

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年1月2日(02.01.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/004404 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/4439 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
A61P 19/04 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 19/06 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/025204

(22) 国際出願日: 2019年6月25日(25.06.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-121098 2018年6月26日(26.06.2018) JP

(71) 出願人: 学校法人 久留米大学 (KURUME UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒8300011 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 Fukuoka (JP).

(72) 発明者: 沈 龍佑 (SHIN, Ryusuke); 〒8300011 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内 Fukuoka (JP). 外角 直樹 (SOTOGAKU, Naoki); 〒8300011 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内 Fukuoka (JP). 西 昭徳 (NISHI, Akinori); 〒8300011 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内 Fukuoka (JP).

(74) 代理人: 山尾 憲人, 外 (YAMAO, Norihito et al.); 〒5300017 大阪府大阪市北区角田町 8 番 1 号 梅田阪急ビルオフィスタワー 青山特許事務所 Osaka (JP).

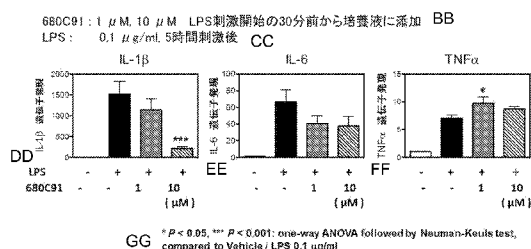
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,

(54) Title: IL-1 β INHIBITOR

(54) 発明の名称: IL-1 β 阻害薬

【図1】 AA

図1. LPSで刺激したRaw264.7細胞のサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果



AA Effect of 680C91 on expression of cytokine gene of Raw264.7 cell stimulated with LPS
BB Added to liquid culture medium 30 minutes before initiation of stimulation with LPS
CC After stimulation for 5 hours
DD Expression of IL-1 β gene
EE Expression of IL-6 gene
FF Expression of TNF α gene
GG one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls test, compared to Vehicle / LPS 0.1 μ g/ml

(57) Abstract: Provided are an IL-1 β inhibitor, and a medicine, a pharmaceutical composition and a method each for treating a disease associated with IL-1 β , and others, in each of which a low-molecular-weight compound is used as an active ingredient. The present invention relates to an IL-1 β inhibitor containing 6-fluoro-3-[(1E)-2-(3-pyridinyl)ethenyl]-1H-indole as an active ingredient.

(57) 要約: 低分子化合物を有効成分とする、IL-1 β 阻害薬、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬、処置用医薬組成物、処置方法等を提供する。有効成分として6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1H-インドールを含む、IL-1 β 阻害薬に関する。

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, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称： IL-1 β 阻害薬

技術分野

[0001] 本発明は、低分子化合物を有効成分とする、IL-1 β 阻害薬、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬、処置用医薬組成物、処置方法等に関する。

背景技術

[0002] 先天性の慢性自己免疫症候群の治療に、抗IL-1 β モノクローナル抗体のカナキヌマブ (Canakinumab) や、IL-1分子結合部分をヒトIgG1のFc部分と結合させたキメラ蛋白のリロナセプト (Rilonacept) が、IL-1 β 阻害薬として使用されている。しかしながら、これらの生物学的製剤には、以下のような問題点がある（非特許文献1、2）：

- 1) 感染症のリスクを高める可能性がある、
- 2) 薬剤費が高い、
- 3) 有効でない症例がある、
- 4) 煩雑さがある（経口薬ではない、点滴に時間がかかる、自己注射への抵抗、指導・投薬・管理における医療側の負担も増）、
- 5) 悪性腫瘍のリスクを高める可能性がある。

[0003] 低分子化合物を有効成分とする医薬は、抗体等の生物学的製剤に比べて、製造工程が簡素であり、薬剤費を低く抑えることができ、また、錠剤、カプセル剤等として経口投与が可能である。したがって、低分子化合物を有効成分とすることで、少なくとも、上記生物学的製剤の問題点2)および4)を解消することができる。このため、低分子化合物を有効成分とするIL-1 β 阻害薬の開発が求められている。

[0004] また、炎症性うつ病は、末梢血でIL-1 β が増加して、脳内血管内皮細胞のIL-1 β 受容体に作用することで、血液脳関門のバリアー機能が破綻して、脳内にマクロファージや炎症性サイトカインが侵入することが原因の一つと考えられている（非特許文献3）。したがって、IL-1 β 阻害薬は、うつ病治療薬

としても使用できると考えられる。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1：生物学的製剤と呼吸器疾患・診療の手引き、一般社団法人 日本呼吸器学会

非特許文献2：生物学的製剤と呼吸器疾患・診療の手引き、日本内科学会雑誌 105巻8号

非特許文献3：Non-muscle Mlck is required for β -catenin- and FoxO1-dependent downregulation of Cldn5 in IL-1 β -mediated barrier dysfunction in brain endothelial cells、J Cell Sci. 2014 Apr 15; 127(8): 1840-1853.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、低分子化合物を有効成分とする、IL-1 β 阻害薬、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬、処置用医薬組成物、処置方法等を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、トリプトファン-2,3-ジオキシゲナーゼ(TDO)の阻害剤として既知の6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1H-インドール(680C91)が、IL-1 β 産生を著しく低下させることを初めて見出し、本発明を完成させるに至った。

