



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⁴ C12P 1/00, A61K 35/74, 37/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO 86/ 05204</p> <p>(43) 国際公開日 1986年9月12日 (12. 09. 86)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP86/00107 (22) 国際出願日 1986年3月4日 (04. 03. 86) (31) 優先権主張番号 特願昭60-42264 (32) 優先日 1985年3月4日 (04. 03. 85) (33) 優先権主張国 JP (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 沢井製薬株式会社 (SAWAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒535 大阪府大阪市旭区赤川1丁目4番25号 Osaka, (JP) 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA)(JP/JP) 〒115 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてののみ) 加藤敬香 (KATO, Yoshiko)(JP/JP) 〒650 兵庫県神戸市中央区港島中町3丁目2番地の6 エバグリーンポートアイランド6号棟1401号 Hyogo, (JP) 宇佐美博子 (USAMI, Hiroko)(JP/JP) 〒171 東京都豊島区高田3丁目41番8号 中外製薬株式会社内 Tokyo, (JP)</p>		<p>(74) 代理人 弁理士 湯浅恭三, 外(YUASA, Kyoza 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 206号室 湯浅・原法律特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 DE(欧州特許), FR(欧州特許), GB(欧州特許), IT(欧州特許), JP, US. 添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: NOVEL TUMOR NECROSIS FACTOR-INDUCING SUBSTANCE ORIGINATING IN ACID-FAST BACTERIA (54) 発明の名称 抗酸菌に由来する新規な腫瘍壊死因子誘起物質 (57) Abstract A novel amphipathic substance having an activity of inducing tumor necrosis factor (TNF). This substance is obtained by extracting several kinds of acid-fast bacteria, and has an excellent TNF-inducing activity and an extremely weak toxicity in comparison with convention amphipathic substances with a TNF-inducing activity. (57) 要約 本発明は腫瘍壊死因子(TNF)誘起活性を有する新規な両親媒性物質を提供する。この物質は、数種の抗酸菌を抽出することによつて得られる両親媒性の物質であり、すぐれたTNF誘起活性を有している。また、従来のTNF誘起活性を有する両親媒性物質と比較して毒性がはるかに弱い。</p>		

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	FR	フランス	ML	マリ
AU	オーストラリア	GA	ガボン	MR	モーリタニア
BB	バルバドス	GB	イギリス	MW	マラウイ
BE	ベルギー	HU	ハンガリー	NL	オランダ
BR	ブラジル	IT	イタリア	NO	ノルウエー
BG	ブルガリア	JP	日本	RO	ルーマニア
CF	中央アフリカ共和国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	SD	スーダン
CG	コンゴ	KR	大韓民国	SE	スウェーデン
CH	スイス	LI	リヒテンシュタイン	SN	セネガル
CM	カメルーン	LK	スリランカ	SU	ソビエト連邦
DE	西ドイツ	LU	ルクセンブルグ	TD	チャード
DK	デンマーク	MC	モナコ	TG	トーゴ
FI	フィンランド	MG	マダガスカル	US	米国

明 細 書

抗酸菌に由来する新規な腫瘍壊死因子誘起物質

技術分野

本発明は抗酸菌から抽出して得られる腫瘍壊死因子(TNF)
5 誘起活性を有する両親媒性物質に関する。本発明の両親媒性物
質は新規物質であり、医薬、例えば抗腫瘍剤として有用である。

背景技術

グラム陽性菌およびグラム陰性菌の全菌体または細胞壁及び
細胞質膜を含む画分(以下細胞エンベロープ画分と称す)等か
10 ら抽出される両親媒性物質としては、リポタイコ酸(以下LTA
と略記する)、リポ多糖体(以下LPSと略記する)等が知ら
れている。

一方、1975年Old等は正常細胞に何ら障害を与えず癌細
胞のみを特異的に攻撃する糖蛋白質である腫瘍壊死因子(TNF)
15 を報告した(Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,72,3666)。こ
れによればBCG生菌等をマウスの静脈内に投与し、1~2週
間後にLPSを投与すると血清中にTNFを誘導できるとされ
ている。しかしながら、LPSの致死毒性は極めて高く、例え
ばBCGで感作されたマウスにLPSを0.8 μ g/head以上投
20 与すると、その多くは6時間以内に死亡する。従つてLPS自
体を制癌剤等の医薬として用いるには、临床上問題がある。

発明の開示

本発明は、グラム陽性菌および陰性菌とは別の範囲に属する
抗酸菌から抽出して得られるTNF誘起活性を有する両親媒性
25 物質に関する。本発明の両親媒性物質は、グリセロール含量が

