

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4079453号
(P4079453)

(45) 発行日 平成20年4月23日 (2008. 4. 23)

(24) 登録日 平成20年2月15日 (2008. 2. 15)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 31/201 (2006. 01)

A 6 1 K 31/201

A 6 1 P 11/06 (2006. 01)

A 6 1 P 11/06

A 6 1 P 37/08 (2006. 01)

A 6 1 P 37/08

C 1 2 N 5/06 (2006. 01)

C 1 2 N 5/00

E

請求項の数 5 (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-530915

(86) (22) 出願日 平成8年8月27日 (1996. 8. 27)

(65) 公表番号 特表2000-506840 (P2000-506840A)

(43) 公表日 平成12年6月6日 (2000. 6. 6)

(86) 国際出願番号 PCT/US1996/013798

(87) 国際公開番号 W01997/032008

(87) 国際公開日 平成9年9月4日 (1997. 9. 4)

審査請求日 平成15年8月26日 (2003. 8. 26)

(31) 優先権主張番号 08/607, 498

(32) 優先日 平成8年2月27日 (1996. 2. 27)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者

ウィスコンシン アラムニ リサーチ フ
ァンデーションアメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53
707-7365 マディソン ピーオー
ボックス 7365

(74) 代理人

弁理士 中村 稔

(74) 代理人

弁理士 大塚 文昭

(74) 代理人

弁理士 穴戸 嘉一

(74) 代理人

弁理士 竹内 英人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アレルギー性応答を弱毒化するための複合リノール酸

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

タイプ I 又は IgE 媒介過敏性及びその有害作用の予防剤又は治療剤であって、c9, c11-オクタデカン二酸、c9, t11-オクタデカン二酸、t9, c11-オクタデカン二酸、t9, t11-オクタデカン二酸、c10, c12-オクタデカン二酸、c10, t12-オクタデカン二酸、t10, c12-オクタデカン二酸及びt10, t12-オクタデカン二酸からなる群から選ばれる共役リノール酸 (CLA) を含有し、前記過敏症が、喘息、枯草熱、湿疹又はウイルス感染により引き起こされるものである前記予防剤又は治療剤。

【請求項 2】

前記過敏症が喘息により引き起こるものである請求項 1 記載の予防剤又は治療剤。

10

【請求項 3】

喘息を原因とするタイプ I 又は IgE 媒介過敏性の有害作用の予防剤又は治療剤であって、c9, c11-オクタデカン二酸、c9, t11-オクタデカン二酸、t9, c11-オクタデカン二酸、t9, t11-オクタデカン二酸、c10, c12-オクタデカン二酸、c10, t12-オクタデカン二酸、t10, c12-オクタデカン二酸及びt10, t12-オクタデカン二酸からなる群から選ばれる共役リノール酸を含有し、前記有害作用が肥満細胞及び好塩基性球の活性化により媒介されるものである前記予防剤又は治療剤。

【請求項 4】

白血球の保存方法であって、前記白血球に0.1～約1重量%の量のc9, c11-オクタデカン二酸、c9, t11-オクタデカン二酸、t9, c11-オクタデカン二酸、t9, t11-オクタデカン二

20

酸、c10, c12-オクタデカン二酸、c10, t12-オクタデカン二酸、t10, c12-オクタデカン二酸及びt10, t12-オクタデカン二酸からなる群から選ばれるCLAを添加することを特徴とする前記方法。

【請求項5】

c9, c11-オクタデカン二酸、c9, t11-オクタデカン二酸、t9, c11-オクタデカン二酸、t9, t11-オクタデカン二酸、c10, c12-オクタデカン二酸、c10, t12-オクタデカン二酸、t10, c12-オクタデカン二酸及びt10, t12-オクタデカン二酸からなる群から選ばれる共役リノール酸を含有する哺乳類体内で白血球の数を増加させるための薬剤。

【発明の詳細な説明】

発明の技術分野

本発明は、一般的に、ヒトを含む動物の治療方法に関する；特に、前記動物のアレルギー性応答を弱毒化するための動物の治療方法に関する。動物のアレルギー性応答を弱毒化することは、喘息等の様々な状態に有用であり得ることが知られている。

