

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02013/054885

発行日 平成27年3月30日 (2015. 3. 30)

(43) 国際公開日 平成25年4月18日 (2013. 4. 18)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|------------------------------|-------------|-------------|
| AO1K 67/027 (2006.01) | AO1K 67/027 | 2G045 |
| GO1N 33/53 (2006.01) | GO1N 33/53 | S |
| GO1N 33/50 (2006.01) | GO1N 33/50 | Z |
| GO1N 33/15 (2006.01) | GO1N 33/15 | Z |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 17 頁)

| | |
|---|---|
| 出願番号 特願2013-538589 (P2013-538589) | (71) 出願人 598015084 学校法人福岡大学 福岡県福岡市城南区七隈8丁目19番1号 |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP2012/076449 | |
| (22) 国際出願日 平成24年10月12日 (2012.10.12) | |
| (31) 優先権主張番号 特願2011-227240 (P2011-227240) | (74) 代理人 100174791 弁理士 川口 敬義 |
| (32) 優先日 平成23年10月14日 (2011.10.14) | (72) 発明者 渡辺 俊明 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19-1 学校法人福岡大学内 |
| (33) 優先権主張国 日本国 (JP) | (72) 発明者 三島 健一 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19-1 学校法人福岡大学内 |
| | (72) 発明者 入江 圭一 福岡県福岡市城南区七隈八丁目19-1 学校法人福岡大学内 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 メチルグリオキサール類蓄積方法、メチルグリオキサール類測定方法、メチルグリオキサール類蓄積モデル動物ならびにその製造方法、およびスクリーニング方法

(57) 【要約】

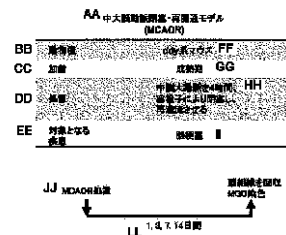
【課題】

正常実験動物を脳虚血もしくは脳虚血後再灌流を行う方法により処置して作製したメチルグリオキサール類蓄積モデル動物のメチルグリオキサール類蓄積程度を測定して、メチルグリオキサール類関連疾患を適切に、簡易にかつ短期間に評価しうるメチルグリオキサール類蓄積の評価モデルを提供すること。

【解決手段】

本発明は、正常実験動物を脳虚血もしくは脳虚血後再灌流を行う方法により処置してメチルグリオキサール類を蓄積させる方法からなっている。また、本発明は、正常実験動物を脳虚血もしくは脳虚血後再灌流を行う方法により処置してメチルグリオキサール類モデル動物を作製し、そのメチルグリオキサール類の蓄積程度を測定して、メチルグリオキサール類関連疾患を検査することからなっている。さらに、本発明は、候補薬剤がMGO類に関与していると考えられる疾患に効能を有するかどうかを調べるためのスクリーニング方法にも有用である。

【選択図】なし



- AA Middle cerebral artery occlusion and reperfusion model (MCAOR)
- BB Animal species
- CC Age
- DD Treatment
- EE Disease in question
- FF cdy mice
- GG Mature period
- HH Occlude middle cerebral artery for four days by embolus, and reperfuse
- II Cerebral infarction
- JJ MCAOR treatment
- KK Cerebral tissue recovery; MGO staining
- LL 1, 3, 7, 14 days

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

非ヒト実験哺乳動物を虚血もしくは虚血後再循環を行う方法によってメチルグリオキサル類を蓄積することを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類がメチルグリオキサル残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類が、メチルグリオキサル残基を含有するメチルグリオキサル類修飾タンパク質またはメチルグリオキサル類修飾タンパク質からメチルグリオキサル残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

10

【請求項 4】

請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類修飾タンパク質が、メチルグリオキサル由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサル修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

20

【請求項 5】

請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル蓄積方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項 6】

非ヒト実験哺乳動物を虚血もしくは虚血後再循環を行う方法によって処置して蓄積したメチルグリオキサル類を、抗原・抗体反応、HPLC分析法、質量分析法またはこれらを組み合わせた分析手法で測定することを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類がメチルグリオキサル残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

30

【請求項 8】

請求項 6 または 7 に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類が、メチルグリオキサル残基を含有するメチルグリオキサル類修飾タンパク質またはメチルグリオキサル類修飾タンパク質からメチルグリオキサル残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項 9】

請求項 6 ないし 8 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類修飾タンパク質が、メチルグリオキサル由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサル修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

40

【請求項 10】

請求項 6 ないし 9 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項 11】

非ヒト実験哺乳動物を虚血もしくは虚血後再循環を行う方法によって処置してメチルグリ

50

オキサール類が蓄積されていることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載のメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 または 1 2 に記載のメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサール類がメチルグリオキサール残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

10

【請求項 1 4】

請求項 1 1 ないし 1 3 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサール類が、メチルグリオキサール残基を含有するメチルグリオキサール類修飾タンパク質またはメチルグリオキサール類修飾タンパク質からメチルグリオキサール残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 1 5】

請求項 1 1 ないし 1 4 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサール類修飾タンパク質が、メチルグリオキサール由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサール修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

20

【請求項 1 6】

非ヒト実験哺乳動物を虚血もしくは虚血後再循環を行う方法によって処置することによってメチルグリオキサール類が蓄積されたメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物を作製することを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載のメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法。

30

【請求項 1 8】

メチルグリオキサール類蓄積モデル動物にメチルグリオキサール類蓄積抑制物質を探索するための候補化合物を投与して、メチルグリオキサール類蓄積モデル動物におけるメチルグリオキサール類蓄積の抑制程度によってメチルグリオキサール類蓄積抑制物質をスクリーニングすることを特徴とするメチルグリオキサール類蓄積抑制物質のスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