検出限界以下であり、また有機リン含量が格段に低い点でLTAと異なり、また3-ヒドロキシミリリスチン酸等のヒドロキシ酸を全く含まない点でLPSとも異なる。例えばその化学組成は(μg/μg;有機リンについてはμmole/μgで示す)次に示す通りである。

5	ヘキソース	: 0.25~0.55
	ペントース	: 0.10~0.17
	脂肪酸	: 0.03~0.16
	アミノ酸	: 0.07~0.17
10	アミノ糖	: <0.03(通常、0.001~0.03)
	有機リン	: 0.3~1.7
	グリセロール	: 検出されず

この化学組成中ヘキソースとペントースはその大部分がそれぞれマンノースとアラビノースであり、脂肪酸についてはパルミチン酸、ステアリン酸およびツベルクロステアリン酸が主成分で、ヒドロキシ酸は全く検出されない。主なアミノ酸はグルタミン酸、アスパラギン酸、ロイシン、スレオニン、グリシン、アラニン、セリン、バリンでありジアミノピメリン酸は根跡程度であり、アミノ糖はグルコサミンを主とし、ムラミン酸はほとんど含まれない。

本発明の新規な両親媒性物質を有する抗酸菌とは、抗酸染色性を示し、細胞壁に多量の脂肪酸、特にα分枝、β-ヒドロキシ高級脂肪酸であるミコール酸を有する好気性菌であり、具体的にはミコバクテリウム属、ノカルディア属、ロドコツカス属、ゴールドナ属およびコリネバクテリウム属に属する菌種、菌

株が挙げられる。またこれらの抗酸菌の細胞壁の特徴的な構築成分であるミコール酸の炭素数は各属間で異なり、ミコバクテリウム属では60~90、ノカルディア属およびロドコツカス属では30~70、ゴルドナ属では60~80、コリネバクテリウム属では30~40である。

本発明で用いられる抗酸菌株の具体例を挙げれば以下の通りであるが、本発明はこれらに限定されるものではない。

Mycobacterium tuberculosis H37Rv (ATCC 25618 又は 27294)

Nocardia rubra 東村コレクションM-1 (ATCC 27836)

Rhodococcus terrae 東村コレクション70012
(ATCC 25594)

Gordona aurantiaca 東村コレクション80005
(ATCC 25938)

本発明の両親媒性物質は、各属間、および各属内の菌種、菌株間で化学組成および化学構造が多少異なる場合があるが、いづれもTNF誘起活性を有している。

本発明の両親媒性物質は、例えば全菌または細胞エンベロープ画分を出発材料としてこれをフェノール/水(1:1、v/v)により室温処理することによつて水層部に抽出される。このフェノール/水法とは、Moskowitzの方法(J. Bacteriol., 91, 2200~2209)を一部変更したOfekらの方法(J. Exp. Med., 141, 990~1003)で代表される公知の手法である。

このようにして得られる本発明の両親媒性物質は、水にも脂性溶媒にも可溶で且つ安定なため、通常の製剤化手段によつて任意の含量の経口または非経口投与剤、例えば錠剤、カプセル

剤、シロップ剤、注射剤等の形で用いられる。

ヒトへの投与量は剤型により異なるが、通常1日0.1~100
 mg、好ましくは1~20mgの範囲で用いることにより、良好な
 TNF誘起効果が得られる。

5 発明を実施するための最良の形態

次に実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明する。

実施例 1.

Mycobacterium tuberculosis H37Rv を Sauton 培地に 8 週間
 培養した菌体をエタノール/エーテル(1:1, v/v)で処理
 10 後、機械的に破壊した菌体から分離した細胞エンベローブ成分
 を出発材料とし、これをフェノール/水(1:1, v/v)混液
 に懸濁して室温で1~2時間攪拌抽出した。7,000×gで45
 分間遠心し、水層部分を分取した。フェノール層には分取した
 水層と同量の水を加え、再び1~2時間室温で攪拌した。同じ
 15 抽出操作をさらに1回行い、3回分の水層を集めて水に対して
 十分透析し、減圧濃縮後、凍結乾燥し両親媒性物質を得た。収
 率は出発材料の3.6%であつた。この物質の化学組成は以下に
 記す通りである。

	ヘキソース	:	40
20	ペントース	:	16.8
	脂 肪 酸	:	15.2
	アミノ酸	:	16.2
	アミノ糖	:	0.33
	グリセロール	:	検出されず
25	有機リン	:	(34)

