(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4053600号
(P4053600)

(45)発行日　平成20年2月27日(2008.2.27)　(24)登録日　平成19年12月14日(2007.12.14)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 38/43	(2006.01)	A61K	37/48
A61K 31/00	(2006.01)	A61K	31/00
A61K 31/56	(2006.01)	A61K	31/56
A61K 35/64	(2006.01)	A61K	35/64
A61K 36/00	(2006.01)	A61K	35/78

請求項の数 7　(全 24 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平9-533754
(86)(22)出願日　平成9年3月20日(1997.3.20)
(65)公表番号　特表2000-508629(P2000-508629A)
(43)公表日　平成12年7月11日(2000.7.11)
(86)国際出願番号　PCT/US1997/004643
(87)国際公開番号　WO1997/034624
(87)国際公開日　平成9年9月25日(1997.9.25)
審査請求日　平成12年9月18日(2000.9.18)
(31)優先権主張番号　08/619,780
(32)優先日　平成8年3月20日(1996.3.20)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　591018268
アラーガン、インコーポレイテッド
ＡＬＬＥＲＧＡＮ，ＩＮＣＯＲＰＯＲＡＴＥＤ
アメリカ合衆国９２６１２カリフォルニア州アーヴィン、デュポン・ドライブ２５２５番
(74)代理人　100081422
弁理士　田中　光雄
(74)代理人　100101454
弁理士　山田　卓二
(74)代理人　100068526
弁理士　田村　恭生
(74)代理人　100083356
弁理士　柴田　康夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】筋痙攣およびそれに関連する疼痛を除去するための注射療法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ボツリヌス毒素を注射する筋肉を選択するための医薬組成物であって、
ベクロニウム、エラブトキシン－ｂ、ヘビα－ニューロトキシン、アタクリウム、アタクリウムベシレート、コノトキシンＭＩ、クラーレ、ダウリシン、塩化ドキサクリウム、ガラミン、ロホトキシン、塩化ミバクリウム、臭化パンクロニウム、パンクロニウム－３－ＯＨ代謝物、ピペルクロニウム、ショートニューロトキシンアルファ、ベクロニウム－３－ＯＨ、およびベサミコールから成る群から選択される、ボツリヌス毒素の神経筋遮断活性より活性持続時間が短い、少なくとも１つの神経筋遮断薬を含有し、
ある筋肉群の中の選択した筋肉に筋肉内注射することによって該選択した筋肉を弛緩させ、波及効果、筋肉の緊張およびバランスの評価によって、最終的にボツリヌス毒素を筋肉内注射するのに適切な筋肉を選択するのに有用な組成物。
【請求項２】
神経筋遮断薬が、ベクロニウムからなる請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
神経筋遮断薬が、エラブトキシン－ｂからなる請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
神経筋遮断薬が、ベクロニウムとエラブトキシン－ｂとからなる請求項１に記載の組成物。
【請求項５】

神経筋遮断薬が、ヘビα－ニューロトキシンからなる請求項１に記載の組成物。
【請求項６】
神経筋遮断薬が、ベサミコールからなる請求項１に記載の組成物。
【請求項７】
少なくとも１つの神経筋遮断薬が、下記段階を含んで成る方法によって選択される請求項１に記載の組成物：
Ｉ）実験動物の一群の筋肉を電気的なパルスで刺激して、該筋肉に痙縮を誘発する段階；
II）該実験動物の該筋肉群の中の選択した筋肉に、調製した薬物を筋肉内注射する段階；
III）該実験動物の選択し、注射した筋肉の痙縮の緩和を観察する段階；
IV）該実験動物の該筋肉群の中の選択しなかった筋肉の痙縮の緩和を観察する段階；および
V）段階（III）および（Ｖ）で観察した結果を比較する段階。
【発明の詳細な説明】
本発明は、ボツリヌス毒素を投与する改善された方法、およびボツリヌス毒素の神経筋遮断活性よりも活性持続時間が短い神経筋遮断剤の使用と選択に関する。
ボツリヌス毒素はバクテリア、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｂｏｔｕｌｉｎｕｍによって産生される神経毒であって、ＡからＧまでの７種類のタイプがあり、分子量は１５０，０００である。この毒素は血球凝集素やその他の非毒性タンパク質に結合してさらに大きな分子複合体を形成する。
ボツリヌス毒素（とりわけ、Ａ型ボツリヌス毒素）は、筋肉の痙縮を伴う多くの神経筋疾患および症状、例えば斜視、眼瞼痙攣、痙性斜頸（頸部ジストニー）、口下顎骨ジストニーおよび痙性音声障害（喉頭ジストニー）の処置に用いられてきた。この毒素は、シナプス前コリン作動性神経末端に短時間で強力に結合し、アセチルコリン放出頻度の低下によってアセチルコリンのエキソサイトーシスを阻害する。その結果、痙縮した筋肉の局所的麻痺、すなわち弛緩が起こる。
神経筋疾患処置の一例は、ボロディック（Borodic）の米国特許第５０５３００５号に記載されている。該特許には、若年の脊椎彎曲（すなわち、側彎）を、アセチルコリン放出阻害剤、好ましくはボツリヌス毒素Ａで処理することが提案されている。
Ａ型ボツリヌス毒素による斜視の処置は、エルストン、ジェイ・エス（Elston, J. S.）らのブリテッシュ・ジャーナル・オブ・オフサルモロジー（British Journal of Ophthalmology）、１９８５、６９、７１８－７２４および８９１－８９６に記載されている。Ａ型ボツリヌス毒素による眼瞼痙攣の処置は、アデニス、ジェイ・ピー（Adenis, J. P.）らのジュナール・フランセ・ド・オフタルモロジー（J. Fr. Ophthalmol.）、１９９０、１３（５）、２５９－２６４に記載されている。エルストン、ジェイ・エスのアイ（Eye）、１９９０、４（４）：ＶＩＩには、斜視の処置が記載されている。痙性斜頸および口下顎骨ジストニーの処置は、ジャンコビック（Jankovic）らのニューロロジー（Neurology）、１９８７、３７，６１６－６２３に記載されている。
痙性音声障害のＡ型ボツリヌス毒素による処置は、ブリッツァー（Blitzer）らのアナルス・オブ・オトロジー、ライノロジー・アンド・ラリンゴロジー（Ann. Otol. Rhino. Laryngol）、１９８５、９４、５９１－５９４に記載されている。舌ジストニーのＡ型ボツリヌス毒素による処置は、プリン（Brin）らのアドブ・ニューロル（Adv. Neurol.）（１９８７）、５０、５９９－６０８に記載されている。コーヘン（Cohen）らのニューロロジー（１９８７）、３７（補遺１）、１２３－４には、Ａ型ボツリヌス毒素による書痙の処置が記載されている。
ボツリヌス毒素という用語は、嫌気性細菌のボツリヌス菌が産生する毒素群を包括する総称的な名称である。今日までに、免疫学的に異なる７種類の毒素が見出されている。それらには、Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、ＦおよびＧの名称が与えられている。種々のボツリヌス毒素の性質に関する更なる情報は、下記文献から得ることができる：ジャンコビックおよびブリンのザ・ニュー・イングランド・ジャーナル・オブ・メディシン（The New England Journal of Medecine）、第３２４巻、第１７号、１９９０、１１８６－１１９４、並び

にチャールズ・エル・ハザウェイ（Charles L. Hatheway）のボツリヌム・ニュートロキシン・アンド・テタナス・トキシン（Botulinum Neurotoxin and Tetanus Toxin）［エル・エル・シンプソン（L. L. Simpson）編、カリフォルニア州サンディエゴのアカデミック・プレス社（Academic Press Inc.）、１９８９］の第１章。それらの開示を引用により本明細書の一部とする。

ボツリヌス毒素は、既知の方法で、ボツリヌス菌を発酵槽内で増殖させ、次いで発酵混合物を採り、精製することによって、工業的に得ることができる。

神経筋症状の処置に通例用いられるＡ型のボツリヌス毒素は、現在複数の会社から市販されている。例えば、英国のポートン・プロダクツ社（Porton Products Ltd.）から商品名「ディスポート（DYSPORT）」として、およびカリフォルニア州アーヴィン（Irvine）のアラーガン社（Allergan, Inc.）から商品名「ボトックス（BOTOX、商標）」Ａ型ボツリヌス毒素精製複合体として市販されている。

