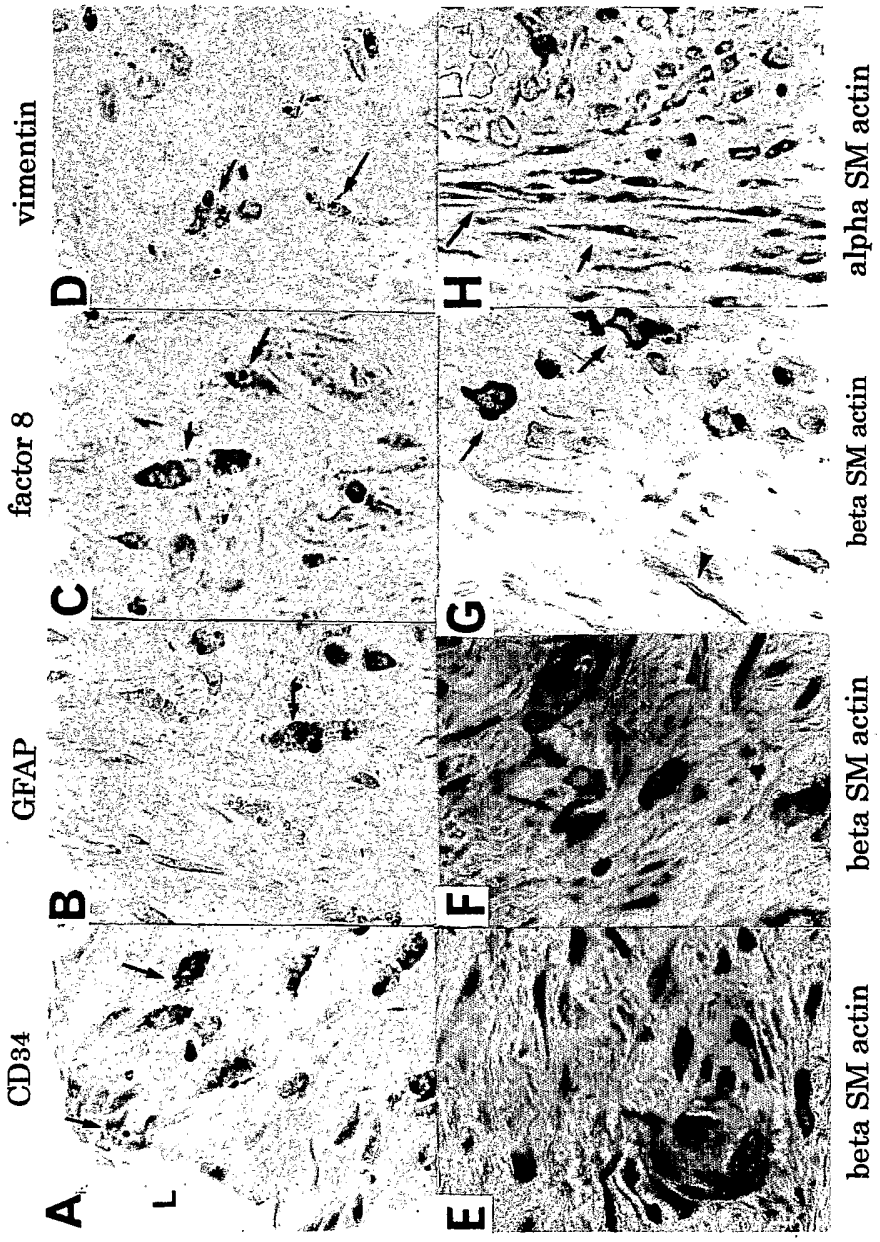

A
CD34
L
B
GFAP
C
factor 8
D
vimentin
E
beta SM actin
F
beta SM actin
G
beta SM actin
H
alpha SM actin

図3

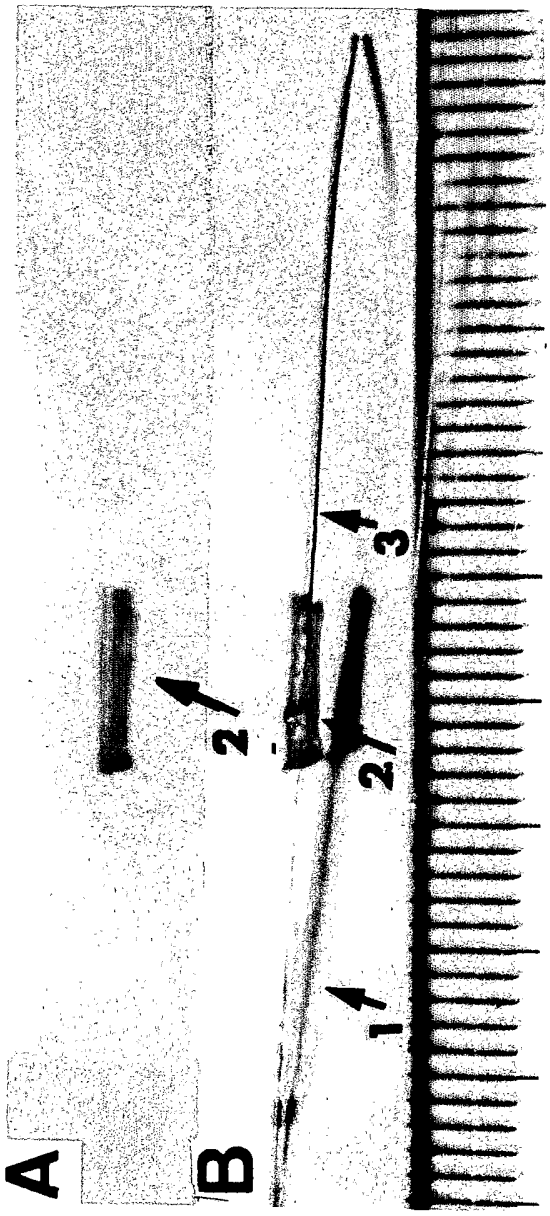
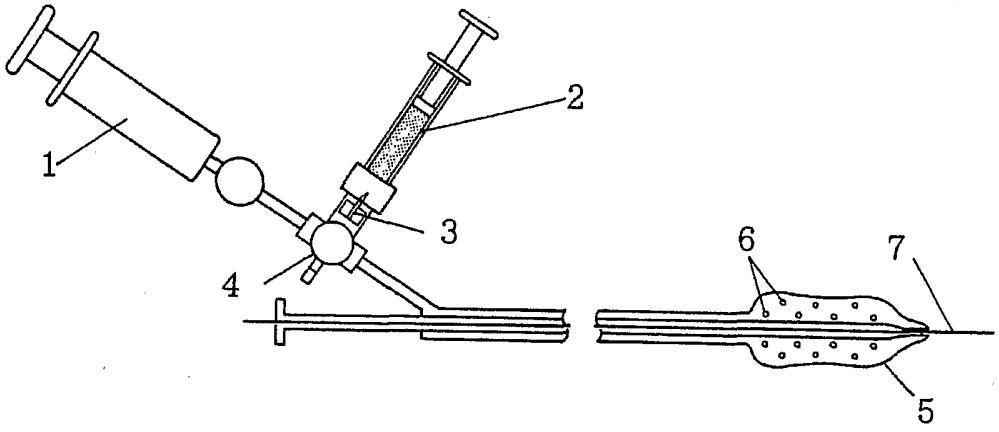