(この化学組成においてヘキソース、ペントース、脂肪酸、アミノ酸、およびアミノ糖の各数値は両親媒性物質100mg中の含量(mg)を示し、有機リンは両親媒性物質100mg中の含量(μ mole)で示してある。これは後記する第I表においても同じである。)

実施例 2

Nocardia rubra M-1, Rhodococcus terrae 70012, および Gordona aurantiaca 80005は、0.5%ペプトン、1%グルコースおよび0.2%イーストエキスを含む液体培地(pH 7.0~7.2)に30℃、約1週間振盪培養して得た菌体をクロロホルム/メタノール(2:1, v/v)で抽出した残渣を出発材料とし、以下実施例1と同様のフェノール/水法による抽出操作を行い、各菌体に由来する両親媒性物質を得た。収率は出発材料の1-2%であつた。次表Iに各菌体より得られた両親媒性物質の化学組成を表示する。

5
10
15
20
25

表 I

菌体名	両親媒性物質の化学組成 (mg/100mg)						有機リン
	ヘキソース	ペントース	脂肪酸	アミノ酸	アミノ糖	グリセロール	
<u>N. rubra</u>	51	16.2	3.2	7.9	0.10	検出されず	(167)*
<u>G. aurantiaea</u>	29	17.0	7.7	12.2	2.66	"	(100)
<u>R. terrae</u>	47	11.8	15.3	8.0	1.79	"	(72)

* 有機リン $\mu\text{mole} / 100\text{mg}$

本発明の両親媒性物質は、後記する実験例に示す通り、すぐれたTNF誘起活性を有する。実験例はマウスの前処理（ブライミング）には、ホルマリンで死菌化した Propionibacterium aenes（以下P.aと略記する）を用いた場合であるが、BCG生菌接種により前処理した場合にも同様なTNF誘起活性が認められる。しかも本発明の両親媒性物質は低毒性（マウスを用いた急性毒性試験では100mg/kg投与でも死亡例がなかつた）であつて発熱原性やエンドトキシクシヨク惹起作用はLPSに比べるとはるかに弱い。

10 実験例 1.

(1) 一群8匹のICR、5週令雌性マウス（チャールスリパー）にホルマリンで死菌化したP.a 1.5mgを腹腔内に投与し、11日後に実施例1で Mycobacterium tuberculosis から得た両親媒性物質の200μgを静脈内に投与した。2時間後マウスから全採血した後、常法により血清を分離した。P.a. または両親媒性物質単独投与群および無処理マウスからの血清も同様にして分離し、それぞれ39,000×gで1時間遠心した後、遠心上清の1/2を捨て、残部をin vitro及びin vivoの実験に供し血清中のTNF活性を測定した。

20 (2) L-929細胞増殖抑制作用

10%ウシ胎仔血清（以下FCSと略す）を添加したRPMI-1640培地に懸濁した 5×10^4 個/mlのL-929細胞（以下L-細胞と略す）を80μlずつ96穴のマイクロプレートに分注し、5%CO₂中37℃、3時間培養した。

25 次いで(1)で得られた遠心上清をFCS加RPMI-1640培

地を用いて希釈した検体100 μ L、さらに1 μ Ciの³H-チミジン
 ミジンを20 μ L加えた後、5%CO₂中37℃で培養した。48
 時間後上清を捨てた後、トリプシン-EDTA処理によりL-細胞
 をプレートからはがした。はがしたL-細胞をセルハーベス
 ターで集め、常法に従い、液体シンチレーションカウンターを
 5 用い細胞にとり込まれた³H-チミジンのc.p.m.を計測した。

L-細胞の³H-チミジンの取込み状態を観察した結果は表Ⅰ
 の通りである。

表 Ⅰ

10

検 体 ^{a)}		L-細胞に取込まれた ³ H-チミジン c.p.m. ^{b)}	取込み 阻害率 ^{c)} (%)
P. a.	両親媒 性物質		
—	—	102681±8390	5.4
+	—	116712±3521	-7.49
15 —	+	108280±440	0.28
+	+	18343±1265	84.1***
10% FCS 加 RPMI-1640 培地		115449±2593	0

