

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-518379

(P2016-518379A)

(43) 公表日 平成28年6月23日(2016.6.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 9/08 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/08	4 C 0 8 3
<b>A 6 1 K 9/107 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/107	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 9/08 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/06	
<b>A 6 1 K 9/12 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-509434 (P2016-509434)	(71) 出願人	515292543
(86) (22) 出願日	平成26年4月22日 (2014.4.22)		アフィロジック
(85) 翻訳文提出日	平成27年11月27日 (2015.11.27)		フランス国 ナント リュ ド ラ ウシ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/058139		ニエール 2
(87) 国際公開番号	W02014/173899	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成26年10月30日 (2014.10.30)		弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	13/53662	(74) 代理人	100102118
(32) 優先日	平成25年4月22日 (2013.4.22)		弁理士 春名 雅夫
(33) 優先権主張国	フランス (FR)	(74) 代理人	100160923
			弁理士 山口 裕孝
		(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		(74) 代理人	100142929
			弁理士 井上 隆一
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 OBフォールド変異体を含む局所用組成物

## (57) 【要約】

本発明は、OBフォールドタンパク質の変異体を含む局所用組成物に関し、また、同組成物を調製するための方法にも関する。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

野生型OBフォールドタンパク質のその天然リガンドへの結合界面に5から32個の変異残基を有する野生型OBフォールドタンパク質の変異体を含む、局所用組成物。

**【請求項 2】**

前記野生型OBフォールドタンパク質が、スルホロブス・アシドカルダリウス(*Sulfolobus acidocaldarius*)由来のSac7dまたはSac7e、スルホロブス・ソルファタリカス(*Sulfolobus solfataricus*)由来のSso7d、スルホロブス・トコダイイ(*Sulfolobus tokodaii*)由来のDBP 7、スルホロブス・シバタエ(*Sulfolobus shibatae*)由来のSsh7b、スルホロブス・シバタエ由来のSsh7a、およびスルホロブス・ソルファタリカス由来のp7ssから選択されることを特徴とする、請求項1記載の組成物。

10

**【請求項 3】**

10 mg/mlから600 mg/mlの前記変異体を含有することを特徴とする、請求項1および2のいずれか一項記載の組成物。

**【請求項 4】**

前記変異体が、抗原、抗体、細胞タンパク質、循環タンパク質、ペプチド、薬剤の活性成分、核酸、および特にインターロイキン、サイトカイン、サイトカインまたはインターロイキンの受容体、癌遺伝子によりコードされるタンパク質、微生物の表面タンパク質、ならびに微生物リポ多糖から選択される対象の標的に結合することを特徴とする、請求項1から3のいずれか一項記載の組成物。

20

**【請求項 5】**

皮膚に適用することが意図されていることを特徴とする、請求項1から4のいずれか一項記載の組成物。

**【請求項 6】**

眼レベルで適用することが意図されていることを特徴とする、請求項1から4のいずれか一項記載の組成物。

**【請求項 7】**

水性、油性もしくは水性-アルコール性溶液、エマルジョン、マイクロエマルジョン、水性ゲル、無水ゲル、血清、小胞分散系、ローション、ゲル、クリーム、泡、エアロゾルまたはスプレーの形態にあることを特徴とする、請求項1から6のいずれか一項記載の組成物。

30

**【請求項 8】**

抗菌剤、抗寄生虫剤、抗真菌剤、抗炎症剤、鎮痒剤、麻酔剤、抗ウイルス剤、角質溶解剤、フリーラジカルスカベンジャー、抗脂漏剤、フケ防止剤、および抗ニキビ剤、ならびに皮膚の分化および/または増殖および/または色素沈着を調節するための作用物質から選択される少なくとも1つの作用物質も含有することを特徴とする、請求項1から7のいずれか一項記載の組成物。

**【請求項 9】**

皮膚または眼の障害または疾患の処置における使用のための、請求項1から8のいずれか一項記載の局所用組成物。

40

**【請求項 10】**

野生型OBフォールドタンパク質のその天然リガンドへの結合界面に5から32個の変異残基を有する野生型OBフォールドタンパク質の変異体を薬学的にまたは化粧品用に許容される担体と混合する段階を含む、請求項1から9のいずれか一項記載の局所用組成物を調製するための方法。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、関心対象の標的に結合する活性成分を含有する、化粧品用途または治療用途のための局所用組成物の調製の分野に関する。

50

## 【背景技術】

## 【0002】

湿疹、乾癬、扁平苔癬および自己免疫性水疱性皮膚症などの皮膚疾患、または皮膚癌(メラノーマ)がある一定数存在する。これらの疾患を処置するためには、局所用組成物、すなわち、皮膚病変(または頭皮病変)に直接適用され、かつそれらが適用される部位で局所的に作用する組成物を有することができると望ましい。

## 【0003】

さらに、そのような局所用組成物は、代謝性調節不全(特に加齢による)に関連するものであると、または眼感染症(重篤な結膜炎、角膜炎および角膜潰瘍)に関連するものであると、眼疾患の処置にとって望ましい。

10

## 【0004】

いかなる疾患も、一般に、薬剤がそれに対して活性を有する治療対象の標的が存在する。これは、細胞受容体、または微生物の表面タンパク質でありうる。一般に、作用部位で治療対象の標的に対して直接的に作用し、全身経路を介する任意の通過をできるだけ回避する、活性成分の適用を可能にする組成物を有することが望ましいように思われる。しかしながら、抗体は、皮膚バリアまたは角膜バリアを透過しにくい。

