

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成18年10月26日(2006.10.26)

【公表番号】特表2006-501265(P2006-501265A)
 【公表日】平成18年1月12日(2006.1.12)
 【年通号数】公開・登録公報2006-002
 【出願番号】特願2004-535478(P2004-535478)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 K 31/44 (2006.01)
A 6 1 P 25/24 (2006.01)
A 6 1 P 25/30 (2006.01)
A 6 1 P 25/32 (2006.01)
A 6 1 P 25/34 (2006.01)
A 6 1 P 25/36 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 0 7 D 213/16 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 31/44
 A 6 1 P 25/24
 A 6 1 P 25/30
 A 6 1 P 25/32
 A 6 1 P 25/34
 A 6 1 P 25/36
 A 6 1 P 43/00 1 1 1
 C 0 7 D 213/16

【手続補正書】

【提出日】平成18年9月7日(2006.9.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

代謝型グルタミン酸疾患の処置剤であり、活性成分として、代謝型(metabotropic)グルタミン酸受容体2、代謝型グルタミン酸受容体3および/または代謝型グルタミン酸受容体5を調節する少なくとも一つのアンタゴニストの有効量を含む、薬剤。

【請求項2】

代謝型グルタミン酸疾患の処置剤であり、活性成分として、代謝型グルタミン酸受容体2および/または代謝型グルタミン酸受容体5を調節する少なくとも一つのアンタゴニストの有効量を含む、薬剤。

【請求項3】

代謝型グルタミン酸疾患の処置剤であり、活性成分として、代謝型グルタミン酸受容体3および/または代謝型グルタミン酸受容体5を調節する少なくとも一つのアンタゴニストの有効量を含む、薬剤。

【請求項4】

疾患が嗜癮障害である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の薬剤。

【請求項 5】

嗜癮障害がニコチン嗜癮、アルコール嗜癮、アヘン剤嗜癮、アンフェタミン嗜癮、メタンフェタミン嗜癮またはコカイン嗜癮である、請求項 4 記載の薬剤。

【請求項 6】

嗜癮障害がニコチン嗜癮である、請求項 4 記載の薬剤。

【請求項 7】

嗜癮障害がコカイン嗜癮である、請求項 4 記載の薬剤。

【請求項 8】

疾患が鬱病である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の薬剤。

【請求項 9】

アンタゴニストが 2 - メチル - 6 - (フェニルエチニル) - ピリジンである、請求項 1 記載の薬剤。

【請求項 10】

(a)代謝型グルタミン酸受容体 2 アンタゴニストおよび代謝型グルタミン酸受容体 3 アンタゴニストから選択される少なくとも一つの活性成分、および(b)少なくとも一つの代謝型グルタミン酸受容体 5 アンタゴニスト(活性成分はいずれの場合も遊離形または薬学的に許容される塩形で存在する)と、所望により少なくとも一つの薬学的に許容される担体を含む；同時、別々または連続的使用のための組み合わせ剤。

【請求項 11】

(a)代謝型グルタミン酸受容体 2 および/または代謝型グルタミン酸受容体 3 に対する拮抗作用を示す少なくとも一つの活性成分、および(b)少なくとも一つの代謝型グルタミン酸受容体 5 アンタゴニスト(活性成分はいずれの場合も遊離形または薬学的に許容される塩形で存在する)と、所望により少なくとも一つの薬学的に許容される担体を含む；同時、別々または連続的使用のための組み合わせ剤。

【請求項 12】

(a)少なくとも一つの代謝型グルタミン酸受容体 2 アンタゴニストおよび(b)代謝型グルタミン酸受容体 3 および/または代謝型グルタミン酸受容体 5 に対する拮抗作用を示す少なくとも一つの活性成分(活性成分はいずれの場合も遊離形または薬学的に許容される塩形で存在する)と、所望により少なくとも一つの薬学的に許容される担体を含む；同時、別々または連続的使用のための組み合わせ剤。

【請求項 13】

(a)少なくとも一つの代謝型グルタミン酸受容体 3 アンタゴニストおよび(b)代謝型グルタミン酸受容体 2 および/または代謝型グルタミン酸受容体 5 に対する拮抗作用を示す少なくとも一つの活性成分(活性成分はいずれの場合も遊離形または薬学的に許容される塩形で存在する)と、所望により少なくとも一つの薬学的に許容される担体を含む；同時、別々または連続的使用のための組み合わせ剤。