本発明は、メチルグリオキサール類蓄積方法、メチルグリオキサール類測定方法、メチルグリオキサール類蓄積モデル動物ならびにその製造方法、およびスクリーニング方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

高齢者社会が進むにつれて、アルツハイマー病、パーキンソン病などの難治性神経変性疾患の患者が急増していて、その対処策を講ずることは急務の課題となっている。例えば、アルツハイマー病の患者は、日本では、すでに100万人を超えており、65才以上では10人に1人が発症すると言われるほど高齢者にとっては身近な病気になっている。し

50

かし、最近では、高齢者ばかりではなく、40～50代においても若年性アルツハイマー病の発症率が増加して社会問題となっている。

また、パーキンソン病にしても、日本における有病率は10万人に100～150名程度であり、50～60歳代で発症することが多いが、20歳～80歳代と幅広く発症する病気である。

これらの難治性神経変性疾患は、薬物治療によっても完治するのが極めて難しい疾患であり、その発症機構の理解と治療法の開発は急務となっている。

【0003】

これらの神経変性疾患の共通点は、いずれも神経細胞内部に異常タンパク質の沈着が見られることである。過去20年余りの遺伝学的研究から多くの神経変性疾患原因遺伝子が同定され、その多くは沈着する異常タンパク質をつくり出す遺伝子あるいは異常タンパク質を代謝する遺伝子であることが明らかになってきている。一方、異常タンパク質の細胞内沈着が神経細胞の機能をどのように傷害し、神経疾患の発症に至るかについては、依然として不明な点が多く、今日研究が活発に行われている。

【0004】

アルツハイマー病では、神経原線維変化が、海馬や大脳新皮質にまで拡大し、記憶障害から認知症を引き起こすことが知られている。最近の研究では、メチルグリオキサール (Methylglyoxal: MGO) がアルツハイマー病に関与しているとの報告がなされている (非特許文献1から3)。これらの報告によると、メチルグリオキサール (MGO) は、リン酸化タウタンパク質と結合して凝集を引き起こし、神経原線維 (paired helical filament: PHF) と呼ばれる過剰リン酸化タウタンパク質を形成する役割を果たすと考えられている。さらに、ヒトでは、老化に伴い、神経細胞障害を誘導すると考えられる神経原線維 (PHF) の凝集体が、脳の嗅内野において形成されることが分かってきた。

【0005】

また、糖尿病についても、日本では、2007年 (平成19年) の国民健康・栄養調査によると、糖尿病が強く疑われる人が890万人と、糖尿病の可能性が否定できない人の1,320万人を合わせると、全国で2,210万人もいると推定されている。しかも、糖尿病が疑われる人の約4割がほとんど治療を受けたことがないということは由々しき問題である。また、糖尿病のもう一つの大きな問題は、合併症の問題であり、糖尿病による腎臓障害で人工透析を始める人が年間1万5,000人もいるうえに、糖尿病が原因の視覚障害の起こしている人も年間約3,000人程度増えている。このように糖尿病の治療を必要とする患者が急増することは、医療保険経済上からも大問題であり、糖尿病の患者を減らすのが急務の課題である。

【0006】

糖尿病においても、メチルグリオキサール (MGO) が関与していることが確認されている (特許文献1、2)。糖尿病患者では、MGOの血清レベルが高値であり、またストレプトゾトシンにより糖尿病を誘発したラットの眼球レンズに多量に存在することが報告されている (非特許文献4)。また、MGOは、生体内濃度レベルでタンパク質と反応して蛍光性の産物を生成し、糖尿病や老化との関連性 (非特許文献5) あるいはインスリン抵抗性 (IR) や血管障害との関連性 (非特許文献6) なども報告されている。

【0007】

このメチルグリオキサール (MGO) は、メイラード反応前期段階での反応性カルボニル生成物の一つであって、糖の分断反応、解糖時のトリオース・ホスフェートの非酵素的分解、スレオニン・ケトン体・アセトンの異化反応の中間体アセタールの代謝などにより生成する2-オキソアルデヒド分子である。MGOは、その分子中に反応性が非常に高いケト基とアルデヒド基を有しており、そのケト基またはアルデヒド基は、タンパク質等のアミノ酸側鎖のアミノ基との反応性が非常に高く、特にタンパク質のアルギニン残基またはリジン残基と反応してMGO修飾アミノ基を有するMGO修飾タンパク質を生成する。生成したMGO修飾タンパク質は、さらにタンパク質分解を受けると、そのMGO修飾アミノ基がタンパク質からフリーアダクト (free adduct) の形で遊離してくる。

10

20

30

40

50

その結果、タンパク質本来の構造が変化して、組織再構成に関わるプロテアーゼやコラゲナーゼなどの酵素反応が阻害され、組織障害が引き起こされると考えられている。

【0008】

このようなMGOの有害作用から、MGOは、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病等の神経変性疾患や糖尿病の他、レビー小体型認知症、腎不全、白内障、嚢胞性線維症、リウマチなどの種々のMGO関連疾患に関与していることが明らかとなってきた。

【0009】

上述したように、MGOは、種々の疾患に関与することが明らかとなってきたが、その酵素反応阻害作用や組織障害作用などにより、病態の悪化に関与する場合も多いことが明らかになってきた。このことから、MGOは様々な疾患で治療のターゲット分子となる可能性を秘めている。そのため、MGO類に関するさらなる研究の進展やMGOをターゲット分子とした薬剤の開発が期待されている。

【0010】

このようなMGOの研究の進展のためには、動物モデルを用いたMGOの評価が不可欠であり、MGOの発生機序や様々な疾患における生体内作用機構等を適切に評価できる動物モデルが必要である。