機能亢進した筋肉にボツリヌス毒素を注射すると、その筋肉のみが選択的に機能の低下をきたす。正確な位置への注射は、筋電図法（ＥＭＧ）を使用することによって改善される可能性がある。この方法では、毒素を中空ＥＭＧ電極から注射する。この電極はもともと機能亢進した筋肉、またはその１部の位置を知るために使用されてきた。この技法は、治療成績の改善と副作用の軽減に有効であることが明らかにされている。

注射よって起こる麻痺の程度は、投与する毒素量と筋肉の大きさによって変動し、筋肉が大きくなるほど投与量も増す。発現期は標準的には２日ないし５日で、効果は７－１４日でピークに達する。効果の持続期間は通常約３か月である。筋肉の緊張が再び現れた後でも、筋肉を使用しなかったことによって生じる筋肉のやせ細りによって、さらに多少効果が持続することがある。従って、長期間治療効果を維持するには、通常４か月ないし６か月ごとに注射をくり返す必要がある。治療が不定期にくり返されることもある。

効果の発現が緩慢であることを考慮すれば、ボツリヌス毒素を正確に投与すること、および注射を行う前に正しい位置を決定できることが望ましい。本発明は、そのような手順と、ボツリヌス毒素の投与にあたって好適な神経筋遮断剤の評価と選択、およびそれとは別個に短期間筋弛緩剤に向けられている。

発明の概要

本発明に従えば、ボツリヌス毒素の投与法は、ボツリヌス毒素の筋肉遮断活性よりも活性持続時間が短い、少なくとも１つの神経筋遮断剤を選択する段階を含んでいる。その後で、筋肉群の中から少なくとも１つの筋肉が選択され、そして選択された該遮断剤がその筋肉に筋肉内注射される。波及効果（あるいは流出）（spill-over）が及ぶ筋肉の緊張とバランスを評価するため、筋肉群から選択した筋肉と選択しなかった別の筋肉の両方について筋肉弛緩を観察する。

筋肉の選択が最終的に決まるまで、選択した筋肉の注射と筋肉弛緩の観察とがくり返される。それから、選択したもう１つの筋肉にボツリヌス毒素が筋肉内注射される。このようにして、ボツリヌス毒素を注射する筋肉を見きわめ、そして選択する目的のほか、後に効果発現し、何日も持続するボツリヌス毒素の作用をもたらす正しい注射位置に確実に有効に注射し、それによりボツリヌス毒素の長期作用を向上するために、ボツリヌス毒素より活性持続時間の短い筋肉内遮断剤が使用される。

さらにとりわけ、本発明に従う方法は、ベクロニウムまたはエラブトキシン－ｂまたは両者の組み合わせを使用することができる。

さらにとりわけ、本発明に従う少なくとも１つの軽度の筋肉遮断剤を選択する段階には、実験動物の一群の筋肉を電気パルスで刺激してその筋肉に痙縮を誘発させ、それから該実験動物の筋肉群の中の選択した筋肉に、提案する遮断剤を筋肉内注射する段階が含まれる。

そして、該実験動物の選択し、注射した筋肉の痙縮の軽減の様子と、該実験動物の筋肉群の中で選択しなかった筋肉の痙縮の軽減の様子を観察し、比較することにより、注射した筋肉から選択しなかった筋肉への波及効果が評価される。

本発明は、神経筋の機能を損なう何らかの状態に置かれている患者のための投与法を提供

する。これらの状態は、その患者が過大な反応を示すかもしれないボツリヌス毒素を注射する前に、本発明の手順の下で探り当てることが可能である。

【図面の簡単な説明】

本発明の利点と特徴は、付図を参照しながら考える場合、次に述べる説明によってより良く理解される：

図１は、ヒラメ筋および前脛骨筋における、ベクロニウムを静脈投与（μｇ　ｋｇ$_{-1}$）した結果を示したものである。曲線Ａは、１００秒ごとに迷走神経を刺激（曲線Ｂ）した徐脈を示す。誘発された痙縮：ヒラメ筋（曲線Ｃ）、前脛骨筋（曲線Ｄ）（０．１Ｈｚの周波数で刺激）、および瞬膜（曲線Ｅ）（節前に１００秒ごとに刺激）。

図２は、ヒラメ筋および脛骨筋における、ベクロニウムを静脈投与した場合の代表的な投与量－阻害曲線である。

図３は、図Ａと同様、印を付けた時点で脛骨内側筋にベクロニウムを５０μｇｋｇ^{1}注射したものである。パネル間の間隔は１０分である。

図４は矢印の所で脛骨内側筋腹部の異なる部分にベクロニウム（５０ｍｇ）を速やかに３回注射した場合を示す。曲線Ａ，Ｂ，ＣおよびＤは図１のそれと同様である。

図５は、図４と同様、矢印の所で２００μｇのベクロニウムを３回注射した場合を示す。注射した脛骨筋（ｄ）よりも注射しなかったヒラメ筋（ｃ）の方が、遮断が速やかに現れている。

図６は、エラブトキシン－ｂの筋肉内注射で発現した筋肉遮断を示す。矢印の所で注射した前脛骨筋、曲線Ａと注射しなかった対側位の脛骨内側筋、曲線Ｂを記録した。矢印の所では、０．２ｍｇのエラブトキシン－ｂが注射された。３番目のパネルと４番目のパネルの時間のギャップは６０分である。

図７は、エラブトキシン－ｂに対して、３匹の異なるネコに０．１Ｈｚの周波数で刺激を与えた場合の時間－阻害プロットである。縦軸は対照を規準にした攣縮高さの百分率、横軸は時間（分）を表す。下の曲線は注射した筋肉の遮断を、上の曲線は注射していなかった筋肉の拒絶と攣縮張力を、そして真ん中の曲線は注射していない筋肉の攣縮張力の緩和に対する補正を加えた、注射した筋肉の遮断を表す；

図８は、ベサミコールとリグノカインの両方を筋肉内注射し、両方の前脛骨筋に１Ｈｚの周波数で刺激を加えた結果を示す。薬剤は矢印の所で注射した。曲線Ａはベサミコールを３ｍｇ注射した最初の注射の結果を示し、曲線Ｂは比較のために、リグノカインの２％溶液を０．１ｍｌ注射した場合の効果を示す（この注射はベサミコールの最初の投与の５時間後の実験終了時に行った）。曲線Ｃは最初の投与の２．５時間後に注射したベサミコールの２番目の投与量（３ｍｇ）の効果を表す。曲線Ｃに示された時間のギャップは１５分である。

図９は、エラブトキシン－ｂを筋肉内注射し、両方の脛骨内側筋を１Ｈｚで刺激した結果を示す。上のトレースにおいて矢印の所で０．２ｍｇのエラブトキシン－ｂを筋肉に注射した。その時、記録間のギャップは４５分であり、エラブトキシン－ｂへの曝露の合計時間は４時間であった。

図１０は、図８に示した実験のエラブトキシン－ｂに対する時間／阻害プロットであり、縦軸は対照を基準にした攣縮高さの百分率、横軸は時間（分）を表す。下の曲線は注射した筋肉における阻害を、上の曲線は注射していない筋肉の攣縮張力の緩和を、そして真ん中の曲線は、注射しなかった筋肉の攣縮張力の減少について補正を加えた、注射した筋肉の遮断を表す。

図１１は、エラブトキシン－ｂとベサミコールの組み合わせを筋肉内注射し、１Ｈｚの周波数で刺激した時の、両前脛骨筋の応答を示す。曲線Ａの血圧、曲線Ｂの迷走神経および曲線Ｃの瞬膜の応答もこのプロットに示してある。記録紙の速度は図１－１０の２倍になっており、左側のパネルは矢印の所で０．１ｍｇのエラブトキシン－ｂを注射した場合、２番目のパネルは矢印の所で１ｍｇのベサミコールを注射した場合をす。２回の注射の時間間隔は１６分、第２のパネルと第３のパネルの間の時間は１０分、第３のパネルと第４のパネルの間の時間は１５分である。