本発明は、以下の態様を含む：

[1] 有効成分として6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1H-インドールを含む、IL-1 β 阻害薬。

[2] 有効成分として6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1H-インドールを含む、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬。

[3] IL-1 β に起因する疾患が、自己炎症症候群および慢性炎症性疾患から

選択される、[2]記載の医薬。

[4] IL-1 β に起因する疾患が、家族性地中海熱、クリオピリン関連周期熱症候群、NLRP12関連周期熱症候群、IL-1受容体アンタゴニスト欠損症、化膿性無菌性関節炎、マジード (Majeed) 症候群、中条-西村症候群、CARD14異常症、若年発症サルコイドーシス、全身型若年性特発性関節炎、成人発症スティル (Still) 病、ベーチェット (Behcet) 病、クローン (Crohn) 病、通風/偽痛風、石綿肺/珪肺、2型糖尿病、シュニッツラー (Schnitzler) 症候群、動脈硬化症、脳卒中、うつ病、多発性硬化症、アルツハイマー病、リウマチ性疾患、悪性腫瘍、自己免疫疾患、膠原病、動脈硬化性疾患およびアレルギー疾患から選択される、[3]記載の医薬。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図1は、LPSで刺激したRaw264.7細胞のサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果を示す。

[図2]図2は、LPSで刺激した、TD0野生型マウス由来の初代培養マクロファージのサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果を示す。

[図3]図3は、LPSで刺激した、TD0遺伝子欠損マウス由来の初代培養マクロファージのサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果を示す。

[図4]図4は、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルにおける体重減少に対する680C91の効果を示す。

[図5]図5は、DSS経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルにおける大腸長短縮に対する680C91の効果を示す。(A)は、各処置群における大腸の長さの比較であり、(B)は、その大腸の長さを示すグラフ (B) である。

[図6]図6は、DSS経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルの大腸組織におけるサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果を示す。

[図7]図7は、DSS経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルの大腸組織におけるIL-1 β タンパク質発現上昇に対する680C91の効果を示す。

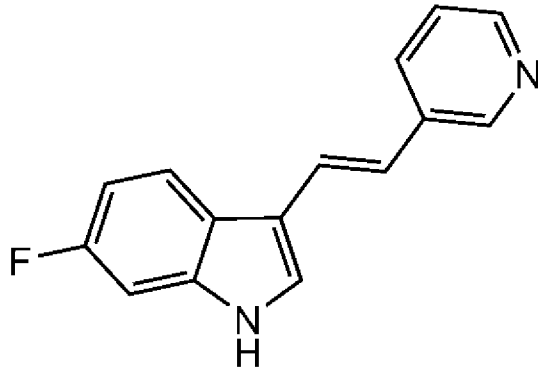
発明を実施するための形態

[0009] 本発明は、6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1H-インド-

ル(680C91)を有効成分とする、IL-1 β 阻害薬、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬、処置用医薬組成物、処置方法等に関する。

上記680C91は、以下の構造式：

[化1]



で表される化合物であり、TD0阻害剤として市販されている。また、680C91は、抗腫瘍効果を有することが知られている。

以下、680C91を「本化合物」とも称する。

[0010] 本化合物は、溶媒和物、非晶質、結晶、結晶多形、共結晶等であってもよい。また、本化合物は、1つ又は複数の原子を1つ又は複数の同位体原子で置換された化合物であってもよい。同位体原子の例としては重水素(^2H)、三重水素(^3H)、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 等が挙げられる。

[0011] 本化合物は、IL-1 β の遺伝子発現を抑制することができる。このIL-1 β 阻害作用は、TD0阻害作用とは明確に異なる作用である。

したがって、本発明は、有効成分として本化合物を含むIL-1 β 阻害薬を提供する。本発明における「IL-1 β 阻害薬」は、IL-1 β の遺伝子発現を抑制する薬剤を意味する。

[0012] また、本化合物は、IL-1 β 阻害作用を有するので、IL-1 β に起因する疾患の処置に有用である。したがって、本発明は、有効成分として本化合物を含む、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬を提供する。

[0013] 本発明における「IL-1 β に起因する疾患」としては、発症または進行にIL-1 β の関与が確認または指摘されている疾患や、IL-1 β の過剰産生や異常活性発現を伴う疾患であれば特に限定されないが、例えば、自己炎症症候群、慢

性炎症性疾患等が挙げられる (YAKUGAKU ZASSHI 133(6) 645-660 (2013)等参照)。これらの疾患では、高サイトカイン血症 (特に高IL-1 β 血症) の病態が観察され得ることが知られている。

自己炎症症候群としては、例えば、家族性地中海熱、クリオピリン関連周期熱症候群、NLRP12関連周期熱症候群、IL-1受容体アンタゴニスト欠損症、化膿性無菌性関節炎、マジード (Majeed) 症候群、中条-西村症候群、CARD14異常症、若年発症サルコイドーシス、全身型若年性特発性関節炎、成人発症スティル (Still) 病、ベーチェット (Behcet) 病、クローン (Crohn) 病、通風/偽痛風、石綿肺/珪肺、2型糖尿病、シュニッツラー (Schnitzler) 症候群、動脈硬化症、脳卒中、うつ病、多発性硬化症、アルツハイマー病、リウマチ性疾患 (関節リウマチ等) 等が挙げられる。

