

【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16年10月28日(2004.10.28)

【公開番号】特開2001-81047(P2001-81047A)

【公開日】平成13年3月27日(2001.3.27)

【出願番号】特願2000-240670(P2000-240670)

【国際特許分類第7版】

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 35/84

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00

【F I】

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 35/84 A

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成15年10月29日(2003.10.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】腫瘍動態の検査方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】インターロイキン - 12の誘導産生値をマーカーにする腫瘍動態の検査方法

。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【技術分野】

本発明は、インターロイキン - 12の誘導産生をマーカーにする腫瘍動態の検査方法に関する。

【0002】

【背景技術】

インターロイキン12(IL-12)は、初め、NK細胞の活性作用を有するサイトカインの一つとして発見されたものであるが、その後の研究により、腫瘍細胞に対して特異的な細胞障害活性を有するT細胞(キラーT細胞)の増殖作用及び活性作用を有することが判明し、更には、キラーT細胞の活性化を促す作用を有するインターフェロン(IFN)の産生増強作用を有することが認められるに至り、ヒト癌患者の治療に有用な物質として注目されている。

【0003】

IL-12については、最近、米国において、遺伝子操作により大量に生産されることに成功した(レコンビナントIL-12(rt-IL-12))。その後、IL-12を、癌細胞に直接投与する目的で、このインターロイキン12産生遺伝子を癌細胞に遺伝子導入手法により、直接導入する方法も試行されている。

【0004】

しかしながら、このような方法に用いられるrt-IL-12は、感受性が低いために、例えば、ヒト癌治療にあっては大量に投与しなければならないが、そのような大量投与は

、発熱、食欲不振等を始めとする様々な副作用を伴うことが知られている。この方法には、このように副作用が甚大であるほか、遺伝子操作が煩雑であるため多大の労力を要する点、経済性に欠ける点等の問題点が指摘されている。

【0005】

IL-12を活用して腫瘍の増殖喪失又は消失を図るためには、IL-12を外部から投与方法のほか、生体内に自己のIL-12を誘導せしめる方法がある。このような自己IL-12は、異常な免疫反応が生じるおそれもなく、rt-IL-12が有する本質的な欠点を解決するとともに、感受性の高いものであるため、多大の腫瘍喪失消失効果が期待されるものであった。しかしながら、自己IL-12を生体内に誘導せしめる作用を有する有効物質は、これまで発見できていないのが現状であった。

【0006】

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

上記のような現状に鑑み、本発明は、IL-12を、腫瘍細胞を有する生体内に誘導せしめる方法及びそのような誘導作用を有する物質を提供することを当初の目的とするものである。それに伴い、IL-12の誘導産生をマーカーにする腫瘍動態の検査の意義を確立することを課題とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明の一は、活性化ヘミセルロース(AHCC<sup>(登録商標)</sup>)を含有することを特徴とするインターロイキン12誘導物質である。以下に本発明を詳述する。

【0008】

本発明に係る活性化ヘミセルロース(Active Hemi Cellulose Compound(AHCC))は、キノコの菌糸の細胞壁に含まれる植物繊維を酵素処理した生理活性物質として既に公知の物質であり、-(13)D-グルカン、-(16)D-グルカンのほか、-(14)D-グルカン等のヘテログルカン、ペプチドグルカン、プロテオグルカン、レクチン、核酸、不消化性多糖等を含有するものである。しかしながら、AHCCにIL-12誘導作用があることは全く知られておらず、本発明者によって初めて見いだされたものである。

【0009】

本発明のIL-12誘導物質は、上記AHCCのみで構成してもよいが、更にAHCCに加えて、キノコ菌糸体成分を含有せしめることが好ましい。このようなキノコ菌糸体成分としては特に限定されず、例えば、公知の抗癌剤として使用されているサルノコシカケの菌糸体成分であるPSK、スエヒロタケの菌糸体成分であるSPG、シイタケの菌糸体成分であるレンチナン等を挙げることができる。また、このようなキノコ菌糸体成分としては、更に、例えば、アガリスク、霊芝、ニンギョータケ、カワリハラタケ、ニオウシメジ、カベノアナタケ、マイタケ、ヤマブシタケ、ヒラタケ、マンネンタケ、ムキタケ、コブタケ、カイガラタケ、マツタケ、ヒラタケ、ベッコウタケ、ナメタケ、エノキダケ等のキノコ類菌糸体成分を挙げることができる。