【請求項 14】

組み合わせ製剤または医薬組成物である、請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤。

【請求項 15】

嗜癮障害または鬱病の処置における、同時、別々または連続的使用のための、請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤。

【請求項 16】

嗜癮障害または鬱病に罹患している温血動物の処置剤であり、請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤を、嗜癮障害または鬱病に対して併用療法で有効な量で含む、薬剤(ここで、化合物はまたその薬学的に許容される塩の形で存在できる)。

【請求項 17】

併用療法で嗜癮障害または鬱病に対して有効な量の請求項 10 から 13 のいずれかに記載の薬学的組み合わせ剤と、少なくとも一つの薬学的に許容される担体を含む、医薬組成

物。

【請求項 18】

嗜癮障害または鬱病の処置用医薬の製造における、請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤の使用。

【請求項 19】

請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤を、嗜癮障害または鬱病の処置における、同時、別々または連続的使用のための指示書と共に含む、商業用包装物。

【請求項 20】

物質濫用の処置剤であり、活性成分として、有効量の m G l u R 2、m G l u R 3 および / または m G l u R 5 を調節する少なくとも一つのアンタゴニスト、または請求項 10 から 13 のいずれかに記載の組み合わせ剤を含む薬剤(ここで、有効量は対象における物質に対する欲望および / または消費を減少させ、阻害し、または排除するのに十分な量である)。

【請求項 21】

物質がニコチン、アルコール、アヘン剤、アンフェタミン、メタンフェタミンまたはコカインである、請求項 20 記載の薬剤。

【請求項 22】

L Y 3 4 1 4 9 5 および 2 - メチル - 6 - (フェニルエチニル) - ピリジンを含む、請求項 21 記載の薬剤。

【請求項 23】

非ヒト哺乳類の脳内自己刺激 (I C S S) 閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の能力を改善する薬剤のスクリーニング法であり：

a) 対象の I C S S 閾値に影響を与え；

b) 対象に、単独でまたは他の阻害剤と組み合わせて投与した場合 I C S S 閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の十分量を投与し、ここで、既知阻害剤が m G l u R 2、m G l u R 3 および / または m G l u R 5 の少なくとも一つのアンタゴニストであり；

b) 非ヒト哺乳類対象に有効量の試験薬を投与し、ここで、試験薬は m G l u R 2、m G l u R 3 および / または m G l u R 5 の少なくとも一つの既知のまたは推測されるアンタゴニストであり；そして

c) 試験薬が I C S S 閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の能力を改善するか否かを測定し、それにより、薬剤が I C S S 閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の能力を改善するかを同定することを含む、方法。

【請求項 24】

方法が、試験薬を、鬱病または嗜癮障害の処置に有用な薬剤として同定する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 25】

既知阻害剤が L Y 3 4 1 4 9 5 または 2 - メチル - 6 - (フェニルエチニル) - ピリジンである、請求項 23 記載の方法。

【請求項 26】

試験薬が、常習性物質に対する欲望および / または消費を阻害する既知阻害剤の能力を改善する、請求項 23 記載の方法。

【請求項 27】

嗜癮障害の処置剤であり：

a) 処置を必要とする対象に、第 1 期間は m G l u R 2、3 および / または 5 の少なくとも一つを調節する少なくとも一つのアンタゴニストを投与し、ここで第 1 期間は、対象が習慣的に常習性物質を使用する環境にいたことが期待される、またはこの物質の存在下に刺激にさらされる期間であり；そして

b) 第 2 期間は m G l u R 2 および / または 3 の少なくとも一つを調節する少なくとも

一つのアンタゴニストを投与し、ここで、第2期間は、対象が離脱および/または鬱病に苦しんでいる期間であること
を含む方法により使用される、薬剤。

【請求項28】

2 - メチル - 6 - (フェニルエチニル) - ピリジンおよびLY341495の一方または両方を第1期間に投与し、LY341495を第2期間に投与する、請求項27記載の薬剤。

【請求項29】

鬱病の抑鬱症状および不安症状の処置剤であり、活性成分として、代謝型グルタミン酸受容体2、代謝型グルタミン酸受容体3および/または代謝型グルタミン酸受容体5を調節する少なくとも一つのアンタゴニストの有効量を含む、薬剤。

【請求項30】

代謝型グルタミン酸受容体2および代謝型グルタミン酸受容体3のアンタゴニストを対象が鬱病を示したときに投与することを含む方法、および/または代謝型グルタミン酸受容体5のアンタゴニストを対象が不安症状を示したときに投与することを含む方法により使用される、請求項29記載の薬剤。