慢性炎症性疾患としては、例えば、各種悪性腫瘍 (直腸癌、結腸癌、腎細胞癌、非小細胞肺癌等)、各種自己免疫疾患 (糸球体腎炎、拡張型心筋症、コックサキーウイルス感染後心筋症等)、膠原病 (強皮症等)、各種動脈硬化性疾患 (アテローム性動脈硬化症等)、各種アレルギー疾患 (アレルギー性鼻炎・気管支炎等) 等が挙げられる。

[0014] 本明細書における「処置」または「処置すること」なる用語は、予防的および治療的な処置を含み、予防、治療、症状の軽減、症状の減弱、進行の抑止等の任意の管理手段を含む。

[0015] 本発明はまた、本化合物を対象に有効量投与することを含む、IL-1 β に起因する疾患の処置方法を提供する。該対象としては、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ラット、ネズミ等の任意の哺乳動物が挙げられる。

[0016] 本化合物は、全身にまたは局所的に投与されてよい。通常、本化合物は、経口投与、経鼻投与、吸入投与、静脈内注射 (点滴を含む)、皮下注入、直腸内投与、腔内投与、経皮投与等によって投与され得る。

[0017] 投与量は、対象となる哺乳動物の種類、年齢、体重、処置すべき症状、所望の治療効果、投与経路、処置期間等に応じて変化する。1日に0.00001~500mg/kg体重、より好ましくは0.0001~100mg/kg体重の量を、1日に1~4回

全身投与または連続投与することにより、満足のいく効果を得ることができる。

[0018] 本化合物は、そのまま対象に投与することもできるが、従来法により投与に適した医薬組成物として製剤化するのが好ましい。該医薬組成物は、経口投与、経鼻投与、吸入投与、注射またはかん流に適したもの、ならびに外用剤、坐剤または腔坐剤でありうる。

[0019] 本発明の医薬組成物は、生理学的に許容しうる添加剤をさらに含んでもよい。該添加剤には本化合物と併用される成分が含まれ、例えば、賦形剤、希釈剤、増量剤、溶剤、潤滑剤、補助剤、結合剤、崩壊剤、被覆剤、カプセル化剤、軟膏基剤、坐薬用基剤、エアゾール化剤、乳化剤、分散剤、懸濁剤、増粘剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤、防腐剤、抗酸化剤、矯味剤、芳香剤、着色剤、機能性物質、例えばシクロデキストリン、生分解性高分子、安定剤が挙げられる。これらの添加剤は当該技術分野で周知であり、製剤学に関する一般書籍に記載されているものから選択してよい。

[0020] 本発明の医薬組成物における本化合物の量は、組成物の処方に応じて変化させてよく、一般に0.000001～10.0%、より好ましくは0.00001～5.0%、最も好ましくは0.0001～1%であり得る。

[0021] 経口投与のための固体組成物の例としては、錠剤、トローチ剤、舌下錠剤、カプセル剤、丸剤、散剤、顆粒剤等が挙げられる。固体組成物は1つ以上の活性成分と少なくとも1つの不活性希釈剤を混合して調製してもよい。組成物はさらに、不活性希釈剤以外の添加剤、例えば、潤滑剤、崩壊剤および安定剤を含んでもよい。錠剤および丸剤は、必要であれば、腸溶性または胃腸溶性フィルムによって被覆してもよい。錠剤および丸剤は2つ以上の層によって被覆してもよい。それらは徐放性物質に吸着させても、またはマイクロカプセル化してもよい。さらに、該組成物は、ゼラチン等の易分解性物質を用いてカプセル化してもよい。それらは、脂肪酸またはそのモノ、ジもしくはトリグリセリドのような適切な溶媒にさらに溶解させて軟カプセルとしてもよい。即効性が必要な場合は舌下錠を用いてもよい。

[0022] 経口投与のための液体組成物の例としては、乳剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤等が挙げられる。該組成物は、常套的に用いられる不活性希釈剤、例えば精製水またはエチルアルコールをさらに含んでもよい。組成物は、不活性希釈剤以外の添加剤、例えば湿潤剤や懸濁剤のような補助剤、甘味剤、香味剤、芳香剤および防腐剤を含んでいてもよい。

[0023] 本発明の医薬組成物は、噴霧用組成物の形態であってもよく、これは公知の方法にしたがって調製し得る。

[0024] 経鼻製剤の例は、水性もしくは油性の液剤、懸濁剤、または乳剤であってもよい。

本化合物を吸入により投与するため組成物は、エアロゾルを提供できる懸濁剤、液剤または乳剤の形態であるか、または、ドライパウダー吸入に適した散剤の形態でありうる。吸入投与用の組成物はさらに、慣用される噴霧剤を含んでいてよい。

[0025] 非経口投与用の注射用組成物の例としては、滅菌した水性もしくは非水性液剤、懸濁剤および乳剤が挙げられる。水溶液剤または懸濁剤用の希釈剤としては、例えば、注射用蒸留水、生理食塩水およびリンゲル液が挙げられる。

液剤および懸濁剤用の非水性希釈剤としては、例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコールおよびポリソルベートが挙げられる。

