

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4038331号

(P4038331)

(45) 発行日 平成20年1月23日(2008.1.23)

(24) 登録日 平成19年11月9日(2007.11.9)

(51) Int. Cl.		F I	
C07K	14/54	(2006.01)	C07K 14/54
A61K	38/00	(2006.01)	A61K 37/02
A61B	5/15	(2006.01)	A61B 5/14
C07K	16/00	(2006.01)	C07K 16/00

請求項の数 11 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2000-509730 (P2000-509730)	(73) 特許権者	500069334 オルソゲン アーゲー
(86) (22) 出願日	平成10年8月5日(1998.8.5)		ドイツ連邦共和国 ディー-40210デ ュッセルドルフ、クラフ-アドルフ-シュ トラーセ 43
(65) 公表番号	特表2001-515088 (P2001-515088A)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(43) 公表日	平成13年9月18日(2001.9.18)	(74) 代理人	100105463 弁理士 関谷 三男
(86) 国際出願番号	PCT/EP1998/004866	(74) 代理人	100099128 弁理士 早川 康
(87) 国際公開番号	W01999/009051	(72) 発明者	ライネク, ジュリオ ドイツ連邦共和国 ディー-50739ケ ルン, クンテルシュトラーセ 162
(87) 国際公開日	平成11年2月25日(1999.2.25)		
審査請求日	平成16年7月21日(2004.7.21)		
(31) 優先権主張番号	197 35 537.4		
(32) 優先日	平成9年8月16日(1997.8.16)		
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		
(31) 優先権主張番号	98109186.1		
(32) 優先日	平成10年5月20日(1998.5.20)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁(EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療効果を有するタンパク質を誘導するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

注射器内で少なくとも1つの治療効果を有するタンパク質またはタンパク質混合物を形成するための方法であって、注射器の内側構造を単離された免疫グロブリンGで被覆し、当該注射器を体液で満たしてインキュベートし、体液中で治療効果を有するタンパク質を生成させることを含む前記方法。

【請求項2】

治療効果を有するタンパク質が、インターロイキン1受容体アンタゴニスト(IRA P)、インターロイキン4、インターロイキン10または可溶性腫瘍壊死因子受容体I型またはII型である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

注射器の内側構造を当該注射器の内側表面によって形成する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

内側構造が注射器内に存在している球、ゲル、ガラスウール、顆粒または粒子によっても形成される、請求項1から3のいずれか1項記載の方法。

【請求項5】

内側構造がポリスチロールまたはガラスから成るか、またはこれらを包含している、請求項1から4のいずれか1項記載の方法。

【請求項6】

10

20

インキュベート前に注射器に付加的に抗凝血物質を供給する、請求項1から5のいずれか1項記載の方法。

【請求項7】

前記体液が血液である、請求項1から6のいずれか1項記載の方法。

【請求項8】

治療効果を有するタンパク質の *In vitro*での誘導に適した注射器を形成するための方法であって、タンパク質結合性の内側構造を有する注射器内に単離された免疫グロブリンGを入れ、単離された免疫グロブリンGが内側構造と結合するようにインキュベートすることにより、単離された免疫グロブリンGで内側構造が被覆された注射器を得ることを含む、前記方法。

10

【請求項9】

注射器の内側構造がポリスチロールまたはガラスから成るか、またはこれらを包含している、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

治療効果を有するタンパク質がIRAPである、請求項8または9に記載の方法。

【請求項11】

請求項8から10のいずれか1項に記載の方法に従って形成される、治療効果を有するタンパク質の *In vitro*での誘導に適した、内側構造を有する注射器であって、注射器の内側構造がポリスチロールまたはガラスから成るか、またはこれらを包含している、単離された免疫グロブリンGで被覆されていることを特徴とする注射器。

20

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、治療効果を有するタンパク質を形成するための方法、およびこれに使用される手段、特に注射器に関する。