【請求項31】

LY341495および2 - メチル - 6 - (フェニルエチニル) - ピリジンを含む、請求項30記載の薬剤。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

他の実施態様において、本発明は、非ヒト哺乳類対象の脳内自己刺激(ICSS)閾値に反映される、脳報酬機能の欠損を少なくとも部分的に正常化するmGluR2、mGluR3、および/またはmGluR5アンタゴニストの能力を改善する薬剤のスクリーニング法を提供する。この方法は：

a)対象のICSS閾値に影響を与える；

b)対象に、単独でまたは他の阻害剤と組み合わせて投与した場合ICSS閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の十分量を投与し、ここで、既知阻害剤がmGluR2、mGluR3およびmGluR5の少なくとも一つのアンタゴニストである；

b)非ヒト哺乳類対象に有効量の試験薬を投与し、ここで、試験薬はmGluR2、mGluR3およびmGluR5の少なくとも一つの既知のまたは推測されるアンタゴニストである；そして

c)試験薬がICSS閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の能力を改善するか否かを測定し、それにより、薬剤がICSS閾値を少なくとも部分的に正常化する既知阻害剤の能力を改善するかを同定する

ことを含む。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0070

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0070】

本発明のこの態様のいくつかの方法に関して、物質使用を絶つことに失敗したまたは物質使用に無関係のまたは物質使用により誘発された、本明細書に示唆する方法なしでは本質的に軽減できない慢性鬱病の対象に、アンタゴニストを週、月、年単位の期間、および、おそらく無制限に投与する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0073

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0073】

別の実施態様において本発明は、本明細書ではまた物質濫用とも呼ぶ嗜癖障害の処置法を提供し、その方法は、必要とする対象に、第1期間はmGluR2、3および5の少なくとも一つを調節するアンタゴニストの有効量を投与し、続いて第2期間はmGluR2および/または3の少なくとも一つを調節する少なくとも一つのアンタゴニストを投与することを含む。第1期間は、例えば、対象が習慣的に常習性物質を使用する環境にすることが期待される、またはこの物質の存在下に刺激にさらされる期間、または対象が積極的に常習性物質を使用している期間である。第2期間は、例えば、対象が離脱および/または鬱病に苦しんでいる期間である。本発明のこの実施態様の一つの態様は、例えば、第1期間のMPEPおよび/またはLY341495の投与、および離脱または鬱病期間のLY341495の投与を含む。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0075

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0075】

本発明のいくつかの実施態様において、嗜癖障害または鬱病は、対象へのAMPA/Kainate受容体アゴニストまたは部分的アゴニストの有効量の投与により処置する。この実施態様のいくつかの態様において、AMPA/Kainate受容体ならびにmGluR2、mGluR3、およびmGluR5受容体の少なくとも一つを調節する1個またはそれ以上のアゴニストまたは部分的アゴニストを対象に投与する。典型的に、AMPA/Kainate受容体の一つのアゴニストまたは部分的アゴニストを、mGluR2、mGluR3、および/またはmGluR5の少なくとも一つのアンタゴニストと投与する。いくつかの実施態様において、AMPA/Kainate受容体を調節する1個またはそれ以上のアゴニストまたは部分的アゴニストおよびmGluR5を調節するアンタゴニストを、例えばAMPA/Kainateアゴニストまたは部分的アゴニストおよびMPEPの投与により投与する。他の実施態様において、AMPA/Kainate受容体を調節する1個またはそれ以上のアゴニストまたは部分的アゴニストを、mGluR2および/またはmGluR3を調節する1個またはそれ以上のアンタゴニストと共に投与する。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0077

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0077】

本発明の方法で使用するアンタゴニストまたはアゴニストの送達経路は、具体的な疾患により決定する。アンタゴニストまたはアゴニストは、経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、経鼻、および皮内で送達し得、ならびに、経皮送達(例えば、皮膚に置く皮膚パッチ中の脂溶性担体と共に)、または胃腸送達(例えば、カプセルまたは錠剤で)でさえ送達し得る。さらに、本発明の方法で使用するアンタゴニストまたはアゴニストは、いくつかの態様において直接脳にまたは脳のある領域に送達され、脳の別の部位の受容体を阻害または活性化することなく所望の効果を産生する特異的な脳の部位の受容体を活性化または阻害し、それにより前述の部位(複数もある)により介在される優れた治療的作用を打ち消す望ましくない副作用または作用を避ける。投与量は上記のように単独でまたは組み合わ