【0010】

本発明のIL-12誘導物質は、上記AHCC及びキノコ菌糸体成分のみで構成してもよいが、更にこれらに加えて、溶連菌の菌体成分を含有せしめることが好ましい。このような溶連菌の菌体成分としては特に限定されず、例えば、OK-432等の公知の抗癌剤等を挙げることができる。これらは、生物学的活性化物質(Biological response modifier(BRM))として、既に既知の物質である。

【0011】

現代医学における既知の医療である手術、抗癌剤投与、放射線治療、ホルモン療法等は、進行癌や末期癌における腫瘍縮小及び消失には抵抗を示すことが明らかになっているが、本発明のIL-12誘導物質は、こうした進行癌や末期癌における腫瘍縮小及び消失に有効である。この事実は、本発明者が初めて見いだしたものである。このことが本発明の第

一の特有の効果である。

【0012】

本発明のIL-12誘導物質の投与には、全く副作用が認められない。従来の遺伝子操作で生産されるrt-IL-12は感受性が低いために大量投与をしなければならないため、多大の副作用を併発して、患者に甚大な被害を及ぼすことが多かった。しかしながら、本発明のIL-12誘導物質は、生体内に備わっているIL-12産生能力を活性化することをその本質的作用機作とするため、外部からの副作用発生物質を投与するものではなく、全く副作用の心配がないものである。この事実は、本発明者が初めて見いだしたものである。このことが、本発明の第二の特有の効果である。

【0013】

本発明の医薬組成物は、上記したIL-12誘導物質を主成分として含有してなるものである。本発明の医薬組成物は、例えば、抗癌剤として使用することができるが、これに限定されるものではない。

【0014】

本発明の医薬組成物をヒト又は動物に投与する場合の形態としては特に限定されず、例えば、担体に担持させて種々の医薬品に用いられる剤型として、適宜適用することができる。このような担体としては、固形、半固形、又は液状の希釈剤、充填剤、及びその他の処方用の助剤一種以上が、例えば、0.1%~99.5%、好ましくは0.5~90%の割合で用いられる。本発明医薬組成物は、経口的又は非経口的に安全に投与することができる。非経口の投与形態として、例えば、組織内投与等の局所投与、皮下投与、筋肉内投与、動・静脈内投与、経直腸投与等が挙げられる。周知慣用の技術手段を用いてこれらの投与方法に適した製剤型を調製すればよい。

【0015】

例えば、抗癌剤としての投与量は、患者の年齢、体重、投与経路、疾病の種類や程度等を考慮した上で設定することが望ましいが、ヒトへの投与の場合、通常は、成人に対して有効成分量として、経口的に100~20000mg/日、好ましくは1000~10000mg/日で投与するのが一般的である。また、非経口的には、投与経路により大きく異なるが、通常、100~1000mg/日、好ましくは200~500mg/日の範囲で投与すればよい。場合によっては、これ以下で充分であるし、また逆にこれ以上の用量を必要とすることもある。また1日2~4回に分割して投与することもできる。

【0016】

経口投与は、固形又は液状の用量単位、例えば、末剤、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、シロップ剤、エリキシル剤又は懸濁剤その他の剤型によって行うことができる。

【0017】

末剤は、活性物質を適当な細かさにより製造される。散剤は活性物質を適当な細かさとし、ついで同様に細かくした医薬用担体、例えば澱粉、マンニトールのような可食性炭水化物その他賦形剤と混合することにより製造される。必要に応じ矯味剤、保存剤、分散剤、着色剤、香料その他のものを混じてもよい。