【0011】

最近、アルツハイマー病の疾患モデル動物として用いられているトランスジェニックADマウスが海馬領域でMGOを蓄積するとの報告がなされている（非特許文献2）。このことから、トランスジェニックADマウスが、MGO生成や薬剤によるMGO発現の抑制等を評価しうるインビボ評価モデル動物として使用できる可能性があると考えられる。つまり、トランスジェニックADマウスを用いて、MGOをターゲットとした薬剤の投与等を行い、脳におけるMGOの蓄積程度を評価することにより、MGOの病態研究や薬効の評価などのインビボ評価が可能になると考えられる。しかしながら、トランスジェニックADマウスをインビボ評価に使用するには、その価格が非常に高価であり、その上MGO蓄積に少なくとも約6カ月以上という長期間を要することから、インビボ評価に使用するには経済的また時間的な点からも制約が多いという欠点がある。そこで、MGOをターゲット分子とした数多くの化合物の活性評価には、MGO生成や薬剤による抑制を適切に評価するための廉価で、簡便なかつ再現性の良い評価系が必要である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】特願2009-297509

【特許文献2】特願2010-246867

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献1】Naila Ahmed et al. Journal of Neurochemistry. 2005 92 p255-263.

【非特許文献2】Francesc X. Guix et al. Brain. 2009 132 p1335-1345.

【非特許文献3】Martina Krautwald et al. Experimental Gerontology. 2010 45 p744-751.

【非特許文献4】Biochem. Pharmacol., 1993 46, pp. 805-811,

【非特許文献5】Biochim. Biophys. Acta., 1995 1270 pp.36-43,

【非特許文献6】Diabetes, 2006 55 pp. 1289-1299,

【非特許文献7】Han Y, Randell E et al. Clin Biochem. 2009 Jan 3.

【非特許文献8】Ryosuke T et al. YAKUGAKU ZASSHI 2009 129(1) p147-153.

【非特許文献9】Himmelfarb J. et al. Kidney Int. 2000 58 p2571-2578.

【非特許文献10】Nakayama K et al. Am J Nephrol. 2008 28 p871-878.

【非特許文献11】Ryoji Nagai et al. Anti-Aging Medicine 2010 7 (10) p112-119.

【非特許文献12】Ferrante R.J. et al. J Neurochem. 1997 69 p2064-2074.

10

20

30

40

50

【非特許文献 1 3】Shinpo K. et al. Brain Res. 2000 861 p151-159.

【非特許文献 1 4】Lyras L et al. J Neurochem. 1998 71 p302-312.

【非特許文献 1 5】Mantle D et al. Clin Chim Acta. 1998 284 p45-58.

【非特許文献 1 6】Renke J et al. Free Radic Biol Med. 2000 29 p101-104.

【非特許文献 1 7】Floor E and Wetzell. J Neurochem. 1998 70 p268-275.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

上述したような背景のもとに、本発明者らは、脳梗塞を初めとして広く脳卒中などの病態研究において疾患モデル動物として用いられている中大脳動脈閉塞・再開通モデルマウス（以下、「中大脳動脈閉塞・再開通」を「MCAOR」と略する）がMGOを蓄積するどうかを調べた結果、驚いたことに、脳虚血から再灌流後の所定の期間に、MGOが線条体領域で増加することを見いだした。本発明者らの知る限りでは、MCAORモデル動物がMGOを蓄積するとの報告は皆無であるところから、発明者らは、上述した知見より、非ヒト実験哺乳動物において一時的ないし永続的な虚血が線条体領域におけるMGOの蓄積に關与することに想到し、本発明を完成させたものである。

10

【0015】

したがって、本発明は、非ヒト実験哺乳動物を虚血もしくは虚血後再循環を行う方法（以下、これらをまとめて、「虚血性再循環法」という）により処置することによってメチルグリオキサル類（MGO類）を蓄積することからなるメチルグリオキサル類（MGO類）蓄積方法を提供することを目的としている。

20

【0016】

なお、本明細書においては、「メチルグリオキサル類」ならびに「MGO類」という用語およびそれに関連する用語は、メチルグリオキサルおよびMGOまたはその誘導体をそれぞれ意味する他に、メチルグリオキサル類（MGO類）のアルデヒド基やケト基などがタンパク質の残基やリジン残基などのアミノ酸残基と結合したMGO類修飾アミノ基を含む「MGO類修飾タンパク質」またはそのMGO類修飾タンパク質からMGO類修飾アミノ基が脱離したフリーアダクトをもそれぞれ意味して使用している。反対に、単に「メチルグリオキサル」ならびに「MGO」という用語も、「メチルグリオキサル類」ならびに「MGO類」を包含する意味として使用する場合がある。これらの用語は、当該技術分野に属する当業者であれば、化学常識ならびに本明細書の文脈によって容易に使い分けできるものである。

30

また、「蓄積」という用語は、細胞に沈着して蓄積している状態の他に、例えば、「増加」という一時的に増加している状態をも包含する意味として使用している。

したがって、本明細書において、「メチルグリオキサル類蓄積」ならびに「MGO類蓄積」という用語およびその関連用語は、「メチルグリオキサル」および「MGO」自体またはその誘導体の蓄積の他に、「メチルグリオキサル類修飾タンパク質」および「MGO類修飾タンパク質」が「蓄積」することをそれぞれ意味して使用していることは、当業者にとって自明のことである。

【0017】

本発明の別の目的は、非ヒト実験哺乳動物を虚血性再循環法にて処置して作製したメチルグリオキサル類（MGO類）蓄積モデル動物およびその製造方法を提供することである。

40

【0018】

本発明の更に別の目的は、MGO類蓄積モデル動物を用いて生体内、特に脳内に蓄積しているMGO類を測定するMGO類測定方法を提供することである。

【0019】

本発明の更に別の目的は、MGO類蓄積モデル動物を用いてMGO類蓄積抑制物質を探索するためのスクリーニング方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