## 【0005】

特許出願第WO 2007/139397号(特許文献1)には、OBフォールドタンパク質をその天然リガンドに結合させるためのOBドメイン内に変異を導入することによりOBドメインが修飾されている、OBフォールドタンパク質のライブラリの使用が記載されている。

20

## 【0006】

特許出願第WO 2008/068637号(特許文献2)には、関心対象の標的に対する親和性を有するリガンドを得るための、Sac7dタンパク質に基づくライブラリの使用が記載されている。WO 2008/068637(特許文献2)に記載の方法は、この野生型OBフォールドタンパク質の結合部位のある特定のアミノ酸において変異を示す、野生型タンパク質の変異体の産生につながるある特定のランダム変異の存在を除いて、全て同じ配列を有する複数のDNA分子を含有するコンビナトリアルライブラリの作製を含む。特に、WO 2008/068637(特許文献2)の文脈において、野生型OBフォールドタンパク質はSac7dタンパク質であり、特に、K7、Y8、K9、K21、K22、W24、V26、M29、S31、T33、T40、R42、A44およびS46から選択されるアミノ酸において、またはV26、G27、K28、M29、S31、R42、A44、S46、E47およびK48などの他のアミノ酸に対して多様性を生じさせるために、その中に変異が導入される。これらのアミノ酸はSEQ ID NO: 1により表されるSac7d配列に基づくものである。

30

## 【0007】

特許出願第WO 2012/150314号(特許文献3)は、Sac7dファミリーの1つのタンパク質から同じファミリーの別のタンパク質への変異の移植性について示す。この移植性は、Sac7dファミリーの1つのタンパク質の変異から該ファミリーの別のタンパク質の変異を作り出すことを意味し、特に、WO 2008/068637(特許文献2)のプロセスを行うことにより、得ることができるようになる。

## 【0008】

Sac7dファミリーは、好極限性細菌から単離された7 kDaのDNA結合タンパク質のファミリーに対応するSac7dファミリーに関連しているとして定義される。これらのタンパク質およびこのファミリーは、WO 2008/068637(特許文献2)に特に記載されている。よって、本発明の文脈の中で、タンパク質は、配列SEQ ID NO: 8に対応する配列を有するときにSac7dファミリーに属する。このファミリーは、特に、スルホロブス・アシドカルダリウス(*Sulfolobus acidocaldarius*)から得たSac7dまたはSac7eタンパク質、スルホロブス・ソルファタリカス(*Sulfolobus solfataricus*)から得たSso7dタンパク質、スルホロブス・トコダイイ(*Sulfolobus tokodaii*)から得たDBP 7タンパク質、スルホロブス・シバタエ(*Sulfolobus shibatae*)から得たSsh7bタンパク質、スルホロブス・シバタエから得たSsh7aタンパク質、およびスルホロブス・ソルファタリカスから得たp7ssタンパク質を含む。

40

## 【0009】

50

OBフォールドタンパク質は当技術分野において公知である。それらは、上記文献に、また、Arcus(Curr Opin Struct Biol. 2002 Dec; 12(6):794-801) (非特許文献1)にも特に記載されている。OBフォールドは、5つのベータ( )シートを有する円筒の形態にある。ほとんどのOBフォールドタンパク質は、それらの天然リガンドに対して同じ結合界面を使用し、リガンドはオリゴ糖、オリゴヌクレオチド、タンパク質、金属イオンまたは触媒基質でありうる。この結合界面は、主にシート中に位置する残基を含む。ループ中に位置するある特定の残基もまた、OBフォールドタンパク質その天然のリガンドとの結合に関与しうる。よって、出願第WO 2007/139397号(特許文献1)および第WO 2008/068637号(特許文献2)ならびにArcus文献(2002, 前掲論文)(非特許文献1)には、その天然リガンドとの結合のためのOBフォールド-タンパク質ドメインが記載されている。よって、文献WO 2008/068637(特許文献2)には、OBフォールドタンパク質の結合ドメインを同定する方法が正確に記載されている。

10

**【0010】**

ウェブサイトWU-Blast2 (<http://www.ebi.ac.uk/blast2/index.html>) (Lopez et al., 2003, Nucleic Acids Res 31, 3795-3798 (非特許文献2))、T-COFFEE (<http://www.cmbnet.org/software/TCoffee.html>) (Notredame et al., 2000, J Mol Biol 302, 205-217 (非特許文献3))およびDALI lite (<http://www.ebi.ac.uk/DaliLite/>) (Holm and Park, 2000, Bioinformatics 16, 566-567 (非特許文献4))を用いて、OBフォールドドメインを有するタンパク質の幾つかの配列および3D構造を重ね合わせることにより、結合ドメインおよび特に修飾できるアミノ酸の位置を同定することが可能になる。Sac7d(SEQ ID NO: 1)の配列を参照とすると、これらは、残基V2、K3、K5、K7、Y8、K9、G10、E14、T17、K21、K22、W24、V26、G27、K28、M29、S31、T33、D36、N37、G38、K39、T40、R42、A44、S46、E47、K48、D49、A50およびP51である。さらにこのSac7d配列を参照とすると、削除できる残基は、A59、R60、A61およびE64である。

