(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
2006 年12 月14 日 (14.12.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/132406 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 45/00 (2006.01) *C12Q 1/02* (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2006/311704

(22) 国際出願日: 2006 年6 月6 日 (06.06.2006)

(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2005-169851 2005 年6 月9 日 (09.06.2005) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 萬有製薬株式会社 (BANYU PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1028667 東京都千代田区九段北一丁目１３番１２号 北の丸スクエア Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鈴木 順 (SUZUKI, Jun) [JP/JP]; 〒3002611 茨城県つくば市大久保３番地 萬有製薬株式会社 つくば研究所内 Ibaraki (JP). 守屋 隆一 (MORIYA, Ryuichi) [JP/JP]; 〒3002611 茨城県つくば市大久保３番地 萬有製薬株式会社 つくば研究所内 Ibaraki (JP). 廣瀬 博康 (HIROSE, Hiroyasu) [JP/JP]; 〒3002611 茨城県つくば市大久保３番地 萬有製薬株式会社 つくば研究所内 Ibaraki (JP). 金谷 章生 (KANATANI, Akio) [JP/JP]; 〒3002611 茨城県つくば市大久保３番地 萬有製薬株式会社 つくば研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 共通の代表者: 萬有製薬株式会社 (BANYU PHARMACEUTICAL CO., LTD.); 〒1028667 東京都千代田区九段北一丁目１３番１２号 北の丸スクエア 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, 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

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: NPY Y2 AGONIST FOR USE AS THERAPEUTIC AGENT FOR DISEASE ACCOMPANIED BY DIARRHEA

(54) 発明の名称: 下痢を伴う疾患の治療剤としてのNPY Y2アゴニスト

(57) Abstract: An NPY Y2 agonist is used as a therapeutic agent for a disease accompanied by diarrhea. A compound capable of treating the disease can be evaluated and screened by examining the compound on the targeting to an NPY Y2 receptor. An agent capable of inhibiting the diarrhea by a novel mechanism of action; and a method for evaluation of a compound, including the screening for the agent.

(57) 要約: 下痢を伴う疾患の治療剤としてNPY Y2アゴニストを使用する。また、NPY Y2受容体を標的とした化合物の評価を行うことにより、前記疾患の治療を可能とする化合物の評価、スクリーニングが可能となる。すなわち、本発明により、新規な作用メカニズムにより下痢の抑制を可能とする薬剤を提供すること、及び、当該薬剤のスクリーニングをはじめとする化合物の評価方法を提供することが可能となる。

WO 2006/132406 A1

明 細 書

下痢を伴う疾患の治療剤としてのNPY Y2アゴニスト

技 術 分 野

本発明は、NPY Y2アゴニストの、下痢を伴う疾患の治療を目的とした新規用途に関する。また、NPY Y2を標的とする、下痢を伴う疾患に治療に有効な化合物の評価方法に関する。

背 景 技 術

NPY (neuropeptideY) は36アミノ酸からなるペプチドであり、1982年、立元らにより豚脳より単離された (Nature、296巻、659頁、1982年：非特許文献1)。NPY は中枢神経系及び末梢神経系に広く分布し、神経系における最も多量に存在するペプチドの一つとして、生体において多様な機能を司っている。

すなわち、NPY は中枢において食欲促進物質として働くとともに、各種ホルモンの分泌又は神経系の作用を介して脂肪蓄積を顕著に促進する。例えば、NPY の脳室内連続投与はこれらの作用に基づき、肥満及びインスリン抵抗性を誘発することが知られている。また、NPY は、うつ病、不安、精神分裂、痛み、痴呆及び概日リズムの調節などの中枢作用を持つことが知られている。さらに、NPY は、末梢において、交感神経終末にノルエピネフリンと共存し、交感神経系の緊張性と関係している。NPY の末梢投与は血管収縮を引き起こし、またノルエピネフリンを初めとする他の血管収縮物質の作用を増強することが知られている。

NPY は、その類縁体であるペプタイド YY (Peptide-YY：以下、PYY と称する) 及びパンクレアティック・ポリペプタイド (Pancreatic Polypeptide：以下、PP と称する) と一部共通の受容体を介して、多種多様な薬理作用を有する。これら NPY による薬理作用はNPY Y1 から Y5 といった、少なくとも5種類の受容体の単独あるいは相互作用を介して惹起されることが知られている(Trends in Neuroscience、20巻、294頁、1997年：非特許文献2)。

NPY Y2 受容体は、1995 年に Rose らによってクローニングされた（J. Biol. Chem、270 巻、22661 頁、1995 年：非特許文献３；J. Biol. Chem、270 巻、26758 頁、1995 年：非特許文献４、等）。NPY Y2 受容体は 7 回膜貫通構造を有し、Y1 受容体とアミノ酸レベルで 31％の相同性を示す。ノーザン解析の結果から、脳に強く発現し、小腸で弱い発現が見られるが、Y1 受容体のような広範な組織での発現は見られない。脳においては、特に大脳皮質、海馬に強く発現する一方、小脳や脊髄では殆ど発現が見られない。

NPY 及び関連ペプチドの機能は、中枢又は末梢神経系に存在する NPY 受容体に結合することにより発現される。したがって、NPY 及び関連ペプチドの NPY 受容体との結合を阻害すればこれらの薬理作用発現を阻止することができる。その結果、NPY 及び関連ペプチドの NPY 受容体結合に拮抗する物質は NPY 及び関連ペプチドが関与する各種疾患、例えば狭心症、急性・うっ血性心不全、心筋梗塞、高血圧、腎臓病、電解質異常、血管れん縮等の循環器系疾患、例えば過食症、うつ病、不安、痙攣、てんかん、痴呆、痛み、アルコール依存症、薬物の断薬に伴う禁断症状、概日リズムの変調、統合失調症、記憶障害、睡眠障害、認知障害等の神経系疾患、例えば肥満症、糖尿病、ホルモン分泌異常、痛風、脂肪肝等の代謝性疾患、不妊、早産、性機能障害等の生殖系疾患、消化管系疾患、呼吸器系疾患、炎症性疾患又は緑内障等の予防又は治療における有用性が期待できる。

このように、NPY 及び関連ペプチドとその受容体の生体内の機能の解明が前述の各種疾患に対する治療薬や診断薬の開発に繋がることから、NPY や NPY 受容体を標的とした創薬研究が急速に進められている。

