世界知的所有権機関
国際事務局

PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5
A61K 37/02 // A61K 35/12
A61K 35/22

A1

(11) 国際公開番号 WO 93/00921

(43) 国際公開日 1993年1月21日(21.01.1993)

(21) 国際出願番号 PCT/JP92/00874
(22) 国際出願日 1992年7月7日(07. 07. 92)

(30) 優先権データ
特願平3/192714 1991年7月8日(08. 07. 91) JP

(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について)
株式会社 ミドリ十字
(THE GREEN CROSS CORPORATION)[JP/JP]
〒541 大阪府大阪市中央区今橋一丁目3番3号 Osaka, (JP)
森永乳業株式会社
(MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.)[JP/JP]
〒108 東京都港区芝五丁目33番1号 Tokyo, (JP)
(72) 発明者;および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ)
花村卓司(HANAMURA, Takuji)[JP/JP]
李 良子(LEE, Lyang-Ja)[KR/KR]
松岡靖史(MATSUOKA, Yasushi)[JP/JP]
杉浦正典(SUGIURA, Masanori)[JP/JP]
〒573 大阪府枚方市招堤大谷二丁目25番1号
株式会社ミドリ十字 中央研究所内 Osaka, (JP)
(74) 代理人
弁理士 萩野 平 、外 (HAGINO, Taira et al.)
〒100 東京都千代田区霞が関3丁目8番1号 虎の門三井ビル14階
栄光特許事務所 Tokyo, (JP)

(81) 指定国
AT(欧州特許), BE(欧州特許), CA, 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), IT(欧州特許), KR,
LU(欧州特許), MC(欧州特許), NL(欧州特許), SE(欧州特許),
US.

添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title : REMEDY FOR OSTEOPOROSIS

(54) 発明の名称 骨粗鬆症治療剤

(57) Abstract

A remedy for osteoporosis containing a monocyte-macrophage colony formation stimulating factor as an active ingredient to be used for promoting normal osteogenesis with reduced side effects to thereby attain radical treatment of osteoporosis by solving the problem presented by the prolonged use of estrogen which is known as a drug for promoting osteogenesis but is dangerous owing to the side effect on the uterus and carcinogenicity.

(57) 要約

従来、骨形成を促進する薬剤として、エステロゲンが知られているが、子宮への副作用や発癌性の危険があるため長期使用には問題がある。

本発明は、骨粗鬆症を根治治療するために副作用の軽減された骨形成を正常に進めるために使用される、単球－マクロファージコロニー形成刺激因子を有効成分とする骨粗鬆症治療剤を提供するものである。

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
AU オーストラリア
BB バルバードス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BJ ベナン
BR ブラジル
CA カナダ
CF 中央アフリカ共和国
CG コンゴー
CH スイス
CI コート・ジボアール
CM カメルーン
CS チェコスロバキア
DE ドイツ
DK デンマーク
ES スペイン
FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GN ギニア
GB イギリス
GR ギリシャ
HU ハンガリー
IE アイルランド
IT イタリー
JP 日本
KP 朝鮮民主主義人民共和国
KR 大韓民国
LI リヒテンシュタイン
LK スリランカ
LU ルクセンブルグ
MC モナコ
MG マダガスカル
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュージーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア
RU ロシア連邦
SD スーダン
SE スウェーデン
SN セネガル
SU ソヴィエト連邦
TD チャード
TG トーゴ
UA ウクライナ
US 米国

明　細　書

骨粗鬆症治療剤

技術分野

本発明は、単球－マクロファージコロニー形成刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）を有効成分とする骨粗鬆症治療剤に関する。

背景技術

骨粗鬆症は、代謝障害、内分泌障害、加齢により骨吸収と骨形成のバランスがくずれたために骨量が減少し、骨の粗鬆化をきたす疾病である。症状は激しい腰背痛と骨の粗鬆化に起因する骨折を呈し、老人の場合これを契機として寝たきりとなり、死亡に至ることもある。

骨粗鬆症治療剤としては、腰背痛の緩和作用、骨吸収抑制作用、骨形成促進作用を有する薬剤が考えられるが、現在使用されているカルシトニン、ビタミンＤ、カルシウム剤などの薬剤はいずれも作用機序が腰背痛の緩和、骨吸収抑制であり、骨形成を積極的に促進するものではない。骨形成は本来、骨吸収に伴ってバランスをもって行われるものであり、骨吸収を抑制することは骨形成も行われなくなる危険性がある。また、骨形成を進める薬剤として、エストロゲンが知られているが、子宮への副作用や発癌性の危険のため、長期使用には問題がある。そこで、骨粗鬆症を根治治療するために副作用の軽減された骨形成を正常に進める薬剤が求められている。