20

**【0011】**

他のOBフォールドタンパク質の結合ドメインは、WO 2008/068637(特許文献2)に記載のように同定することができる。この出願は、DALIウェブサイト(<http://www.ebi.ac.uk/dali/interactive.html>) (Holm and Sander, 1998, Nucleic Acids Res 26, 316-319 (非特許文献5))を用いて、OBフォールドタンパク質またはドメイン(この出願では、Sac7dを含む10個のドメインが用いられた)の3D構造の重ね合わせを行うことが可能であることを示す。よって、任意のOBフォールドタンパク質(または任意のOBフォールドドメイン)について、結合部位に関連しかつ上記Sac7dアミノ酸に対応するアミノ酸を同定するのは容易である。

30

**【0012】**

WO 2008/068637(特許文献2)の教示はまた、アミノ酸がOBフォールドタンパク質、特にSac7dファミリーのタンパク質のループ内に任意で挿入できること; 特に、1から15アミノ酸残基の挿入が、ループ3(WO 2008/068637(特許文献2)の図1bおよび2で定義される)、例えば、Sac7dの残基25から30の領域、好ましくは残基27と28の間において行うことができ、1から15アミノ酸残基の挿入が、ループ4(WO 2008/068637(特許文献2)の図1bおよび2で定義される)、例えば、Sac7dの残基35~40の領域、好ましくは残基37と38の間において行うことができ、1から20残基の挿入が、ループ1(WO 2008/068637(特許文献2)の図1bおよび2で定義される)、例えば、Sac7dの残基7から12の領域、好ましくは残基9と10の間において行うことができることを示す。

40

**【0013】**

さらには、本願の文脈において、用語「OBフォールドタンパク質」はまた、より複雑なタンパク質から単離することができるOBフォールドを有するドメインも含む。これらのOBフォールドドメインは特に、出願WO 2007/139397(特許文献1)およびWO 2008/068637(特許文献2)においてより詳細に記載されている。

**【0014】**

WO 2008/068637(特許文献2)に記載の方法の利点は、ある一定数のアミノ酸が「無作

50

為化」されている、すなわち、無作為なアミノ酸で置換されている複数の変異体を含有するまたは発現するコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることにより、OBフォールドタンパク質の変異体を得ることが、それによって可能になる点である。これらのライブラリのスクリーニングは、コンビナトリアルライブラリが作製された野生型タンパク質の天然リガンド以外の関心対象の標的と、概して強い親和性で特異的に結合する(出願WO 2008/068637(特許文献2)には実際に、1ナノモルのオーダーの親和性が記載されている)これらのタンパク質の変異体を同定することを可能にする。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0015】

【特許文献1】WO 2007/139397

【特許文献2】WO 2008/068637

【特許文献3】WO 2012/150314

【非特許文献】

【0016】

【非特許文献1】Arcus, Curr Opin Struct Biol. 2002 Dec; 12(6):794-801

【非特許文献2】Lopez et al., 2003, Nucleic Acids Res 31, 3795-3798

【非特許文献3】Notredame et al., 2000, J Mol Biol 302, 205-217

【非特許文献4】Holm and Park, 2000, Bioinformatics 16, 566-567

【非特許文献5】Holm and Sander, 1998, Nucleic Acids Res 26, 316-319

【発明の概要】

【0017】

本発明者らは、OBフォールドタンパク質が、目のバリアまたは皮膚バリアを通過する能力を有し、そのために、局所用組成物で使うことができることを示している。好ましくは、関心対象の標的に結合するOBフォールドタンパク質の変異体を使用され、該関心対象の標的は、病的状態、特に、眼科的な状態または皮膚科的な状態に關与する。

【0018】

よって、本発明は、OBフォールドタンパク質または野生型OBフォールドタンパク質の変異体を含む局所用組成物に關し、該変異体は、野生型OBフォールドタンパク質のその天然リガンドへの結合界面に5から32個の変異残基を有する。1つの特定の態様において、前記変異体は、前記天然リガンド以外の関心対象の標的に特異的に結合する。そのために、この変異体は概して、WO 2008/068637またはWO 2007/139397に記載の方法を実行することにより同定された。実際、これらの2つの特許出願に記載の方法の実行によって、概して、関心対象の任意の標的に結合する任意のOBフォールドタンパク質の変異体の同定が可能になる。この組成物は、局所使用のために薬学的にまたは化粧品用に許容される賦形剤も概して含有する。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【発明を実施するための形態】

【0020】

上記に見られるように、前記野生型OBフォールドタンパク質はまた、OBフォールドドメインも包含する。好ましくは、本発明の文脈で用いられる変異体は、最大で150アミノ酸、より好ましくは最大で100アミノ酸を含有する。1つの特定の態様において、それは最大で70アミノ酸を含有する。

【0021】

前記変異体における変異残基の数(野生型タンパク質に対する)は、5から32の間に含まれる。他の態様において、これらの変異体は、野生型OBフォールドタンパク質(またはドメイン)と比較して、好ましくは少なくとも5個、より好ましくは少なくとも8個、さらにより好ましくは少なくとも10個だが、一般に32個未満、より好ましくは24個未満、さらにより好ましくは20個未満または15個未満の置換アミノ酸を有する。野生型タンパク質に対

10

20

30

40

50

して、8、9、10、11、12または13個のアミノ酸が変異されているときが好ましい。これらの変異アミノ酸は、OBフォールドタンパク質のその天然リガンドとの結合部位中に位置する。それらは概して、この結合ドメインの全体にわたって分布する。この結合ドメインの構造を考慮すれば、ある特定の変異残基は、(概して幾つかの、特に2つまたは3つの) シート中に見いだされる。

【0022】

1つの特定の態様において、これらの変異体はまた、OBフォールドのシートを連結するループ中へのアミノ酸挿入も含むことができる。よって、1から15個の間のアミノ酸が、ループ1および/またはループ4および/またはループ3内に導入される可能性がある(ループは、WO 2008/068637と同じ方法で番号付け)。