一方、下痢症、過敏性腸症候群（irritable bowel syndrome：IBS）のような下痢を伴う疾患は、消化器の疾患としてのみならず、現代の生活習慣を反映した慢性病として問題となっており、その症状を抑えるために既に多くの医薬が利用されている。このような医薬としては、鎮痙薬、乳酸菌製剤、抗菌剤、抗炎症薬、消化管運動調律薬などが知られており、メカニズムの観点から、ムスカリン拮抗薬、セロトニン拮抗薬、μオピオイド作動薬などが知られている（Drug & Aging、18 巻、201 頁、2001 年：非特許文献５）

（非特許文献１）Nature、296 巻、659 頁、1982 年

（非特許文献２）Trends in Neuroscience、20巻、294頁、1997年

（非特許文献３）J. Biol. Chem、270巻、22661頁、1995年

（非特許文献４）J. Biol. Chem、270巻、26758頁、1995年

（非特許文献５）Drug & Aging、18巻、201頁、2001年

発明の開示

しかしながら、下痢を抑える薬剤として、より副作用が少なく、新たなメカニズムの薬剤が望まれているのが現状であった。

本発明は、上記従来技術の有する課題に鑑みてなされたものであり、新規な作用メカニズムにより下痢の抑制を可能とする薬剤を提供することを目的とする。また、当該薬剤のスクリーニングをはじめとする化合物の評価方法を提供することを目的とする。

本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、NPY Y2アゴニストが腸の運動を抑制し、下痢を抑える働きをすることを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明のNPY Y2アゴニストは、下痢を伴う疾患の治療剤であることを特徴とする。

また、本発明のNPY Y2アゴニストは、前記NPY Y2アゴニストがNPY類縁体であることを特徴とする。

また、本発明のNPY Y2アゴニストは、前記NPY Y2アゴニストが配列番号１に記載のアミノ酸配列を含むペプチドであることを特徴とする。

また、本発明のNPY Y2アゴニストは、前記NPY Y2アゴニストが配列番号１に記載のアミノ酸配列からなるペプチドであることを特徴とする。

さらに、本発明のNPY Y2アゴニストは、前記NPY Y2アゴニストが、配列番号１に記載のアミノ酸配列において１又は２以上のアミノ酸の置換、欠失、付加又は挿入を有するペプチドであることを特徴とする。

また、本発明のNPY Y2アゴニストは、前記疾患が下痢症又は過敏性腸症候群であることを特徴とする。

また、本発明の下痢を伴う疾患の治療剤は、上述のNPY Y2アゴニストを含むことを特徴とする。

また、本発明の化合物の評価方法は、下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、NPY Y2 遺伝子を導入し、NPY Y2 を発現する細胞を調製する工程と、当該細胞に被検化合物を接触させる工程と、当該 NPY Y2 に対する該被検化合物の特異的結合を検出する工程と、を含むことを特徴とする。

さらに、本発明の化合物の評価方法は、下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、NPY Y2 遺伝子を導入し、NPY Y2 を発現する細胞を調製する工程と、当該細胞に被検化合物を接触させる工程と、当該接触により生じた細胞内情報伝達物質の活性を測定する工程と、当該活性と被検化合物を接触させない場合の該細胞内情報伝達物質の活性とを比較する工程と、を含むことを特徴とする。

また、本発明の化合物の評価方法は、下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、NPY Y2 遺伝子を導入し、NPY Y2 を発現する細胞を調製する工程と、当該細胞に被検化合物を接触させる工程と、当該 NPY Y2 又は NPY Y2 を介した細胞内情報伝達物質の発現レベルを測定する工程と、該接触前と比較して、NPY Y2 又は NPY Y2 を介した細胞内情報伝達物質の発現レベルを増加又は減少させた被検化合物を選択する工程と、を含むことを特徴とする。

さらに、本発明の化合物の評価方法は、下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、被検化合物を、NPY Y2 に接触させる工程と、当該接触による NPY Y2 の活性の変化を検出する工程と、を含むことを特徴とする。

また、本発明の化合物の評価方法は、前記化合物が NPY Y2 アゴニストであることを特徴とする。

さらに、本発明の NPY Y2 リガンドは、上述の化合物の評価方法により単離されたことを特徴とする。

本発明によれば、新規な作用メカニズムによる下痢の抑制を可能とする薬剤を提供することが可能となる。また、このような薬剤のスクリーニングをはじめとする、下痢抑制作用を有する化合物の評価方法を提供することが可能となる。

図面の簡単な説明

図 1 は、NPY 又は PYY3-36 投与によって生じた消化能の変化を示す図である。

図 2 は、PYY3-36 投与によって生じた排糞量の経時的な変化を示す図である。

図３は、PYY3-36 投与後４時間の総排糞量を示す図である。

図４は、下痢モデル動物に PYY3-36 及び各種薬剤を投与した際の排糞量の変化を示す図である。

図５は、下痢モデル動物に PYY3-36 及び各種薬剤を投与後４時間の総排糞量を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の好適な実施形態について詳細に説明する。

本発明にかかる「NPY Y2」とは、上述したように、NPY の受容体として機能する７回膜貫通構造の分子をいう。また、由来となる生物種は特に限定されず、例えば、ヒト、サル、マウス、ラット、イヌ又はウサギが挙げられる。中でも、本発明の NPY Y2 アゴニストの投与対象や、化合物の評価における評価対象がヒトであることから、ヒト NPY Y2 であることが好ましい。

また、本発明に係る NPY Y2 遺伝子には、NPY Y2 遺伝子と同等の生理機能を有し、NPY 受容体としての機能するタンパク質をコードするものであれば１又は２以上の塩基の置換、欠失、付加又は挿入がある遺伝子も含まれる。ここで、当該遺伝子としては、かかるタンパク質をコードする遺伝子であればその配列は特に制限されないが、相同性が５０％以上であることが好ましく、７０％以上であることがより好ましく、８０％以上であることがさらに好ましく、９０％以上（例えば、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９％以上）であることが特に好ましい。

また、本発明に係る NPY Y2 遺伝子には、NPY Y2 遺伝子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸も含まれる。ここで、「ストリンジェントな条件でハイブリダイズする」とは、二つの核酸断片が、Molecular Cloning : A Laboratory Manual、第２版、コールドスプリングハーバー (1989)、9.47-9.62 及び 11.45-11.61 に記載されたハイブリダイゼーション条件下で、相互にハイブリダイズすることを意味する。より具体的には、例えば、約 45℃にて 6.0×SSC でハイブリダイゼーションを行った後に、50℃にて 2.0xSSC で洗浄する条件が挙げられる。ストリンジェンシー選択のため、洗浄工程における塩濃度を、例えば低ストリンジェンシーとして