該組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤等の添加剤をさらに含んでもよい。それらは、例えば細菌保留フィルターを通して濾過することによって、滅菌剤を配合することによって、またはガスもしくは放射性同位体照射滅菌によって滅菌してよい。

注射用組成物は、使用前に注射用の滅菌溶媒に溶解させる滅菌粉末組成物として提供してもよい。

[0026] 外用剤の例には、皮膚科学および耳鼻咽喉頭学の分野で用いられる全ての外用製剤が含まれ、例えば、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤およびスプレ

一剤が挙げられる。

[0027] 本発明の医薬組成物の他の形態は、坐剤または膣坐剤であり、これらは、有効成分を慣用の基剤、例えば体温で軟化するカカオバターに混合することによって製剤でき、適度な軟化温度を有する非イオン性の界面活性剤は、吸収性を改善するのに用いる。

[0028] また、本発明は、IL-1 β の阻害に使用するための、またはIL-1 β に起因する疾患の処置に使用するための、本化合物を提供する。

[0029] 本発明はまた、IL-1 β 阻害薬を製造するための、またはIL-1 β に起因する疾患の処置用医薬もしくは医薬組成物を製造するための、本化合物の使用を提供する。

[0030] さらに、本発明は、有効成分として本化合物を含む医薬または医薬組成物、ならびに当該医薬または医薬組成物を、IL-1 β の阻害に使用することができる、またはIL-1 β に起因する疾患の処置に使用することができる、あるいは使用すべきであることを記載した当該医薬または医薬組成物に関する記載物を含む、商業パッケージを提供する。

[0031] 本発明のさらなる詳細は、以下の実施例を参照に記載するが、これは本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

実施例

[0032] 実施例 1

〔方法〕

Raw264.7細胞を35mmの培養プレートに撒き、翌日に680C91(1、10 μ M)を含む培地に交換し、30分後にリポポリサッカリド (LPS; Lipopolysaccharide (from E.coli o26)、Wako BioWindow (大阪、日本) から購入) 0.1 μ g/mlを培地に添加した。5時間後に細胞からtotal RNAを回収し、炎症性サイトカインであるIL-1 β 、IL-6、TNF- α の遺伝子発現をリアルタイムPCR法で測定した。具体的には、cDNAを、QuantiTect Reverse Transcription Kit (Qiagen、バレンシア、アメリカ合衆国) を使用してtotal RNAから精製し、リアルタイムPCRを、LightCycler 480 System II (Roche、バーゼル、スイス国) とGene

Ace SYBR qPCR MIX α No ROX (NIPPON GENE、富山、日本) を用いて実行した。

[0033] [結果]

その結果、680C91(10 μ M)は、LPSにより誘導されるIL-1 β の遺伝子発現を有意に抑制した(図1)。IL-6遺伝子の発現については抑制傾向を示したが、有意な差は認められなかった。また、TNF α 遺伝子の発現は抑制されなかった。

[0034] 実施例2

[方法]

680C91の標的分子であるTD0の野生型マウスおよび遺伝子欠損マウス(雄、9-11週齢、Molecular Brain 2009, 2:8 doi:10.1186/1756-6606-2-8に記載の方法により作製、旭川医科大学 船越研究所より提供)から、それぞれに、常法に従って腹腔内マクロファージを採取した。4%チオグリコレートを腹腔内投与し、3~4日後に腹腔内に浸潤したマクロファージを回収し、培養プレートに撒き、次いで実施例1と同様に680C91(1、10、50 μ M)とLPSを培地に添加した。5時間後に細胞からtotal RNAを回収し、実施例1と同様に炎症性サイトカインであるIL-1 β 、IL-6、TNF- α の遺伝子発現をリアルタイムPCR法で測定した。

[0035] [結果]

その結果、野生型マウスから採取した腹腔内マクロファージにおいて、680C91(50 μ M)はIL-1 β の遺伝子発現を顕著に抑制した(図2)。TD0の遺伝子欠損マウスから採取した腹腔内マクロファージにおいても、680C91(50 μ M)はIL-1 β の遺伝子発現を顕著に抑制した(図3)。TD0の遺伝子欠損マウスでも野生型マウスと同様の結果が示されたことから、680C91は、TD0抑制とは異なる機序によりIL-1 β 発現を抑制すると考えられた。

[0036] 実施例3

[方法]

C57BL/6Nマウス(雄、10週齢、日本エスエルシー株式会社)を潰瘍性大腸

炎モデルの試験に用いた。マウスをDSS+680C91群とDSS群とコントロール群に分けた（各群6匹）。DSS+680C91群とDSS群には、3%デキストラン硫酸ナトリウム（以下、DSSと称する。分子量36,000～50,000、MPバイオ）を自由飲水させて潰瘍性大腸炎モデルを作成した。コントロール群には、水道水を自由飲水させた。また、DSS+680C91群には、ビヒクル中に溶解させた680C91を8mg/kgの用量で1日1回、DSS飲水開始日（1日目）から8日間（8日目）皮下注射した。DSS群およびコントロール群には、ビヒクルを同様に投与した。なお、ビヒクルは生理食塩水中に0.2%DMSO（ジメチルスルホキシド）および40%PEG400（ポリエチレングリコール400）を溶解させて調製した。