せでアンタゴニストの有効な量を提供するのに十分でなければならない。投与量のいくつかの変化は、処置する患者の状態に依存して必ず変化し、医師は、いずれにしても個々の患者に対して適当な投与量を決定できる。投与量は、数ある中でも体重、生理学および選択した投与レジメに依存する。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0079

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0079】

エリキシル剤の水性懸濁液が経口投与のために望まれる場合、アンタゴニストを種々の甘味剤または香味剤、着色物質または色素、そして所望により、乳化剤または懸濁剤を、水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリンおよびこれらの組み合わせのような希釈剤と共に組み合わせ得る。非経腸投与のために、ゴマ油またはピーナッツ油または水性プロピレングリコールのような製剤の溶液を用い得、同様に、先に記載の対応する水溶性の薬学的に許容される金属塩の滅菌水性生理食塩水を用い得る。このような水性溶液は必要に応じて適当に緩衝化され、液体希釈剤は最初に十分な生理食塩水またはグルコースで等張性にする。これは、水性溶液がとりわけ静脈内、筋肉内、皮下、および腹腔内注射に適する場合に当てはまる。用いる滅菌水性媒体は当業者に既知の標準法により容易に得られる。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0081

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0081】

脳内自己刺激 (ICSS) 閾値は、代謝型グルタミン酸疾患によりもたらされる ICSS 閾値の上昇または減少が、少なくとも一部阻害(すなわち、代謝型グルタミン酸疾患に苦しんでいない対象の ICSS 閾値に調節して戻す)された場合、少なくとも一部正常化する。例えば、慢性ニコチン投与からの離脱 (Kenny et al., 2003) またはコカインの慢性自己投与からの離脱 (Ahmed et al., 2002、引用してその全体を本明細書に包含させる) は、ICSS 閾値を上昇させることが既知である (例えば、Kenny et al., 2003 参照)。したがって、コカイン投与中またはニコチン離脱中の ICSS 閾値の部分的正常化は、通常慢性コカイン投与中またはニコチン離脱中に見られる鬱状態を反映する上昇した閾値からの、ICSS 閾値の低下であり、正常対象に見られる値に近づく。したがって、本発明のこの実施態様の方法は、常習性物質 (例えば、コカイン) の慢性投与または常習性物質 (例えば、ニコチン) の投与の中止を、既知の阻害剤および試験薬の投与前および投与中に ICSS 閾値に影響を与える (すなわち、非正常化) ために、利用することができる。常習性物質の急性投与は典型的に ICSS 閾値を低下させ、一方常習性物質の慢性投与および / または常習性物質の投与の中止は典型的に ICSS 閾値を上昇させる。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0108

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0108】

腹側被蓋領域内 LY 314582 実験。

安定な基底 ICSS 反応が達成された後 (3 連続日で閾値の $\leq 10\%$ の変化)、VTA に向かった両側カニューレを付けたラット ($n = 15$) を、平均基底報酬閾値または体重がグループ間で差がないように二つのグループに割り当てた。一つのグループは、賦形剤を送

達する皮下浸透性ミニポンプ、第2のグループはニコチン(3.16 mg/kg/日ニコチン遊離塩基)を送達するミニポンプで準備した。動物は、再びICS Sパラダイムについて薬剤処置前7日間毎日試験した。ラットの両方のグループに、次いで上記のようにVTA内に直接LY314582(0、10、50および100 ng/側; n = 7ニコチン、n = 8コントロール)を対象内ラテン方陣設計にしたがい投与し、ICS S報償閾値を注射後直ぐに評価した。各注射の間に最小48時間のインターバルがあり、その間ICS S閾値を測定し続け、閾値がさらなる薬剤試験前に基底レベルに回復した。実験の最後にすべての動物を麻酔し、脳を除去し、直ぐに氷の上に置いた。脳を50 µmセクションに切断し、インジェクターと電極の位置を試験した(注射部位の組織学的検査に関して図1参照)。注射チップがVTA内に位置するラットのみを統計的分析に包含させた。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0128