図１２は、エラブトキシン－ｂとベサミコールを筋肉内注射したもので、左上のパネルは、筋肉（下側の記録線（トレース）Ｄ）に０．１ｍｇのエラブトキシン－ｂを注射し、１ｍｇのベサミコールを同時に注射したものである。血圧、曲線Ａと迷走神経の応答、曲線Ｂも示してある。右上のパネルは、エラブトキシン－ｂとベサミコールの組み合わせを注射した１時間後に１ｍｇのベサミコールを注射したもので、さらに１ｍｇのベサミコールを１時間おきに注射した（下の左と中央の記録線）。右下のパネルは、最初の注射をし、１ｍｇ、２ｍｇおよび２ｍｇを３回に注射してから、中央下と右下のパネルの間で１．５時間後の遮断を示す。

図１３は、エラブトキシン－ｂとベサミコールの組み合わせで得られた遮断を時間／阻害曲線として定量的に評価するプロットで、縦軸は対照を基準にした攣縮張力の百分率、横軸は時間（分）を表す。曲線は６回の実験の平均値である。０．１ｍｇのエラブトキシン－ｂを１つの脛骨筋に注射した時点を時間ゼロとし、その後２０分と４０分とにそれぞれ１ｍｇのベサミコールを２回注射した。下の曲線は注射した筋肉における攣縮の低下を、上の曲線は食塩水を注射した対照の筋肉における、攣縮の低下を、そして真ん中の曲線は対照の食塩による効果について補正を加えた神経筋の遮断を表す。

図１４は、図１３と同様の時間／阻害プロットを表す。ただ、投与期間を４時間まで延長して表示してある。１５分後からは５匹のネコからのデータが示してあり、点線は、０．２ｍｇのエラブトキシン－ｂを単独投与し、同じ周波数の刺激を加えた１つの実験からのデータを重ねて描いたものである。

詳細な説明

本発明の方法においては広範囲なタンパク質毒素が使用できる。たとえば表１には、そのような局所治療に有効な毒素が、神経筋接合部（ＮＭＪ）に関係する作用部位並びに薬理学的分類と共に収録してある。

特に、ここに提示したいくつかの研究とデータでは、ベクロニウム、エラブトキシン－ｂ、リグノカインといった、ニコチン筋肉タイプ受容体の不可逆遮断剤であるヘビからのタンパク毒素が使われている。一般に、ボツリヌス毒素の神経筋遮断活性より活性の持続期間が短い、たとえば、上述のヘビ毒のような適切な毒素を選択した後、活性持続期間がより短い、選択した毒素を患者の選択した筋肉に注射し、選択した筋肉と選択しなかった別の筋肉の両方について筋肉の弛緩を測定し、波及する筋肉の張力とバランスを調べる。毒素の位置を決定したら、患者を治療するため、現在の技術分野でよく知られている治療処置で使われている量とタイプのボツリヌス毒素が注射される。

本発明は、使用するボツリヌス毒素の量とタイプに向けられているのではなく、むしろ現在の技術水準において有効性が知られている量を正確に患者に投与する方法に向けられている。

後でさらに詳しく論じるが、ゆっくりした１回ショック法および速い１回ショック法、ならびにここに記載する遮断剤の効果を検出するために最も有効であることが認められている速い（１Ｈｚ）１回ショック刺激で起こる断続的な短いテタニーを含め、多くの刺激プロトコルが分析されてきている。エラブトキシン－ｂは、不可逆な競合的ニコチン拮抗物質であるのに対して、ベサミコールは小胞アセチルコリン貯蔵阻害剤である。

表１

化合物	ＮＭＪに対する作用部位	薬理学的分類
アセチルコリンエステラーゼ誘導物質	シナプス	アセチルコリンエステラーゼ誘導物質
アコニチン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル活性化因子
アデノレグリン（カエルPhyllomedeusa bicolorから分離）	シナプス前部	アデノシン受容体調節物質
アデノシン作用薬	シナプス前部およびシナプス後部	アデノシン
アデノシン拮抗薬	シナプス前部およびシナプス後部	アデノシン
アデノシン調節物質	シナプス前部およびシナプス後部	アデノシン
アドレナリン作用薬	シナプス前部	α－アドレナリン作用薬
アナトキシン－Ａ	シナプス後部	アセチルコリン受容体作用薬
抗てんかん薬	中枢神経	抗てんかん薬
アンチセンス	シナプス前部およびシナプス後部	神経伝達物質の放出、受容体の生産に重要な特異的タンパク質またはメッセージに関するアンチセンス技術

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
抗不安剤	中枢神経	抗不安剤 抗てんかん薬
アタクリウム	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋弛緩剤
アタクリウムベシレート（トラクリウムか？）	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋弛緩剤
バクロフェン (Lioresall®、Geigy；Intrathecal、Medtronic Neurological；一般名、Athena、Biocraft、Warner Chilcott)	シナプス前部	γ－アミノ酪酸アナローグ
細菌、植物、真菌産生物		
バトラコトキシン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル活性因子
ベンジルピペリジン類	シナプス間隙	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤（非在来型）
植物性神経毒	シナプス前部、シナプス後部、シナプス間隙	さまざま

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
ブンガロトキシン－β（β－BuTX）	シナプス前部	PLA2および電圧感受性カリウムチャンネル遮断薬 Bungarus multicinctus由来のヘビ毒
ブピバカイン	シナプス前部およびシナプス後部	局部麻酔薬、ミオトキシン
カプトプリル (Capoten®、スクイブ；Capzide®、スクイブ)	シナプス前部	抗高血圧薬 アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 亜鉛エンドペプチダーゼ阻害剤
コリンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤	シナプス前部	コリンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤
コリンエステラーゼ阻害剤	シナプス間隙	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤
シグアトキシン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル
コノトキシンMI（α－コノトキシン）	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬
コノトキシン－μ GIIIA（mu－CT）		ナトリウムチャンネル遮断薬

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
コノトキシン－Ω GVIA（Ω－CT）		ニューロンのカルシウムチャンネル遮断薬
クラーレ	シナプス後部	非脱分極性アセチルコリン受容体拮抗薬
ダントロレンナトリウム（Dantrium、P&G）	シナプス後部	骨格筋弛緩剤
ダウリシン	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬
臭化デカメトニウム	シナプス前部	節遮断薬
デンドロトキシン	シナプス前部およびシナプス後部	カリウムチャンネル遮断薬
ジアミノピリジン（3－4 DAP）	シナプス前部	ボツリヌス毒素解毒拮抗
ジアゼパム	中枢神経	抗不安剤
塩化ドキサクリウム (Neuromax®、Burroughs Wellcome)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋肉弛緩剤
ドキソルビシン (Andriamyocin、Andria；Rubex、Immunex；Cetus、Oncology)	シナプス後部	ミオトキシン（化学的部分的筋切除）

化合物	ＮＭＪに対する作用部位	薬理学的分類
エピバチジン二塩酸塩	シナプス後部	アセチルコリン受容体作用薬
フェルバメート(Felbatol、Carter-WallaceからSchering-Ploughへライセンス供与)	シナプス前部、中枢神経	抗てんかん薬
フォロキシミチン	シナプス前部	アンギオテンシンＩ変換酵素阻害剤
ガバペンチン(Neurontin、Parke-Davis)	シナプス前部、中枢神経	抗てんかん薬 γ－アミノ酪酸アナローグ
ガラミン	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬
グラヤントキシン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル活性因子
ヘキサヒドロアゼピニルアセタミドおよびその他のタイプの化学物質	シナプス前部	アセチルコリン放出因子
フペルジン　Ａ	シナプス間隙	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤
昆虫毒		