[0037] 処置期間終了後（8日目）、マウスの体重を測定後、解剖し、大腸を採取して、その長さを測定した。体重変化については、DSS投与開始前に対する投与後の体重減少の比（8日後の体重／投与前の体重×100）として評価した。

また、採取した大腸からcDNAを、QuantiTect Reverse Transcription Kit（Qiagen、バレンシア、アメリカ合衆国）を使用してtotal RNAから精製し、実施例1と同様に炎症性サイトカインであるIL-1 β 、IL-6、TNF- α の遺伝子発現をリアルタイムPCR法で測定した。

さらに、ウエスタンブロット法によりタンパク質発現を測定した。採取した大腸からタンパク質を抽出し、ポリアクリルアミド電気泳動（SDS-PAGE）を行い、Nitrocellulose膜に転写後、Pro IL-1 β （IL-1 β 前駆体）に対する抗体を用いて検出した。なお、内部標準として β -アクチンを用いた。

[0038] [結果]

その結果、DSSの摂取（DSS群）によりマウスの体重減少および大腸長の短縮がみられたが、680C91の投与（DSS+680C91群）により体重減少および大腸長の短縮のいずれも有意に抑制された（図4、5）。

また、PCR法によるmRNA測定の結果、コントロール群と比較して、DSS群ではIL-1 β 、IL-6およびTNF α の遺伝子発現は亢進したが、680C91の投与（DSS+680C91群）によりいずれも改善された（図6）。

さらに、ウエスタンブロット法によるタンパク質測定の結果、DSS群と比較

して、DSS+680C91群において、IL-1 β タンパク質の産生が680C91によって顕著に抑制された（図7）。

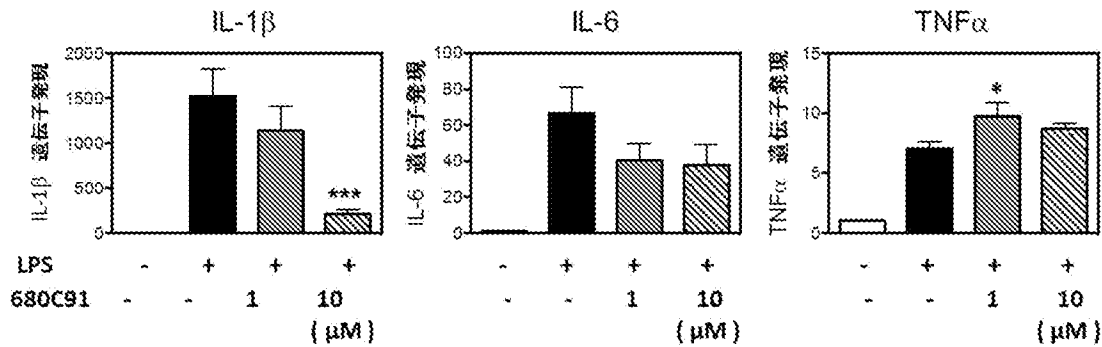
請求の範囲

- [請求項1] 有効成分として6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1 H-インドールを含む、IL-1 β 阻害薬。
- [請求項2] 有効成分として6-フルオロ-3-[(1E)-2-(3-ピリジニル)エテニル]-1 H-インドールを含む、IL-1 β に起因する疾患の処置用医薬。
- [請求項3] IL-1 β に起因する疾患が、自己炎症症候群および慢性炎症性疾患から選択される、請求項2記載の医薬。
- [請求項4] IL-1 β に起因する疾患が、家族性地中海熱、クリオピリン関連周期熱症候群、NLRP12関連周期熱症候群、IL-1受容体アンタゴニスト欠損症、化膿性無菌性関節炎、マジード (Majeed) 症候群、中条－西村症候群、CARD14異常症、若年発症サルコイドーシス、全身型若年性特発性関節炎、成人発症スティル (Still) 病、ベーチェット (Behcet) 病、クローン (Crohn) 病、通風／偽痛風、石綿肺／珪肺、2型糖尿病、シュニッツラー (Schnitzler) 症候群、動脈硬化症、脳卒中、うつ病、多発性硬化症、アルツハイマー病、リウマチ性疾患、悪性腫瘍、自己免疫疾患、膠原病、動脈硬化性疾患およびアレルギー疾患から選択される、請求項3記載の医薬。

[図1]