50

【0020】

上記目的を達成するために、本発明は、非ヒト実験哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物、サルなどの非ヒト哺乳動物）の虚血性再循環法によるメチルグリオキサール類（MGO類）蓄積方法を提供する。

【0021】

本発明は、非ヒト実験哺乳動物から虚血性再循環法によって作製されたメチルグリオキサール類（MGO類）蓄積モデル非ヒト哺乳動物、およびその製造方法を提供する。

【0022】

本発明は、MGO類蓄積モデル動物を用いて生体内、特に脳内に蓄積しているMGO類を測定するMGO類測定方法を提供する。

10

【0023】

本発明は、MGO類蓄積モデル動物を用いてMGO類蓄積抑制物質を探索するためのスクリーニング方法を提供することである。この発明のMGO類蓄積抑制物質を探索するためのスクリーニング方法を使用すれば、MGO類蓄積抑制物質の候補物質を、MGO類蓄積モデル動物に投与して、MGO類蓄積の抑制程度を測定することによってアルツハイマー病（AD）、パーキンソン病等の神経変性疾患や糖尿病などのMGO類関連疾患の予防・治療に有効な創薬の探索を可能にする創薬探索のためのスクリーニング方法を提供する。

【0024】

本発明によるその他の課題解決手段は、当該技術分野に属する当業者であれば、本明細書に記載した内容およびその内容から類推できる事項から想到できるものである。したがって、かかるその他の課題解決手段も本発明に1形態として包含されるものである。

20

【発明の効果】

【0025】

本発明は、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病等の神経変性疾患や糖尿病などのMGO類関連疾患に関連するMGO類修飾タンパク質の蓄積の程度を簡便に、短期間にかつ安価に測定することができるという極めて大きな効果を有している。

また、本発明は、MGO類蓄積モデル動物を、短期間にかつ安価に、通常非ヒト哺乳動物を使用して作製することができることも極めて有用である。

したがって、本発明は、かかるMGO類蓄積モデル動物を用いてMGO類蓄積をそれぞれ測定することにより、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患や糖尿病などの疾患を早期診断・早期治療に役立てることができ極めて大きな効果がある。

30

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】実施例の実験手技を説明した図。

【図2】MCAORモデルマウス作製1日後のマウス脳組織の免疫組織染色を示した図。

【図3】MCAORモデルマウス作製3日後のマウス脳組織の免疫組織染色を示した図。

【図4】MCAORモデルマウス作製7日後のマウス脳組織の免疫組織染色を示した図。

【図5】MCAORモデルマウス作製14日後のマウス脳組織の免疫組織染色を示した図。

40

【発明を実施するための形態】

【0027】

以下、本発明を構成する各形態について詳細に説明する。なお、本発明は、以下に詳説する形態に限定されるものではなく、あくまでも本発明の形態を具体的に説明する例示に過ぎないことを明記する。つまり、本発明は、下記形態から当該技術分野に属する当業者であれば類推できる事項をも発明の1形態として包含するものである。

【0028】

まず、この発明は、非ヒト実験哺乳動物を虚血性再循環法によって処置することによるメチルグリオキサール類（MGO類）蓄積方法に関するものである。

【0029】

50

そこで、最初に、本発明におけるメチルグリオキサール類（MGO類）について詳細に説明する。簡単に上述したように、メチルグリオキサール（MGO）は、その分子中にケト基とアルデヒド基などの反応性の高い反応性基を有することから、その高反応性基は、生体においても、タンパク質等のアミノ酸側鎖のタンパクアミノ基、特にタンパクアルギニン残基またはタンパクリジン残基と反応してMGO修飾アミノ基を有するMGO修飾タンパク質を生成する。生成したMGO修飾タンパク質は、さらにタンパク質分解を受けると、そのMGO修飾アミノ基がタンパク質からフリーアダクト（free adduct）の形で遊離してくる。

なお、「タンパクアミノ基」という用語ならびにそれに関連する用語は、本明細書においては、タンパク質の構成員であるアミノ基を意味して使用している。したがって、例えば、「タンパクアルギニン基」という用語は、タンパク質の1構成員であるアミノ酸であるアルギニンのアミノ酸残基を意味して使用している。

【0030】

更に具体的には、例えば、MGOがタンパクアルギニン残基と反応すると、MGO由来ヒドロイミダゾロン基またはアルグピリミジン（argpyrimidine）基などのMGO修飾アルギニン基を有するMGO修飾タンパク質がそれぞれ生成する。また、MGOがタンパクリジン残基と反応すると、カルボキシメチルリジン基またはカルボキシエチルリジン基などのMGO修飾リジン基を有するMGO修飾タンパク質がそれぞれ生成する。これらのMGO修飾アミノ基（MGO修飾アルギニン基、MGO修飾リジン基など）を有するMGO修飾タンパク質は、さらにタンパク質分解を受けると、そのMGO修飾タンパク質からMGO修飾アミノ基が、フリーアダクト（free adduct）の形で、つまり、タンパク質から遊離したタンパク質由来アミノ基（タンパク質由来アルギニン基、タンパク質由来リジン基など）にMGOが付加した形で遊離してくる。

【0031】

したがって、本発明において、メチルグリオキサール類（MGO類）とは、メチルグリオキサール残基（MGO残基）を含有する化合物やタンパク質などの物質であればいずれであってもよい。つまり、メチルグリオキサール類（MGO類）は、例えば、メチルグリオキサール類（MGO類）に加えて、MGO類のアルデヒド基またはケト基などの反応性基と、タンパクのタンパクアルギニン基またはタンパクリジン基などのタンパクアミノ基との反応生成物であるアルグピリミジン（argpyrimidine）基、MGO由来ヒドロイミダゾロン基などのMGO類修飾タンパクアルギニン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基などのMGO類修飾タンパクリジン基などのMGO類修飾タンパクアミノ基を含むMGO類修飾タンパク質、およびMGO類修飾タンパク質からMGO類とタンパクアミノ基との結合化合物であるMGO類修飾タンパクアミノ基が脱離した形のフリーアダクトをも包含している。