10

【0023】

1つの特定の態様において、前記野生型OBフォールドタンパク質は、スルホロブス・アシドカルダリウスに由来するSac7dまたはSac7e、スルホロブス・ソルファタリカスに由来するSso7d、スルホロブス・トコダイイに由来するDBP 7、スルホロブス・シバタエに由来するSsh7b、スルホロブス・シバタエに由来するSsh7a、およびスルホロブス・ソルファタリカスに由来するp7ssから選択される。

【0024】

したがって、それは、本発明の局所用組成物で使用される変異体が比較されるタンパク質である。

20

【0025】

Sac7d、Sso7d、Sac7e、Ssh7b、Ssh7a、DBP7およびSis7タンパク質の種々の配列はそれぞれ、SEQ ID NO: 1からSEQ ID NO: 7により表される。

【0026】

このSac7dファミリーのタンパク質の変異体は、nanofitinと呼ばれる。よって、本発明は優先的には、SEQ ID NO: 1からSEQ ID NO: 7により表されるタンパク質の変異体、特にSac7dの変異体に対して実行される。

【0027】

本発明による組成物中の変異体の濃度は概して、10 ng/mlより高く、600 mg/ml未満である。実際、眼適用の場合、タンパク質の濃度は非常に高いものである必要はない。そのため、一般には10 mg/ml未満、好ましくは1 mg/ml未満、好ましくは500 ng/ml未満もしくは250 ng/ml未満、またはさらには100 ng/ml未満である。さらに、濃度は10 ng/mlまで低くすることができるが、好ましくは、50 ng/mlより高い、またはさらには100 ng/mlより高い。

30

【0028】

皮膚(または頭皮)への適用による局所使用の文脈において、製品の濃度は概してより高くなる可能性がある。よって、濃度は、一般には10 mg/mlより高く、好ましくは50 mg/mlより高く、または好ましくは100 mg/mlより高く、さらにより好ましくは200 mg/mlより高い。

【0029】

本発明による組成物中に存在する変異体は、関心対象の標的に特異的に結合する。実際、それは、該関心対象の標的とのその結合特異性について、WO 2008/068637またはWO 2007/139397記載の方法により選択されている。さらに、これらの特許出願に記載の方法は、1マイクロモルのオーダー(WO 2007/139397)または1ナノモルのオーダー(WO 2008/068637)の親和性を得ることを可能にする。

40

【0030】

関心対象の標的は、処置することが望ましい疾患に応じて選択される。よって、任意の抗原、抗体、細胞タンパク質、循環タンパク質またはペプチドについて記載されうる。薬剤の活性成分、または特定の核酸を標的とすることも可能である。関心対象の標的は、インターロイキン、サイトカイン、サイトカインもしくはインターロイキンの受容体、癌遺伝子によってコードされるタンパク質、微生物の表面タンパク質、または微生物のリボ多

50

糖であることが特に想定される。

【0031】

1つの特定の態様において、本発明による局所用組成物は、皮膚に適用されることが意図される。

【0032】

別の態様において、この局所用組成物は、眼レベルで適用されることが意図される。

【0033】

本発明による局所用組成物の形態は従来通りであり、特に投与の部位(皮膚または眼)によって決まる。

【0034】

よって、この組成物は、液体形態(特に眼適用のための眼用ローション)、ペースト形態または固体形態でありうる。それは、クリーム、軟膏、膏薬、粉末、ゲル、エマルジョン(水中油型または油中水型)、または泡の形態をとることができる。任意で有機溶剤(エタノールなど)を含有する水性製剤は、これらの組成物に特に適している。

【0035】

それは、含浸パッド、ワイプ、スプレー、エアロゾル、ローション、スティックまたはシャンプーの形態もとることができる。

【0036】

本発明による組成物はまた、活性成分の放出の制御を可能にする、ミクروسフェアもしくはナノフェアの懸濁剤、または脂質小胞もしくはポリマー小胞、またはポリマーパッチおよびヒドロゲルの形態もとることができる。局所適用のためのこの組成物は、無水形態、水性形態またはエマルジョンの形態をとることができる。

【0037】

1つの特定の態様において、本発明による局所用組成物はパッチの形態(経皮システム)をとる。そのようなシステムは、特に、活性成分の放出の制御を可能にすることができる。

【0038】

そのようなシステムは概して、関心対象の物質(本発明の文脈ではOBフォールドタンパク質の変異体)に不透過性である保護シート(支持層)、関心対象の物質を含有するリザーバ、皮膚上の位置にデバイスを保持することができる(感圧)接着層を通した関心対象の物質の皮膚への送達を制御する要素、および皮膚への適用前に取り外すことができる保護層を含む。同じ要素が幾つかの機能(例えば、リザーバ、放出の制御および接着)を成し遂げることが可能である。そのようなデバイスは先行技術において公知である。

【0039】

本発明による組成物で用いられるOBフォールドタンパク質の変異体は、固相化学合成または遺伝子組換えにより作製することができる。化学合成は、例えば、Applied Biosystemsの自動ペプチド合成機mod. 433A.、またはアミノ酸の  $\alpha$ -アミノ官能基の一時的保護のためにフルオレニルメチルオキシカルボニル基を用いるFmoc化学により行うことができる。