発明の背景

アレルギーは、数種類の過敏性(hypersensitivity)を記述するのに一般的に使用される用語である。過敏性は通常、ローマ数字I～IVにより4つのタイプに分類される。タイプI～IIIの過敏性は抗体により媒介され、タイプIVはリンパ球により媒介されられている。

喘息、枯草熱及び湿疹は、IgE抗体により媒介されるタイプI型の過敏症であると考えられており、かなりのパーセントのヒトに存在する。先進諸国の多くで喘息の死亡率が過去10～15年間で増加したとの一般的な合意が得られている。診断及び治療技術に関する情報ベースの向上並びに新規かつより効果的な治療様式の発達にも関わらずこの増加が起こったのである。この増加に関して、国際疾病分類ver. 8からver. 9で喘息に関する記載が変化したことに基づく統計学的な誤報、悪化した環境汚染、医療援助の調査の遅れ、習慣の変化、患者及び一次医療提供者の双方の喘息教育の不足、アゴニストの毒性及び薬物療法の不承諾を含む、幾つかの解釈が提案されている。我々の食生活の習慣の変化も同様に寄与しているとの示唆がされている。飽和脂肪及びコレステロールの摂取を少なくすることを強調してきた結果、ポリ不飽和脂肪の消費がより大きくなり、その結果、体脂肪におけるポリ不飽和リノール酸のパーセンテージが2倍になった。喘息に与える食物成分の影響を調査した唯一発行されている結果は、食物魚油が喘息及び他の炎症性疾患に陽性的影響を与えることを示している。

IgE媒介過敏症又はタイプI過敏症はまた、抗原による再攻撃に与える影響が数分以内であると認識されているため、“速効性過敏症”といわれる場合もある。肥満細胞及び好塩基性球におけるレセプターに対するIgE抗体の結合に依存する。抗原による結合した抗体の架橋により、肥満細胞及び好塩基性球の脱顆粒に到り、及び顆粒から放出される有害な型の炎症反応を引き起し得るヒスタミン等の媒介物と一緒に、生物学的に活性な物質の合成に致る。

何が肥満細胞及び好塩基性球を活性化し、顆粒から媒介物を脱顆粒及び放出するのか確実には知られていない。しかしながら、脱顆粒又は活性化により、アレルギー性反応の臨床的な徴候の原因であると思われるプロスタグランジン及びロイコトリエンを放出するようになる。媒介物の幾つかは、好酸性球、好中球、単球、及びリンパ球等の他の細胞に作用して、組織に対して攻撃するか又は毒性である他の物資を産生し、さらなる臨床的な徴候に到る可能性がある。どのような機構であっても、タイプI過敏症攻撃の最終的な結果は、非常に深刻で、死に到ることさえあり得る。

動物体内でタイプI過敏症の有害作用を予防又は抑制することによるアレルギー性応答を弱毒化する方法及びそのような有害作用を治療又は軽減する方法のいずれも明らかに役にたつであろう。

発明の簡単な概要

本発明の目的の一つは、動物体内でタイプI又はIgE媒介過敏性の有害作用を予防又は抑制する方法を開示することである。

10

20

30

40

50

本発明の目的はまた、ヒトを含む動物のタイプⅠ又はIgE媒介過敏性により引き起こされる有害作用を治療又は軽減する方法を開示することである。

本発明の目的はまた、複合リノール酸（CLA）を使用する白血球の保存方法を開示することである。

我々は、安全かつ効果的な量の複合リノール酸（CLA）9,11-オクタデカン二酸及び10,12-オクタデカン二酸（CLA）又は動物体内でCLAに変換される物質を動物に投与することを含む方法により、動物体内でタイプⅠ又はIgE媒介過敏性の有害作用を抑制又は予防することができることを見いだした。

我々はまた、タイプⅠ又はIgE媒介過敏性の有害作用を経験している動物にCLAを投与することを含む方法により、これらの有害作用を有益に治療又は軽減することができることを見いだした。

最後に、我々はまた、CLAを使用する白血球の保存方法も見いだした。

上述した目的及び他の利点は、本発明を行うことにより達成することができることは当業者には明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