【0032】

本発明において使用可能な非ヒト実験哺乳動物としては、一般に実験哺乳動物として使用されている実験動物であれば特に制限されるものではなく、例えば、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物、サルなどの霊長類などが挙げられ、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物が好ましい。

【0033】

本発明において用いる虚血性再循環法は、非ヒト実験哺乳動物の脳血管、例えば中大脳動脈（MCA）を脳血管閉塞手法で閉塞、または、一定時間閉塞した後、脳血管の血流を再循環させることによって、脳虚血もしくは再灌流後の所定時間内にMGO類修飾タンパク質を線条体領域に増加させる方法である。本発明で使用できる脳血管閉塞手法は、当該技術分野で慣用されているものであればいずれも使用可能であり、かかる脳血管閉塞手法としては、例えば、結紮法、クリップ法、血管の凝固法、血管内栓子法などを挙げることができる。これらの閉塞手法のうち、いずれを使用するかは、例えば、使用する実験動物の種類によって適宜選択して使用するのがよい。

また、脳血管等の閉塞時間については、用いる実験動物の種類などにより適宜選択する

10

20

30

40

50

ことができるが、一般的には0.0あるいは0.5時間～8時間、再開通する場合は、好ましくは1時間～5時間の範囲内であるのがよい。さらに、MGO類修飾タンパク質が線条体領域に増加・蓄積させるのに必要とする脳虚血もしくは再灌流後の期間についても、用いる実験動物の種類・大きさ・閉塞手法等を考慮して、適宜、選択することができるが、例えば、中大脳動脈閉塞あるいは再開通(MCAOR)後、一般的には1～2週間前後であるのがよい。

【0034】

つまり、正常実験動物の脳血管の閉塞もしくは再開通処置を行うことによって、MGO類修飾タンパク質の蓄積を促進させることができる。このようにして蓄積したMGO類の蓄積量を測定することによって、その蓄積MGO類量の抑制具合を基準にしてアルツハイマー病(AD)、パーキンソン病等の神経変性疾患や、糖尿病などのMGO類疾患の病態などを推察することができる。

10

【0035】

本発明において、MGO類の測定には、これを特異的に認識する抗MGO抗体(例えば、特開2004-309147号公報、国際公開99/64463号パンフレット)を用いた抗原・抗体反応を用いた種々の分析・測定法(例えば、免疫組織染色法、ウェスタンブロット法、ELISAなど)を採用することができる。さらに、MGO類は、HPLC分析法や質量分析法、ならびに、これらを組み合わせた分析手法(例えば、LC/MS、LC/MS/MSなど)を用いて分析することができる。これらの測定方法は、いずれも当該技術分野に属する当業者にとっては慣用の方法であり、測定対象などに応じて適宜選択して使用するのがよい。

20

【0036】

次に、本発明に係るメチルグリオキサール類(MGO類)蓄積モデル動物およびその作製方法について説明する。

本発明のメチルグリオキサール類(MGO類)蓄積モデル動物は、メチルグリオキサール類(MGO類)が体内、特に脳内に蓄積したモデル動物であって、非ヒト実験哺乳動物を上述したように虚血性再循環法によって処置することにより作製することができる。

このように作製した本発明のMGO類蓄積モデル動物は、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病等の神経変性疾患や糖尿病の他、レビー小体型認知症、腎不全、白内障、嚢胞性線維症、リウマチなどの種々のMGO関連疾患に対する実験モデル動物として使用することができる。かかる実験モデル動物を使用することによって、種々のMGO関連疾患に有効な創薬の開発期間を飛躍的に短縮できるとともに、開発費用を大幅に節約できることが期待できる。

30

【0037】

また、本発明のMGO類測定方法は、薬剤によるMGO類生成やMGO類発現の抑制等のMGO類の脳内動態などをインビボで評価することができる。つまり、本発明のMGO類測定方法では、例えば、MGO類生成や発現の抑制等の脳内動態などを調べるための候補化合物などを実験動物に投与して、脳内MGO類蓄積量を測定することによって脳内でのMGO類生成やMGO類発現の抑制等の状態を評価することができる。その結果、本発明は、MGO類生成・発現抑制や分解促進などをターゲットとした薬剤の開発を促進する効果を有する。

40

【0038】

したがって、本発明は、MGO類生成・発現抑制や分解促進などをターゲットとした候補化合物などをスクリーニングする方法としても有用である。本発明のスクリーニング方法により選択された候補化合物などは、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病等の神経変性疾患、糖尿病またはその他の様々なMGO関連疾患に対する予防薬、治療薬としての開発が期待される。

【0039】

本発明において、かかる候補化合物などの投与方法については、特に限定する必要はなく、投与する化合物またはその投与剤型により、注射(静脈注射、皮下注射、筋肉内注射)等の経皮投与や経口投与などの種々の投与方法を選択することができる。また、投与剤

50

型としては、特に限定する必要はなく、例えば、液体状、半液体状または固形状であってもよい。投与時期および投与回数についても、かかる候補化合物の種類に応じて、適切な時期および投与回数を適宜選択すればよい。

【0040】

本発明に係るスクリーニング方法に供することができる候補化合物としては、あらゆる化合物を候補化合物として挙げることができ、その候補化合物が、MGO類を直接又は間接的にターゲットとしてその生成抑制や分解促進などの薬効を発揮するよう設計された化合物や薬剤だけでなく、その他のあらゆる既存の化合物や薬剤であってもよい。