一方、コロニー形成刺激因子（以下、ＣＳＦ）は顆粒球やマクロファージの増殖と分化を促進する内因性因子である。ＣＳＦは骨髄の顆粒球・マクロファージの幹細胞（ＧＭ－ＣＦＵ）に働き、１）顆粒球を形成するＧ－ＣＳＦ（顆粒球－ＣＳＦ）、２）単球－マクロファージを形成するＭ－ＣＳＦ（マクロファージ－ＣＳＦ）、３）顆粒球とマクロファージも両方形成するＧＭ－ＣＳＦなどに分類される。

本発明の目的は、骨粗鬆症を根治治療するために副作用の軽減された骨形成を正常に進める骨粗鬆症治療剤を提供することにある。

本発明者らは上記の事情に鑑み、鋭意検討を重ねた結果、Ｍ－ＣＳＦが骨粗鬆

症の治療に有用なことを見出して本発明を完成した。

発明の開示

本発明は、単球－マクロファージコロニー形成刺激因子を有効成分とする骨粗鬆症治療剤である。

本発明のM－ＣＳＦは、マクロファージの増殖と分化を促進する蛋白質因子であれば特に限定されない。

このようなM－ＣＳＦとして、公知のM－ＣＳＦ、ＣＳＦ－ＨＵ（人尿由来ＣＳＦともいう）のうち、単球－マクロファージの増殖と分化を促進するものなどが例示される。

M－ＣＳＦの調製方法としては、人尿からの精製、M－ＣＳＦ産生細胞の培養、遺伝子工学法などの手段が挙げられる。

具体的には、特開昭５４－１４０７０７、同６３－５４３９８、同６３－２９０９００、同６３－１９８７００、同６３－２５０４００、特開平１－２２８９９等で開示されたものが例示される。

また、本発明においてはM－ＣＳＦ活性を有するペプチド断片又は当該断片の誘導体も利用できる。断片化法としては既知酵素処理による脱糖化、分解断片化処理等を施してもよい。あるいは遺伝子組換え技術によって作られるM－ＣＳＦ活性ペプチド断片を利用してもよい。

本発明のM－ＣＳＦは、例えば、注射用生理食塩水、注射用蒸留水等に10^{3}～10^{6}単位／ｍｌとなるように溶解して静注、点滴、筋注、皮下注などで投与される。

投与量としては、成人１回当たり１０万～２０００万単位程度１日１～数回、１～１４日間程度が例示されるが、症状によっては適宜、増減が可能である。

発明を実施するための最良の形態

本発明をより詳細に説明するために実施例を挙げるが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

（実験方法）

７－８ケ月齢の雌ラットに卵巣摘除および両側座骨神経切除手術を施行し、骨粗鬆症ラットを作製した。手術の翌日よりM－ＣＳＦ（５０または５００万単位／ｋｇ）を２日毎に皮下注射した。

このM－ＣＳＦは一般名ミリモスチムと呼ばれるヒト尿より精製されるコロニー形成刺激因子である。分子量約８万４千であり、２１４個のアミノ酸残基（$C_{1058}H_{1649}N_{277}O_{340}S_{14}$）からなる蛋白質のホモ２量体で構成される糖蛋白質である。「基礎と臨床」Ｖｏｌ，２２，Ｎｏ．８，ｐ６６～７８（１９８８）を参照。

骨粗鬆症群（Ｏｓｔｅｏｐｏｒｏｓｉｓ群）と偽手術群（Ｓｈａｍ群）には、Ｖｅｈｉｃｌｅのみを投与した。１２週間後、大腿骨を摘出し、これを７０％エタノールにて２週間固定した。固定の後に周囲の筋肉を取り除き大腿骨のみとし、骨塩量および骨重量を測定した。なお、１群は５匹とした。

第１群：偽手術群

第２群：骨粗鬆症群

第３群：M－ＣＳＦ　低投与群（　５０万単位／ｋｇ）

第４群：M－ＣＳＦ　高投与群（５００万単位／ｋｇ）

①骨塩量測定

骨塩量解析装置により骨塩量の測定、解析を行った。データの解析はＤＥＸＡ法にて行い、総骨塩量（ＢＭＣ）、総面積（ＡＲＥＡ）、平均骨塩量（ＢＭＤ）を算出した。

②骨重量測定

体積、乾燥重量（Ｄｒｙ　ｗｔ）および灰重量（Ａｓｈ　ｗｔ）を測定した。結果は体積で補正した値で示した。

（実験結果）

この実験の結果は、次表の通りであった。平均骨塩量（ＢＭＤ）については第２群よりも第３群、第３群よりも第４群が高値であり、第４群の値は第１群の値に近似していた。骨重量についても同様であり、乾燥重量及び灰重量ともに第２群よりも第３群、第３群よりも第４群が高値であり、第４群の値は第１群の値に近似していた。これらの結果からM－ＣＳＦが骨粗鬆症の治療に有効であること

が認められた。

骨塩量

	BMC (mg)	AREA (cm^2)	BMD (mg/cm^2)
第1群	320.7±14.9	2.106±0.044	151.9±4.7
第2群	229.9±12.4	2.090±0.086	109.8±2.1
第3群	276.0±10.1	2.131±0.060	129.5±3.1
第4群	315.6± 6.8	2.151±0.033	146.7±2.3