*** P < 0.001

20

a) 検体は10% FCS添加RPMI-1640培地で最終濃度
 1/100に希釈された。

b) 各検体につき3重試験(Triplicate)で実施して得た値の
 25 平均値からバックグラウンドのc.p.m.(235)を引いた
 値を表示した。

c) 取込み阻害率は

$$\left(1 - \frac{\text{検体を加えたときの取込み (c.p.m.)}}{\text{RPMI-1640を加えたときの取込み (c.p.m.)}}\right)$$

× 100 (%) で表示した。

5 (3) L-細胞傷害試験

10% FCS を添加した RPMI-1640 培地に懸濁した
 1×10^5 個/ml の L-細胞を 0.5 ml ずつ 24 穴のマイクロプレ
 ートに分注し、5% CO₂ 中で 37℃ で培養した。3 時間後に (1)
 で得られた遠心上清を 10% FCS 加 RPMI-1640 培地で
 10 希釈した検体 0.5 ml を添加し、さらに培養を続けた。48 時間
 後培養上清中およびトリプシン-EDTA でプレートからはがし
 た L-細胞の生死を位相差顕微鏡で観察しながら計測した。結
 果は表 I の通りである。

表 I

P. a.	検体 a)		生細胞/死細胞 b) ($\times 10^{-4}$ ml)	細胞傷害 c) (%)
	両親媒性物質			
-	-	-	208/5	2.3
+	-	-	205/10	4.7
-	+	+	203/12	5.5
+	+	+	5/80	94.1
10% FCS 加 RPMI-1640 培地			210/6	2.8

a) 検体は 10% FCS を添加した RPMI-1640 培地で最終
 濃度 1/100 に希釈された。

b) 各検体につき二重試験 (Duplicate) を実施しその平均値を表示した。

c) 細胞傷害 (Cytotoxicity) (%) は、

$$\frac{\text{死細胞数}}{\text{生細胞数} + \text{死細胞数}} \times 100 (\%) \quad \text{で表示した。}$$

(4) 腫瘍の壊死試験

一群4匹のBALB/C 5週令雌性マウス(チャールスリバー)にMeth-Aファイプロザルコーマ細胞を 2×10^5 cell/マウスずつ皮内に移植した。移植7日後腫瘍の直径が7~8 mmになった時、(1)で得られた検体の0.3 mlずつを2回(3時間間隔で)尾静脈から投与した。2回目投与から24時間後に腫瘍の壊死の有無をE. Carswell等の判定規準[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3666 (1975)]に従って観察、記録した。結果は表IVの通りである。

表 IV

検 体		腫瘍の壊死 ^{a)} (マウスの匹数)			
P.a.	両親媒性物質	—	+	++	+++
—	—	4	0	0	0
+	—	4	0	0	0
—	+	4	0	0	0
+	+	1	2	1	0
10% FCS 加 RPMI-1640 培地		4	0	0	0

a) 腫瘍の壊死の判定基準 = E. Carswell 等の方法

- : 変化が認められない。
- 十 : 腫瘍の 25 ~ 50 % が壊死を起した。
- 卅 : 腫瘍の 50 ~ 75 % が壊死を起した。
- 5 卅 : 腫瘍の 75 % 以上が壊死を起した。

実験例 2.

- (1) 一群 4 匹の ICR、5 週令雌性マウス (チャールスリバー) にホルマリンで死菌化した P.a. 1.5 mg を腹腔内に投与し、11 日後に実施例 2 で Gordona aurantiaca 80005 から得た両親媒性物質を 200 μ g 静脈内に投与した。以下実施例 1.(1) に記載の方法と同様に処理し TNF 活性測定用の血清を得た。
- 10
- (2) 上記(1)で得た血清を用い、以下実験例 1.(2)と同様の方法で L-細胞増殖抑制作用を調べた。その結果は表 V の通りである。なお表中の a), b), c) の各記号の意味は実験例 1.(2)の表 II で記したものと同一である (後記する実験例 3 の表 VI および実験例 4 の表 VII においても同じ)。
- 15

表 V

P.a.	検体 ^{a)}		L-細胞に取込まれた ³ H-チミジン c.p.m. b)	取込み ^{c)} 阻害率 (%)
	両親媒性物質			
5	—	—	17530±1602	1.6
	+	—	17077±877	4.2
	—	+	16542±2111	7.2
	+	+	1788±14	90.0***
10	10% FCS 加 RPMI-1640 培地		17822±1071	0

*** P < 0.001

実験例 3.