【0002】

治療効果を有するタンパク質、たとえばエритроポエチン、インシュリンまたはインターフェロンが、相当以前から知られている。これらのタンパク質の多くは、既に薬剤として許可されており、そのため頻繁に使用されている。しかし、これらの薬剤の開発および許可に伴うコストが高いため、治療効果を有するタンパク質を提供するための簡単で廉価な代替案が求められている。さらに、治療効果を有するすべてのタンパク質が薬剤として許可されているわけではない。それにもかかわらず、これらのタンパク質を患者に投与する需要は頻繁に存在する。この場合、特に重要なのは、生体適合性が良好であると推測される自己タンパク質、すなわち生体内在性タンパク質である。これらのタンパク質には、インターロイキン1受容体アンタゴニスト、インターロイキン4、インターロイキン10および溶性腫瘍壊死因子受容体I型またはII型が含まれる。

30

【0003】

インターロイキン1受容体アンタゴニストを形成するために付着免疫グロブリンGによって単球を刺激することが、ArendおよびLeungにより *Immunological Reviews* (1994) 139, 71-78に、また、Moore et al.により *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* (1992) 6, 569-575に記述されている。Andersen et al.は *Autoimmunity* (1995) 22, 127-133で、*in vivo*で観察される免疫グロブリンGの治療効果は、インターロイキン1受容体アンタゴニストの形成強化に帰することはできないこと、また単球によるインターロイキン1受容体アンタゴニスト (IRAP、IL-1ra) の *in vitro*での形成は、ポリプロピレンに吸着された血清成分および血漿成分に依存して行われることを説明している。直接治療に使用可能なIL-1raを形成する方法は、これらの刊行物には記載されていない。

40

【0004】

したがって、本発明の基礎をなす技術的課題は、慣用的な薬品製剤を使用および形成するための廉価かつ迅速に実施できる代替案として働く、治療効果を有するタンパク質を形成するための方法および手段を提供することである。

50

【0005】

本発明はこの課題を解決するために、注射器内で少なくとも1つの治療効果を有するタンパク質またはタンパク質混合物を形成するための方法を提供し、しかも当該注射器の内側構造を誘導物質、特に免疫グロブリンで被覆し、注射器を体液で満たしてインキュベートし、体液中で治療効果を有するタンパク質を生成させる。したがって、本発明は第1の方法の工程において、注射器の内側構造を誘導物質、特に免疫グロブリンで被覆し、そこで定着させるようになっている。被覆後、第2の方法の工程で、注射器を体液、特に血液、リンパ液、唾液または尿で満たしてインキュベートする。好ましくは、体液を患者から直接注射器で採取する。注射器の内側構造に定着された誘導物質、特に免疫グロブリンは、体液内で特異的に、すなわち使用した誘導物質、特に免疫グロブリン、および使用した体 10
液に依りて、治療効果を有するタンパク質の生成を誘導する。したがって、これらのタンパク質は、注射器内に存在している体液内で濃縮もしくは生成される。このようにして濃縮された体液は、注射器内に無菌貯蔵され、必要に応じて再び患者に、その他の処理をせずに直接、またはたとえば遠心分離および/または無菌濾過の後で供給される。

【0006】

本発明はまた、体液内で複数のタンパク質の生成を同時に誘導して、これら複数のタンパク質の高められた濃度を有する体液を生成するようになっている。

【0007】

本発明との関連において、注射器の内側構造とは、注射器の内部に位置していて、受容すべき体液と接触し、かつ誘導物質、特に免疫グロブリンで被覆され得る、注射器のすべ 20
ての範囲またはすべての構造として理解される。特に好ましくは、注射器の内側構造は当該注射器の内側表面であり、場合によっては表面積拡大のための凹凸構造を有する表面である。しかし、注射器の内側表面積を拡大して、誘導物質、特に免疫グロブリンに対するより大きい被覆表面を提供するために、内側構造は代わりにまたは付加的に粒子、球、ゲル、ガラスウール、顆粒などによって形成されることができる。