【0041】

なお、MGO類を直接ターゲットとして薬効を発揮するとは、例えば、生体内においてMGO類分子と直接反応することにより、MGO類を減少ないし消去させたり、MGO類の反応性を減少させたりすることをいう。

【0042】

一方、MGO類を間接的にターゲットとして薬効を発揮するとは、例えば、候補化合物または薬剤が、生体内における生理的分解物質がMGO類を減少ないし消去する場合や、生体内においてMGO類と反応する分子を発現・誘導させたり、MGO類減少もしくは消去の役割を果たす酵素など（例えば、glyoxalase-1）の発現・増加・活性上昇等を果たし、結果として、MGO類を減少ないし消去する場合が挙げられる。

【実施例】

【0043】

以下、本発明について、実施例を用いて詳述するが、本発明の内容は、当然のことながら、実施例の内容に限定されるものではない。

【0044】

<実験方法>

図1に、実験方法の概略を示す。

1. 脳閉塞・再開通処置

文献記載（「虚血性脳浮腫の実験的研究 第1報 ラットを用いた血流再開可能な脳梗塞モデル」小泉 仁一、吉田 洋二、中沢 貞二、大根田 玄寿、脳卒中8：1-8、1986）の方法に従い、MCAORマウスの作製を行った。

まず、25-30gのddY系雄性マウスをイソフルラン吸入により、麻酔を導入・維持した。麻酔下でマウスの頸部中央を切開し、左側総頸動脈と外頸動脈を結紮した。次いで、総頸動脈を切開し、塞栓子が中大脳動脈(MCA)の起始部に到達するように内頸動脈を經由して9mm挿入した。この状態で、4時間塞栓子で閉塞した後、塞栓子を手前に引きぬき、再灌流した。

【0045】

2. 抗MGO抗体を用いた免疫染色

MCA閉塞後、1、3、7、14日後に、イソフルラン麻酔下で断頭、脳を摘出し、4%パラホルムアルデヒド中で固定した。固定済みのマウス脳を自動固定包埋装置によりパラフィンに浸透させ、パラフィンブロックを作成した。次いで、マイクロトームを用い、パラフィンブロックから厚さ5 μ mの脳切片を作成した。この脳切片を脱パラフィン後、H₂O₂、馬血清を用いて、ブロッキングを行った。

続いて、1次抗体として、マウス抗MGO抗体(x100)を用い、48時間脳切片と反応させた。また、2次抗体として、抗マウス抗体(x1000)を用い、2時間脳切片と反応させた。このように処理した脳切片を、ABC法を用いて、DAB発色させた。対染色としてヘマトキシリンを用いた。

【0046】

<結果>

染色結果を図2から5、および表1に示す。

【0047】

10

20

30

40

【表 1】

| MCAOR 作製後 | MGO 修飾タンパク発現数／検討数 |
|-----------|-------------------|
| 1 日 | 1 / 3 |
| 3 日 | 1 / 3 |
| 7 日 | 3 / 3 |
| 14 日 | 0 / 3 |

10

【0048】

図 2 から図 5 は、MCAOR モデルマウス作製後の、脳切片の免疫組織染色図である。一番左が脳全体、真ん中が梗塞側の線条体周辺、一番右が線条体を拡大した免疫染色図である。

20

染色結果から示されるように、MCAOR モデルマウス作製 1 日後では、3 例中 1 例に MGO 修飾タンパク質が見られたのみであり、その量も極めて少なかった（表 1 参照、不図示）。その他の 2 例では、線条体に MGO 修飾タンパク質は認められなかった（図 2）。MCAOR モデルマウス作製 3 日後では、3 例中 1 例に MGO 修飾タンパク質が見られ、その量も作製 1 日後と比較して多いものであった（表 1 参照、図 3 (c) 矢印）。MCAOR モデルマウス作製 7 日後では、3 例すべてに MGO 修飾タンパク質が見られた。さらにその量についても、作製 1 日後や 3 日後と比較すると、非常に多く蓄積していた（表 1 参照、図 4）。なお、MCAOR モデルマウス作製 14 日後には、3 例中全てで、MGO 修飾タンパク質は見られなかった。

【0049】

30

<まとめ>

上述した結果をまとめると、次の通りである。

(1) 脳動脈の閉塞・再開通処置により、MGO 類は、正常マウスの脳線条体に発現・蓄積することが確認できた。

(2) 脳動脈の閉塞・再開通処置後 1 週間程度経過する間に、MGO 類は、徐々に増加していき、蓄積量のピークを迎えることが確認された。

【産業上の利用可能性】

【0050】

本発明は、通常非ヒト実験動物を用いて、脳動脈の閉塞・再開通処置により、脳組織や細胞に虚血・再灌流をもたらすことにより、トランスジェニック AD モデル動物に比べて、極めて安価にかつ短期間に疾患モデル動物を作製することができるという大きな利点がある。

40

また、かかる疾患モデル動物を使用することによって、MGO 類の発現・増加をほぼ 1 週間という極めて短期間に誘導できることから、MGO 類が関与していると考えられる神経変性疾患や糖尿病などの疾患に対する創薬開発も費用を大幅に節約できると共に、開発期間を大幅に短縮できるという大きな利点がある。一方、トランスジェニック AD モデル動物を使用する場合には、単価が高価なことから、開発費用が莫大になり、かつ、MGO 蓄積に 6 か月以上という長期間を要することから開発期間も非常に長期になるという欠点がある。