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0128】

しかしながら、種々の物質離脱におけるグルタミン酸伝達の異なる役割に関する証拠が蓄積されている。例えば、特に青斑(LC)および小脳扁桃(Zhang et al., 1994; Rasmussen, 1995; Taylor et al., 1997)における増加したグルタミン酸伝達が、アヘン剤離脱症候群の‘身体的’側面の発現に重要な役割を担うと考えられ、一方中側坐報償系におけるグルタミン酸伝達の減少が、アヘン剤および他の常習性物質からの脱離中に現れる報償および動機的欠失に関連すると考えられている(Keys et al., 1998; LuおよびWolf, 1999; ManzoniおよびWilliams, 1999; Giorgetti et al., 2002)。実際、Shaw-Lutchmanと共同研究者(2002)は、細胞活性のマーカーであるcAMP反応エレメント(CRE)介在転写が、急激なモルヒネ離脱を行っているラットのLCおよび小脳扁桃で上昇し、VTAで減少していることを証明し、この部位の活性が、モルヒネ離脱中に逆の方法で変化することを示唆した。これらの観察に基づき、同様の解離がまたニコチン離脱の異なる側面の介在におけるグルタミン酸の役割に関しても存在しているようである。しかしながら、物質離脱の感情的側面、および特に脳報償機能における欠失が、物質離脱の他の症状と比較して、物質の依存性の維持にもっとも有用であると考えられることは注目すべきである(Markou et al., 1998; KennyおよびMarkou, 2001; Ahmed et al., 2002)。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0129

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0129】

グルタミン酸伝達は、中側坐ドーパミンニューロンにおける興奮性を制御し、報償経路の基底活性の介在に必須の役割を担う(KalivasおよびStewart, 1991; Suaud-Chagny et al., 1992; Kalivas, 1993)。上記のように、mGluR受容体はVTAにおける前シナプス自己受容体として作用し、そこでそれらはグルタミン酸伝達を抑制する。したがって、mGluR受容体は、ニコチン-離脱ラットにおける報償閾値を、少なくとも一部、グルタミン酸伝達の減少により上昇させ、後シナプスグルタミン酸受容体でのグルタミン酸伝達の遮断は、自発的ニコチン離脱に付されているラットと同程度、ニコチン-処置ラットにおける報償閾値上昇を起こすと仮説を立てた。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0134

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 1 3 4 】

実施例 2

m G l u R 5 アンタゴニスト M P E P は、ラットおよびマウスにおけるニコチン自己投与を減少させる

この実施例は、m G l u R 5 の遮断がラットおよびマウスの両方におけるニコチン自己投与を減少し、コカイン自己投与における m G l u R 5 の役割を示す発見と一致することを説明する。ラットによるニコチン自己投与は、ニコチンの報償効果を反映すると考えられ、ドーパミン作用性 (Corrigall & Coen 1991; Picciotto および Corrigall 2002)、コリン作用性 (Watkins et al. 1999; Corrigall et al. 2002; Picciotto および Corrigall 2002) および γ -アミノ-酪酸 (G A B A) - 作用性 (Dewey et al. 1999; Paterson および Markou 2002; Picciotto および Corrigall 2002) 神経伝達の調節に感受性であることが示されている。さらなる試験で、ニコチンの報償効果の介在におけるグルタミン酸の役割の可能性が示唆されている (McGehee et al. 1995; Schilstrom et al. 2000; Reid et al. 2000)。具体的に、神経化学試験は、全身性ニコチン投与が腹側被蓋領域 (V T A) および側坐核 (N A c c) におけるグルタミン酸レベルの有意な増加をもたらすことを示唆した (Reid et al. 2000; Schilstrom et al. 2000)。さらに、近年の Mansvellder と共同研究者 (2002) による電気生理学的研究は、G A B A - 作用性およびグルタミン作用性の複雑な相互作用が、中脳にドーパミンニューロンに、喫煙者の脳と類似の濃度および期間のニコチンレベルに暴露されたスライス of V T A のレベルでインプットされることを示唆した。要約すると、ニコチンは、その報償効果を中枢神経系における複数の神経伝達物質の複雑な相互作用により発揮すると考えられている。その中でも重要なのは中位辺縁系 (mesolimbic) ドーパミン作用性システムであるが、近年グルタミン酸も重要な役割を担うことが示されている。