【0040】

しかしながら、遺伝子工学、特に前記ポリペプチドをコードする核酸配列を発現ベクター内に組み込むことにより、本発明の文脈において用いることができる変異体を作製することが好ましい。この発現ベクターは次いで、宿主細胞(大腸菌(*Escherichia coli*)などの細菌が特に適している)内に導入され、ポリペプチドの合成を可能にする培養条件下で培養される(特に、発現ベクターにおいてポリペプチドの上流に誘導性プロモーターが使用されうる)。次いで、合成されたポリペプチドが回収される。次いで、任意の種類の分子が、ポリペプチドのN末端またはC末端部位に移植されうる。

【0041】

当業者は、ポリペプチドを産生するための方法を認識しており、それらは、Sambrook, Fritsch and Maniatis, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd editionに特に

10

20

30

40

50

記載されている。

【0042】

本発明による組成物は、OBフォールドタンパク質の変異体を単独でまたは他の活性成分と共に含有することができる。よって、組成物は、抗菌剤、抗寄生虫剤、抗真菌剤、抗炎症剤、鎮痒剤、麻酔剤、抗ウイルス剤、角質溶解剤、フリーラジカルスカベンジャー、抗脂漏剤、フケ防止剤、および抗ニキビ剤、ならびに皮膚の分化および/または増殖および/または色素沈着を調節するための作用物質から選択される少なくとも1つの作用物質も含有できる。

【0043】

この組成物はまた、特にpHをpH=7あたりに調節することができるpH調節剤も含有できる。

10

【0044】

OBフォールドタンパク質の変異体はまた、特にその半減期を増加させるために、活性タンパク質と融合させることもできる。

【0045】

本発明による組成物はまた、インビボ診断方法で使用することもできる。よって、1つの特定の態様において、OBフォールドタンパク質の変異体は、検出剤または造影剤と共役させる。これによって、特にこの造影剤を追跡すること、およびOBフォールドタンパク質の変異体が結合する臓器を決定すること(それによって、関心対象の標的の存在を示す)が可能になる。

20

【0046】

本発明はまた、野生型OBフォールドタンパク質の変異体を、局所使用のための薬学的にまたは化粧品用に許容される賦形剤と混合する段階を含む、局所用組成物を調製するための方法にも関する。

【0047】

1つの特定の態様において、前記組成物は皮膚へ適用されることが意図される。よって、賦形剤は好ましくは、軟膏、膏薬またはローションなど、皮膚上に塗ることのできる組成物の調製を可能にする。

【0048】

別の態様において、前記組成物は眼へ適用させることが意図され、賦形剤はこれに従って選択される。よって、眼用ローションおよび点眼剤が特に得られる。

30

【0049】

本発明はまた、野生型OBフォールドタンパク質のその天然リガンドへの結合界面において5から32個の変異残基を有する野生型OBフォールドタンパク質の変異体を薬剤として含有する、本発明による局所用組成物にも関する。この特定の場において、前記変異体は、治療標的である関心対象の標的に特異的に結合する。

【0050】

本発明はまた、皮膚または眼の障害または疾患を処置するための、本発明による局所用組成物にも関する。この態様において、用いられるOBフォールドタンパク質の変異体は、目的とする疾患の病因的因子またはこの疾患に関連する治療標的を標的とする(結合する)。

40

【0051】

したがって、この態様において、処置することが望ましい疾患または障害に關与する治療標的(病因的エフェクタまたは因子)に結合するOBフォールドタンパク質の変異体は、特にWO 2008/068637に記載のスクリーニング方法により選択され、この変異体は局所適用のための組成物に製剤化される。

【0052】

本発明はまた、本発明による局所用組成物を含む化粧品組成物、および本発明による局所用組成物の化粧品用途にも関する。

【0053】

50

本発明はまた、好ましくは皮膚または眼の疾患または障害に特徴的な病因的因子または治療標的を標的とするOBフォールドタンパク質を含有する、本発明による局所用組成物が、局所に(必要に応じて、皮膚にまたは眼レベルで)適用されることを特徴とする、皮膚または眼の障害または疾患を処置するための方法にも関する。

【実施例】

【0054】

全ての実施例において、WO 2008/068637に記載の方法と同様の方法により関心対象の標的に対するコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることにより得られた、上記で定義されるnanofitin、すなわちSac7dの変異体を用いる。これらの実施例の目的は、OBフォールドタンパク質、特にnanofitinが、タンパク質の配列に依存することなく、皮膚

10

【0055】

実施例1: nanofitinのヒト皮膚モデル透過試験

使用する試験は、フランツセル拡散試験である。

【0056】

フランツセルを用いて、外因性物質の皮膚透過をエクスピボで判定し、皮膚の表面に置いた活性成分を構成する分子の皮膚バリアの種々の層の通過速度を実際に測定する。

【0057】

試験する分子を含有する溶液を、デバイスの「ドナー」部分中に置く。次いで、分子が

20

【0058】

具体的には、皮下組織層(脂肪組織)を除去した後、皮膚断片をフランツセルと呼ばれる拡散セル上に置く。真皮の深部面は、皮膚の間質液の代わりとなることが想定されるレシーバー溶液と接触する。試験する分子を含有する溶液は、皮膚の上部に置かれる。脱脂した皮膚を通過した分子をアッセイするために、一定時間間隔でレシーバー溶液をサンプリングし、次いで、新たな溶液を該レシーバー溶液と交換する。

【0059】

サンプリングしたレシーバー相中に存在する物質のアッセイによって、皮膚を通過した分子の量または流量(ナノグラム/cm<sup>2</sup>/時)のいずれかを決定することが可能になる。

