



## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類 5 A01N 1/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO 94/00008</p> <p>(43) 国際公開日 1994年1月6日 (06.01.1994)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP93/00219 (22) 国際出願日 1993年2月23日(23. 02. 93)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平4/168977 1992年6月26日(26. 06. 92) JP</p> <p>(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 鳥居薬品株式会社(TORII &amp; CO., LTD.)(JP/JP) 〒103 東京都中央区日本橋本町三丁目4番1号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 土肥雪彦(DOHI, Kiyohiko)(JP/JP) 〒731-51 広島県広島市佐伯区薬師が丘二丁目11番24号 Hiroshima, (JP) 漆原 貴(URUSHIHARA, Takashi)(JP/JP) 〒734 広島県広島市南区東雲本町三丁目4番2号 奥野マンション503 Hiroshima, (JP) 岩田正徳(IWATA, Masanori)(JP/JP) 〒262 千葉県千葉市花見川区花園町2-4-3 Chiba, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 浅村 皓, 外(ASAMURA, Kiyoshi et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル331 Tokyo, (JP)</p>	<p>(81) 指定国 AT(欧州特許), AU, BE(欧州特許), CH(欧州特許), DE(欧州特許), DK(欧州特許), ES(欧州特許), FR(欧州特許), GB(欧州特許), GR(欧州特許), IE(欧州特許), IT(欧州特許), JP, LU(欧州特許), MC(欧州特許), NL(欧州特許), PT(欧州特許), SE(欧州特許), US.</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54) Title : ORGAN PRESERVING FLUID</p> <p>(54) 発明の名称 臓器保存液</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A novel organ preserving fluid or perfusate to be used in organ transplantation, which comprises sodium lactobionate, sodium dihydrogenphosphate, raffinose, glutathione, allopurinol and nafamostat mesilate, and further contains cyclodextrin in order to present a variation in composition.</p>		

(57) 要約

本発明は臓器移植時に使用する新規臓器保存液または灌流液を提供する。

本発明の新規臓器保存液または灌流液はラクトビオン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、ラフィノース、グルタチオン、アロプリノールおよびメシル酸ナファモスタットからなることを特徴とし、さらに、配合変化を防止するためシクロデキストリンを添加することを特徴とする。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT	オーストリア	CS	チェッコスロヴァキア	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	CZ	チェッコ共和国	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	DK	デンマーク	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナファソ	ES	スペイン	LU	ルクセンブルグ	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FI	フィンランド	LV	ラトヴィア	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	FR	フランス	MC	モナコ	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GA	ガボン	MG	マダガスカル	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GB	イギリス	ML	マリ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MN	モンゴル	TG	トーゴ
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	MR	モーリタニア	TD	チャド
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MW	マラウイ	TG	トウゴ
CH	スイス	IE	アイルランド	NE	ニジェール	UA	ウクライナ
CI	コートジボワール	IT	イタリア	NL	オランダ	US	米国
CM	カメルーン	JP	日本	NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン共和国
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュージーランド	VN	ヴェトナム

## 明 細 書

## 臓器保存液

5 本発明は臓器摘出時の保存液あるいは灌流液に関する。

臓器移植の成績が飛躍的に向上してきている背景には、外科手術の進歩、抗生物質や免疫抑制剤の進歩とともに、臓器保存液や灌流液の進歩があげられる。

臓器の移植において、移植後移植臓器の灌流が必要で  
10 あるが、虚血状態にある臓器を灌流するさい、虚血灌流障害は不可避である。すなわち、灌流をする過程で惹起される細胞障害をいかに軽減するかということが、臓器移植の成功に大きく影響する。