骨重量

	Dry wt/vol (mg/cm^3)	Ash wt/vol (mg/cm^3)
第1群	1198±21	793±24
第2群	953±25	665±16
第3群	998±15	722±14
第4群	1108±21	787±13

産業上の利用可能性

本発明により、臨床上有用な骨粗鬆症治療剤が提供される。

請 求 の 範 囲

1．単球－マクロファージコロニー形成刺激因子を有効成分とする骨粗鬆症治療剤。

2．単球－マクロファージコロニー形成刺激因子を用いて骨粗鬆症を治療する方法。

3．骨粗鬆症に対する治療上の適用を目的とした医薬の製造のための単球－マクロファージコロニー形成刺激因子の使用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP92/00874

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [6]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int. Cl[5] A61K37/02//A61K35/12, 35/22

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [7]

Classification System	Classification Symbols
IPC	A61K37/02, 35/12, 35/22

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [8]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [9]

Category *	Citation of Document, [11] with indication, where appropriate, of the relevant passages [12]	Relevant to Claim No. [13]
A	EP, A, 385385 (Morinaga Milk Industry Company et al.), September 5, 1990 (05. 09. 90), Claim & JP, A, 2-225418 & JP, A, 2-258728 & JP, A, 2-264729 & JP, A, 3-2125 & JP, A, 3-17021 & AU, A, 9050504 & CA, A, 2011050	1, 3
A	JP, A, 2-2391 (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), January 8, 1990 (08. 01. 90), Claim & EP, A, 328061	1, 3

* Special categories of cited documents: [10]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document 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

"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

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
September 29, 1992 (29. 09. 92)	October 20, 1992 (20. 10. 92)
International Searching Authority	**Signature of Authorized Officer**
Japanese Patent Office	

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. ☒ OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE [1]

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☒ Claim numbers 2 , because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 2 pertains to a medical treatment of the human or animal body by curing.

2. ☐ Claim numbers , 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. ☐ Claim numbers , because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. ☐ OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING [2]

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.

2. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims

3. ☐ 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 claim numbers:

4. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国　際　調　査　報　告

国際出願番号PCT/JP92/00874

Ⅰ．発明の属する分野の分類

国際特許分類（IPC）　Int. Cl[5]
A61K37/02//A61K35/12, 35/22

Ⅱ．国際調査を行った分野

調査を行った最小限資料

分類体系	分類記号
IPC	A61K37/02, 35/12, 35/22

最小限資料以外の資料で調査を行ったもの

Ⅲ．関連する技術に関する文献

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	請求の範囲の番号
A	EP, A, 385385（Morinaga Milk Industry Company, et. al）, 5. 9月. 1990（05. 09. 90）, クレーム&JP, A, 2-225418 &JP, A, 2-258728 &JP, A, 2-264729 &JP, A, 3-2125 &JP, A, 3-17021 &AU, A, 9050504 &CA, A, 2011050	1, 3
A	JP, A, 2-2391（大塚製薬株式会社）, 8. 1月. 1990（08. 01. 90）, 特許請求の範囲&EP, A, 328061	1, 3

※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の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の文献

Ⅳ．認　　証

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
29. 09. 92	20.10.92

国際調査機関	権限のある職員
日本国特許庁（ISA/JP）	特許庁審査官　松浦新司　4C 8314

様式PCT/ISA/210（第2ページ）（1981年10月）

第2ページから続く情報

V. ☑ 一部の請求の範囲について国際調査を行わないときの意見

次の請求の範囲については特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律第8条第3項の規定によりこの国際調査報告を作成しない。その理由は、次のとおりである。

1. ☑ 請求の範囲 2 は、国際調査をすることを要しない事項を内容とするものである。

人又は動物の身体の治療による処置方法である。

2. ☐ 請求の範囲＿＿＿＿は、有効な国際調査をすることができる程度に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。

3. ☐ 請求の範囲＿＿＿＿は、従属請求の範囲でありかつPCT規則6.4(a)第2文の規定に従って起草されていない。

VI. ☐ 発明の単一性の要件を満たしていないときの意見

次に述べるようにこの国際出願には二以上の発明が含まれている。

1. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に納付されたので、この国際調査報告は、国際出願のすべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に一部分しか納付されなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付があった発明に係る次の請求の範囲について作成した。
   請求の範囲＿＿＿＿
3. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に納付されなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲に最初に記載された発明に係る次の請求の範囲について作成した。
   請求の範囲＿＿＿＿
4. ☐ 追加して納付すべき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、追加して納付すべき手数料の納付を命じなかった。

追加手数料異議の申立てに関する注意

☐ 追加して納付すべき手数料の納付と同時に、追加手数料異議の申立てがされた。
☐ 追加して納付すべき手数料の納付に際し、追加手数料異議の申立てがされなかった。