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
イオンチャンネル遮断薬	シナプス前部およびシナプス後部	チャンネル遮断薬
イオンチャンネル刺激薬	シナプス前部およびシナプス後部	チャンネル刺激薬
ラトロトキシンーα	シナプス前部	カルシウムイオノフォア クロゴケグモ毒の成分
リドカイン、プロカイン、メピバカインなど	シナプス前部	局部麻酔薬
リノピルジン (DuP 996、Dupont Merck)	シナプス前部	アセチルコリン放出因子エンハンサー
ロホトキシンとそのアナローグ	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 不可逆
海洋天然物質		
メトカルバモール (Robaxin、Robins Co.)		中枢神経抑圧、筋弛緩剤
メチルリカコニチン		
塩化ミバクリウム (Mivacron®、BW-BW1090U、Burroughs Wellcome)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋弛緩薬
クロストリジウム毒素修飾物質	シナプス前部	アセチルコリン放出阻害剤

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
NMJ成分に対するモノクロナル抗体		受容体、agrin、神経伝達物質、原形質膜成分、不活性化酵素など
ムスカリン作用薬および拮抗薬	シナプス前部、シナプス後部、中枢神経	ムスカリン作用薬、拮抗薬
ネオサキシトキシン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル遮断薬
ネオスルガトキシン		自律神経節アセチスルコリン受容体遮断薬（神経筋接合部に無作用）
神経筋遮断薬	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 アセチルコリン受容体脱分極性
爬虫類、昆虫、その他に由来する神経毒	シナプス前部、シナプス後部およびシナプス間隙	さまざま
臭化パンクロニウム(Organon)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋弛緩剤
パンクロニウム－３－ＯＨ代謝物(Organon)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋弛緩剤
パパベリン塩酸塩(30mg/ml)		平滑筋弛緩剤
フィソスチグミンとそのアナローグ	シナプス間隙	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤
ピペルクロニウム(Arduan、Organon)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋肉弛緩剤
シナプス前部神経末端受容体	シナプス前部	あらゆる神経末端ニューロン内受容体またはニューロン外受容体

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
ショートニューロトキシンアルファ	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬
β－ブンガロトキシン（β－ＢｕＴＸ）	シナプス前部	Bungarus multicinctusからのヘビ毒
塩化スクシニルコリン(Anectine、Burroughs Wellcome)	シナプス後部	アセチルコリン受容体作用薬 脱分極性骨格筋弛緩薬
破傷風毒素	シナプス前部	必須アミノ酸放出阻害剤
破傷風毒素輸送体	シナプス前部	
テトラヒドロアミノアクリジン（ＴＨＡ）	シナプス間隙	アセチルコリンエステラーゼ阻害剤
テトロドトキシン	シナプス前部およびシナプス後部	ナトリウムチャンネル遮断薬
Tiagabine(Novo Nordisk)	中枢神経	抗てんかん薬 γ－アミノ酪酸吸収阻害剤
トランスグルタミナーゼ阻害剤または誘導防止	シナプス前部およびシナプス後部	酵素
バリウム		ジアゼパム 中枢神経抗不安剤
ベクロニウム(Norcuron、Organon)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋肉弛緩剤
ベクロニウム－３－ＯＨ代謝物(Organon)	シナプス後部	アセチルコリン受容体拮抗薬 非脱分極性筋肉弛緩剤
ベラトリジン	シナプス前部	ナトリウムチャンネル活性因子

化合物	NMJに対する作用部位	薬理学的分類
ビガバトリン(Sabril、Marion Merrell Dow)	シナプス前部 中枢神経	抗てんかん薬 γ－アミノ酪酸代謝阻害剤 （不可逆性）
ベサミコールおよび同じ作用機構を持つその他の薬物	シナプス前部	アセチルコリン小胞輸送体阻害剤
ボツリヌス毒素または破傷風毒素輸送体で運ばれる亜鉛エンドペプチダーゼおよびその他のプロテアーゼ	シナプス前部	酵素 神経伝達物質の放出を低下させる

方法

実験は、α－クロラロース（８０ｍｇ　ｋｇ$^{-1}$）とペントバルビトン=ナトリウム塩（５ｍｇ　ｋｇ$^{-1}$）の混合物を腹腔内に注射することにより麻酔させた雌雄いずれかのネコを使用して行った。動物は、１回の呼吸量を１３ｍｌ　ｋｇ$^{-1}$とし、１分間に２６回の呼吸

数で室内空気を呼吸させた。左右の後肢は、足首と膝の関節に挿入したドリルによって固定した。坐骨神経を刺激した時の前脛骨筋とヒラメ筋の収縮応答を記録した。坐骨神経の刺激は、持続時間が０．２ｍｓで、最大の攣縮を起こすのに必要な強度よりも強い矩形波パルスを使用し、０．１Ｈｚ－２００Ｈｚの周波数で行った。動脈の血圧は、Ｓｔａｔｈａｍ　ＰＣ４５型圧力変換器を使用し、頸動脈の血圧を記録した。心拍数を表示するカルジオタコグラフを始動させるには、血圧パルスを使用した。いくつかの実験では、両方の迷走神経を結紮し、１００ｓの間隔を置いて、周波数が２－５Ｈｚ、および持続時間が０．５ｍｓで、心拍数が最も大きく低下するよりも強い強度のパルスで１０ｓずつ右迷走神経を刺激した。頸部の交感神経の節前を、５Ｈｚの周波数で１０ｓずつ、瞬膜を最も強く収縮する刺激を加えて、１００ｓごとに瞬膜の収縮を引き起こした。筋肉の収縮応答はＧｒａｓｓ　ＦＴ０３Ｃ型およびＦＴ１０Ｃ型力変位変換器を用いて記録した。すべての応答はＧｒａｓｓ　ｍｏｄｅｌ　５インク記録式オッシログラフで表示した。

結果と考察

静脈経路と筋肉内経路による可逆的競合阻害剤の効果

最初の実験は、静脈経路と筋肉内経路による可逆的競合神経筋遮断薬の効力を比較する目的で計画された。静脈内投与の場合（図１および図２）、ベクロニウムを１時間間隔でボーラス注射した。ヒラメ筋に対するＥＤ５０は３６±９μｇ　ｋｇ$^{-1}$（ｎ＝５）、前脛骨筋に対しては４０±７μｇ　ｋｇ$^{-1}$（ｎ＝５）であった。これらの値は、これらの調剤について以前に当研究室で得た値とよく一致している。

坐骨神経を通して０．１Ｈｚで刺激を加えられている前脛骨筋腹部の中心にベクロニウムを筋肉内注射した。脛骨筋における局部効果を、同じ側のヒラメ筋に対する全身的効果と比較した。筋肉内投与によるベクロニウムの効果は小さい上に変動しやすく、投与量との間に明確な関係は認められなかった。筋肉の異なる場所への注射、すなわち１匹のネコの違う場所にほぼ同時に３回注射して、より効果的な遮断が得られないか検討した。しかしこれらの実験はいずれも成功しなかった。筋肉への神経供給を調べた結果、この大きな筋肉塊の異なる部分への神経支配の散在的な性格が明らかになった。

ベクロニウムを２０ないし１００μｇの投与量で筋肉内注射すると、脛骨筋の攣縮高さ約２５％の最大の遮断が得られた。遮断は長時間（数時間）持続し、対照の水準に対して回復はほとんど、または全く見られなかった（図３）。最も低い水準（５％）の遮断における最も速い回復でもその回復時間は１時間であった。これは静脈注射した後の脛骨筋に対するベクロニウムの全作用持続時間である１０－１５分に匹敵する（図１）。

筋肉内注射した部位から全身体的な循環へのベクロニウムの波及は、一般的な坐骨神経電極で刺激を加えた、同じ側にあるヒラメ筋の応答によって評価した。神経筋の遮断と同様、波及も一定しなかったが、明らかに投与量との関係が認められた。すなわち、投与量が少ない場合（２０－５０μｇ）、実質上波及効果は見られなかった（図３）。１００μｇのベクロニウムを筋肉内注射した１つの実験で、注射した筋肉部位に最も持続時間の長い２５％の遮断が認められた。ヒラメ筋では、６０％の遮断が得られ、効果は８分後にピークに達し、２５分後には消失した。ベクロニウムを短時間に次々３回（１回当たり５０μｇ）注射した別の実験では、注射しなかった脛骨筋に、より大きな遮断が見られた（図４）。