【0008】

本発明の特に有利な構成において、注射器、特に注射器の内側構造がポリスチロール、ポリプロピレン、ガラスまたは類似の物質から形成されるように、すなわちこれらの物質から成るか、またはこれらの物質を主として包含しているようにされる。そして、この物質は誘導物質、特に免疫グロブリンを結合する性質を有しており、したがって誘導物質、特 30
に免疫グロブリンの付着を可能にする。本発明の好ましい構成において、注射器の、それ自体は非タンパク質結合性の内側構造に、タンパク質結合性の被覆を設けることによって、注射器の内側構成を形成するようになっている。

【0009】

本発明が提供する簡単に実施できる方法により、誘導、特に免疫グロブリン誘導によって形成可能な治療効果を有する自己タンパク質を形成でき、そのようにして形成された形式で、すなわち注射器内に存在する液体のその他の成分と一緒に、再び患者に直接、すなわち別の操作、たとえば他の容器に移し替えたりすることなく投与できる。場合によっては、固体成分を分離するために遠心分離および/または無菌濾過を設けることができる。したがって、市販されている、しばしば高価な薬剤は使用する必要がなくなる。さらに、従 40
来は製剤法上まだ許可されておらず、したがって入手できないものである、治療効果を有する自己タンパク質の使用が可能である。最後に、本発明は、患者の外部で行われる薬剤形成に基づく治療効果を有するタンパク質の汚染、汚濁、伝染その他が回避されるので有利であることが分かった。

【0010】

本発明の特に好ましい態様において、治療効果を有するタンパク質は、インターロイキン4、インターロイキン10または溶性腫瘍壊死因子受容体I型またはII型、特に好ましくはインターロイキン1受容体アンタゴニスト(IRAPまたはIL-1ra)である。

【0011】

本発明のもう一つの特に好ましい態様において、注射器の内側構造を被覆する免疫グロブ 50

リンは免疫グロブリンGである。本発明との関連において、免疫グロブリンGは単離された免疫グロブリンGを意味し、また免疫グロブリンGを含有している免疫複合体、免疫グロブリンを含有している製剤、例えば血清、血漿または免疫グロブリンG・Fcフラグメント、もしくはこれを含有している製剤または複合体を意味している。

【0012】

本発明は特に好ましい態様において、インターロイキン1受容体アンタゴニストを形成するための方法を設けており、しかも、注射器の内側構造を誘導物質、特に免疫グロブリン、特に好ましくは免疫グロブリンGで被覆し、注射器を体液、好ましくは血液で満たしてインキュベートし、インターロイキン1受容体アンタゴニストを体液中で生成し濃縮する。誘導物質、特に免疫グロブリンGが注射器の内側構造の表面に結合または付着することにより、誘導物質は血液中に存在している単球を刺激する位置にあってインターロイキン1受容体アンタゴニストを生成し、これを血液で濃縮する。注射器内にある血液はインキュベート後、すなわちインターロイキン1受容体アンタゴニストの濃縮後、移し替えなど別の操作なしに直接、注射器に満たした血液を、これを採取した患者に再び供給できる。有利には、細胞などの固体成分を分離するために、遠心分離および/または無菌濾過を設けることができる。本発明はまた、誘導物質で被覆した、特に免疫グロブリンGで被覆した注射器を用いて患者から血液を採取でき、この血液を注射器内でインキュベートし、IL-1ra生成後に注射器で再び患者に供給できる。このような処理方法は、たとえば神経整形外科の分野、すなわちたとえば神経に起因する背痛において特に有利である。このような痛みの処理には、従来は椎間板手術、コルチゾン治療、食塩溶液による洗浄などが考慮されるのみであった。本発明は、痛みを治療するために治療効果を有するタンパク質を簡単かつ廉価に提供することができる。