図1. LPSで刺激したRaw264.7細胞のサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果

680C91: 1 μ M, 10 μ M LPS刺激開始の30分前から培養液に添加
 LPS: 0.1 μ g/ml, 5時間刺激後

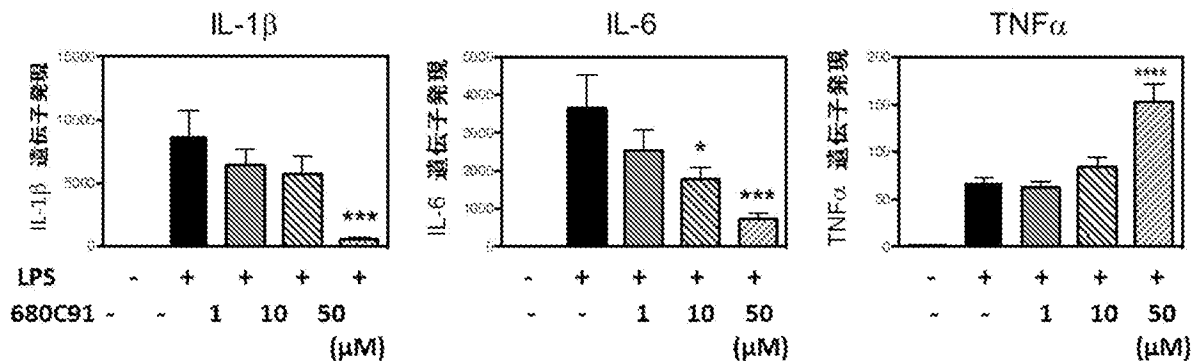


* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$: one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls test, compared to Vehicle / LPS 0.1 μ g/ml

[図2]

図2. LPSで刺激した初代培養マクロファージのサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果(TDO野生型マウス)

680C91: 1 μ M, 10 μ M, 50 μ M LPS刺激開始の30分前から培養液に添加
 LPS: 0.1 μ g/ml, 5時間刺激後

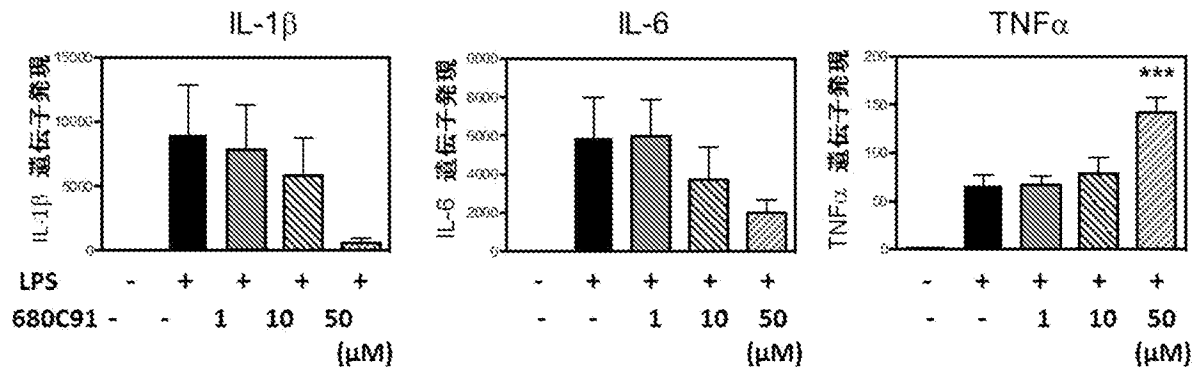


* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$: one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls test, compared to Vehicle / LPS 0.1 μ g/ml

[図3]

図3. LPSで刺激した初代培養マクロファージのサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果(TDO遺伝子欠損マウス)

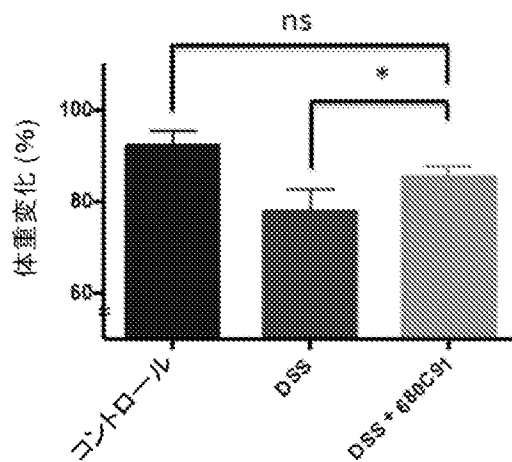
680C91 : 1 μ M, 10 μ M, 50 μ M LPS刺激開始の30分前から培養液に添加
 LPS : 0.1 μ g/ml, 5時間刺激後



*** $P < 0.001$: one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls test, compared to Vehicle / LPS 0.1 μ g/ml

[図4]

図4: 体重変化

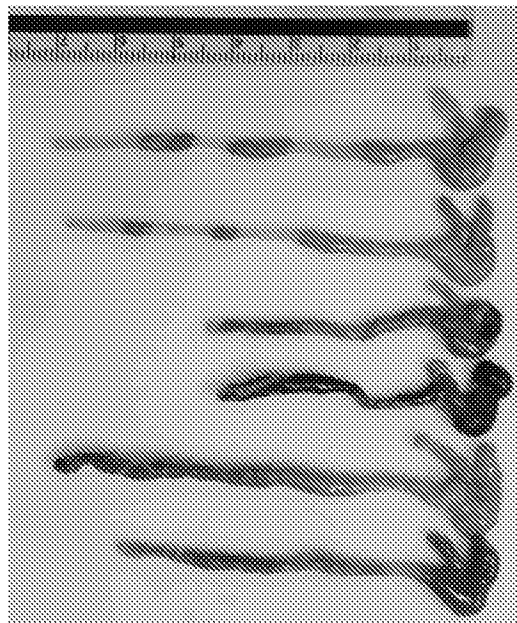


ns: not significant * $P < 0.05$: one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls test