の約 2.0xSSC、50℃から、高ストリンジェンシーとしての約 0.2×SSC、50℃まで選択することができる。さらに、洗浄工程の温度を低ストリンジェンシー条件の室温、約 22℃から、高ストリンジェンシー条件の約 65℃まで上昇させることができる。

また、本発明における「下痢を伴う疾患」とは、下痢を伴う疾患・症状であれば特に制限はなく、急性疾患であるか慢性疾患であるかは問わない。このような疾患・症状としては、例えば、下痢症（寄生虫性、細菌性、ウイルス性、物理的刺激、消化不良、精神障害、胃酸分泌不良、消化管の炎症性又はアレルギーを原因とするもの等）、過敏性腸症候群又は潰瘍性大腸炎等が挙げられる。

（1）NPY Y2 アゴニスト

本発明における「NPY Y2 アゴニスト」とは、NPY Y2 受容体を介して細胞内シグナル伝達を引き起こす物質をいい、NPY Y2 作動剤ともいう。また、本発明にかかる NPY Y2 アゴニストは、NPY Y2 受容体に親和性を示し、アゴニストとして機能する分子であればその分子種は特に制限されない。このような分子としては、例えば、低分子化合物、タンパク質、ペプチドを挙げることができる。前記低分子化合物としてもその種類は特に制限されず、具体的には、例えば、天然化合物、有機化合物又は無機化合物が挙げられる。また、前記ペプチドとしてもその種類は特に制限されず、具体的には、例えば、NPY の類縁体であるペプタイド YY(例えば、PYY3-36)、NPY13-36、[Leu31,Pro34]NPY、Ac-NPY(24-36)[Leu28, Leu31]が挙げられる。

前記の PYY3-36（配列番号１）は、NPY と６９％の相同性を有する PYY（配列番号２）においてN末端の２アミノ酸が欠失したペプチドであり、摂食を抑制する分子として知られている（Nature、418 巻、650 頁、2002 年）。PYY3-36 及び PYY はいずれも NPY と類似の活性を有し、NPY 受容体に対してアゴニストとしての親和性を有する。

PYY3-36 は、配列番号１に記載のアミノ酸配列を有するが、NPY Y2 アゴニストとしての機能を有し且つ当該アミノ酸配列において１又は２以上のアミノ酸の置換、欠失、付加又は挿入を有するペプチドも本発明の NPY Y2 アゴニストに含まれる。かかる置換、欠失、付加又は挿入のアミノ酸数としては、NPY Y2 アゴニストとしての機能を有する限り特に制限はないが、１～１０アミノ酸であることが好ましく、１～８アミノ酸であることがより好ましく、１～５アミノ酸であることがさらに好ま

しく、１～３アミノ酸であることが特に好ましい。

本発明のNPY Y2アゴニストは、化合物であれば化合物種に応じた当業者に公知の合成法により合成することができる。また、化合物が天然物由来であれば、当該天然物より所定の抽出方法により精製することができる。さらに、当該アゴニストがペプチドであれば、当業者に公知の方法により合成することができる。

本発明のNPY Y2アゴニストをヒトや他の動物の医薬として使用する場合には、これらの物質自体を直接患者に投与する以外に、公知の製剤学的方法により製剤化して投与を行うことも可能である。例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤として経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、又は懸濁液剤の注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、薬理学上許容される担体若しくは媒体、具体的には、滅菌水や生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定剤、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、結合剤等と適宜組み合わせて、一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製剤化することが考えられる。

錠剤、カプセル剤に混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸のような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖又はサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油又はチェリーのような香味剤が用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記の材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用蒸留水のようなベヒクルを用いて通常の製剤実施に従って処方することができる。

注射用の水溶液としては、例えば生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液、例えばD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、塩化ナトリウムが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール、具体的にはエタノール、ポリアルコール、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、非イオン性界面活性剤、例えばポリソルベート80（TM）、HCO-50と併用してもよい。

油性液としてはゴマ油、大豆油があげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールと併用してもよい。また、緩衝剤、例えばリン酸塩緩衝液、酢

酸ナトリウム緩衝液、無痛化剤、例えば、塩酸プロカイン、安定剤、例えばベンジルアルコール、フェノール、酸化防止剤と配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填させる。

患者への投与は、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射などのほか、鼻腔内的、経気管支的、筋内的、経皮的、または経口的に当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、当該アゴニストがDNAによりコードされうるものであれば、当該DNAを遺伝子治療用ベクターに組込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。投与量、投与方法は、患者の体重や年齢、症状などにより変動するが、当業者であれば適宜選択することが可能である。

NPY Y2アゴニストの投与量は、症状により差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約0.1から100mg、好ましくは約1.0から50mg、より好ましくは約1.0から20mgであると考えられる。

非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法によっても異なるが、例えば注射剤の形では通常成人（体重60kgとして）においては、通常、1日当り約0.01から30mg、好ましくは約0.1から20mg、より好ましくは約0.1から10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合であると考えられる。

（2）化合物の評価

NPY Y2遺伝子又はタンパク質を用いて、NPY Y2に作用する化合物の評価をすることができる。NPY Y2に対する作用を検出する方法として、被検化合物の当該受容体に対する特異的結合を検出する方法、被検化合物の接触によって変化した遺伝子の発現量を検出する方法、及び、当該接触によって生じたNPY Y2を介した細胞内情報伝達の活性を検出する方法が挙げられる。以下、順に説明する。

先ず、被検化合物の当該受容体に対する特異的結合を検出することにより、被検化合物を評価する方法について説明する。

本発明の化合物の評価方法は、NPY Y2遺伝子を導入し、NPY Y2を発現する細胞を調製する工程と、当該細胞に被検化合物を接触させる工程と、当該NPY Y2に対する当該被検化合物の特異的結合を検出する工程と、を含むことを特徴とする。

また、本発明の第２の化合物の評価方法は、NPY Y2 遺伝子を導入し、NPY Y2 を発現する細胞を調製する工程と、当該細胞に被検化合物を接触させる工程と、当該接触により生じた細胞内情報伝達物質の活性を測定する工程と、当該活性と被検化合物を接触させない場合の該細胞内情報伝達物質の活性とを比較する工程と、を含むことを特徴とする。