10

20

【0013】

本発明は好ましい態様において、注射器の内側構造を付加的に抗凝血物質、特にヘパリンで被覆するようにしている。本発明により、抗凝血物質を被覆としてではなく、結合せずに容器内に入れるように、たとえば凍結状態または液相で注射器内に入れるようにすることもできる。

【0014】

本発明は別の好ましい態様において、注射器内における体液のインキュベートを12から72時間にわたり、好ましくは41°C未満の室温下、特に37°Cで行うようにしている。

30

【0015】

本発明は発明の構成において、体液中で治療効果を有するタンパク質を生成した後、たとえば体液の特定の成分、たとえば血漿または血小板を分離するために、さらに体液を処理するようにもできる。この分離は発明の好ましい態様において遠心分離によって実施できる。

【0016】

本発明はもう一つの態様において、治療効果を有するタンパク質、特にインターロイキン1受容体アンタゴニストの*in vitro*での誘導に適した注射器を形成するための方法に関する。この場合、誘導物質、好ましくは免疫グロブリン、特に免疫グロブリンGをタンパク質結合性の内側構造に入れてインキュベートし、その結果として誘導物質、特に免疫グロブリンGが内側構造に結合する。

40

【0017】

言うまでもなく本発明は、このようにして形成された、特に好ましい態様においてポリスチロール、ポリプロピレンまたはガラスから成る注射器にも関する。この場合、注射器はその内側構造を誘導物質、特に免疫グロブリン、好ましくは免疫グロブリンGで被覆することを特徴とする。

【0018】

本発明は、治療効果を有するタンパク質、好ましくはインターロイキン1受容体アンタゴニストの*in vitro*での誘導のための、好ましくはポリスチロール、ポリプロピレ

50

ンまたはガラスから成る注射器の内側構造を被覆するために免疫グロブリン、特に免疫グロブリンGを使用することにも関する。

【0019】

本発明の追加の有利な構成が、従属請求項に記載されている。

【0020】

本発明は図面及び実施例により詳細に説明される。

【0021】

例1

図は、ピストン3と、ねじをゆるめて取り外せる栓体5および栓体突起部13 (male Luer) と、栓体突起部13上に配置されてこれを閉鎖している取り外し可能な隔膜付きキャップ7とを有する、ポリスチロールから成る注射器1を示している。ピストン3は予め決められた破断部15を有している。IgG (図示せず) で被覆した、ポリスチロールから成る顆粒9も示されている。顆粒粒子9の大きさは直径1から3mmであるが、より小さい粒子、特に100μmより大きい粒子も使用できる。

10

【0022】

注射器1を形成するために、IgG製剤を注射器内に受容し、これで顆粒および注射器内壁を濡らすことによって、顆粒9を市販のIgG製剤 (Venimmun (登録商標)、Behring) で被覆する。次いで、免疫グロブリンG製剤の顆粒9および注射器内壁との完全な結合を保証するために、注射器1を室温下で少なくとも15分間インキュベートする。最後に、後に受容される血液の凝固を防ぐために、ヘパリン (リケミンN2500、ヘパリン・ナトリウム2500 I.E.) またはクエン酸 (ACDA) を注射器内に入れる。

20

【0023】

注射器1は、ねじをゆるめて取り外せるキャップ7をチューブ (図示せず) によりカニューレ (図示せず) と接続するアダプタ (図示せず) を用いて患者の血液を取るために使用する。このアダプタは針を有しており、この針で栓体突起13内に存在している隔膜を突き破る。次いで、アダプタを取り外し、隔膜が自動的に閉じている取り外し可能なキャップ7で保護して37°Cで純血のインキュベートを24時間実施する。このインキュベートは、立てるか、または寝かせて行うことができる。立ててインキュベートを行う場合は、隔膜および無菌装着フィルタ (0.2μm) を通して血漿を採取する。付加的に、または代わりに遠心分離を設けることができる。インキュベートを寝かせて行う場合は、血液を遠心分離し、無菌装着フィルタ (0.2μm) を通して血漿を採取する。あるいはまた、遠心分離を行わずに、隔膜を通して血漿を採取するようにしてもよい。次いで、この血漿を、たとえば患者の神経の根や関節に注入する。