さらに、本発明は、MGO 類の発生・蓄積の程度を評価することにより、インビボにお

50

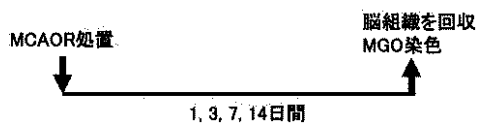
けるMGO類の評価が可能になるという利点もある。

その上、本発明のMGO類測定方法は、MGO類の発生機序の解明にも有用である。

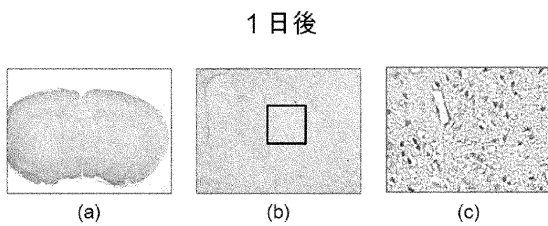
【 図 1 】

**中大脳動脈閉塞・再開通モデル
(MCAOR)**

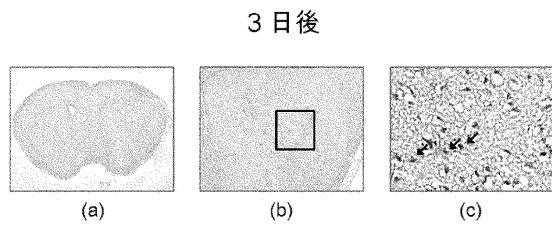
| | |
|-------------|------------------------------------|
| 動物種 | ddy系マウス |
| 加齢 | 成熟期 |
| 処置 | 中脳大動脈を4時間、 塞栓子により閉塞し、 再灌流させる |
| 対象となる 疾患 | 脳梗塞 |



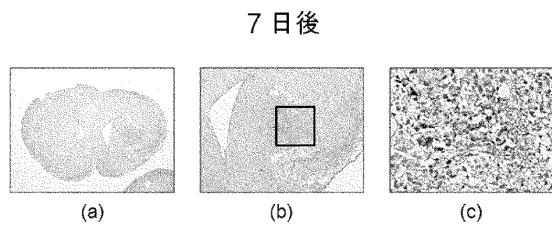
【 図 2 】



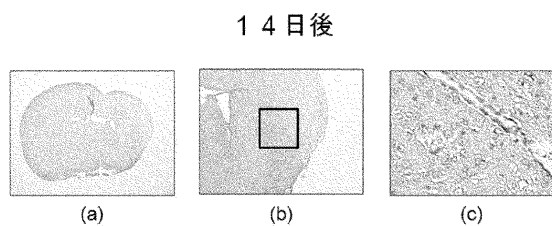
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【手続補正書】

【提出日】平成25年2月21日(2013.2.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

非ヒト実験哺乳動物を脳虚血もしくは脳虚血後再循環を行う方法によってメチルグリオキサル類を蓄積することを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項2】

請求項1に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類がメチルグリオキサル残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項3】

請求項1または2に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類が、メチルグリオキサル残基を含有するメチルグリオキサル類修飾タンパク質またはメチルグリオキサル類修飾タンパク質からメチルグリオキサル残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項4】

請求項1ないし3のいずれか1項に記載のメチルグリオキサル類蓄積方法であって、前記メチルグリオキサル類修飾タンパク質が、メチルグリオキサル由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサル修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項5】

請求項1ないし4のいずれか1項に記載のメチルグリオキサル蓄積方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積方法。

【請求項6】

非ヒト実験哺乳動物を脳虚血もしくは脳虚血後再循環を行う方法によって処置して蓄積したメチルグリオキサル類を、抗原・抗体反応、HPLC分析法、質量分析法またはこれらを組み合わせた分析手法で測定することを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項7】

請求項6に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類がメチルグリオキサル残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項8】

請求項6または7に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類が、メチルグリオキサル残基を含有するメチルグリオキサル類修飾タンパク質またはメチルグリオキサル類修飾タンパク質からメチルグリオキサル残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項9】

請求項6ないし8のいずれか1項に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記メチルグリオキサル類修飾タンパク質が、メチルグリオキサル由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサル修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方

法。

【請求項 10】

請求項 6 ないし 9 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類測定方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類測定方法。

【請求項 11】

非ヒト実験哺乳動物を脳虚血もしくは脳御虚血後再循環を行う方法によって処置してメチルグリオキサル類が蓄積されていることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 12】

請求項 11 に記載のメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 13】

請求項 11 または 12 に記載のメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサル類がメチルグリオキサル残基を含有する化合物または物質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 14】

請求項 11 ないし 13 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサル類が、メチルグリオキサル残基を含有するメチルグリオキサル類修飾タンパク質またはメチルグリオキサル類修飾タンパク質からメチルグリオキサル残基とタンパクアミノ基との結合化合物からなるフリーアダクトであることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 15】

請求項 11 ないし 14 のいずれか 1 項に記載のメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物であって、前記メチルグリオキサル類修飾タンパク質が、メチルグリオキサル由来ヒドロイミダゾロン基もしくはアルグピリミジン基またはカルボキシルメチルリジン基もしくはカルボキシルエチルリジン基を含有するメチルグリオキサル修飾タンパク質であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物。

【請求項 16】

非ヒト実験哺乳動物を脳虚血もしくは脳虚血後再循環を行う方法によって処置することによってメチルグリオキサル類が蓄積されたメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物を作製することを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法。

【請求項 17】

請求項 16 に記載のメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法であって、前記非ヒト実験哺乳動物が、マウス、ラット、ウサギ等の齧歯動物またはサル等の霊長類であることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積モデル非ヒト哺乳動物の製造方法。