２００μｇのベクロニウムを連続的に３回、合計６００μｇ（ネコの総体重から計算すると２００μｇ　ｋｇ$^{-1}$；前脛骨筋の重量が約５ｇであったことから計算すると１２０ｍｇ　ｋｇ$^{-1}$）を脛骨筋に筋肉内注射した１つの実験で最も極端な波及の例が観察された。このネコでは、脛骨筋に最大６０％の遮断が観察され、ヒラメ筋に完全な遮断が認められた（図５）。これは同じネコに静脈注射したベクロニウムの効果と一致した。脛骨筋に対する遮断は、ヒラメ筋に対する遮断より遅れて現れ、筋肉の遮断は、脛骨筋では２０分、ヒラメ筋では３０分で消失し始めた。１度に大量に投与した場合、得られる遮断が比較的小さく持続時間が比較的短いことは、観察される遮断が局部的な効果というより静脈循環への流出による可能性が高いとしても、注射された量の実質的部分は注射した筋肉内の貯蔵所に保持されているにちがいないことを示唆している。

筋肉内経路によるヘビα－トキシンの効果

接合部後方に活性な２種類のヘビ毒α－ニューロトキシン、すなわち、Laticauda semifasciataから誘導される比較的短鎖の毒素、エラブトキシン－ｂとNaja naja siamensisから誘導されるより長鎖の毒素（トキシン－３）を使用した。ヘビ毒α－トキシンを使ったこれらの実験では、両前脛骨筋、すなわち、注射された筋肉と、波及を評価するための対照の役をする対側筋肉からの応答を記録した。

siamensisのトキシン－３を使って２つの実験を行った。その１つでは、トキシンの最初の注射で、注射した筋肉に弱い遮断が現れ、注射されていない対側位の脛骨筋にもわずかな遮断が観察され、全身的な循環への波及に関するある程度の証拠が確認された。さらに注射すると波及の証拠がはっきり現れた。第２の実験で、siamensisのトキシン－３は、筋肉の異なった場所に筋肉内注射をくり返しても測定できる効果は全く発現しなかった。エラブトキシン－ｂの筋肉内注射は、試験した薬剤の中で最も良い結果をおさめた。ほとんどの実験は、この毒素単独か、ベサミコールとの組み合わせで行った（後述参照）。

エラブトキシン－ｂ単独での実験では毒素を０．２ｍｇを注射した。刺激の周波数は０．１Ｈｚとした。４回の実験で、注射した筋肉のエラブトキシン－ｂによる遮断の発現は、きわめて遅かった（図６および７）。対側位の脛骨筋に遮断の徴候は認められず、全身的な循環への有意な波及はないことが確認された。達成された神経筋の遮断の最高レベルは２５％ないし６０％の遮断であった。遮断は１．５－２時間で最高レベルに達し、その後は安定に推移した。３匹のネコについて、注射後４時間にわたって遮断をモニタした。その結果、１匹のみがわずかに回復し、残りの２匹は、安定した状態からの回復の兆しが認められなかった。

注射後４時間経過しても注射した筋肉に回復が見られなかった１匹のネコにおいて、全身的な循環への波及はないことが確認された。このネコで対側位の筋肉に０．２ｍｇのエラブトキシン－ｂを筋肉内注射した。遮断の発現速度は、４時間前に注射した筋肉に見られるものと同様であった。このことは、エラブトキシン－ｂが全身的な循環に準遮断濃度で存在していなかったこと、すなわち伝達の安全係数が低下していなかったことを示唆した。

以前、同じ前脛骨筋にエラブトキシン－ｂの注射を２回受けた１匹のネコを使い、静脈内エラブトキシン－ｂの効果を試験した。エラブトキシン－ｂ（０．２ｍｇ　ｉ．ｖ）は、以前に部分的に遮断された注射筋肉にも、また影響を受けていない対側位の筋肉にも測定できるほどの効果を示さなかった。０．５ｍｇのエラブトキシン－ｂを静脈内注射すると、両方の筋肉に５分間ほど完全な遮断が現れた。

ヘビ毒α－トキシンは神経筋の結合部におけるアセチルコリン受容体に対して非常に大きな特異性を示す。それゆえ、自律神経の刺激に対する組織の応答に対してこの毒素に帰属できる効果が認められなかったことは、驚くに当たらない。全身的な循環への波及が認められないことも、自律神経に関係する作用の欠如に寄与する因子ではないかと予想される。

全体として見れば、エラブトキシン－ｂの効果は、注射に対して一貫した効果を持ち、発現される遮断の持続時間が長いという点で、有望であった。法的な面を考えると、ここに報告した４時間を超えて、さらに遮断を追跡することは不可能であった。波及効果がないということは、筋肉自体の内部の部位に毒素が純粋に結合するか、または血液の流れに入ったかもしれない少量のペプチドを破壊することによるのかもしれない。

筋肉内のルートによるアセチルコリン貯蔵阻害剤の効果

コリンシナプシス小胞体によるアセチルコリンの貯蔵を阻害するベサミコール（２－［４－フェニルピペリジノ］シクロヘキサノール）を使用することの理論的根拠は、この化合物の作用が周波数に対して依存性が極めて大きい点にある。すなわち、ベサミコール存在下の速い刺激によって、貯蔵されたアセチルコリンが消費され、刺激がうまく伝わらなくなってしまう。しかし、留意しておかなければならないのは、ベサミコールが、報告されているいくつかのｉｎ　ｖｉｖｏ実験において比較的高い投与量で、接合部の後ろでの遮断や局部麻酔といったいくつか別の効果も有しているということである。ここにあげた２