被検化合物としては、特に制限はなく、例えば、天然化合物、有機化合物、無機化合物、タンパク質、ペプチド等の単一化合物、並びに、化合物ライブラリー、遺伝子ライブラリーの発現産物、細胞抽出物、細胞培養上清、発酵微生物産生物、海洋生物抽出物、植物抽出物、原核細胞抽出物、真核単細胞抽出物若しくは動物細胞抽出物等を挙げることができる。上記被験試料は必要に応じて適宜標識して用いることができる。標識としては、例えば、放射標識、蛍光標識等を挙げることができる。また、上記被験試料に加えて、これらの被験試料を複数種混合した混合物も含まれる。

また、NPY Y2 遺伝子を発現する細胞は、当業者が公知の方法で調製すればよく、具体的な方法としては特に制限はないが、例えば以下の方法によることができる。すなわち、NPY Y2 遺伝子又はその一部からなる核酸を好適なプロモーター及び転写調節エレメントを含む発現ベクターにクローニングし、クローニングされた核酸を有するベクターを宿主細胞に導入することにより調製する。ここで、前記ベクターとしては、発現ベクターとして利用可能なものであれば特に限定されないが、例えば、pCMV-Tag、pcDNA3.1、pBlueBacHis2、pCI-neo、pcDNAI、pMClneo、pXT1、pSG5、pEF1/V5-HisB、pCR2.1、pET11、λgt11 又は pCR3.1 が挙げられる。

次に、NPY Y2 遺伝子又はその一部からなる核酸が導入された発現ベクターを宿主細胞に導入する。かかる宿主細胞としては、遺伝子の発現に通常使用されるものであれば特に限定されず、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、微生物のいずれであってもよく、具体的には、例えば、COS1、COS7、CHO、NIH/3T3、293、Raji、CV11、C1271、MRC-5、CPAE、HeLa、293T 又は Sf9 が挙げられる。また、発現ベクターを宿主細胞に導入する方法としては、公知の方法であれば特に限定されないが、具体的には、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム法、DEAE-デキストラン法、リポフェクション法又は遺伝子銃が挙げられる。

次に、このようにして調製したNPY Y2を発現する細胞に被検化合物を接触させる。接触させる方法としては特に制限はなく、例えば、NPY Y2が精製された状態であれば、精製標品に被験試料を添加することにより行うことができる。また、細胞内（細胞膜上を含む）に発現した状態又は細胞抽出液内に発現した状態であれば、それぞれ、細胞の培養液または当該細胞抽出液に被験試料を添加することにより行うことができる。被験試料がタンパク質の場合には、例えば、当該タンパク質をコードするDNAを含むベクターを、NPY Y2が発現している細胞へ導入する、または当該ベクターをNPY Y2が発現している細胞抽出液に添加することで行うことも可能である。

細胞表面に発現した受容体と被検化合物との結合は、例えば、結合した化合物に付された標識による検出（例えば、結合量を放射活性や蛍光強度による検出）のほか、被検化合物の細胞表面上の前記受容体への結合によって生じた細胞内へのシグナル伝達（例えば、G タンパク質の活性化、cAMP、または Ca2+の濃度変化(FLIPR（Fluorometric Imaging Plate Reader）等が使用できる)、ホスホリパーゼ Cの活性化、pHの変化、受容体のインターナリゼーション）を指標に検出することができる。また、前記シグナル伝達によって生じたシグナル伝達上の分子（NPY Y2も含む）の発現レベルや活性を指標にすることもできる。ここで、当該発現レベルを指標とする場合、発現レベルの測定法は特に制限されないが、例えば、ノーザンブロッティング、ウェスタンブロッティング又はＤＮＡチップが挙げられる。ここで、本発明における「発現レベル」とは、NPY Y2を介した情報伝達経路上に存在するタンパク質をコードする遺伝子の転写産物の絶対量又は相対量をいう。この場合、当該遺伝子にはＤＮＡ又はｍＲＮＡのいずれもが含まれる。また、発現の検出対象がタンパク質の場合、その「発現レベル」とは、NPY Y2を介した情報伝達経路上に存在するタンパク質の翻訳産物の絶対量又は相対量をいう。また、シグナル伝達上の分子の活性を指標にする場合、活性測定方法は特に制限されず、測定の対象となる分子の種類によって好適な方法を選択すればよい。

一方、単離されたNPY Y2タンパク質を化合物の評価に直接使用することもできる。すなわち、被検化合物をNPY Y2に接触させ、次に、接触によって生じたNPY Y2タンパク質の活性の変化を検出する方法である。

かかる接触の方法としては特に制限はなく、具体的には、例えば、緩衝液（リン

酸緩衝液等）等の溶液中で混合することにより接触させる方法や、NPY Y2 タンパク質をメンブレン上に固定し、メンブレン上で被検化合物と接触させる方法が挙げられる。

次に、接触によって生じた NPY Y2 の活性の変化を検出する。

タンパク質の活性測定方法としては、使用するタンパク質の性質により適宜設定すればよく、具体的には、例えば、NPY Y2 に対するリガンドの結合活性を指標にする方法が挙げられる。

前記のリガンドの結合活性を指標にする方法としては特に制限はないが、具体的には、例えば、NPY Y2 が固定されたメンブレンに対する被検化合物の親和性を測定することによって結合活性を測定する方法が挙げられる。ここで用いられる被検化合物は、検出が容易なように放射性同位体等で標識されていてもよい。また、前記結合活性の検出方法として、放射性同位体で標識したリガンドと競合して NPY Y2 へ結合する化合物を検出する方法も挙げられ、かかる方法を用いた場合には、被検化合物の標識は不要である。

以上のように、本発明の化合物の評価方法により化合物を検出した結果、被検化合物の存在下における結合活性が、被検化合物の非存在下における結合活性（対照）より低い値を示した場合には、当該被検化合物は、本発明に係る NPY Y2 とリガンドとの結合を阻害する活性を有すると判定される。このような化合物は、前記受容体に結合して細胞内へのシグナル伝達を誘導する活性を有する化合物（アゴニスト）及び当該活性を有しない化合物（アンタゴニスト）等が含まれる。アゴニストは、前記受容体に対するリガンド及びそのアナログと同様の生理活性を有しており、一方、アンタゴニストは、前記受容体に対するリガンド及びそのアナログが有する生理活性を抑制する。このため、これらアゴニストやアンタゴニストは、本発明に係る NPY Y2 を介したシグナル伝達系の異常などに起因する疾患の治療などのための医薬組成物として有用である。