【 手 続 補 正 1 3 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 1 4 1

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 1 4 1 】

マウス自己投与オペラント箱

マウスにおけるすべてのニコチン自己投与は、4つの同じ試験ケージ (8 × 8 × 8 cm) からなる装置 (San Diego Instruments, San Diego, CA) で行い、2組のマウスの同時の試験を可能にした (Semenova et al. 1995, 1999; Kuzmin et al. 1996a, 1997 参照)。箱は透明プラスチックから成り、二つの開口部を含んだ：一つは鼻先、他方は尾固定用。すべての試験セッションの関数およびデータはコンピューターで制御し、記録した。

【 手 続 補 正 1 4 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 1 4 3

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 0 1 4 3 】

マウスにおける静脈内自己投与

ニコチンの急性自己投与は、先に記載の方法を使用して行った (Semenova et al. 1995, 1999; Kuzmin et al. 1996a, 1997)。マウスの尾を試験セッション中装置の表面に固定し、薬剤送達を可能にした；尾の固定は、マウスが全四肢、頭および体全体を動かすのを可能にした。薬剤または賦形剤 (1.6 μ l / inf を 1 秒間にわたり送達) の注射を、ペアの両方のマウスに、尾側面静脈を介して投与し、ペアあたりの各動物が鼻を突き出すことを条件とした (能動的マウス)。薬剤または賦形剤の送達に関連する唯一の手がかりは、ポンプのノイズである。マウスを 1 回または 2 回試験し、各試験の間約 1 ヶ月空けた。2 回目の試験は、元々のマウスのセットのサブセットでのみ行った (各元々のグループから、2

- 7対のマウス)。これは、対象/条件の数を増やすために行い、これらのマウスを元の試験と異なる条件のセット下に無作為に割り当て、試験した(すなわち、異なるニコチンおよび/またはMPEP投与量)。限定されたマウスのサブセットの二つの試験の間の1ヶ月のインターバルを考慮して、反復試験が結果に影響したとは考えにくい。

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0147

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0147】

実験2

データ分析は、各ペアにおける能動的および受動的なマウスの鼻の突き出しの比較に基づき、以下の式を利用した： $R = \log(A_T / P_T) - \log(A_{BL} / P_{BL})$ 、(式中、 (A_T / P_T) は、30秒の試験の間の能動的対受動的なマウスの鼻の突き出しの合計数であり、 (A_{BL} / P_{BL}) は、試験前10分間の能動的対受動的なマウスの鼻の突き出しの合計数である)。薬剤の効果は、Rが0より高い、等しいまたは低い場合に、それぞれ強化系、中立、嫌悪とみなした。いくつかのデータ点(マウスの9/237対)を、それらがその特異的条件を意味するグループの2標準分散内にあるかないかを基にして、最終分析から除いた。生理食塩水前処置後に得たニコチン自己投与データは、一元配置ANOVAを使用して、ニコチン(4レベル)を対象間因子と定義して分析した。R-基準データを、二元配置ANOVAを使用して、MPEP投与量(4レベル)およびニコチン投与量(4レベル)を対象間因子と定義して分析した。予め計画したR-基準データ分析を、一元配置ANOVAを、自己投与ニコチンおよび生理食塩水の利用可能な用量に関して使用し、MPEP投与量(4レベル)を対象間因子と定義して分析した。適当な個々の比較は、Student-Newman-Keuls post hoc検定を使用して行った。分析が0.048 µg/infニコチンがマウスによる信頼できる唯一の投与量であることを示唆したため(結果参照)、0.048 µg/infニコチンの合計自己注射投与量を一元配置ANOVAを使用して、MPEP投与量を対象間因子として分析した。さらに、信頼できる自己投与の用量であるニコチン(0.048 µg/inf)の生の鼻を突き出す反応の割合をまた二元配置ANOVA分析に付し、能動的/受動的マウスを一つの因子として、MPEP投与量を第2の因子として用いた。体重および試験前の鼻を突き出す行動レベルを三元配置ANOVA(ニコチン投与量、MPEP投与量およびマウス、すなわち、能動的/受動的、を対象間因子として定義)で分析した。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0170

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0170】

静脈内コカイン自己投与方法

ラット(n=14)の餌を制限し、自由に摂食する状態で得られる正常体重の85%を維持し、その後強化系の定率5(FR5)スケジュールで45mg餌ペレットのレバーを押すように訓練した。食物強化に対する安定な反応を達成すると、ラットは、9日間、毎日1時間のセッションの間、強化のFR5スケジュールでコカイン自己投与に関して試験し、そのとき、レバーへの5回の反応が1コカイン注射(250 µg/注射、0.1mlの滅菌0.9%生理食塩水に溶解; 4秒にわたり送達)の送達をもたらし、20秒タイムアウト(TO)期間が開始し、レバーの上に位置する光の合図により合図され、その間、レバーへの反応は結果を伴わなかった。このように、強化系のFR5 TO20秒スケジュールを使用した。