つの効果は関連しているかもしれない。
ベサミコールを使った実験では、両肢の前脛骨筋に１Ｈｚの刺激を加えた。この刺激パターンの下では薬剤不存在下で、攣縮張力が安定するのにかなりの時間がかかる。それゆえ、記録を取り初めてから薬剤を注射するまでに約１時間の時間を置いた。この刺激プロトコルは後の実験で使用された。
ベサミコール（３ｍｇ）を筋肉内注射すると、直ちに、注射した筋肉に効果が現れ、対側位の筋肉には何の影響も認められなかった（図８）。最初の注射で約５０％の遮断が発現し、約１０分から１５分で完全に回復した。効果が現れるのが極めて速いことと作用の持続時間が短いことは、両者とも、アセチルコリンの貯蔵に対するベサミコールの知られている効果と一致しない。最初の注射から攣縮高さが完全に回復したのち２時間が経過してから、以前に注射した筋肉に２回目の注射を実施した。２回目の注射では、開始と相殺性の２相の遮断効果が現れた（図８）。注射をして最初に現れる効果は迅速で、初回の投与で現れる効果に類似していた。しかし迅速なこの開始段階の後には、普通にはアセチルコリンの代謝の阻害に関連するタイプのゆっくりした遮断が続いた。１００％の遮断が達成された。３０分後には回復が徐々に始まり、その後急速に回復した。効果の持続時間は合わせて１．２５ないし１．５時間であった。前にベサミコールを注射した筋肉に２回目のベサミコールを注射して現れる、長時間続く遮断には波及効果は見られなかった。
ベサミコールの２相効果は、複数の機構が関与していることを示唆している。一つの可能性は、ベサミコールの局所麻酔効果が、迅速な効果の発現と比較的短い持続時間に関わっているということであった。この可能性は、リグノカインの筋肉内注射によって確証された。
ベサミコールの初回の注射と同様に、リグノカイン（２ｍｇ）も波及効果を伴わないで、迅速かつ持続時間が比較的短い遮断を示した（図８）。神経筋に対する２次的なゆっくりした遮断の開始は見られなかった。従って、ベサミコールによって現れた、より長く続く２次的な神経筋の遮断は、アセチルコリンの貯蔵に対するベサミコールの作用の現れである可能性が高いと結論される。最初の注射で２次的な遅い遮断が見られないことは、この投与量では、アセチルコリンの放出レベルが、終板の電位が全線維における筋肉作用電位の引き金を引くのに必要な閾値以下に下がらなかったことを示している。
筋肉内注射によってもたらされる神経筋の遮断に対する刺激周波数の変化の影響
筋肉内注射に対する理論的根拠は、急速に興奮しつつある筋肉に特異的に作用することであるという事実を前提として、単一ショックの連続的な刺激ではなく、短い断続的な強縮性の刺激を使用して少数の実験を実施した。すなわち、迷走神経に対して２００Ｈｚの刺激を、１０秒ごとに１５０ｍｓ間、加えた。この刺激パターンに対して、エラブトキシン－ｂ（０．２ｍｇ）の効果はほとんど認められなかった。それゆえ、このタイプの刺激は、０．１または１Ｈｚの単一ショック刺激以上の利点はないものと考えた。強縮性の刺激プロトコルに利点が無いことは、ベクロニウムを静脈内注射した１つの実験で確認された。この実験では、０．１Ｈｚの連続的な刺激を加えた場合と２００Ｈｚの断続的な強縮性の刺激を加えた場合とで、ベクロニウムに対する前脛骨筋の感受性に違いがほとんどなかった。
エラブトキシン－ｂと強縮性の刺激による結果は、全く予想外なことではなかった。可逆的な競合的ニコチン拮抗薬は顕著な強縮の減衰をもたらしたが、ヘビ毒α－トキシンを使用した、少なくともｉｎ　ｖｉｔｒｏでの実験ではこのような現象は通例見られない。前に述べたように、１Ｈｚの刺激周期でベサミコールの作用が現れることは知られている。しかし、エラブドトキシン－ｂを用いた先のすべての実験は、０．１Ｈｚで行ったものであった。そこで、１Ｈｚでトキシンの効果を見るために１つの実験を行った。この実験で、エラブトキシン－ｂ（０．２ｍｇを筋肉内注射）は１００分間曝露した後、約５０％の遮断をもたらした（図９および１０）。これは、０．１Ｈｚで行った実験で観察された３０－４０％の遮断（ｎ＝３）と肩を並べる。
従って、１Ｈｚの刺激は、エラブトキシン－ｂとベサミコールの両方の効果を検出するのに適していると結論される。そこで、以降の実験は１Ｈｚの連続的な刺激で行った。

エラブトキシン－ｂとベサミコールとの組み合わせの効果

エラブトキシン－ｂは、ベサミコールと比較して持続時間が長い一方で、遮断の現れる速さが遅いこと、それに対してベサミコールは、遮断の発現がエラブトキシン－ｂより速いこと、そして両薬物の作用部位は異なっているということを前提として、これら２つの組み合わせを考えた。

３つの試験的な実験を行った。２つは１Ｈｚ、１つは０．１Ｈｚで行った。最初の実験では１Ｈｚで、エラブトキシン－ｂを０．１ｍｇ、すなわち、エラブトキシン－ｂ単独で行った前の実験で使用した投与量の半分を注射した。注射した筋肉にはごく弱い遮断効果しか見られなかった（図１１）。エラブトキシン－ｂを注射してから２０分後にベサミコール（１ｍｇ）を注射すると、攣縮張力が８０－９０％低下した（図１１）。遮断効果は、３０分間平坦な状態（プラトー）で推移し、その後回復した（図１１）。ベサミコール（１ｍｇ）の２回目の注射でもほとんど同じ効果が現れた。これらの薬物の全身的な循環への波及は観察されなかった。この実験で見られた、神経筋の遮断が平坦に推移する段階は興味深い。この平坦期における攣縮張力は驚くほど一定であった。応答は、一貫性の点で最大の攣縮と似ている。攣縮維持が、脛骨筋自身からではなく、同じ筋肉群の、注射をしなかった筋肉の１つ、たとえば長母趾屈筋から生じたのではないかという仮定を検査するのに、直ちに明らかになるという方法はなかったが、開始段階が急に平坦になって平坦期に達し、それからほぼ同じように、平坦期から急速に回復に向かうという、遮断の経時的な特徴はこの憶測を支持した。従って、エラブトキシン－ｂで前処理すると、すぐ近接する筋肉が影響を受けないまま、ベサミコールが脛骨筋自体の完全な遮断を引き起こしているのではないかと考えられる。

残る２つの試験的な実験は、エラブトキシン－ｂとベサミコールを同時に注射して行った。最初の実験では、０．１Ｈｚですぐに遮断が始まったが、波及効果は見られなかった。その後、数時間にわたってゆっくりと遮断が深まっていった。２回目のベサミコールの注射では、遮断はわずかに強まったが、その後の注射では効果は見られなかった。

最後の試験的な実験では、２つの薬物を同時に注射するとゆっくりした遮断の開始が見られた（図１２）。それに続くベサミコールの「上積み」注射では付加的な遮断が比較的ゆっくり始まった（効果が最大になるまでに７分）。この付加的遮断は、局部麻酔作用よりむしろアセチルコリンの輸送に対する効果と合致した。この実験で、ベサミコールを上積み投与すると上述の「高原効果」が再び観察され、大きな遮断が加わった。

これらの試験的な実験に基づき、ネコを使って組み合わせ投与による効果を定量的に評価した。これらの実験では両方の前脛骨筋を１Ｈｚで刺激した。一方の筋肉は薬物の筋肉内注射に対して使用し、もう一方の筋肉は同じ体積の食塩水の同時対照として使用した。攣縮が安定してからエラブトキシン－ｂ（０．１ｍｇ）を注射し、それを時間ゼロとした。引き続いて２回、２０分と４０分にベサミコール（１ｍｇ）を注射した。発現する遮断は４時間にわたって観察した。７５分後に一匹のネコが死亡したため、その後の結果は５匹のネコからのものである。結果は、薬物を注射した筋肉について、対照を基準にした百分率で低下率を表示し、さらに食塩水を注射した筋肉の張力の補正を加えた。

エラブトキシン－ｂを投与した後、最初の８０分間は２分間隔、それ以降は２０分間隔で応答を測定した。結果はグラフの形で表した。

これらの実験において、エラブトキシン－ｂは、注射するとすぐに攣縮張力が１０％低下した。その後、注射した筋肉では非常にゆっくりと遮断が深まり、２０分後に約１５％に達した（図１３および１４）。最初のベサミコールの注射によって遮断は４０％まで急速に深まり、その後の１０分間では４５％まで徐々に強まっていった。その後はゆっくりと回復に向かった。遮断がほぼ４０％まで戻った時に、ベサミコールの２回目の注射を実施した。この２回目の注射は、１回目と比較して遮断の起こりかたがそれほど急速ではなく、回復が始まる前、１０分間の遮断は５５％であった。ベサミコールの効果からの回復は、多分、エラブトキシンの効果が時間の経過とともに増したことによるものと思われる全体的な遮断が再発現する前に、さらに２０分間進行した。その後、遮断は注射した筋肉でさらに３時間深まり続けた。

注射した筋肉の応答に対して、食塩を注射した対照の筋肉の極めて緩慢な張力低下の効果を補正すると、上述の結果と本質的に類似のパターンが現れた（図１３および１４）。しかし、ベサミコールの効果が見かけ上消失した７０－８０分後に見られる遮断は、補正後は、極めてゆっくりした形でしか発現していないことがわかる（２．５－３時間の間で１０％より少ない）。

説明したネコの麻酔モデルは、上で述べたボツリヌス毒素の投与に適する薬物を、筋肉内に注射することによって引き起こされる神経筋の遮断を研究する上で、有用なシステムであるように思われる。このモデルは、可逆的な競合的神経筋遮断薬（たとえばベクロニウム）の局所注射が投与量に無関係な小さな効果をもたらすことを立証するために使用されている。これら薬物をより多い用量で注射すると、全身的循環への化合物の波及が起こるようである。

それに対して、不可逆的な競合的ニコチン拮抗薬であるエラブトキシン－ｂの筋肉内注射は、全身的な循環への波及を伴わないで、緩慢かつ効果が持続する神経筋の遮断をもたらした。