また、本発明の化合物の評価方法により、NPY Y2 への被検化合物結合後の細胞内シグナル伝達を促進又は阻害する物質のスクリーニングを行うことができる。すなわち、上述した方法によって複数の被検化合物を評価することにより、アゴニスト又はアンタゴニストとして機能する化合物を選択することができる。かかる選択の

結果、被検化合物非存在下においてリガンド及びそのアナログを作用させた場合の細胞内シグナル伝達の変化と比較して、その変化が抑制されれば、当該被検化合物は、NPY Y2への被検化合物結合後の細胞内シグナル伝達を阻害する化合物であると判定される。逆に、被検化合物が細胞内シグナル伝達を増強させれば、当該化合物は、NPY Y2への被検化合物結合後の細胞内シグナル伝達を促進する化合物であると判定される。このようなスクリーニング方法によって選択された化合物は、下痢を伴う疾患の治療又は症状の緩和に有効であり、中でも、NPY Y2アゴニストとして機能する化合物は、特に下痢を伴う疾患の治療又は症状の緩和に有効である。

（実施例）

以下、実施例に基づいて本発明をより具体的に説明するが、本発明は、以下の実施例に限定されるものではない。

（実施例１）

(NPY Y2アゴニスト投与による胃小腸運動能の検討)

NPY Y2アゴニスト投与による胃小腸運動能の変化を調べるため、下記の試験を行った。

先ず、試験に用いるマウス（C57BL/6）を準備した。マウスは環境を制御した動物室（温度　23℃、相対湿度　55％、照明時間　7:00から19:00）にて床敷をいれたケージに個別飼育し、げっ歯類用餌（CE-2、日本クレア社）および飲料水は自由摂取させた。

次に、マウスにNPY(0.3mg/kg及び3mg/kg)又はPYY3-36(0.3mg/kg及び3mg/kg)を腹腔内投与した後、胃小腸運動能を測定した。同時に、溶媒のみを投与したコントロールマウス(vehicle)を準備し、これについても同様に試験を行った。胃小腸運動能は、次のように測定した。すなわち、チャコール粉末を0.5％メチルセルロース溶液に懸濁してマウスに経口投与し、３０分経過後、胃に入ったチャコールが腸管のどこまで移動したかを解剖して計測した。同時に、胃幽門部から盲腸起始部までの小腸の全長も計測し、チャコールの移動距離の小腸全長に対する割合（％）をGI(gastrointestinal) motilityとしてグラフにプロットした。

図１に示すとおり、NPY又はPYY3-36を投与したマウスはコントロールマウスと比較してGI motilityが低いことが明らかとなった。すなわち、NPY Y2アゴニスト

投与により、胃小腸運動能が抑制されたことが確認できた。

（実施例２）

（NPY Y2 アゴニスト投与による結腸運動の指標として、排糞量の変化の検討）

NPY Y2 アゴニスト投与による結腸運動の指標として、排糞量の変化を調べるため、下記の試験を行った。

試験にはマウス（C57BL/6）を使用し、実施例１と同様の条件で飼育、給餌を行った。

次に、マウスに PYY3-36(3mg/kg)を腹腔内投与し、経時的（１、２、３及び４時間）に排糞量を測定した。同時に、溶媒のみを投与したコントロールマウスについても排糞量の測定を行った。

図２に示すとおり、投与後１時間ですでに排糞量に差が生じはじめ、その後もコントロールマウスと比較して PYY3-36 を投与したマウスの排糞量が有意に少なかった。また、図３に示すとおり、PYY3-36 投与後４時間の総排糞量についてもコントロールマウスと比較して顕著な差が見られた。すなわち、PYY3-36 投与によって結腸腸管運動が抑制され、排便が抑制されたことが確認できた。

（実施例３及び比較例１～２）

（NPY Y2 アゴニスト投与によるひまし油誘発排便及び下痢症状に対する検討）

NPY Y2 アゴニスト投与によるひまし油誘発排便及び下痢症状に対する抑制作用を検討するため、下記の試験を行った。

試験にはマウス（C57BL/6）を使用し、実施例１と同様の条件で飼育、給餌を行った。

次に、マウスに PYY3-36(3mg/kg)及びその他の被験薬（ロペラミド（loperamide）1mg/kg（比較例１）及びアトロピン（atropine）10mg/kg（比較例２））を腹腔内投与し、その投与 15 分後にひまし油（0.3 ml/animal）を経口投与した。経時的（１、２、及び４時間）に排糞量及び下痢スコア（正常 0、軟便 1、水状便 2）を測定した。同時に、溶媒のみを投与しひまし油を投与しなかったマウスについても同様の測定を行った。

図４に示すとおり、PYY3-36 前投与マウスはひまし油処置１時間後ですでに排糞量に抑制が生じており、その後も溶媒＋ひまし油処置コントロールマウスと比較し

て排糞量が有意に少なかった。また、図５に示すとおり、ひまし油処置から４時間後までに観察された最大下痢スコアは、溶媒＋ひまし油処置コントロールマウスと比較してPYY3-36前投与マウスで顕著に抑制された。すなわち、PYY3-36投与によって結腸腸管運動が抑制され、下痢症状の抑制が確認できた。また、既存の止瀉薬であるロペラミド及びアトロピンとの比較においてもPYY3-36の下痢症状の高い抑制効果が見られた。

産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明のNPY Y2アゴニスト及び化合物の評価方法によれば、新規な作用メカニズムによる下痢の抑制を可能とする薬剤を提供することが可能となる。また、このような薬剤のスクリーニングをはじめとする、下痢抑制作用を有する化合物の評価方法を提供することが可能となる。

請　求　の　範　囲

1．下痢を伴う疾患の治療剤であることを特徴とするNPY Y2アゴニスト。

2．前記NPY Y2アゴニストがNPY類縁体であることを特徴とする請求項1に記載のNPY Y2アゴニスト。

3．前記NPY Y2アゴニストが配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むペプチドであることを特徴とする請求項1又は2に記載のNPY Y2アゴニスト。