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 1 7 4

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 1 7 4 】

実験 3.2 : 強化系の漸増率スケジュール下のコカインおよびニコチン自己投与における M P E P の効果

上記のように、強化系の定率スケジュール下では、動物は薬剤注入を得るために、活性レバーに ' 固定 ' 回数反応する。強化系の定率 (F R) スケジュールは、薬剤が強化系であるか否かの重要な情報を提供する。対照的に、強化系の漸増率 (P R) スケジュール下で、動物が薬剤注入を受けるために活性レバーに反応する度に、動物が次の注入を得るためにしなければならない続く反応が漸増する。総摂取量を限定しながら、動物がどのように強く薬剤の働きを願っているかを測定することにより、P R スケジュールは蓄積的薬剤投与量の可能性のある飽和効果から、薬剤消費のモチベーションを良く離すことを可能にする (Stafford et al. 1998)。このような特徴は、F R と比べて、P R で、薬剤探索行動を制御する因子の理論的に異なる解釈をもたらす。例えば、ある研究者は、F R スケジュールは薬剤の満足または快楽効果の指標であり (McGregor および Roberts 1995; Mendrek et al. 1998)、P R スケジュールは、薬剤を得るための刺激または 'モチベーション' の指標を提供すると最近示唆している (Markou et al., 1993)。上記のような F R スケジュール下のコカインまたはニコチン自己投与の獲得後、ラットを P R 強化スケジュールに変え、以下のような連続したレバーを押す回数をニコチンまたはコカインの各連続注入に必要とした : 5、10、17、24、32、42、56、73、95、124、161、208 など。ラットに M P E P (0、1、3 または 9 mg / kg) を P R セッションの 30 分前に注射した。すべての P R セッションは 3 時間続いた。すべての対象は 3 時間以内に中止点に到達した。中止点は、セッションが終わる前に達成された最大比率として定義する ; セッションは、対象が 1 時間の間に薬剤注入を獲得することに失敗したときに終了する。

【 手続補正 1 8 】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 1 7 5

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 1 7 5 】

実験 3.3 : I C S S 閾値のコカイン誘発低下における M P E P の効果

M P E P は、F R 下でラットおよびマウスにおけるニコチン自己投与を減少させることを、実施例 3.2 で示した。本実施例における試験 (結果は下記) は、M P E P が F R 下のラットにおけるコカインおよびニコチン自己投与を減少させ (マウスにおけるニコチンも)、強化系の P R スケジュール下、ラットにおけるコカインおよびニコチン自己投与を減少させることを証明した。M P E P がコカイン自己投与行動を低下し得る一つの可能性のある機構は、コカインの快楽作用の減少によるものである。I C S S 閾値のコカイン - 誘発低下は、コカインの快楽および多幸感を引き起こす作用の正確な指標である。このように、M P E P がコカインの快楽作用を減弱するという仮説を試験するために、我々は、M P E P が I C S S 閾値のコカイン - 誘発低下を遮断するか否かを試験した。本試験に用いたコカインの投与量 (1 0 mg / kg) は、このコカイン投与量が、先の試験に使用した I C S S 法における能力に影響せず、最大の閾値低下をもたらすという先の試験の結果と (Kenny et al., 2002b; Markou & Koob 1992)、コカイン自己投与に毎日 1 時間接近している間の S h A ラットにより消費されるコカインの量と同等であることに基づき選択した。ラット (n = 9) に I C S S 電極を上記のように準備し、I C S S 法を安定な閾値が達成されるまで訓練した (5 連続日にわたり閾値の $\leq 10\%$ の変化)。M P E P がコカインの閾値 - 低下効果を減弱させるかの測定のために、ラットに M P E P (0、3、6 または 9 mg / kg) を対象内ラテン方陣設計にしたがい、I C S S セッションの開始 30 分前に注射した。すべてのラットに次いで 20 分後、すなわち、I C S S セッションの開始 10 分前に生理食塩