【0018】

カプセル剤は、まず上述のようにして粉末状にした末剤や散剤又は錠剤を顆粒化したものを、例えばゼラチンカプセルのようなカプセル外皮の中へ充填することにより製造される。また、充填前に滑沢剤や流動化剤、例えばコロイド状のシリカ、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、固形のポリエチレングリコール等を任意に混合しておいてもよい。崩壊剤や可溶化剤、例えばカルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシスターチナトリウム、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム等を添加すれば、カプセル剤が摂取されたときの医薬の有効性を改善することができる。

【0019】

また、本品の微粉末を植物油、ポリエチレングリコール、グリセリン、界面活性剤中に懸濁分散し、これをゼラチンシートで包んで軟カプセル剤とすることができる。

## 【 0 0 2 0 】

顆粒剤は、粉末状にした活性物質と上述の賦形剤や崩壊剤を混合したものに、必要に応じ結合剤（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等）、及び、湿潤剤（例えばシロップ、澱粉糊、アラビアゴム、セルロース溶液又は高分子物質溶液等）を加えて練合し、ついで篩を強制通過させて調製することができる。このように粉末を顆粒化するかわりに、まず打錠機にかけたのち、得られる不完全な形態のスラグを破碎して顆粒にすることもできる。あらかじめ溶解遅延化剤（例えば、パラフィン、ワックス、硬化ヒマシ油等）、再吸収剤（例えば、四級塩等）又は吸着剤（例えばベントナイト、カオリン、リン酸ジカルシウム等）等を混合しておいてもよい。

## 【 0 0 2 1 】

錠剤は、このようにして作られる顆粒剤に、滑沢剤としてステアリン酸、ステアリン酸塩、タルク、ミネラルオイルその他を添加し打錠することにより調製することができる。こうして製造した素錠に更にフィルムコーティングや糖衣を施してもよい。

## 【 0 0 2 2 】

本発明の活性成分は、上述のように顆粒化やスラグ化の工程を経ることなく、流動性の不活性担体と混合した後直接打錠してもよい。シエラックの密閉被膜からなる透明又は半透明の保護被覆、糖や高分子材料の被覆、及び、ワックスよりなる磨上被覆等も用いることができる。

## 【 0 0 2 3 】

他の経口投与剤型、例えばシロップ剤、エリキシル剤及び懸濁剤等もまたその一定量が薬物の一定量を含有するように用量単位形態にすることができる。シロップ剤は、活性物質を適当な香味水溶液に溶解して製造され、またエリキシル剤は非毒性のアルコール性担体を用いることにより製造される。懸濁剤は、活性物質を非毒性担体中に分散させることにより処方される。懸濁化剤や乳化剤（例えば、エトキシ化されたイソステアリルアルコール類、ポリオキシエチレンソルビトールエステル類）、保存剤、矯味剤（例えば、ペパミント油、サッカリン）その他もまた任意に添加することができる。

## 【 0 0 2 4 】

必要に応じて、経口投与のための用量単位処方マイクロカプセル化してもよい。この処方はまた被覆をしたり、高分子・ワックス等の中に活性物質を埋めこんだりすることにより作用時間の延長や持続放出をもたらすこともできる。

## 【 0 0 2 5 】

皮下、筋肉内又は動・静脈内投与は、液状用量単位形態、例えば溶液や懸濁液の形態の注射剤とすることによって行うことができる。これらのものは、活性物質の一定量を、注射の目的に適合する非毒性の液状担体、例えば水性や油性の溶剤に溶解又は懸濁し、ついでこの溶液又は懸濁液を滅菌することにより製造される。また、粉末又は凍結乾燥した活性物質の一定量をバイアルにとり、その後バイアルとその内容物を滅菌し密閉してもよい。この場合、投与直前に溶解又は混合するために、予備的なバイアルや担体を準備しておいてもよい。注射液を等張にするために非毒性の塩や塩溶液を添加してもよく、さらに安定化剤、保存剤、懸濁化剤及び乳化剤等を併用することもできる。

## 【 0 0 2 6 】

経直腸投与剤型は、疎水性又は親水性の坐剤基剤、例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級エステル類（例えばパルミチン酸ミリスチルエステル）及びそれらの混合物に活性物質を練合することによって調製することができる。