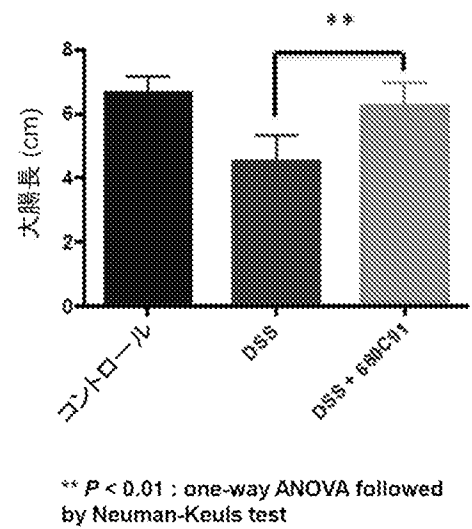
[図5]

図5: 大腸の長さ

(A)

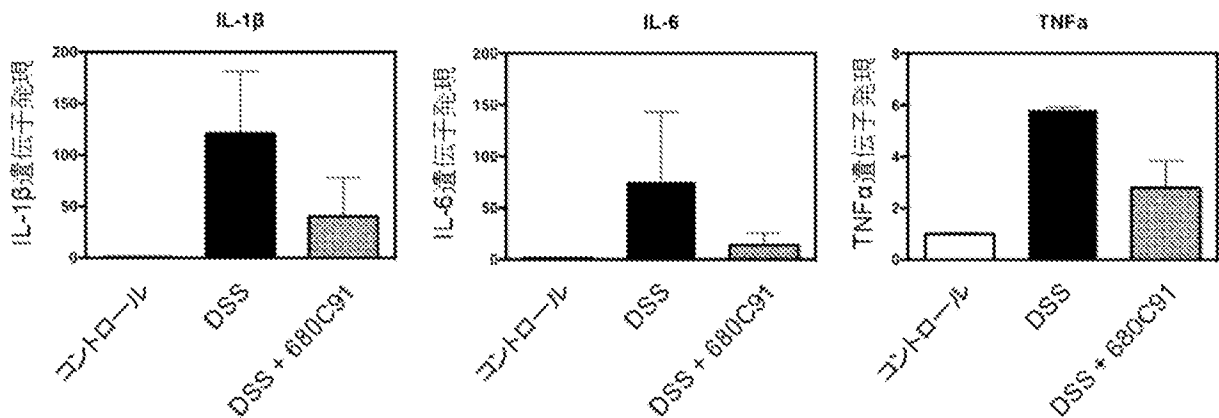


(B)



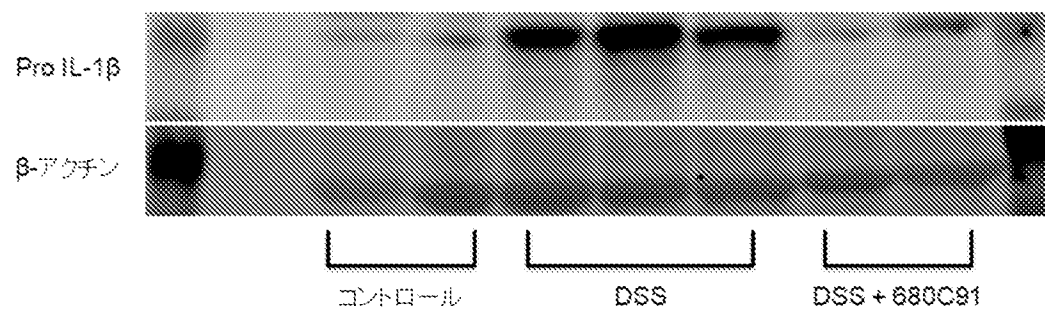
[図6]

図6: DSS経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルにおけるサイトカイン遺伝子発現に対する680C91の効果



[図7]

図7: DSS経口投与により作成した炎症性腸疾患モデルにおけるIL-1βタンパク質発現上昇に対する680C91の効果



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/025204

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. See extra sheet

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. A61K31/4439, A61P1/04, A61P3/10, A61P9/00, A61P9/10, A61P11/00, A61P19/02, A61P19/04, A61P19/06, A61P25/00, A61P25/24, A61P25/28, A61P29/00, A61P35/00, A61P37/02, A61P37/08, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HSU, Y. L. et al., "Lung cancer-derived galectin-1 contributes to cancer associated fibroblast-mediated cancer progression and immune suppression through TD02/kynurenine axis", Oncotarget, 2016, vol. 7, no. 19, pp. 27584-27598, abstract, fig. 6, section "Animal models"	1-4
Y		1-4



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 2019 (26.08.2019)