水を注射した。72時間の期間を、ラテン方陣設計における各注射日の間に開け、その間毎日のICSS閾値を、ICSS閾値が次の薬剤投与前に注射前基底に戻っていることを確実にするために評価し続けた。ラテン方陣の終了後、すべてのラットにMPEP(1mg/kg)を、ICSSセッションの30分前に注射し、生理食塩水をICSSセッションの開始10分前に注射した。この処置レジメの後、ラットに再びMPEP(0、3、6または9mg/kg)を対象内ラテン方陣設計にしたがい、ICSSセッションの30分前に注射した。次いで、20分後に、すなわちICSSセッションの開始10分前にすべてのラットにコカイン(10mg/kg)注射を生理食塩水の代わりに行った。72時間の期間を、ラテン方陣設計における各注射日の間に開け、その間毎日のICSS閾値を、ICSS閾値が次の薬剤投与前に注射前基底に戻っていることを確実にするために評価し続けた。ラテン方陣の完了後、すべてのラットにMPEP(1mg/kg)をICSSセッションの開始30分前に投与し、コカイン(10mg/kg)注射をICSSセッションの開始10分前に行った。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0205

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0205】

薬剤

パロキセチン塩酸塩(SmithKline Beecham, Worthing, West Sussex, U.K.より提供)を、数滴のポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート(tween 80)(Sigma, St. Louis, MO)を含む生理食塩水に溶解し、0.05M NaOHを使用してpHを約6.5にした。パロキセチンを4ml/kgの用量で腹腔内に投与した。4-(2'-メトキシ-フェニル)-1-[2'-(n-(2"-ピリジニル)-p-ヨードベンズアミド]-エチル-ピペラジン塩酸塩(p-MPPI)(Research Biochemicals Inc., Natick, MA)を滅菌水に溶解し、加熱した水浴中10-20分超音波処理し、0.1M NaOHでpHを約5.2にした。p-MPPIを1ml/kgの用量で皮下投与した。d-アンフェタミンサルフェート(National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MDから得た)を生理食塩水に溶解し、1ml/kgの用量で腹腔内に投与した。

【手続補正20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0230

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0230】

典型的に急性薬剤処置である薬剤処置の組み合わせ後の、コントロールラットにおける報償閾値の短時間の上昇と対照的に、これらの急性処置は、離脱-誘発報償欠損を永久に改善した。この結果は、おそらく、フルオキセチン処置後よりも急性パロキセチン処置後でより驚くべきことである。その活性代謝物ノルフルオキセチンのために長い半減期を有するフルオキセチンと異なり、パロキセチンは約24時間の半減期である(Lemberger et al. 1985; PrakashおよびFoster 1999)。したがって、離脱-誘発報償欠損の改善におけるこれらの急性処置の効果は、離脱-誘発報償欠損の限られた期間と関連し得る。このように、急性薬剤処置により誘発される経時的に減少するセロトニン作用性神経伝達は、離脱症状が軽減するにつれ、報償閾値が基底レベルに徐々に回復することと同時に起こり得る。さらに、これらの実験における報償欠損は、健康対象における薬剤マニユレーション(アンフェタミン離脱)により一過性に誘発された。このように、急性処置は、脳報償システムの慢性の不均衡に関連する類似の欠損と比較して、健康対象におけるこのような報償欠損の改善により有効であり得る。

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0241

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0241】

材料および方法

動物

到着時に275 - 350 gの雄Wistarラット(Charles River, Raleigh-Durham, N.C., USA)を、試験中以外、温度および湿度制御飼育器(21)中、2匹ずつ飼育し、食物と水は自由に摂取させた。ラットを、1800時に点灯する12時間逆明/暗サイクルに維持した。すべての実験法は暗サイクル中に行い、The Scripps Research Instituteの動物実験委員会にしたがった。動物は少なくとも任意の方法の開始1週間前に新しい環境に慣れさせ、その間少なくとも2回手に取った。

【手続補正22】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0252

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0252】

実験2：ICSS閾値の急性ニコチン誘発低下における急性ブプロピオンの効果

別々の薬剤投与していない動物のグループに、対象内ラテン方陣設計にしたがい、ニコチン(0、0.25 mg/kg、SC; 15分前処置)と共にブプロピオン(0、5、10、20 mg/kg、IP、n = 10)を投与し(30分前処置)、連続薬剤処置の間に最小3日空けた。ニコチンの投与量は、この投与量で急性ニコチンの最大報酬効果を示す(Harrison et al . 2002)ことが示された我々の研究室での先の用量反応試験から選択し、ブプロピオンの投与量は上記の実験1の結果に基づいて選択した。