4．前記NPY Y2アゴニストが配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるペプチドであることを特徴とする請求項1又は2に記載のNPY Y2アゴニスト。

5．前記NPY Y2アゴニストが、配列番号1に記載のアミノ酸配列において1又は2以上のアミノ酸の置換、欠失、付加又は挿入を有するペプチドであることを特徴とする請求項1又は2に記載のNPY Y2アゴニスト。

6．前記疾患が下痢症又は過敏性腸症候群であることを特徴とする請求項1～5のいずれか一項に記載のNPY Y2アゴニスト。

7．請求項1～6のいずれか一項に記載のNPY Y2アゴニストを含むことを特徴とする下痢を伴う疾患の治療剤。

8．下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、

NPY Y2遺伝子を導入し、NPY Y2を発現する細胞を調製する工程と、

該細胞に被検化合物を接触させる工程と、

該NPY Y2に対する該被検化合物の特異的結合を検出する工程と、を含むことを特徴とする化合物の評価方法。

9．下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、

NPY Y2遺伝子を導入し、NPY Y2を発現する細胞を調製する工程と、

該細胞に被検化合物を接触させる工程と、

該接触により生じた細胞内情報伝達物質の活性を測定する工程と、

該活性と被検化合物を接触させない場合の該細胞内情報伝達物質の活性とを比較する工程と、を含むことを特徴とする化合物の評価方法。

10．下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、

NPY Y2 遺伝子を導入し、NPY Y2 を発現する細胞を調製する工程と、

該細胞に被検化合物を接触させる工程と、

該 NPY Y2 又は NPY Y2 を介した細胞内情報伝達物質の発現レベルを測定する工程と、

該接触前と比較して、NPY Y2 又は NPY Y2 を介した細胞内情報伝達物質の発現レベルを増加又は減少させた被検化合物を選択する工程と、を含むことを特徴とする化合物の評価方法。

１１．下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法であって、

被検化合物を、NPY Y2 に接触させる工程と、

該接触による NPY Y2 の活性の変化を検出する工程と、を含むことを特徴とする化合物の評価方法。

１２．前記化合物が NPY Y2 アゴニストであることを特徴とする請求項８～１１のいずれか一項に記載の化合物の評価方法。

１３．請求項８～１２のいずれか一項に記載の化合物の評価方法により単離されたことを特徴とする NPY Y2 リガンド。

図1

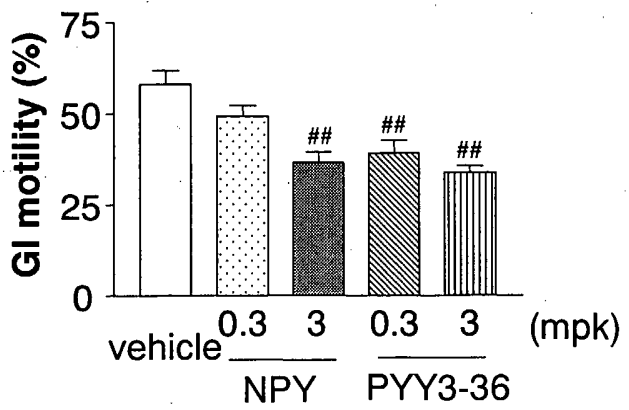

GI motility (%)
75
50
25
0
##
##
##
vehicle
0.3
3
0.3
3
(mpk)
NPY
PYY3-36

図2

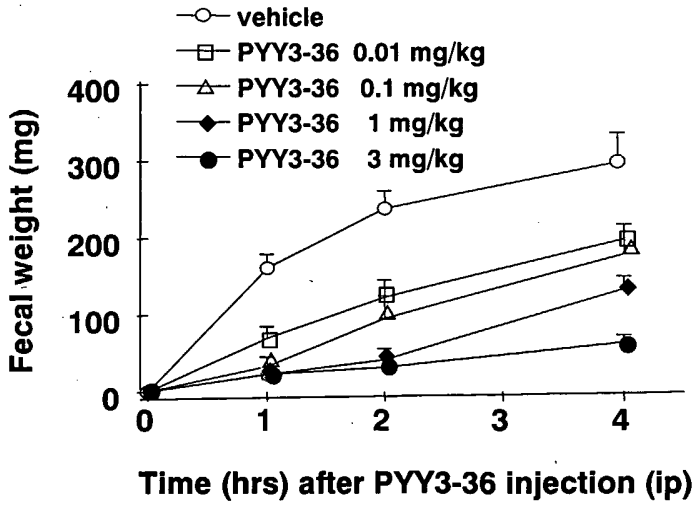

vehicle
PYY3-36 0.01 mg/kg
PYY3-36 0.1 mg/kg
PYY3-36 1 mg/kg
PYY3-36 3 mg/kg
Fecal weight (mg)
400
300
200
100
0
0
1
2
3
4
Time (hrs) after PYY3-36 injection (ip)

図3

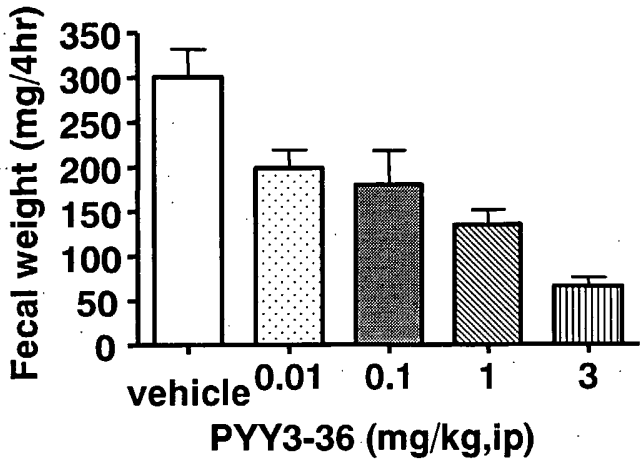

Fecal weight (mg/4hr)
350
300
250
200
150
100
50
0
vehicle
0.01
0.1
1
3
PYY3-36 (mg/kg,ip)