30

【0024】

例2：顆粒を入れた注射器

ポリスチロール、ガラスまたはその他の非発熱性のタンパク質結合性物質から成る顆粒を、無菌条件下でバッチ法によりタンパク質 (たとえばAMGで許可されたIgG製剤 (たとえばVenimmun (登録商標)、Behring) を無菌水または水性緩衝剤で10から100μm/mlに希釈) で被覆し、次いで乾燥する。

40

【0025】

慣用的なポリプロピレン注射器 (5、10、20または50ml) を、タンパク質で被覆した顆粒 (1、2、4または10cm³) および十分な量の抗凝血剤、たとえばヘパリン (リケミン、ヘパリン・ナトリウム2500 I.E.) またはクエン酸 (たとえばACDA) で満たす。

【0026】

充填した注射器を採取カニューレおよびチューブと一緒に包装し、次いでガンマ殺菌または電子殺菌する。このようにすることによって発熱源のないことが保証される。

【0027】

使用者は無菌の器械を用いて患者から採血する。注射器は栓体突起部内の開口部に隔膜を

50

有しており、この隔膜は採取のために採取用付属品、すなわちアダプタの針で突き通される。アダプタを取り外すと、隔膜は再び自動的に閉じる。採血後、注射器ピストンを予め決められた破断部で折り取る。

【0028】

血液を入れた注射器を、37°Cから41°Cで24時間インキュベートする。

a) 立ててインキュベートを行う場合は、隔膜および無菌装着フィルタ、たとえば0.2 μmを通して血漿を採取する。

b) 寝かせてインキュベートを行う場合は、注射器の遠心分離後、無菌装着フィルタ、たとえば0.2 μmを通して血漿を採取する。

【0029】

血漿の注射は、たとえば神経の根、関節または椎間板に行う。

【0030】

例3：顆粒なしの注射器

非発熱性のタンパク質結合性物質から成る注射器(5、10、20または50 ml)を、無菌条件下でタンパク質(たとえばAMGにより許可された市販のIgG製剤(Venimmun(登録商標)、Behring))を無菌水または水性緩衝剤で10から100 μm/mlに希釈)で被覆する。好ましくは注射器はポリスチロール、ガラスまたは特殊な調整を行った他の物質から成る。

【0031】

被覆した注射器を、十分な量のヘパリン(リケミン、ヘパリン・ナトリウム2500 I.E.)またはクエン酸(ACDA)で満たす。

【0032】

次いで、被覆し、充填した注射器を採取カニューレおよびチューブと一緒にガンマ殺菌または電子殺菌する。このようにすることによって発熱源のないことが保証される。

【0033】

使用者は無菌の器械を用いて患者から採血する。注射器は栓体突起部内に包含されている隔膜を有しており、この隔膜は採取のために採取用付属品、すなわち針を有するアダプタによって突き通される。アダプタを取り外した後、隔膜は再び自動的に閉じる。採血後、注射器ピストンを予め決められた破断部で折り取る。

【0034】

血液を入れた注射器を、37°Cから41°Cで24時間インキュベートする。

a) 立てて(たとえば試験管立てで)インキュベートを行う場合は、隔膜を通して血漿を取り出し、無菌装着フィルタ、たとえば0.2 μmを通して濾過を行う。

b) 寝かせてインキュベートを行う場合は、注射器の遠心分離後、隔膜を通して血漿を取り出し、無菌装着フィルタ、たとえば0.2 μmを通して濾過を行う。血漿の再注射は、たとえば神経の根、関節または椎間板に行う。