従来、保存液としてはUW液（特開平1-24620  
15 1号：ラクトビオン酸カリウム、リン酸二水素カリウム、硫酸マグネシウム、水酸化ナトリウム、ラフィノース、アデノシン、グルタチオン、インスリン、バクトリウム、デキサメサゾン、アロプリノール、ヒドロキシルエチル澱粉）が、また灌流液にはリンゲル液、あるいはカロリ  
20 ナ・リンス液（塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウム、アデノシン、アロプリノール、デスフェリオキサミン、グルタチオン）等が用いられている。さらに、これらの液にメシル酸ナファモスタットなどの蛋白合成阻害剤を添加した改良品が報告さ  
25 れている（診断と治療・第25巻第1号）。

これら保存液あるいは灌流液のうち、UW液は1987年Belzerらにより開発されたもので、臓器の保存時間を飛躍的に延長した。しかし、その組成から分かるように、ヒドロキシルエチル澱粉を含んでいるため、液の粘稠性が高まり、臓器からの血液除去を困難にしている。また、カリウム濃度が高いことにより血管内皮に障害を与える。また、緩衝能の点においても十分でない。さらに、価格の面でもインスリンを含んでいることから、高価である。

10 リンゲル液やカロリン・リンス液は臓器の保存時間はせいぜい24時間であり、保存液としては、必ずしも満足な結果を得ていない。

本発明の目的は、移植用臓器の保存あるいは灌流の過程で生じる細胞障害から臓器を安定に保護することを目的とした、安価な臓器保存液または灌流液を提供することにある。

本発明者らは電解質、浸透圧調節剤、蛋白分解阻害剤などを種々組合せた結果、所期の目的を達成する本発明を完成するに至った。

20 本発明の臓器保存液または灌流液はラクトビオン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、ラフィノース、グルタチオン、アロプリノールおよびメシル酸ナファモスタットからなる。特に望ましい本発明の臓器保存液または灌流液は、浸透圧が290～350 mOsm/l、ラクトビオン酸ナトリウム：100～120 mM、リン酸

25

2 水素ナトリウム：25～35 mM、ラフィノース：2  
5～35 mM、グルタチオン：2～4 mM、アロプリノ  
ール：1～2 mM、メシル酸ナファモスタット：0.5  
～1 mM、pH 7.0～8.0の組成を有することを特  
5 徴とする。

さらに、本発明の処方において、配合変化による沈殿  
を防ぐために、シクロデキストリンを適当量添加するこ  
とが好ましい。シクロデキストリンとしては $\alpha$ -シクロ  
デキストリン、 $\beta$ -シクロデキストリンあるいは $\gamma$ -シ  
10 クロデキストリンを単独で用いてもよいし、いずれかの  
シクロデキストリンの2つ以上を配合して用いても良い。

すなわち、本発明は、さらに、ラクトビオン酸ナトリ  
ウム、リン酸二水素ナトリウム、ラフィノース、グルタ  
チオン、アロプリノール、メシル酸ナファモスタットお  
よびシクロデキストリンからなる臓器保存液または灌流  
15 液に関し、特に望ましい本発明の臓器保存液または灌流  
液は、浸透圧が290～350 mOsm/l、ラクトビ  
オン酸ナトリウム：100～120 mM、リン酸2水素  
ナトリウム：25～35 mM、ラフィノース：25～3  
20 5 mM、グルタチオン：2～4 mM、アロプリノール：  
1～2 mM、メシル酸ナファモスタット：0.5～1 m  
Mおよびシクロデキストリン3～30 mM、pH 7.0  
～8.0の組成を有することを特徴とする。

以下に本発明の例を示すが、本発明はこれに限定され  
25 るものではない。

## 例 1

蒸留水約 800 ml にラクトビオン酸・ナトリウム塩  
41.8 g、リン酸二水素ナトリウム 3.00 g、ラフ  
ィノース 15.13 g、グルタチオン 0.92 g、アロ  
5 プリノール 0.14 g を加えて溶解する (A 液)。これ  
とは別にメシル酸ナファモスタット: 0.43 g を蒸留  
水 100 ml に加え溶解する (B 液)。A 液と B 液を混  
合し、蒸留水を加え全量を 1000 ml に調製した後、  
濾過滅菌する。