## 【 0 0 2 7 】

本発明に係るAHCC、キノコ菌糸体成分、溶連菌の菌体成分は、IL-12誘導作用を有することから、これらを投与することにより生体内でのIL-12を誘導する方法も、本発明の範囲に含まれるものである。更に、本発明に係るAHCC、キノコ菌糸体成分、溶連菌の菌体成分は、IL-12誘導作用を有することから、これらを、そのIL-12を誘導し

うる投与量だけ、単独投与し又は併用投与することにより、腫瘍を治療する方法も、また本発明の範囲に含まれるものである。

【0028】

【実施例】

以下に本発明の実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

【0029】

実施例 1

AHCCの単独投与例食道癌を罹患するヒト(72歳、男性)は、頸部リンパ節、腹腔内リンパ節に浸潤した症状を有しており、手術不可能状態、放射線治療にも反応せず、水以外の経口摂取が不可能であった。このヒトに、AHCCを3.0g/日の用量で経口投与を連日行ったところ、1カ月経過後、3分粥、5分粥を摂取することが可能となった。血清中のSCC腫瘍マーカーを測定したところ、投与前には23ng/mL(正常値は、2.0ng/mLである)であったものが、投与1カ月後には、1.3ng/mLとなり、投与を継続したところ、3カ月後には全粥の摂取が可能となり、食道透視とCTにより腫瘍が完全に消失していることを確認できた。AHCC投与3カ月後には、血清中のNK活性は68%(正常値は、40%以下)と高く、血清中のIL-12の値も、78pg/mL(正常値は、7.2pg/mL以下)と高値であった。また、CD4は、ヘルパーT細胞、CD8は、キラーT細胞を表し、CD4/CD8の値は、キラーT細胞の増量の度合いを表し、1以下であれば、キラーT細胞が増量していることを表す。正常値は、1.0~1.5である。実施例1におけるCD4/CD8の値は、0.75と細胞障害性キラーT細胞の増量が認められた。

【0030】

実施例 2

AHCCの単独投与例睾丸腫瘍を罹患するヒト(36歳、男性)は、原発の右睾丸腫瘍は手術により切除された。その後、腹膜リンパ節に小児頭大の転移を生じていた。このヒトに、AHCCを3.0g/日の用量で経口投与を連日投与したところ、1カ月後には、腫瘍の大きさは約半分となり、3カ月継続投与後には、腫瘍が完全に消失した。AHCC投与3カ月後には、NK活性は13%と低下していたが、IL-12の値は、120pg/mLと極めて高値であった。AHCCの抗腫瘍作用は、NK活性によるものではないことが推察できた。CD4/CD8の値は、0.52であった。

【0031】

実施例 3~6

AHCC、サメ軟骨の併用投与例

実施例 3は胃癌/進行性癌(72歳、男性)(治療後判定:CR完全腿縮)

実施例 4は盲腸癌/癌性腹膜炎/末期癌(57歳、男性)(治療後判定:CR完全腿縮)

実施例 5は胃癌/肝転移、末期癌(69歳、男性)(治療後判定:CR完全腿縮、

実施例 6は肝癌/肺転移/末期癌(71歳、女性)(治療後判定:PR転移消失)である。

上記癌罹患ヒトについて、AHCCを3.0g/日の用量で連日投与すると同時に、サメ軟骨(シャーク)を20g/日の用量で経口投与により連日投与した。3カ月投与した後、治療判定とNK活性、IL-12数値及びCD4/CD8の値を測定した。実施例3及び実施例6においては、いずれも50%以上の腫瘍の縮小を認めた。しかし、NK活性は、いずれも正常値であり活性が亢進していないことが判った。実施例3~6のいずれにおいても、IL-12値は、正常範囲をはるかに超えて高い値を示した。腫瘍の縮小には、IL-12が関与していることが推察できた。また、サメ軟骨の併用投与には、NK活性に対する効果及びIL-12の亢進に対する効果がないことが、これまでの免疫学的検討で判っている。