30

【0060】

Sac7d変異体のライブラリのスクリーニングの結果生じるnanofitinを、皮膚疾患または眼疾患に関連する3種類の異なる関心対象の標的に対するその親和性について試験した。これらのnanofitinは、細菌系において産生されたものであり、異なるリガンドに結合する。

【0061】

同じドナー由来のヒト皮膚の6つの解凍断片(厚さ1 mm)を用いた。

【0062】

レシーバー区画をPBS(リン酸緩衝食塩水、pH 7.4; 5.8 ml)で満たした。膜をレシーバー培地上に配置した。

40

【0063】

5 mg/mlのnanofitinを含有する各製剤を100 µl、膜上に置いた。交換表面積は2 cm<sup>2</sup>であった。

【0064】

温度は、実験全体にわたってレシーバー側で35 °Cに維持され、これはヒト皮膚の外表面での32 °Cの温度に相当する。

【0065】

0時間および24時間の各サンプリング期間において、500 µlの液体をレシーバー側から取り出し、PBSと交換した。

【0066】

50

ドナー側では、 $t=24h$ で、皮膚を5 mlのPBSで洗浄した。

【0067】

サンプリング期間の最後に、 $2\text{ cm}^2$ の皮膚をフランツセルデバイスから取り出し、1 mlのPBSの超音波浴中に配置した。

【0068】

2つのタンパク質間の相互作用を測定することを可能とするBioLayer Interferometry技術を用いて、採取した各試料に対してnanofitin濃度を測定した。適切な事例において、nanofitin含有量は、事前に該nanofitinに共役させたポリヒスチジンタグの認識により測定される。

【0069】

結果は以下の通りである。

【0070】

レシーバー側で見いだされるnanofitinのパーセンテージは、nanofitinによって8%から17%の間に分散する。用いた皮膚透過性の基準はカフェインであり、これは、この実験的状况において、10%のオーダーの透過性を有する。

【0071】

これらの結果は、nanofitinが実際にヒト皮膚を通過すること、および、この結果は、nanofitinがそれに対して作製されてそれが結合する標的に依存しないことを示す。

【0072】

#### 実施例2: nanofitinのウサギ角膜の透過試験

3匹のオスのウサギ(Fauve de Bourgogne)を用いた。

【0073】

原理は皮膚透過性のものと同じである。

【0074】

各製剤(NF1、NF2およびNF3)の透過性の試験のために、2つの反応チャンバを用いた。

【0075】

各nanofitinを含有する3 mlの製剤を反応チャンバのドナー側上に配置し、3 mlのPBSをレシーバー側に配置した。新鮮に採取した角膜組織を2つのハーフチャンバ間に配置した。

【0076】

温度を試験の間 $37^\circ\text{C}$ に維持し、酸素付加をカルボゲン(95%  $\text{O}_2$ 、5%  $\text{CO}_2$ )の連続的灌流により提供した。交換表面積は $0.5\text{ cm}^2$ であった。

【0077】

0時間、2時間および4時間の各サンプリング期間において、 $500\text{ }\mu\text{l}$ の液体をレシーバー側から採取し、PBSと交換した。

・ $100\text{ }\mu\text{l}$ の液体をドナー側から採取し、交換は行わなかった。

【0078】

サンプリング期間の最後に、 $0.5\text{ cm}^2$ の角膜を反応チャンバから取り出し、メスで解体した。1 mlのPBSを試料に加え、ホモジナイズした。

【0079】

2つのタンパク質間の相互作用を測定することを可能とするBioLayer Interferometry技術を用いて、採取した各試料に対してnanofitin濃度を測定した。適切な事例において、nanofitin含有量は、事前に該nanofitinに共役させたポリヒスチジンタグの認識により測定される。

【0080】

結果は以下の通りである。

【0081】

レシーバー側で見いだされるnanofitinの量によって、nanofitinにより $5 \times 10^{-6}$ から $2 \times 10^{-6}$ の間の見かけの透過性(cm/秒)を計算することが可能になる。この種類の実験プロトコールで用いられる基準と比べると、試験したnanofitinは、ノルフロキサシン(角膜の

10

20

30

40

50

良好な透過を示し、かつノルフロキサシン感受性微生物により引き起こされた重篤な眼感染の局所的抗菌処置のための眼用ローションにおいて眼科学で用いられる分子)の透過性(この実験モデルでは $1.1 \times 10^{-5}$ )と同等な透過性を示す。

【0082】

これらの結果は、nanofitinが実際に角膜を通過すること、および、この結果は、nanofitinがスクリーニングされた標的に依存しないことを示す。

【0083】

実施例3：nanofitinの皮膚透過性のインビボ評価

目的：

nanofitinの皮膚透過性、およびその特性、特に、受容体-リガンドの関連性を中和する特性の保持を立証するために、乾癬タイプの炎症モデルを用いて、抗炎症性nanofitinの直接皮膚への局所投与後の炎症の低下(PASIスコア)を測定した。

10

【0084】

これらのnanofitinは、乾癬様炎症に関連するが真皮の基底層からちょうど表皮内へと局在が異なる、2種類の異なるサイトカインを標的とする(Nestle et al., Nature Reviews Immunology 9, 679-691, 2009)。問題のnanofitinは、標的サイトカインのその受容体との結合を中和する。乾癬タイプの炎症時のこれらサイトカインの作用を阻害するためには、治療用抗体がするように全身的にか、または皮膚を介して局所的にか、いずれかで、それらが位置している層に到達することが必要である。よって、nanofitinの局所投与による抗炎症作用の測定は、nanofitinの皮膚透過および付随する治療効果を証明する。