## 10 例 2

蒸留水約 800 ml にラクトビオン酸・ナトリウム塩  
41.8 g、リン酸二水素ナトリウム 3.00 g、ラフ  
ィノース 15.13 g、グルタチオン 0.92 g、アロ  
プリノール 0.14 g、 $\beta$ -シクロデキストリン 3.4  
15 g、 $\gamma$ -シクロデキストリン 1.3 g を加えて溶解する  
(A 液)。これとは別にメシル酸ナファモスタット 0.  
43 g を蒸留水 100 ml に加え溶解する (B 液)。A  
液と B 液を混合し、蒸留水を加え全量を 1000 ml に  
調製した後、濾過滅菌する。

20 例 1 の処方および例 2 の処方の安定性試験を実験例 1  
に示す。また、例 1 の処方での臓器移植実験を実験例 2  
および実験例 3 に示す。

## 実験例 1.

例 1 および例 2 の処方の配合変化を表 1 に示す。数値  
25 はメシル酸ナファモスタットの残存率 (%) を示してい

る。表 1 から明らかなようにシクロデキストリンを添加した場合は明らかに沈殿を抑制し、配合変化を起こさなかった。

表 1 . 配合変化試験

5

		時間 (h)	0	3	24	48	72
10	例 1 の処方	外観	沈殿	沈殿	沈殿	沈殿	沈殿
		残存率	100	45.5	20.2	19.7	15.2
	例 2 の処方	外観	澄明	澄明	澄明	澄明	澄明
		残存率	100	100	98	68.3	56.4

本発明の保存液（例 1）あるいは従来の保存液を用いて保存した場合の実験成績を以下に示す。

実験例 2 .

実験動物として体重 150 ~ 250 g の雄性ラットを用いた。レシピエントにはストレプトドゾシンを 65 mg / kg 静脈注射し、3 日以上血糖が 300 mg / 20 ml 以上となったラットを糖尿病ラットとしてもちいた。膵移植手技はカフ法を用い頸部に同系膵移植を行った。

実験群として、UW 液に 48 時間あるいは 72 時間保存し、灌流液として生理食塩水または本発明保存液を用い灌流した場合、および本発明保存液に 72 時間保存し、25 本発明保存液で灌流した場合の移植後の移植生着率を表

2 に示す。

表 2 ラット膵臓移植における各種保存液および灌流液の効果

5	保存液	灌流液	移植後の移植生着率	
			48時間保存	72時間保存
10	UW液	生理食塩液	44%	0%
		カロリナ・リンス液	63%	0%
		本発明保存液(例1)	100%	56%
15	本発明保存液(例1)	本発明保存液(例1)	100%	80%

表 1 から明らかな様に本発明保存液で灌流した場合、生理食塩液あるいはカロリナ・リンス液で灌流した場合より、長時間保存が可能であった。さらに、臓器の保存および灌流を本発明保存液で実施した場合が最も長時間臓器保存が可能であった。

### 実験例 3

実験動物として体重 150～250g の雄性ラットを用い、心移植手技はカフ法を用い頸部に同系心移植を行

った。

実験群として、UW液に18時間保存し、灌流液として生理食塩水、カロリナ・リンス液または本発明保存液を用い灌流した場合、および本発明保存液に18時間保存し、本発明保存液で灌流した場合の移植後の移植生着率を表3に示す。

表3 ラット心移植における各種臓器保存液および灌流液の効果

10	保存液	灌流液	移植後の移植生着率
	UW液	生理食塩液	50%
		カロリナ・リンス液	50%
15		本発明保存液 (例1)	100%
20	本発明保存液 (例1)	本発明保存液 (例1)	100%

表3から明らかな様に、本発明保存液で灌流した場合、生理食塩液あるいはカロリナ・リンス液で灌流した場合より、移植後の移植生着率が良好であった。さらに、臓器の保存および灌流を本発明保存液で実施した場合も良好な結果が得られた。

## 請 求 の 範 囲

1. ラクトビオン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、ラフィノース、グルタチオン、アロプリノールおよびメシル酸ナファモスタットを含有する臓器保存液または灌流液。