Date of mailing of the international search report

03 September 2019 (03.09.2019)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/025204

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	REED, M. R. et al., "Inhibition of kynurenine signaling decreases glioblastoma multiforme genomic instability and sensitizes cells to chemotherapeutic treatment", FASEB J, 2017, vol. 31, no. suppl. 1, p. 754. 9, (abstract) BIOSIS [online], US: [retrieved on 21 August 2019], Retrieved from: SIN, Accession No. 2017:755834, entire text	1-4 1-4
X Y	BOSTIAN, A. et al., "Aberrant activation of the kynurenine pathway in gliomas increases polymerase kappa expression and promotes genomic instability and chemoresistance", FASEB J, 2016, vol. 30, no. suppl. Meeting abstracts, (abstract) EMBASE [online], US: [retrieved on 21 August 2019], Retrieved from: SIN, Accession No. 0052281068, entire text	1-4 1-4
X Y	BREDA, C. et al., "Tryptophan-2, 3-dioxygenase (TDO) inhibition ameliorates neurodegeneration by modulation of kynurenine pathway metabolites", PNAS, 2016, vol. 113, no. 19, pp. 5435-5440, abstract, fig. 5	1-4 1-4
Y	GIBNEY, S. M. et al., "Inhibition of stress-induced hepatic tryptophan 2, 3-dioxygenase exhibits antidepressant activity in an animal model of depressive behavior", Int J Neuropsychopharmacol, 2014, vol. 17, no. 6, pp. 917-928, abstract	1-4
A	BABAK, M. et al., "Engagement of the aryl hydrocarbon receptor in M. tuberculosis-infected macrophages has pleiotropic effects on innate immune signaling", Inflammation Research, 2015, vol. 64, no. 2, suppl. 1, p. S188, abstract no. B218 (abstract) EMBASE [online], US: [retrieved on 21 August 2019], Retrieved from: SIN, Accession No. 0051945909, entire text	1-4
A	URAIA, Y. et al., "IL-1 β increases expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and stimulates tryptophan catabolism in endometrioma stromal cells", Am J Reprod Immunol, 2014, vol. 72, no. 5, pp. 496-503, abstract	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/025204

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/4439 (2006.01) i,	A61P1/04 (2006.01) i,	A61P3/10 (2006.01) i,
A61P9/00 (2006.01) i,	A61P9/10 (2006.01) i,	A61P11/00 (2006.01) i,
A61P19/02 (2006.01) i,	A61P19/04 (2006.01) i,	A61P19/06 (2006.01) i,
A61P25/00 (2006.01) i,	A61P25/24 (2006.01) i,	A61P25/28 (2006.01) i,
A61P29/00 (2006.01) i,	A61P35/00 (2006.01) i,	A61P37/02 (2006.01) i,
A61P37/08 (2006.01) i,	A61P43/00 (2006.01) i	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. 特別ページ参照

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))

Int.Cl. A61K31/4439, A61P1/04, A61P3/10, A61P9/00, A61P9/10, A61P11/00, A61P19/02, A61P19/04, A61P19/06, A61P25/00, A61P25/24, A61P25/28, A61P29/00, A61P35/00, A61P37/02, A61P37/08, A61P43/00

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

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2019年
日本国実用新案登録公報	1996-2019年
日本国登録実用新案公報	1994-2019年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

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 請求項の番号
X Y	HSU, Y L et al., Lung cancer-derived galectin-1 contributes to cancer associated fibroblast-mediated cancer progression and immune suppression through TD02/kynurenine axis, Oncotarget, 2016, Vol.7, No.19, p.27584-27598, Abstract, Figure 6, Animal models の項	1-4 1-4

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ 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」 国際出願日前の出願または特許であるが、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

26.08.2019

国際調査報告の発送日

03.09.2019

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
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)

小堀 麻子

4 C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

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 請求項の番号
X Y	REED M R et al., Inhibition of kynurenine signaling decreases glioblastoma multiforme genomic instability and sensitizes cells to chemotherapeutic treatment, FASEB J, 2017, Vol.31, No.Suppl.1, p.754.9, (abstract) BIOSIS [online], US: [retrieved on 2019.08.21], Retrieved from: STN, Accession No.2017:755834, 全文	1-4 1-4
X Y	BOSTIAN, A et al., Aberrant activation of the kynurenine pathway in gliomas increases polymerase kappa expression and promotes genomic instability and chemoresistance, FASEB J, 2016, Vol.30, No.Suppl.Meeting abstracts, (abstract) EMBASE [online], US: [retrieved on 2019.08.21], Retrieved from: STN, Accession No.0052281068, 全文	1-4 1-4
X Y	BREDA, C et al., Tryptophan-2,3-dioxygenase (TDO) inhibition ameliorates neurodegeneration by modulation of kynurenine pathway metabolites, PNAS, 2016, Vol.113, No.19, p.5435-5440, Abstract, Fig.5	1-4 1-4
Y	GIBNEY, S M et al., Inhibition of stress-induced hepatic tryptophan 2,3-dioxygenase exhibits antidepressant activity in an animal model of depressive behaviour, Int J Neuropsychopharmacol, 2014, Vol.17, No.6, p.917-928, Abstract	1-4
A	BABAK, M et al., Engagement of the aryl hydrocarbon receptor in M. tuberculosis-infected macrophages has pleiotropic effects on innate immune signaling, Inflammation Research, 2015, Vol.64, No.2, Suppl.1, p.S188, Abstract No.B218 (abstract) EMBASE [online], US: [retrieved on 2019.08.21], Retrieved from: STN, Accession No.0051945909, 全文	1-4
A	URATA, Y et al., IL-1 β increases expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and stimulates tryptophan catabolism in endometrioma stromal cells, Am J Reprod Immunol, 2014, Vol.72, No.5, p.496-503, Abstract	1-4

発明の属する分野の分類

A61K31/4439(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P11/00(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P19/04(2006.01)i, A61P19/06(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i