【0035】

例4：ヘパリンを用いた注射器内でのインターロイキン1受容体アンタゴニストの形成
薬剤法により許可された市販されている免疫グロブリンG製剤(Venimmun(登録商標)、Behring)を、無菌の水性緩衝剤で10から100 μg/mlに希釈する。

【0036】

この溶液を、ポリスチロールから成る無菌注射器に満たし、注射器の内側表面がタンパク質を効果的に結合する。次いで、内側壁面を免疫グロブリンGで飽和させるために室温下で少なくとも15分間インキュベートする。インキュベート時間は24時間以上になることもできる。

【0037】

インキュベートが完了した後、したがって注射器の内側表面内に免疫グロブリンGが付着した後、免疫グロブリンG溶液を注射器から取り除き、注射器を無菌状態で中間貯蔵する。薬剤法で許可されたヘパリン(リケミン、ヘパリン・ナトリウム2500 I.E.)を

10

20

30

40

50

抗凝血剤として被覆された注射器内に吸着させる。

【0038】

次いで、被覆された注射器で患者から静脈血を無菌採取する。

【0039】

注射器を、室温下で12から72時間インキュベートする。この時間内に血漿で、血漿中に含まれているタンパク質、特にインターロイキン1受容体アンタゴニストの強い濃縮が行われる。インターロイキン1受容体アンタゴニストの濃度1から50ng/mlを確定できた。

【0040】

次いで、被覆された注射器で血液または血漿を患者に注射する。

10

【0041】

例5：注射器内でのインターロイキン1受容体アンタゴニストの形成

薬剤法により許可された市販されている免疫グロブリンG製剤(Venimmun(登録商標)、Behring)を、無菌の水性緩衝剤で10から100μg/mlに希釈する。

【0042】

この溶液を、無菌のポリスチロール注射器に満たし、注射器の内側表面がタンパク質を効果的に結合する。室温下で少なくとも15分間インキュベートし、内側壁面を免疫グロブリンGで飽和させる。

【0043】

インキュベートおよび注射器内壁への免疫グロブリンGの付着後、免疫グロブリンG溶液を取り出し、注射器を無菌状態で中間貯蔵する。

20

【0044】

次いで、被覆された注射器で患者から静脈血を無菌採取する。

【0045】

注射器を、室温下で12から24時間インキュベートする。この時間内に血漿で、血漿中に含まれているタンパク質、特にインターロイキン1受容体アンタゴニストの強い濃縮が行われる。インターロイキン1受容体アンタゴニストの濃度1から50ng/mlを確定できた。

【0046】

次いで、希釈した血液またはインキュベート残滓を患者に注射する。

30

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明による注射器の概略図を示している。

【 図 1 】

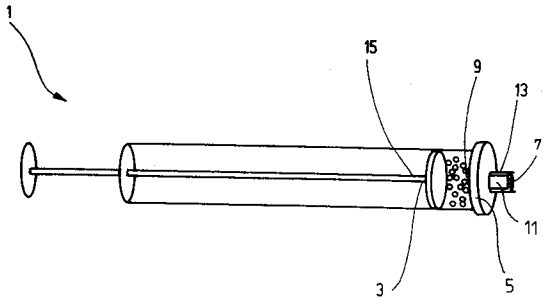


Fig.

フロントページの続き

- (72)発明者 マイジェル, ハンス
ドイツ連邦共和国 ディー 5 0 8 2 3ケルン, シムロックシュトラッセ 2
- (72)発明者 ウェリング, ピーター
ドイツ連邦共和国 ディー 4 0 5 9 7デュッセルドルフ, ピガゲーリー 2エイ

審査官 中村 正展

- (56)参考文献 米国特許第0 5 3 4 2 7 5 3 (U S , A)
米国特許第0 4 5 5 3 5 5 3 (U S , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C07K 14/54
A61B 5/15
A61K 38/00
C07K 16/00
BIOSIS/MEDLINE/EMBASE(STN)
WPIDS(STN)
JMEDIus(JDream2)
JSTPIus(JDream2)