20

【0085】

方法：

マウスの耳の内面へのイミキモド(Aldara)の局所適用は、乾癬に似た皮膚炎症を引き起こす(Van der Fits et al., J Immunol. 2009 May 1;182(9):5836-45, Flutter et al., Eur J Immunol. 2013 Dec; 43(12):3138-46)。このプロトコルを6~8週齢のBalb/cマウスの両耳に適用した。

【0086】

4群のマウスを用いた。

- マウスがイミキモドを受けていない、対照群(負の対照)。

- マウスが両耳にイミキモドを受けかつ右耳には処置も受けている3つの実験群。これら3つの実験群は以下の通りである：

30

・nanofitin有効性試験群：この群の各実験サブグループに対して4種類の異なるnanofitinをマウス(n=4)の右耳に適用した。nanofitinは、任意で20%EtOHを有するPBSで製剤化された。

・マウスが処置した耳にnanofitin担体だけ(PBS、20% EtOH)を受けている対照群。

・マウスが処置の正の対照として対照処置(クロベタゾール)を局所的に受けている、対照群。

【0087】

プロトコルは以下のように構成された：

- 連続して7日間、朝に1投与/日でイミキモドの連日投与。

40

- 3日目から始めて7日目まで、夜に1投与/日でnanofitinまたはその他の対照の投与。

- 4日目から7日目まで、朝、イミキモド投与前に、PASIスコアの観察および判定。

- 8日目、PASIスコアの判定後に屠殺。

【0088】

有効性の判定は、0(最低)から4(最高)のグレードでの各耳についてのPASIのパラメータである厚さ、落屑、発赤の独立かつ盲検的な2人のオペレーターによる観察から構成された。総スコアは、各動物の各耳の種々のスコアを加えることにより得られる。

【0089】

4種類のnanofitinは、前にインビトロで立証されたように(BioLayer Interferometry)、イミキモドにより引き起こされる炎症表現型に関連するサイトカインを標的とし、該サ

50

イトカインがそのそれぞれの受容体に結合するのを妨げる。それらは、PBS/20%EtOHまたはエタノールを含まないPBSの溶液で10 mg/kg(20 mg/kgでの2番目を除く)で投与された。

【0090】

結果：

適用した全てのnanofitinについて、未処置の耳と比べて、処置した耳で炎症の非常に有意な減少が見られた(図1)。未処置の耳の炎症は、クロベタゾールを受けている群を除き、どの群でも維持された。

【0091】

クロベタゾールはクリームとして投与され、この群のマウスはこの群だけ耳を完全になめた。この群では、未処置の左耳の炎症の減少も観察される。したがって、このことから、摂取後の全身作用が両耳に対する作用を伴う可能性が非常に高い。

10

【0092】

結論：

抗炎症性nanofitinの局所投与は、処置5日後の炎症症状の30%を上回る、おそらく80%を超える低下を引き起こすことを可能にした。

【0093】

これらのスコアは、用いられたnanofitinの非常に有意なインビボ有効性を証明し、中和活性を保持しながら、中性製剤において細胞バリアを自然に通過するそれらの能力を実証する。よって、nanofitinは、標的またはエフェクターが皮膚下にある病的状態の処置のために、標的型および局所型の両方の処置として用いることができる。

20

【図1】

目的 耳	J4				J5				J6				J7			
	OD-OG		OG		OD-OG		OG		OD-OG		OG		OD-OG		OG	
	左	右	左	右	左	右	左	右	左	右	左	右	左	右	左	右
Nanofitin E8	総スコア	16.00	29.00	19.00	28.00	14.50	22.00	14.50	22.00	28.00	22.00	15.50	28.00	28.00	28.00	28.00
	平均	4.00	7.25	4.75	7.00	3.63	5.50	3.63	5.50	7.00	5.50	3.88	7.00	7.00	7.00	7.00
	標準	2.12	0.5	1.71	0.82	1.11	0.89	1.11	0.89	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Nanofitin G2	総スコア	14.90	31.00	11.00	30.00	10.00	32.00	10.00	32.00	32.00	32.00	9.00	29.00	29.00	29.00	29.00
	平均	3.63	7.75	2.75	7.50	2.50	8.00	2.50	8.00	8.00	8.00	2.25	7.25	7.25	7.25	7.25
	標準	0.75	0.50	0.96	0.88	0.59	1.41	0.59	1.41	1.32	0.50	1.32	0.50	1.32	0.50	1.32
Nanofitin N2	総スコア	13.90	29.00	10.00	29.00	9.00	28.00	9.00	28.00	28.00	28.00	9.00	30.00	30.00	30.00	30.00
	平均	3.38	7.25	2.50	7.25	2.25	7.00	2.25	7.00	7.00	7.00	2.25	7.50	7.50	7.50	7.50
	標準	0.58	0.96	1.00	0.95	0.50	0.82	0.50	0.82	0.90	0.50	0.90	0.50	0.90	0.50	0.90
Nanofitin N9	総スコア	14.00	29.00	8.00	21.00	10.00	24.50	10.00	24.50	24.50	24.50	5.00	24.50	24.50	24.50	24.50
	平均	3.50	7.25	2.00	5.25	2.50	6.13	2.50	6.13	6.13	6.13	1.25	6.13	6.13	6.13	6.13
	標準	2.00	2.87	1.00	0.85	1.00	2.93	1.00	2.93	2.93	2.93	0.00	2.78	2.78	2.78	2.78
クロベタゾール	総スコア	11.00	22.00	4.00	11.00	1.50	10.00	1.50	10.00	10.00	10.00	1.00	9.00	9.00	9.00	9.00
	平均	2.75	5.50	1.00	2.75	0.38	2.50	0.38	2.50	2.50	2.50	0.25	2.25	2.25	2.25	2.25
	標準	1.50	1.00	0.71	0.85	0.48	0.55	0.48	0.55	0.55	0.55	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
対照 PBS/20% EtOH	総スコア	23.50	31.00	26.50	32.00	26.00	31.00	26.00	31.00	31.00	31.00	25.50	27.50	27.50	27.50	27.50
	平均	5.88	7.75	6.63	8.00	6.50	7.75	6.50	7.75	7.75	7.75	6.38	6.88	6.88	6.88	6.88
	標準	1.05	0.96	1.31	0.00	0.71	0.96	0.71	0.96	0.96	0.96	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63