【0032】

実施例 7、8

AHCC、PSK、サメ軟骨併用投与例

実施例 7 は左肺癌 / 右肺転移 / 肝転移 / 末期癌 ( 67 歳、男性 ) ( 治療後判定 : PR 右肺転移消失 )

実施例 8 は右肺癌 / 左肺転移 / 肝転移 / 末期癌 ( 73 歳、女性 ) ( 治療後判定 : PR 肺転移消失 )

である。

上記癌罹患ヒトに対して、まず、AHCCの 3.0 ~ 6.0 g / 日及びサメ軟骨の 20 g / 日を経口投与により連日投与したが、腫瘍の縮小は、3カ月めで認められずまたIL-12も高い値を示さなかった。そこで、癌罹患ヒトに対して、AHCCの 3.0 ~ 6.0 g / 日及びサメ軟骨の 20 g / 日に加えて、PSK ( 三共社製、クレスチン ) 3.0 g / 日を投与したところ、IL-12の値が高くなると同時に腫瘍も50%以上のPR効果を示した。サメ軟骨の併用投与には、NK活性に対する効果及びIL-12の亢進に対する効果がないことが判った。また、PSKは、3.0 g / 日の単独投与では肺癌縮小効果が認められたことはなかったので、AHCCとPSKとの併用により始めて現れた効果であることが判った。PSKにも、IL-12産生の亢進作用があることが示唆された。

#### 【0033】

比較例 1、2

OK-432、PSK、SPG ( 又はレンチナン ) 3 剤併用投与例

比較例 1 は胃癌 / 癌性腹膜炎 / 末期癌 ( 23 歳、男性 )

比較例 2 は肝癌 / 癌性腹膜炎 / 末期癌 ( 72 歳、男性 )

である。

比較例 1 では、OK-432 ( 中外製薬社製、ピシバニール ) を 5 KE / W の皮下投与、PSK ( 三共社製、クレスチン ) 3.0 g / 日を経口投与し、更に、SPG ( 科研製薬社製、ソニフィラン ) バイアル / W を筋注投与して多剤免疫療法効果をみた。比較例 2 では、SPGの代わりにレンチナン ( 山之内製薬社製、レンチナン ) を 400 mg / W 静注投与したこと以外は比較例 1 と同様に投与して多剤免疫療法効果をみた。いずれも、劇的な腫瘍縮小が認められた。また、IL-12の値を測定したところ、いずれも高値であった。多剤免疫療法における抗腫瘍作用は、IL-12産生の亢進によるものであることが示唆された。

#### 【0034】

進行癌、末期癌の患者に対してBRM製剤を投与してIL-12を誘導することにより腫瘍の縮小や消失を認めた例はこれまでに報告がなく、本発明者が初めて見いだしたものである。このような現象はNK活性のみに起因するものではなく、IL-12の誘導とキラーT細胞の増強をするものであることが明らかとなった。また、IL-12の誘導によって抗腫瘍作用を増強するためには、更に新生血管阻害作用を有するサメ軟骨の併用も効果的であることが判っている。更に、AHCCの抗腫瘍作用の増強には、PSKの追加投与も効果的であることが判った。特に、肺癌、肝癌、胃癌、大腸癌、膵癌、腎癌等の症例においては、その傾向が顕著であった。

#### 【0035】

IL-12の誘導には、IL-12以外の他のBRM製剤の併用投与、OK-432、PSK及びSPG ( 又はレンチナン ) の3剤併用投与でも可能であることも判った。

#### 【0036】

##### 【発明の効果】

進行癌、末期癌の治療には、現状では、手術、抗癌剤投与、放射線治療、ホルモン療法等の現代医療を駆使しても、ほとんど効果が薄いことが判っており、本発明のIL-12誘導物質及びこれを主成分とする医薬組成物の投与は、これら進行癌、末期癌の治療に有効であり、又は、QOLの改善に有効であり、極めて実用性の高いものである。本発明のIL-12の誘導産生値をマーカーにする抗腫瘍効果の検査方法は、抗腫瘍効果の判定方法として新規であり、癌治療の新たな展開を可能とするものである。