2. 浸透圧が  $290 \sim 350 \text{ mOsm/l}$ 、ラクトビオン酸ナトリウム  $100 \sim 120 \text{ mM}$ 、リン酸二水素ナトリウム  $25 \sim 35 \text{ mM}$ 、ラフィノース  $25 \sim 35 \text{ mM}$ 、  
10 グルタチオン  $2 \sim 4 \text{ mM}$ 、アロプリノール  $1 \sim 2 \text{ mM}$ 、メシル酸ナファモスタット  $0.5 \sim 1 \text{ mM}$ 、 $\text{pH} 7.0 \sim 8.0$  の組成を有することを特徴とする請求の範囲第1項に記載の臓器保存液または灌流液。

3. ラクトビオン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、ラフィノース、グルタチオン、アロプリノール、  
15 メシル酸ナファモスタットおよびシクロデキストリンを含有する臓器保存液または灌流液。

4. 浸透圧が  $290 \sim 350 \text{ mOsm/l}$ 、ラクトビオン酸ナトリウム  $100 \sim 120 \text{ mM}$ 、リン酸二水素ナトリウム  $25 \sim 35 \text{ mM}$ 、ラフィノース  $25 \sim 35 \text{ mM}$ 、  
20 グルタチオン  $2 \sim 4 \text{ mM}$ 、アロプリノール  $1 \sim 2 \text{ mM}$ 、メシル酸ナファモスタット  $0.5 \sim 1 \text{ mM}$  およびシクロデキストリン  $3 \sim 30 \text{ mM}$ 、 $\text{pH} 7.0 \sim 8.0$  の組成を有することを特徴とする請求の範囲第3項に記載の臓器保存液または灌流液。  
25

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/00219

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int. Cl <sup>5</sup> A01N1/00 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) Int. Cl <sup>5</sup> A01N1/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAS ONLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 1-246201 (Wisconsin Alumni Research Foundation), October 2, 1989 (02. 10. 89), Claim & DE, A, 3843958 & NL, A, 8803186 & GB, B, 2213362 & FR, A, 2625073 & SE, A, 8804661 & AU, A, 8827616 & US, A, 4879283 & CA, C, 1282342 & CH, A, 678912 & BE, A, 1003362 & IT, B, 1227916	1-4
A	JP, A, 3-188001 (Wisconsin Alumni Research Foundation), August 16, 1991 (16. 08. 91), Claim (Family: none)	1-4
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search March 18, 1993 (18. 03. 93)		Date of mailing of the international search report April 13, 1993 (13. 04. 93)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.		Authorized officer  Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) <b>Int. Cl.<sup>8</sup> A01N1/00</b>		
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)) <b>Int. Cl.<sup>8</sup> A01N1/00</b>		
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		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) <b>CAS ONLINE</b>		
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
<b>A</b>	<b>JP, A, 1-246201 ( Wisconsin アラムナイ リサーチ フォンデーション ) 2. 10月. 1989 ( 02. 10. 89 ) 特許請求の範囲 &amp;DE, A, 3843958 &amp;NL, A, 8803186 &amp;GB, B, 2213362 &amp;FR, A, 2625073 &amp;SE, A, 8804661 &amp;AU, A, 8827616 &amp;US, A, 4879283 &amp;CA, C, 1282342 &amp;CH, A, 678912 &amp;BE, A, 1003362 &amp;IT, B, 1227916</b>	<b>1-4</b>
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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」 先行文献ではあるが、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 <b>18. 03. 93</b>	国際調査報告の発送日 <b>13.04.93</b>	
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) <b>柿 沢 恵 子</b> ㊟	<b>4 H 6 7 4 2</b>
電話番号 03-3581-1101 内線 <b>3443</b>		

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	JP, A, 3-188001 (ウイスコンシン アラムナイ リサーチ フォンデーション) 16. 8月. 1991 (16. 08. 91) 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-4