図4

図5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07264

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl[7] A61K31/39, 45/00, 31/343, A61P9/00, 9/10, 27/02, 37/06, 43/00, A61L27/14, 27/28, 31/04, 31/08 // C07D327/04

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[7] A61K31/39, 45/00, 31/343, A61P9/00, 9/10, 27/02, 37/06, 43/00, A61L27/14, 27/28, 31/04, 31/08, C07D327/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/93871 A1 (CARDIOVASCULAR INSTITUTE LTD.), 13 December, 2001 (13.12.01), (Family: none)	1-13
X	EP 1291026 A2 (UCHIDA, Yasumi), 12 March, 2003 (12.03.03), & US 2003/053952 A1 & JP 2003-79647 A	14-18
X	WO 91/03226 A2 (RORER INTERNATIONAL (HOLDINGS) INC.), 21 March, 1991 (21.03.91), & IL 95353 A1 & CA 2064575 A & AU 9063375 A & EP 489102 A1 & JP 5-503506 A & US 5571506 A	1-13

[X] 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 document 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	Date of mailing of the international search report
11 August, 2003 (11.08.03)	26 August, 2003 (26.08.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07264

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 354714 A2 (HADASSAH MEDICAL ORGANIZATION), 14 February, 1990 (14.02.90), & JP 2-73019 A & EP 354818 A2 & JP 2-256610 A	1-13
X	US 6020374 A (ROMAT UNIV. AUTHORITY FOR APPLIED RESEARCH & INDUSTRIAL DEVEROPMENT LTD.), 01 February, 2002 (01.02.02), (Family: none)	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07264

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. [X] Claims Nos.: 19-21

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The inventions as set forth in claims 19 to 21 pertain to methods for treatment of the human body by surgery or 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 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.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ０３／０７２６４

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））
Ｉｎｔ．Ｃｌ⁷　Ａ６１Ｋ３１／３９，４５／００，３１／３４３，Ａ６１Ｐ９／００，９／１０，２７／０２，３７／０６，４３／００，Ａ６１Ｌ２７／１４，２７／２８，３１／０４，３１／０８　//　Ｃ０７Ｄ３２７／０４

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．Ｃｌ⁷　Ａ６１Ｋ３１／３９，４５／００，３１／３４３，Ａ６１Ｐ９／００，９／１０，２７／０２，３７／０６，４３／００，Ａ６１Ｌ２７／１４，２７／２８，３１／０４，３１／０８，Ｃ０７Ｄ３２７／０４

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

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）
CAPLUS, REGISTRY (STN)

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	WO 01/93871 A1 (CARDIOVASCULAR INSTITUTE LTD.) 2001.12.13 (ファミリーなし)	1-13
X	EP 1291026 A2 (UCHIDA Yasumi) 2003.03.12 & US 2003/053952 A1 & JP 2003-79647 A	14-18
X	WO 91/03226 A2 (RORER INTERNATIONAL (HOLDINGS) INC.) 1991.03.21 & IL 95353 A1 & CA 2064575 A & AU 9063375 A & EP 489102 A1 & JP 5-503506 A & US 5571506 A	1-13

[x] 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	国際調査報告の発送日
１１．０８．０３	26.08.03

国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官（権限のある職員）	４Ｐ	９１５９
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	冨永　保 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４９０		

様式ＰＣＴ／ＩＳＡ／２１０（第２ページ）（１９９８年７月）

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
X	EP 354714 A2(HADASSAH MEDICAL ORGANIZATION) 1990.02.14 & JP 2-73019 A & EP 354818 A2 & JP 2-256610 A	1-13
X	US 6020374 A(ROMAT UNIV. AUTHORITY FOR APPLIED RESEARCH & INDUSTRIAL DEVEROPMENT LTD.) 2002.02.01 （ファミリーなし）	1-13

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ０３／０７２６４

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）

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．[x] 請求の範囲　１９－２１　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１９－２１に記載された発明は、人体の手術又は治療による処置方法に該当する。

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。

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）

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。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意
[ ] 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。
[ ] 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。