図4

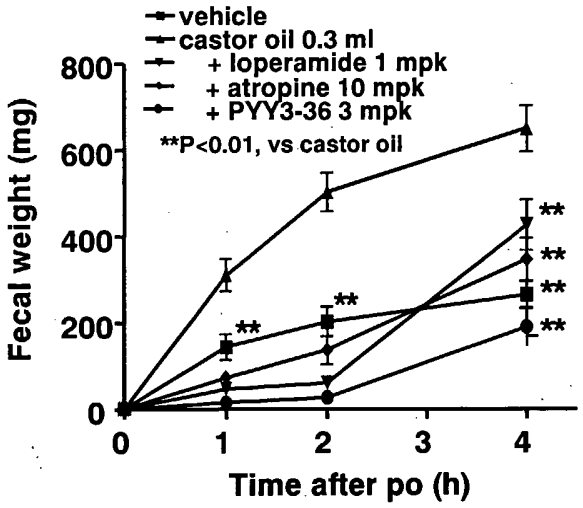
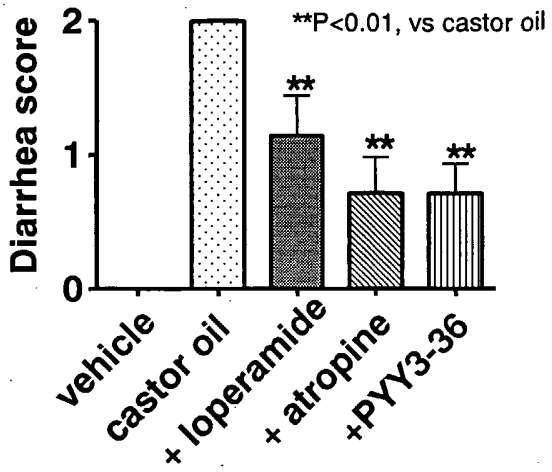

vehicle
castor oil 0.3 ml
+ loperamide 1 mpk
+ atropine 10 mpk
+ PYY3-36 3 mpk
**P<0.01, vs castor oil
Fecal weight (mg)
800
600
400
200
0
0
1
2
3
4
Time after po (h)
**

図5


Diarrhea score
2
1
0
**P<0.01, vs castor oil
**
**
**
vehicle
castor oil
+ loperamide
+ atropine
+PYY3-36

SEQUENCE LISTING

<110> BANYU Pharmaceutical co., ltd.

<120> NPY Y2 Agonist as medicine of disorder with diarrhea

<130> BY0075

<150> JP2005-169851

<151> 2005-06-09

<160> 1

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/311704

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K45/00(2006.01)i, *A61K38/00*(2006.01)i, *A61P1/12*(2006.01)i, *C12Q1/02*(2006.01)i, *C12Q1/68*(2006.01)i, *C12N15/09*(2006.01)n

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)
A61K45/00, A61K38/00, A61P1/12, C12Q1/02, C12Q1/68, C12N15/09

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 1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS(STN), CAplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Hyland N.P. et al. Functional consequences of neuropeptide Y Y2 receptor knockout and Y2 antagonism in mouse and human colonic tissues, British Journal of Pharmacology, 2003, Vol.139, No.4, pages 863 to 871, ISSN: 0007-1188	1-6 1-13
X	Misra S. et al. Coexpression of Y1, Y2, and Y4 receptors in smooth muscle coupled to distinct signaling pathways, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2004, Vol.311, No.3, pages 1154 to 1162, ISSN: 0022-3565	1-3,5
X	Revington M. et al. Sympathetic and parasympathetic interaction in vascular and secretory control of the nasal mucosa in anaesthetized dogs, Journal of Physiology, 1997, Vol.505, No.3, pages 823 to 831, ISSN: 0022-3751	1,2

☒ 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	Date of mailing of the international search report
11 September, 2006 (11.09.06)	26 September, 2006 (26.09.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/311704

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kimitomo MORISE et al., "Kabinsei Cho Shokogun ni okeru Shokakan Hormon Dotai", Japanese Journal of Clinical Medicine, 1992, Vol.50, No.11, pages 123 to 128, ISSN: 0047-1852	1-13
Y	Simren M. et al., Abnormal levels of neuropeptide Y and peptide YY in the colon in irritable bowel syndrome, European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2003, Vol.15, No.1, pages 55 to 62, ISSN: 0954-691X	1-13
Y	Sawa T. et al., Differential mechanism of peptide YY and neuropeptide Y in inhibiting motility of guinea-pig colon, European Journal of Pharmacology, 1995, Vol.276, No.3, pages 223 to 230, ISSN: 0014-2999	1-13
Y	Grandt D. et al., Novel generation of hormone receptor specificity by amino terminal processing of peptide YY, Biochemical and Biophysical Research Communications, 1992, Vol.186, No.3, pages 1299 to 1306, ISSN: 0006-291X	1-13
Y	Sharma P. et al., Cloning and functional expression of the guinea pig neuropeptide Y Y2 receptor, Regulatory peptides, 1998, Vol.75-76, pages 23 to 28, ISSN: 0167-0115	8-13
Y	Grouzmann E. et al., Neuropeptide Y Y2 receptor signaling mechanisms in the human glioblastoma cell line LN319, Peptides, 2001, Vol.22, No.3, pages 379 to 386, ISSN: 0196-9781	8-13
Y	JP 09-509314 A (Synaptic Pharmaceutical Corp.), 22 September, 1997 (22.09.97), Full text; particularly, page 52, line 24 to page 76, line 24; page 82, lines 25 to 29 & EP 802972 A1 & US 5545549 A & WO 1995/021245 A1	8-13
A	Ali B.H. et al., The effect of some alpha 2-adrenoceptor agonists and antagonists on gastrointestinal transit in mice: influence of morphine, castor oil and glucose, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 1993, Vol.20, No.1, pages 1 to 6, ISSN: 0305-1870	1-7
A	Croci T. et al., Role of tachykinins in castor oil diarrhoea in rats, British Journal of Pharmacology, 1997, Vol.121, No.3, pages 375 to 380, ISSN: 0007-1188	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/311704

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

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:

The inventions of claims 1-7 relate to an NPY Y2 agonist or a therapeutic agent for a disease accompanied by diarrhea comprising an NPY Y2 agonist, and the inventions of claims 8-13 relate to a method for evaluation of a compound to be used in the treatment of a disease accompanied by diarrhea. However, the relationship of the evaluation method for a compound and the compound given by the method is not insufficient to satisfy the requirement of unity of invention. Therefore, since there is no technical matter common to these inventions which can be regarded as a special technical feature in the meaning within PCT Rule 13.2, second sentence, no technical relationship in the meaning

(continued to extra sheet)

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

☐ 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.