結論として、アセチルコリンの小胞体貯蔵を阻害するベサミコールを局所注射すると、神経筋の遮断の発現は速いが、持続時間は短かった。エラブトキシン－ｂとベサミコールを同時に局所注射した場合には、波及効果を伴わないで神経筋に対して大きな遮断効果を示した。ベサミコールは、エラブトキシン－ｂによる神経筋の遮断を増進するが、効果の持続時間は依然としてかなり短く、同時の注射では、後続するエラブトキシン－ｂによる持続的な神経筋の遮断には影響を及ぼさないように思われた。時間の単位で測定したエラブトキシン－ｂによる「長期」の遮断は、上で述べたように週の単位で測定した時の、ボツリヌス毒素の効果と比較して実際は短い。

本発明の利点を活用する方法を説明するために、本発明に従った、ボツリヌス毒素を投与する特別な方法、およびそのような投与に適した神経筋遮断薬の選択について述べてきたが、本発明がそれらに限定されるものでないことを認識すべきである。従って、当業者によって行われるかもしれない、いかなる、そしてすべての改変や変更、または等価な置き換えも、以下に添付する特許の請求範囲に明記される本発明の範囲に入るものと考えるべきである。

【図１Ａ】



FIG. 1A.

【図１Ｂ】

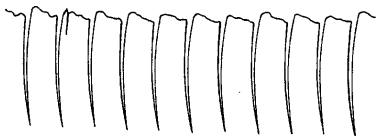


FIG. 1B.

【図１Ｃ】

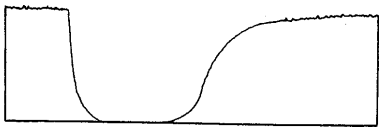


FIG. 1C.

【図１Ｄ】



FIG. 1D.

【図１Ｅ】

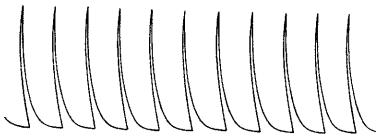


FIG. 1E.

【図２】

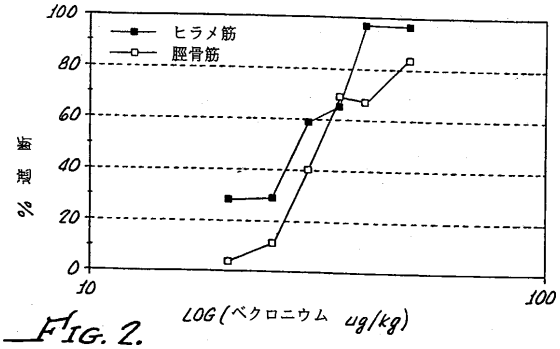


FIG. 2.

【図７】

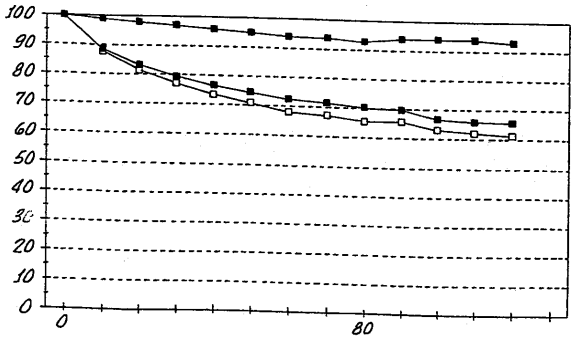


FIG. 7.

【図３Ａ】

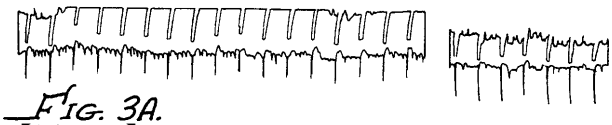


FIG. 3A.

【図３Ｂ】

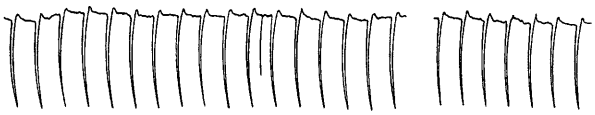


FIG. 3B.

【図３Ｃ】

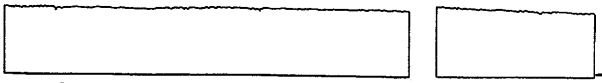


FIG. 3C.

【図３Ｄ】

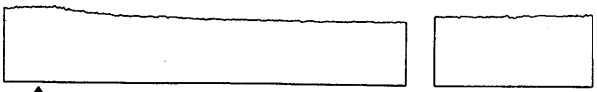


FIG. 3D.

【図３Ｅ】

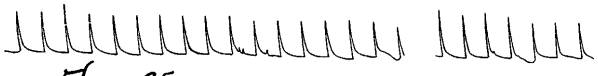


FIG. 3E.

【図４Ａ】

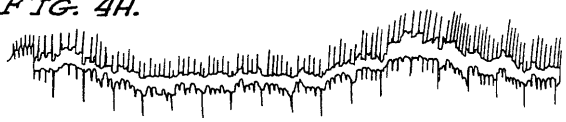


FIG. 4A.

【図４Ｂ】

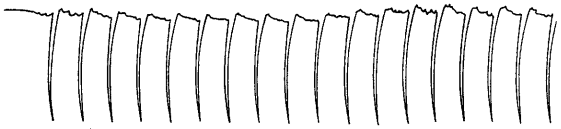


FIG. 4B.

【図４Ｃ】

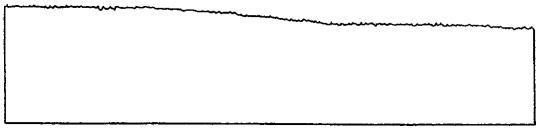


FIG. 4C.

【図４Ｄ】

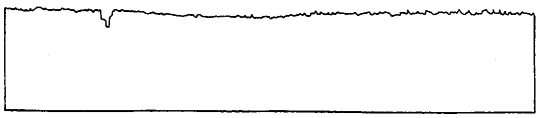


FIG. 4D.

【図５Ａ】



FIG. 5A.

【図５Ｂ】

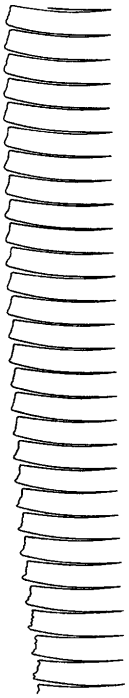


FIG. 5B.

【図５Ｃ】



FIG. 5C.

【図５Ｄ】

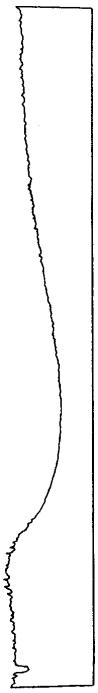


FIG. 5D.

【図６Ａ】

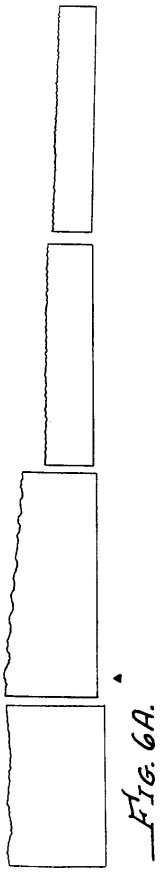


FIG. 6A.

【図６Ｂ】

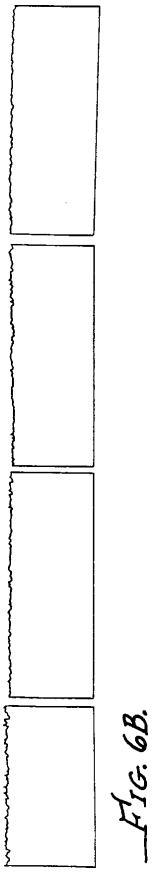
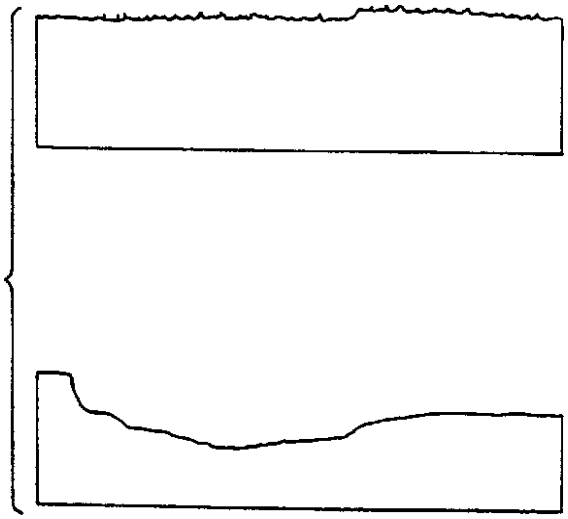


FIG. 6B.