実験例 1.(1)の実施例 1 で得た Mycobacterium tuberculosis
 H37Rv 由来の両親媒性物質に代えて、実施例 2 で Nocardia
 15 rubra M-1 から得た両親媒性物質を用い、以下実験例 1.(1)と
 同様な方法により TNF 活性測定用の血清を得た。この血清を
 用い、実験例 1.(2)に示す方法で L-細胞増殖抑制作用を調べた。
 結果は表 VI の通りである。

20

25

表 VI

検体 ^{a)}		L-細胞に取込まれた ³ H-チミジン c.p.m. ^{b)}	取込み 阻害率 ^{c)} (%)
P.a.	両親媒性物質		
5	-	17530±1602	1.6
	+	14616±945	18.0
	-	17198±5.0	3.5
	+	4063±610	77.2***
10	10% FCS 加 RPMI-1640 培地	17822±1071	0

*** P < 0.001

実験例 4.

実施例 2 で Rhodococcus terrae 70012 から得た両親媒性物質を用い、以下実験例 1.(1)と同様な方法により TNF 活性測定用の血清を得た。この血清を用い実験例 1.(2)に示す方法で L-細胞増殖抑制作用を調べた。結果は表Ⅵの通りである。

表 VII

検 体 a)		L-細胞に取込まれ た ^3H -チミジン c.p.m. b)	取込み c) 阻害率 (%)
P.a. —	両親媒 性物質		
5	—	35430±8449	8.2
	+	29730±3440	22.9
	—	31394±3642	18.6
	+	644 ± 66	98.3***
10	10% FCS 加 RPMI-1640 培地		0

*** P < 0.001

15

20

25

請求の範囲

(1) 抗酸菌を抽出して得られるTNF誘起活性を有する両親媒性物質。

5 (2) フェノール/水法による抽出によつて得られる請求の範囲第1項記載の両親媒性物質。

(3) 抗酸菌としてミコバクテリウム属、ノカルディア属、ロドコツカス属、ゴールドナ属およびコリネバクテリウム属から選ばれる菌株を用いて得られる請求の範囲第1項記載の両親媒性物質。

10 (4) 以下に記す化学組成を有する請求の範囲第1項記載の両親媒性物質。

ヘキソース : 0.25~0.55

ペントース : 0.10~0.17

脂肪酸 : 0.03~0.16

15 アミノ酸 : 0.07~0.17

アミノ糖 : 0.001~0.03

有機リン : 0.3~1.7

グリセロール : 検出されず

(数字は有機リンについては $\mu\text{mole}/\text{mg}$ 、他の成分については mg/mg である。

20 (5) 抗酸菌を抽出して得られる両親媒性物質を有効成分とする腫瘍壊死因子誘起剤。

国際調査報告

国際出願番号PC1, JP 86/00107

I. 発明の属する分野の分類		
国際特許分類 (IPC) Int. Cl. C12P1/00, A61K35/74, A61K37/00		
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	C12P1/00, A61K35/74, A61K37/00	
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	本欄 通「内毒素-その構造と活性」 31. 12月. 1983 (31. 12. 83) 医歯薬出版, P. 303~309	1-5
<p>*引用文献のカテゴリー</p> <p>「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</p> <p>「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</p>		
IV. 認 証		
国際調査を完了した日 20.05.86	国際調査報告の発送日 02.06.86	
国際調査機関 日本国特許庁 (ISA/JP)	権限のある職員 特許庁審査官 石井 真次	4B 6760

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/JP86/00107

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ³				
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl ⁴ C12P1/00, A61K35/74, A61K37/00				
II. FIELDS SEARCHED				
Minimum Documentation Searched ⁴				
Classification System	Classification Symbols			
IPC	C12P1/00, A61K35/74, A61K37/00			
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁵				
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹⁴				
Category [*]	Citation of Document, ¹⁵ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹⁷	Relevant to Claim No. ¹⁸		
A	Honma Son, "Nai Dokuso-sono Kozo to Kassei" 31 December 1983 (31. 12. 83) Ishiyaku Shuppan, P.303 ~ 309	1 - 5		
<p>[*] Special categories of cited documents: ¹⁶</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"> <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> </td> <td style="width: 50%; border: none;"> <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</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>"&" document member of the same patent family</p> </td> </tr> </table>			<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</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>"&" document member of the same patent family</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</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>"&" document member of the same patent family</p>			
IV. CERTIFICATION				
Date of the Actual Completion of the International Search ²	Date of Mailing of this International Search Report ²			
May 20, 1986 (20. 05. 86)	June 2, 1986 (02. 06. 86)			
International Searching Authority ¹	Signature of Authorized Officer ²⁰			
Japanese Patent Office				