【請求項 18】

メチルグリオキサル類蓄積モデル動物にメチルグリオキサル類蓄積抑制物質を探索するための候補化合物を投与して、メチルグリオキサル類蓄積モデル動物におけるメチルグリオキサル類蓄積の抑制程度によってメチルグリオキサル類蓄積抑制物質をスクリーニングすることを特徴とするメチルグリオキサル類蓄積抑制物質のスクリーニング方法。

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/JP2012/076449 |
|--|---|---|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A01K67/027(2006.01)i, G01N33/15(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i 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) A01K67/027, G01N33/15, G01N33/50 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), PubMed, CiNii | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | ZHU WJ. et al., Intake of water with high levels of dissolved hydrogen (H ₂) suppresses ischemia-induced cardio-renal injury in Dahl salt-sensitive rats, Nephrol. Dial. Transplant., 2011, Vol.26, No.7, p.2112-2118 | 1-18 |
| A | WANG XL. et al., Methylglyoxal increases cardiomyocyte ischemia-reperfusion injury via glycative inhibition of thioredoxin activity., Am J Physiol Endocrinol Metab., 2010, Vol.299, No.2, p.E207-214 | 1-18 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 27 December, 2012 (27.12.12) | | Date of mailing of the international search report 15 January, 2013 (15.01.13) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office | | Authorized officer |
| Facsimile No. | | Telephone No. |

| 国際調査報告 | | 国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 2 / 0 7 6 4 4 9 | | | | | | | | | |
|---|---|--|-------------|-----------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A01K67/027(2006.01)i, G01N33/15(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i | | | | | | | | | | | |
| 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. A01K67/027, G01N33/15, G01N33/50 | | | | | | | | | | | |
| 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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2012年</td> </tr> </table> | | | | 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | 日本国公開実用新案公報 | 1971-2012年 | 日本国実用新案登録公報 | 1996-2012年 | 日本国登録実用新案公報 | 1994-2012年 |
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | | | | | | | | | | |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2012年 | | | | | | | | | | |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2012年 | | | | | | | | | | |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2012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) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), PubMed, CiNii | | | | | | | | | | | |
| 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 | ZHU WJ. et al., Intake of water with high levels of dissolved hydrogen (H ₂) suppresses ischemia-induced cardio-renal injury in Dahl salt-sensitive rats, Nephrol. Dial. Transplant., 2011, Vol. 26, No. 7, p.2112-2118 | 1-18 | | | | | | | | | |
| A | WANG XL. et al., Methylglyoxal increases cardiomyocyte ischemia-reperfusion injury via glycative inhibition of thioredoxin activity., Am J Physiol Endocrinol Metab., 2010, Vol. 299, No. 2, p.E207-214 | 1-18 | | | | | | | | | |
| ☐ 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 27.12.2012 | | 国際調査報告の発送日 15.01.2013 | | | | | | | | | |
| 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) 上條 肇 | 4 B 9 4 5 3 | | | | | | | | |
| | | 電話番号 03-3581-1101 | 内線 3448 | | | | | | | | |

フロントページの続き

(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, TM), 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 藤原 道弘

福岡県福岡市城南区七隈八丁目 1 9 - 1 学校法人福岡大学内

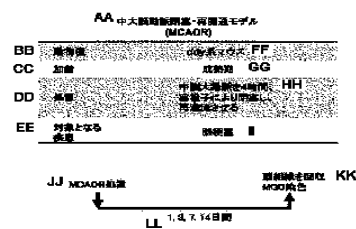
Fターム(参考) 2G045 AA29 FA36 FB03 FB06

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

| | | | |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 甲基乙二醛积累法，甲基乙二醛测定法，甲基乙二醛积累模型动物，其制备方法和筛选方法 | | |
| 公开(公告)号 | JPWO2013054885A1 | 公开(公告)日 | 2015-03-30 |
| 申请号 | JP2013538589 | 申请日 | 2012-10-12 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 学校法人福冈大学 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 学校法人福冈大学 | | |
| [标]发明人 | 渡辺俊明 三島健一 入江圭一 藤原道弘 | | |
| 发明人 | 渡辺 俊明 三島 健一 入江 圭一 藤原 道弘 | | |
| IPC分类号 | A01K67/027 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 | | |
| CPC分类号 | G01N33/6896 A01K2207/30 G01N33/64 G01N2800/2871 | | |
| FI分类号 | A01K67/027 G01N33/53.S G01N33/50.Z G01N33/15.Z | | |
| F-TERM分类号 | 2G045/AA29 2G045/FA36 2G045/FB03 2G045/FB06 | | |
| 代理人(译) | 川口 敬义 | | |
| 优先权 | 2011227240 2011-10-14 JP | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

亲切的代码：正常实验室动物通过测量例如甲基乙二醛大约制备由脑缺血或脑缺血，适当地甲基乙二醛这样的相关疾病，简单后进行再灌注的方法进行处理，例如甲基乙二醛积累模型动物的积累并且可以在短时间内评估甲基乙二醛积累的评估模型提供。— 本发明包括通过进行脑缺血或脑缺血再灌注以积累甲基乙二醛的方法治疗正常实验动物的方法。本发明还正常实验动物脑缺血或脑缺血后再灌注执行的方法治疗，制作甲基乙二醛这样的模型动物，并测量有关甲基乙二醛的积累包括甲基乙二醛由于检查相关的疾病。此外，本发明还可用于研究候选药物是否在被认为参与MGO的疾病中具有功效的筛选方法。



- AA Middle cerebral artery occlusion and reperfusion model (MCAOR)
- BB Animal species
- CC Age
- DD Treatment
- EE Disease in question
- FF cdy mice
- GG Mature period
- HH Occlude middle cerebral artery for four days by embolus, and reperfusion
- II Cerebral infarction
- JJ MCAOR treatment
- KK Cerebral tissue recovery; MGO staining
- LL 1, 3, 7, 14 days