J-PlatPat
ログイン
文献検索
文献番号
WO-A1-2007/086587
文献検索結果の詳細表示
クリップに追加
PDFを表示
一件目表示

[文献情報] 公開番号 WO2007086587
[公開年月日] 2007/08/02
[国際出願番号] PCT/JP2006/300966
[出願番号] JP2005/375130
[出願日] 2005/12/26
[国際特許分類(IPC)] A61K31/192
[国際特許分類(IPC)] A61K31/194
[国際特許分類(IPC)] A61K31/ 7
[出願人] 大日本住友製薬株式会社
[発明者] 大橋 俊一
[発明者] 大橋 俊一
[発明者] 大日本住友製薬株式会社
[発明者] 大日本住友製薬株式会社
[発明者] 大日本住友製薬株式会社

て分布している。 プルキンェ細胞層では標識顆 粒が特に密集し、 不明瞭ではあるが細胞体の輪郭を観察することができる。 HR P標本の不明瞭さを補足する目的で隣接切片に対して CTB免疫組織化学を施行 した。 図 4は、 その顕微鏡写真である。 CTB標識顆粒は分子層からプルキンェ 細胞層に局在し、プルキンェ細胞層の細胞像をより明瞭に表している。すなわち、 小脳のプルキンェ細胞層へも HR Pが活性を失うことなく運ばれたことが示され た。

本実施例では、 実際に CTBに結合された HRPが小脳プルキンェ細胞層や縫 線核に活性を失うことなく運ばれることが証明された。 HR Pは単独でも神経細 胞に取り込まれ輸送されて細胞内に蓄積されるが、 微量の注射では、 標識が出現 する程度の取込みは確認されていない （本発明者による対照実験の結果。 データ は示さない）。 よって、 この実験で出現した HR P標識活性は、 CTBによって標 的化された HR Pによるものである。 この実験により、 CTBはヴィークルとし ての役目を果たす物質であることが証明された。 したがって HR Pにかえてさま ざまな薬物を C T Bに結合させて医薬を作製することができる。

〔実施例 3〕

本実施例においては、 他のヴィークル候補の化合物も薬物の選択的取込に有効 であることを確認した。

(1) 実験手順

実施例 1及び 2においてコレラトキシン Bサブュニット (CTB) がヴィーク ルとして有効な物質であることを証明したが、 他のヴィークル候補であるレクチ ン系の化合物も同様に物質輸送に効果的であることを実験を行い証明した。 ヴィ ークルとしてコムギ胚芽凝集素 （WGA) を用いた。

ラットを実施例 1と同様に麻酔し、 脳定位固定装置に固定し、 実施例 1と同じ 頭蓋骨の部位に歯科用ドリルを用いて穴を開けた。 脳定位固定装置に固定したマ イクロシリンジを用いて、 WGAに HR Pを結合させた物質 （WGA— H.RP、 T0Y0B0；架橋法にて調製） 2mgを蒸留水に溶解し、クモ膜下腔に注射した。 注

射後、 無菌的に頭部の傷を処置し、 3日から 5日間動物を飼育した。 飼育期間満 了後、 動物に麻酔薬を過剰投与して安楽死させ、 心臓から生理食塩水を流して血 液を除去したあと、 1 %パ フオルムアルデヒドと 1. 25%グルタルアルデヒ ドの混合リン酸緩衝溶液 （pH7. 4) で灌流固定を行った。 固定後、 動物から 脳を摘出し、 30%リン酸緩衝蔗糖液に浸潤し、 凍結ミクロトームを用いて 40 μm連続凍結前頭断切片を作製した。 そして切片をテトラメチルベンチジン （T MB)法を用いて反応を行レ、、光学顕微鏡下に HRP陽性顆粒の分布を調査した。

(2) 実験結果

この実験では、 実施例 2と同様、 対比染色を行っていないので、 光学顕微鏡下 に観察できるのは HRP陽性顆粒である。 HRP陽性顆粒は小脳皮質の分子層か らプルキンェ細胞層にかけての領域と、 中脳水道の下方の縫線核に特に密に分布 していた （図 5A及び B)。 このことは、 くも膜下の脳脊髄液中に注射された HR Pは WG Aとともに小脳プルキンェ細胞及び縫線核の神経細胞群に取り込まれた ことを示す。 すなわち、 WGAも CTBと同様に、 薬物を目的の神経細胞に運ぶ ヴィークルとしての役割を効果的に果たすことができる物質であることが証明さ れた。' 本明細書中で引用した全ての刊行物、 特許及び特許出願は、 その全文を参考と して本明細書中にとり入れるものとする。 産業上の利用可能性

本発明により、 脳神経細胞への薬物の標的化剤が提供される。 本標的化剤'は、 特定の脳神経細胞集団にのみ目的の薬物を取り込ませることができる。 従って、 本発明により、 脳神経細胞に特異的に薬物を作用させることができ、 また他の細 胞に対する薬物の作用を低減することが可能となる。

Copyright JPO and INPIT