【配列表】

2016518379000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2014/058139
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K38/16 A61K9/00 C07K14/195 A61P17/00 A61P27/02 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K A61P		
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) EPO-Internal, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2012/150314 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV NANTES [FR]; PECORARI FREDERIC [FR];) 8 November 2012 (2012-11-08) cited in the application the whole document	1-10
A	WO 2008/068637 A2 (CENT NAT RECH SCI) 12 June 2008 (2008-06-12) cited in the application voir revendications et exemples	1-10
	----- -/-- -----	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 when the document is taken alone "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 "B" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 June 2014		Date of mailing of the international search report 04/07/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Merckling-Ruiz, V

1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No  
PCT/EP2014/058139

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	ARCUS VICKERY: "OB-fold domains: a snapshot of the evolution of sequence, structure and function", CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY, ELSEVIER LTD, GB, vol. 12, no. 6, 1 December 2002 (2002-12-01), pages 794-801, XP002432186, ISSN: 0959-440X, DOI: 10.1016/S0959-440X(02)00392-5 the whole document -----	1-10

1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/058139

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012150314 A1	08-11-2012	FR 2974816 A1 WO 2012150314 A1	09-11-2012 08-11-2012
WO 2008068637 A2	12-06-2008	AT 542830 T AU 2007330409 A1 CA 2671553 A1 CN 101652386 A CN 103145812 A EP 1930342 A1 EP 2099817 A2 EP 2570424 A1 HK 1117548 A1 HK 1141304 A1 JP 2010511691 A US 2010145008 A1 WO 2008068637 A2	15-02-2012 12-06-2008 12-06-2008 17-02-2010 12-06-2013 11-06-2008 16-09-2009 20-03-2013 06-07-2012 20-12-2013 15-04-2010 10-06-2010 12-06-2008

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2014/058139

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b>		
INV. A61K38/16	A61K9/00	C07K14/195 A61P17/00 A61P27/02
ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b>		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)		
A61K C07K A61P		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
EPO-Internal, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b>		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 2012/150314 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV NANTES [FR]; PECORARI FREDERIC [FR];) 8 novembre 2012 (2012-11-08) cité dans la demande le document en entier -----	1-10
A	WO 2008/068637 A2 (CENT NAT RECH SCI) 12 juin 2008 (2008-06-12) cité dans la demande voir revendications et exemples ----- -/--	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
*A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *B* document qui fait partie de la même famille de brevets
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
10 juin 2014		04/07/2014
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Merckling-Ruiz, V

1

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2014/058139

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
T	<p>ARCUS VICKERY: "OB-fold domains: a snapshot of the evolution of sequence, structure and function", CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY, ELSEVIER LTD, GB, vol. 12, no. 6, 1 décembre 2002 (2002-12-01), pages 794-801, XP002432186, ISSN: 0959-440X, DOI: 10.1016/S0959-440X(02)00392-5 le document en entier -----</p>	1-10

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2014/058139

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2012150314 A1	08-11-2012	FR 2974816 A1	09-11-2012
		WO 2012150314 A1	08-11-2012
WO 2008068637 A2	12-06-2008	AT 542830 T	15-02-2012
		AU 2007330409 A1	12-06-2008
		CA 2671553 A1	12-06-2008
		CN 101652386 A	17-02-2010
		CN 103145812 A	12-06-2013
		EP 1930342 A1	11-06-2008
		EP 2099817 A2	16-09-2009
		EP 2570424 A1	20-03-2013
		HK 1117548 A1	06-07-2012
		HK 1141304 A1	20-12-2013
		JP 2010511691 A	15-04-2010
		US 2010145008 A1	10-06-2010
		WO 2008068637 A2	12-06-2008

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 9/00 (2006.01)	A 6 1 K 9/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 K 8/99 (2006.01)	A 6 1 K 8/99	
A 6 1 K 8/64 (2006.01)	A 6 1 K 8/64	
A 6 1 Q 19/00 (2006.01)	A 6 1 Q 19/00	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 27/10 (2006.01)	A 6 1 P 27/10	
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	Z N A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74) 代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74) 代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 キッテン オリピエ  
フランス国 ナント リュ ド ラ ウシニエール 2 アフィロジック内  
F ターム(参考) 4C076 AA06 AA09 AA11 AA12 AA14 AA16 AA17 AA24 AA27 BB24  
BB31 CC10 CC18 EE41N FF34  
4C083 AA031 AA032 AD411 AD412 CC02  
4C084 AA02 AA03 AA19 BA01 BA16 BA17 BA18 BA19 BA44 CA04  
MA58 MA63 NA14 ZA331 ZA332 ZA891 ZA892 ZB111 ZB112