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

within PCT Rule 13 cannot be found between these different inventions.

Such being the case, since it does not appear that there is a technical relationship between these inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features, claims 1-7 and claims 8-13 are not considered to be so linked as to form a single general inventive concept.

<Subject of search>

Claim 7 relates to a therapeutic agent for a disease accompanied by diarrhea which comprises a substance that is defined by a desired property "NPY Y2 agonist".

Although claim 7 includes any substance having such a property, those substances which are disclosed in the meaning within PCT Article 5 is an extremely small part of the claimed substances. Thus, claim 7 is not considered to be supported by the disclosure of the description in the meaning within PCT Article 6.

With respect to the property "NPY Y2 agonist", even though the common technical knowledge at the time of the filing of the present application is taken into the consideration, it appears that the scope of the compound having the property cannot be specified. Therefore, claim 7 does not comply with the requirement of clearness under PCT Article 6, too.

Such being the case, the search was made on the relationship between NPY Y2 agonist and a disease accompanied by diarrhea, and the on the therapeutic agent for a disease accompanied by diarrhea which comprises a substance specifically mentioned in the description and specified in claim 4.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００６／３１１７０４

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K45/00(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P1/12(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n

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.Cl.　A61K45/00, A61K38/00, A61P1/12, C12Q1/02, C12Q1/68, C12N15/09

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　１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報　１９７１－２００６年
日本国実用新案登録公報　１９９６－２００６年
日本国登録実用新案公報　１９９４－２００６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）

BIOSIS(STN), CAplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(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 ----- Y	Hyland N.P. et al. Functional consequences of neuropeptide Y Y2 receptor knockout and Y2 antagonism in mouse and human colonic tissues, British Journal of Pharmacology, 2003, Vol.139, No.4, pages 863 to 871, ISSN: 0007-1188	1-6 ----- 1-13
X	Misra S. et al. Coexpression of Y1, Y2, and Y4 receptors in smooth muscle coupled to distinct signaling pathways, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2004, Vol.311, No.3, pages 1154 to 1162, ISSN: 0022-3565	1-3,5

☑　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
１１．０９．２００６	２６．０９．２００６

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）	４Ｃ	３７６２
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	上條　のぶよ 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４９０		

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	Revington M. et al. Sympathetic and parasympathetic interaction in vascular and secretory control of the nasal mucosa in anaesthetized dogs, Journal of Physiology, 1997, Vol.505, No.3, pages 823 to 831, ISSN: 0022-3751	1,2
Y	森瀬公友他　過敏性腸症候群における消化管ホルモン動態, 日本臨床, 1992, Vol.50, No.11, pages 123 to 128, ISSN: 0047-1852	1-13
Y	Simren M. et al. Abnormal levels of neuropeptide Y and peptide YY in the colon in irritable bowel syndrome, European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2003, Vol. 15, No.1, pages 55 to 62, ISSN: 0954-691X	1-13
Y	Sawa T. et al. Differential mechanism of peptide YY and neuropeptide Y in inhibiting motility of guinea-pig colon, European Journal of Pharmacology, 1995, Vol.276, No.3, pages 223 to 230, ISSN: 0014-2999	1-13
Y	Grandt D.et al. Novel generation of hormone receptor specificity by amino terminal processing of peptide YY, Biochemical and Biophysical Research Communications, 1992, Vol.186, No.3, pages 1299 to 1306, ISSN:0006-291X	1-13
Y	Sharma P. et al. Cloning and functional expression of the guinea pig neuropeptide Y Y2 receptor, Regulatory peptides, 1998, Vol.75-76, pages 23 to 28, ISSN: 0167-0115	8-13
Y	Grouzmann E. et al. Neuropeptide Y Y2 receptor signalling mechanisms in the human glioblastoma cell line LN319, Peptides, 2001, Vol.22, No.3, pages 379 to 386, ISSN: 0196-9781	8-13
Y	JP 09-509314 A (Synaptic Pharmaceutical Corporation) 1997.09.22, 文献全体、特に５２ページ２４行目～７６ページ２４行目、８２ページ２５～２９行目 & EP 802972 A1 & US 5545549 A & WO 1995/021245 A1	8-13
A	Ali B.H. et al. The effect of some alpha 2-adrenoceptor agonists and antagonists on gastrointestinal transit in mice: influence of morphine, castor oil and glucose, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 1993, Vol.20, No.1, pages 1 to 6, ISSN: 0305-1870	1-7

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
A	Croci T. et al. Role of tachykinins in castor oil diarrhoea in rats, British Journal of Pharmacology, 1997, Vol.121, No.3, pages 375 to 380, ISSN: 0007-1188	1-7

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００６／３１１７０４

第Ⅱ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．☐ 請求の範囲＿＿＿＿＿＿＿＿ 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、

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Ⅲ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。

請求の範囲１－７は、NPY Y2アゴニストあるいはNPY Y2アゴニストを含むことを特徴とする下痢を伴う疾患の治療剤に関するものであるのに対し、請求の範囲８－１３は、下痢を伴う疾患の治療に用いる化合物の評価方法に関するものであるが、化合物の評価方法と該方法によって得られたものであるという関係だけでは、発明の単一性を満たすのに十分ではないから、これらの発明には、ＰＣＴ規則１３．２の第２文の意味において特別な技術的特徴と考えられる共通の事項が存在しないので、それらの相違する発明の間にＰＣＴ規則１３の意味における技術的な関連を見出すことはできない。

よって、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的な関係にないから、請求の範囲１－７及び８－１３は、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

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を伴う異議申立てがなかった。

＜調査の対象について＞

請求の範囲７は、「NPY Y2 アゴニスト」という所望の性質により定義された物質を含むことを特徴とする下痢を伴う疾患の治療剤に関するものである。

そして、請求の範囲７は、そのような性質を有するあらゆる物質を包含するものであるが、ＰＣＴ第５条の意味において開示されているのは、クレームされた物質のごくわずかな部分にすぎず、ＰＣＴ第６条の意味での明細書の開示による裏付けを欠くものと認められる。

また、「NPY Y2 アゴニスト」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定できないから、請求の範囲７は、ＰＣＴ第６条における明確性の要件も欠いている。

よって、調査は、NPY Y2 アゴニストと下痢を伴う疾患との関係について、及び、明細書に具体的に記載され、請求の範囲４に特定されている物質を含む下痢を伴う疾患の治療剤について行った。