図1は、コントロールに対するCLAの抗原投与応答曲線のグラフを示す。

図2は、CLAとコントロールで処置したモルモット気管からのプロスタグランジンE₂放出のグラフを示す。

好ましい態様の説明

動物体内でタイプⅠ又はIgE媒介過敏性の有害作用を抑制又は予防するための本発明の好ましい方法において、安全かつ効果的な量の、複合リノール酸（CLA）又は動物体内でCLAに変換される物質を、ヒトを含む動物に投与し、これらの有害作用の始まりを抑制又は予防する。

動物体内でタイプⅠ又はIgE過敏性の有害作用を有益に治療又は軽減するための本発明の好ましい方法において、安全かつ効果的な量の、複合リノール酸（CLA）又は動物体内でCLAに変換される物質を、このような有害作用を経験しているヒトを含む動物に投与する。動物体内でタイプⅠの過敏性がどのような機構で有害作用を引き起こすかは知られていない。しかしながら、ウイルス感染によりタイプⅠの過敏性が引き起こされるか又は動物がそれらに対して影響されやすくなり、何らかの形でCLAがウイルス開始応答により干渉されることは考えられる。

CLAは天然の食物材料であり、比較的毒性が少ないため、本発明の方法において投与できる量は、十分効果的である限り重要ではない。しかしながら、ヒトを含む動物の大きさ及び感受性に差があるために、安全かつ効果的な量はかなり変化し得る。

白血球を保存するための好ましい方法において、安全かつ効果的な量のCLAと保存する白血球とを混合する。使用するCLAの量は、通常、白血球の約0.1～約1重量%である。

本明細書において、用語CLAは、9,11-オクタデカン二酸及び10,12-オクタデカン二酸等のフリーの複合リノール酸；CLAの活性異性体；それらの非毒性塩；それらの活性エステル及び他の活性化学誘導体；及びそれらの混合物を含む。

フリーの複合リノール酸（CLA）は、油で揚げた肉から前もって単離されたもので、Y.L.Ha, N.K. Grimm and M.W. Pariza, Carcinogenesis Vol. 8, No. 12, pp. 1881-1887 (1987) により抗癌性物質として記載されている。その時以来、幾つかのプロセスチーズ製品に見いだされている（Y.L. Ha, N.K. Grimm and M.W. Pariza, J. Agric. Food Chem., Vol. 37, No.1, pp.75-81 (1987)）。

フリーのアミノ酸型のCLAは、リノール酸を異性化することにより製造できる。フリーCLA酸の非毒性塩は、フリーのCLA酸と非毒性塩基とを反応させることにより製造できる。天然のCLAはまた、反芻胃内細菌Butyrivibrio fibrisolvents等の無害な微生物由来のW¹²-シス、W¹¹-トランス異性化酵素の作用によりリノール酸から製造できる。ラット及び他の単胃動物の腸管内の無害な微生物はまた、リノール酸をCLAに変換することができる（S.F. Chin, W.Liu, K.Albright and M.W.Pariza, 1992, FASEB J. 6:Abstract #2665）。

CLAはまた、リノール酸からCLAを合成するバクテリアを使用することにより製造すること

10

20

30

40

50

ができる。得られるCLAは、発酵プロセスから安定かつ容易に抽出される。

CLAを供給する他の簡便な方法は、もともとCLAが豊富な牛乳を使用することによる。牛乳は、フリーのリノール酸源と無害なバクテリアとを牛乳に添加し、その混合物を37℃で約1時間又はリノール酸がCLAに変換されるまでインキュベートすることにより製造できる。

記載した製造方法を行うことにより得られるCLAは、1種以上の9,11-オクタデカン二酸及び/又は10,12-オクタデカン二酸及びそれらの活性異性体を含む。フリーでもエステル結合を通して化学的に結合していてもよい。CLAは熱安定であり、そのまま、又は乾燥及び粉末化して使用することができる。CLAは、化学的に当量のフリーの酸と水酸化アルカリとをpH約8~9で反応させることにより、ナトリウム又はカリウム塩等の非毒性塩に容易に変換される。