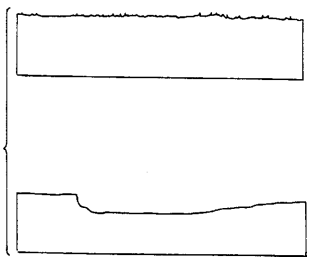
【図８Ａ】

FIG. 8A.



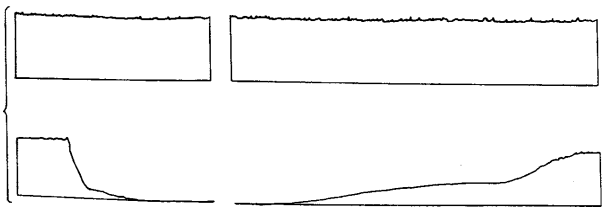
【図８Ｂ】

FIG. 8B.



【図８Ｃ】

FIG. 8C.



【図９】

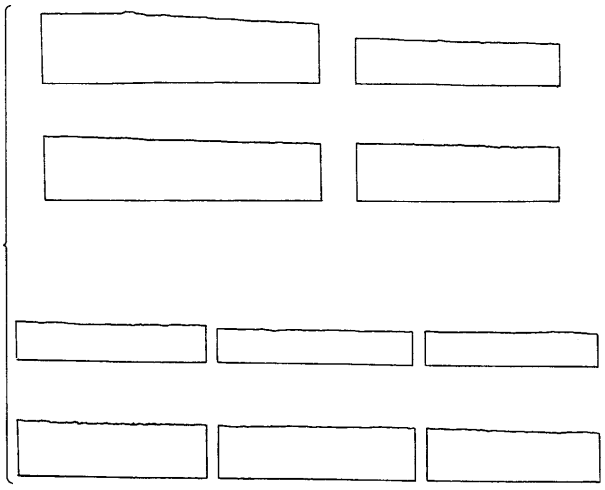


FIG. 9.

【図１０】

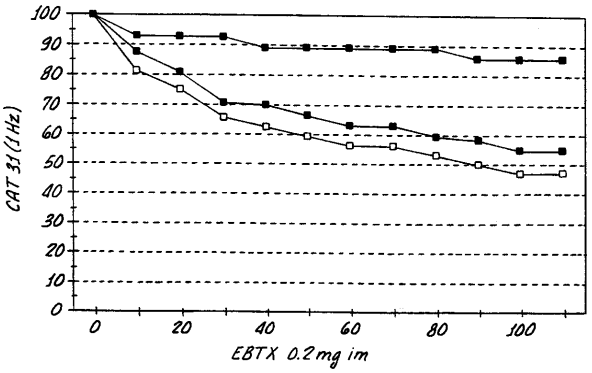


FIG. 10.

【図１１Ａ】



FIG. 11A.

【図１１Ｂ】



FIG. 11B.

【図１１Ｃ】

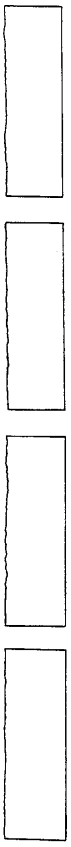


FIG. 11C.

【図１１Ｄ】

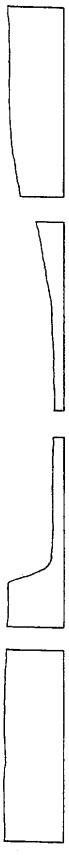


FIG. 11D.

【図１１Ｅ】



FIG. 11E.

【図１２】

FIG. 12A.



FIG. 12B.



FIG. 12C.



FIG. 12D.

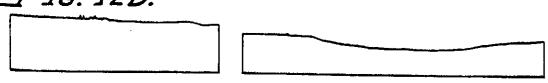


FIG. 12A.

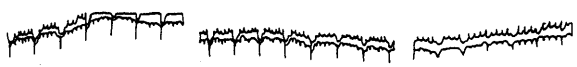


FIG. 12B.

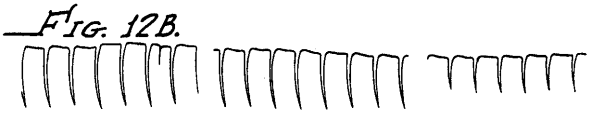


FIG. 12C.

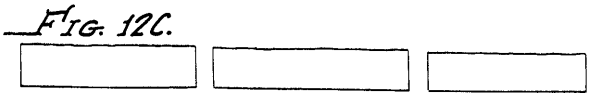
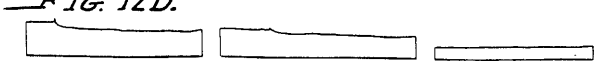


FIG. 12D.



【図１３】

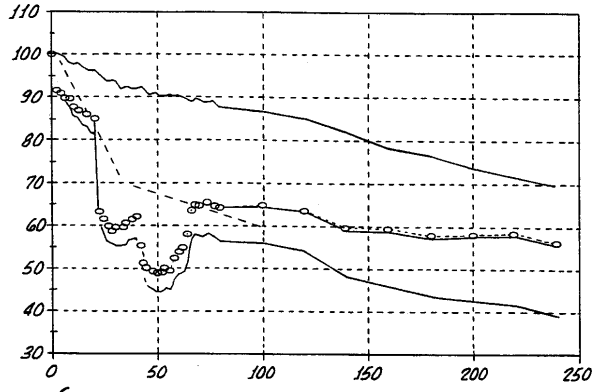


FIG. 13.

【図１４】

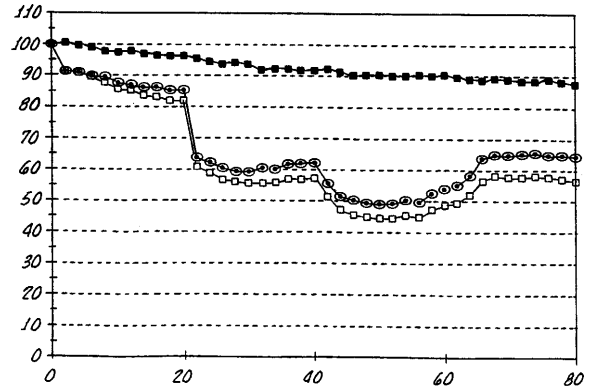


FIG. 14.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI	
Ａ６１Ｋ	***39/395***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/395
Ａ６１Ｋ	***45/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	45/00
Ａ６１Ｐ	***39/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	39/00
Ａ６１Ｐ	***43/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00

(74)代理人 100126778
弁理士 品川 永敏
(72)発明者 アオキ，ケイ・ロジャー
アメリカ合衆国９２６５３カリフォルニア州 ラグナ・ヒルズ、イアハート・ロード２５４７２番
(72)発明者 ウィーラー，ラリー・エイ
アメリカ合衆国９２７１５カリフォルニア州 アーヴィン、バレー・ビュー１８番
(72)発明者 ガースト，マイケル・イー
アメリカ合衆国９２６６０カリフォルニア州 ニューポート・ビーチ、ラケタ２６２７番

審査官 渡辺 仁

(56)参考文献 特開平０１－２５９８４１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第９５／０３０４３１（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)

A61P 39/00
A61K 31/00
A61K 31/56
A61K 35/64
A61K 36/00
A61K 38/43
A61K 39/395
A61K 45/00
A61P 43/00