理論的に、9,11-及び10,12-オクタデカン二酸の8組の可能性のある幾何異性体(c9, c11; c9, t11; t9, c11; t9, t11; c10, c12; c10, t12; t10, c12及びt10, t12)は、c9, c12-オクタデカン二酸の異性体化から製造される。異性体化の結果、4組の異性体(c9, c11; c9, t11; t10, c12及びc10, c12)のみが予想される。しかしながら、4組の異性体のうち、共役二重結合の周りの5つの原子の共面特性及び共鳴基の空間的な衝突のため、c9, c12-リノール酸の自動酸化又はアルカリ異性体化中に、c9, t11-及びt10, c12-異性体が優先的に製造される。残りの2組のc, c-異性体の寄与は小さい。

9,11-オクタデカン二酸又は10,12-オクタデカン二酸のt, t-異性体の分布が比較的大きいのは、延長した処理時間又は長いエージング時間の間、熱力学的に好まれる、c9, t11-又はt10, c12-幾何異性体のさらなる安定化に明らかに起因する。また、リノール酸幾何異性体(t9, t12-, c9, t12-及びt9, c12-オクタデカン二酸)の異性体化中に優先的に形成される9,11-又は10,12-オクタデカン二酸のt, t-異性体は、サンプル中の最終的な異性体比又は最終的なCLA含有量に影響を与え得る。

リノール酸幾何異性体はまた、寄与の小さい異性体(9,11-及び10,12-のc, c-異性体、t9, c11-及びc11, t12-オクタデカン二酸)の分布にも影響を与える。11,13-異性体は、c9, c12-オクタデカン二酸から又は処理中にその異性体形からの少ない生成物として製造することができる。

本発明の方法はいくつかの態様を取り得る。一態様において、投与するCLAは単に動物又はヒトの食物に添加される。別の態様において、CLAは、安全かつ効果的な量のCLAを含有する医薬的又は獣医薬的な形態で動物に投与することができる。第三の態様において、動物に、安全な量の、動物又はヒトの体内でin situでCLAに形成され得るフリーのリノール酸等の物質を与えることができる。

CLA及び非毒性塩等のその非毒性誘導体は、動物の食物に添加されるか又は、in situで形成されるのに加えて、錠剤、カプセル剤、溶液又は乳剤等の、医薬的又は獣医薬的組成物の形態で動物又はヒトに投与することができる。投与する正確な量はもちろん、使用するCLAの形態、投与方法、及び動物又はヒトの状態の性質に依存する。一般的に、医薬として使用するCLA及びその非毒性塩の使用量は、動物又はヒトの食物中のCLAの約1ppm~約10,000ppmの範囲である。しかしながら、CLAは比較的非毒性であり、ヒトの食物(ヒトの乳も含む)の共通の成分であるため、使用する量の上限は重要ではない。添加剤として、慣用の動物の食事又はヒトの食物に添加される量は、動物又はヒトの食物の0.01~2.0重量%以上の範囲であり得る。

CLAの好ましい医薬的及び獣医薬的組成物は、医薬的希釈剤と組み合わせた、CLAの非毒性ナトリウム又はカリウム塩を含有する。組成物が外部又は経口投与を目的とした水剤又は懸濁剤である場合、希釈剤は、1種以上の液体希釈剤である。製品が錠剤又はカプセル剤であるとき、慣用的な希釈剤を使用することができる。組成物が非経口投与を目的とした水剤又は懸濁剤である場合、好ましい希釈剤は、無菌注射用水U.S.Pである。

以下の実施例によりさらに本発明を詳細に説明する。

実施例 1

モルモットは、喘息治療に使用する物質の前臨床試験に有用なモデルであることが認めら

10

20

30

40

50

れている (M.G. Compos and M.K. Church, Clinical and Experimental Allergy, 1992, Volume 22, pages 665-666)。それ故、モルモットモデルを使用してアレルギー性応答に与える食物性CLA (複合リノール酸) の影響を測定した。

モルモットに0.25%CLA又はコントロール食物を2週間与え、過免疫化 (hyper immunization) のために第2及び第3週にオボアルブミンで免疫化した。モルモットを安楽死させ、気管を集めて灌流モデル系において使用し、CLAを与えたとき、アレルギー誘発気管収縮にどのような影響を与えるかを検討した。(灌流モデル系は、切除した組織をポリグラフに接続し、ポリグラフのオフセットによる収縮を測定することからなる。) CLAを与えたモルモットの気管は、灌流系において、コントロール食物を与えたモルモットの気管よりも安定であることが分かった (すなわち、平衡中に組織をベースライン応力に戻すための補正の必要性が少ない)。アレルギーをモルモットの気管に注入すると、平衡の1時間後で、より少ない気管収縮がCLAを与えた動物の組織において観察された。減少した気管収縮は、酵素結合免疫吸着検定法により測定される増加したプロスタグランジンE₂の放出に対応する。これらの結果を図1及び2に示す。ヒスタミン放出は食物により影響されなかった。

10

実施例2

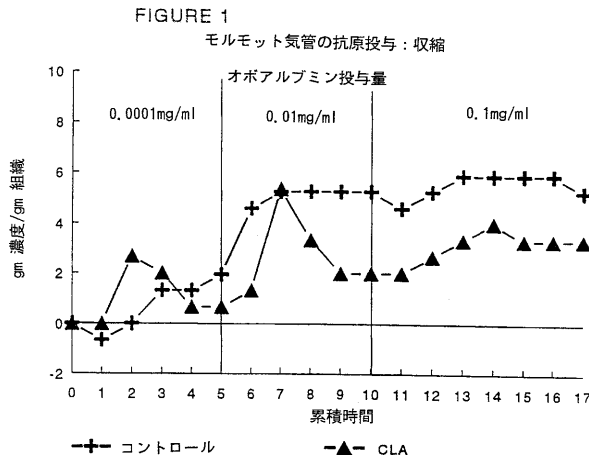
CLAを与えた動物の白血球 (WBC) 数は、コントロール動物のWBC数が $2.4 \times 10^6/\text{ml} \pm 0.3$ (平均 \pm SEM) であったのと比較して、 $3.5 \times 10^6/\text{ml} \pm 0.6$ まで増加した。このように、CLAを与えることは、哺乳類のWBC数を増加させる方法として使用することができる。

20

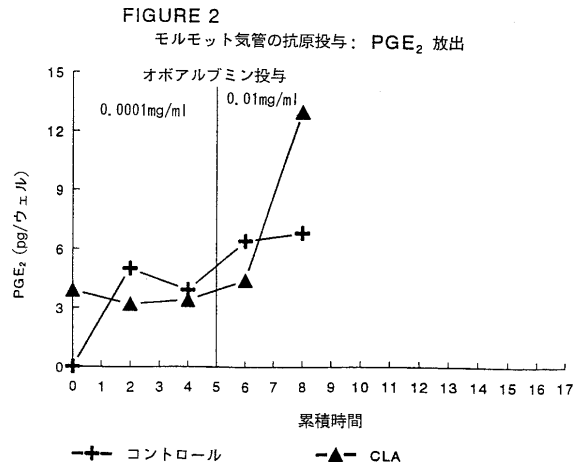
実施例3

CLA (1重量%) を、39 で保存した、単離したヒト白血球に添加した。約12時間正常に持続する白血球の生存度は、CLA添加により24時間まで長くなることが分かった。この、白血球の有益な生命が延びることにより、白血球の浪費を避ける助けをする。本発明の趣旨及び範囲から離れずに多くの修正又は変更ができることは当業者には容易に明らかにであろう。それ故、本発明は請求の範囲によりのみ制限される。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(74)代理人

弁理士 今城 俊夫

(74)代理人

弁理士 小川 信夫

(74)代理人

弁理士 村社 厚夫

(72)発明者 クック マーク イー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 5 マディソン ケウオーニー コート 1 5

(72)発明者 パリーザ マイケル ダブリュー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 1 9 マディソン ヴァルハーラ トレイル 7 1 0
2

(72)発明者 クック エリン ビー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 5 マディソン ケウオーニー コート 1 5

(72)発明者 スタール ジェームズ エル

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 5 マディソン オフショアドライブ 6 6 4 8

(72)発明者 グラジアノ フランク エム

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 5 7 5 オレゴン ティッペラリー ロード 8 5 2

審査官 大野 晃

(56)参考文献 Terry D. Shultz et al., Anticancer Research, 1 9 9 2 年, Vol.12, p.2143-2145

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

A61K 31/201

C12N 5/06

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)

MEDLINE(STN)

BIOSIS(STN)

EMBASE(STN)

WPIDS(STN)

JMEDPlus(JDream2)