(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2010-24198
(P2010-24198A)
(43)公開日　平成22年2月4日(2010.2.4)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 45/00	(2006.01)	A61K 45/00		2G045
A61P 3/10	(2006.01)	A61P 3/10		4C084
A61K 31/428	(2006.01)	A61K 31/428		4C086
A61P 25/00	(2006.01)	A61P 25/00		
G01N 33/50	(2006.01)	G01N 33/50	Z	

審査請求 未請求　請求項の数 5　ＯＬ　（全 10 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2008-189427 (P2008-189427)
(22)出願日　平成20年7月23日 (2008.7.23)

(71)出願人　506265750
有限会社イムノ
埼玉県川越市田町２４－２１－２０１
(71)出願人　504013775
学校法人　埼玉医科大学
埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷３８
(74)代理人　100107191
弁理士　長濱　範明
(72)発明者　松下　祥
埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷３８　学校法人埼玉医科大学医学部免疫学内

Ｆターム(参考) 2G045 AA29 CB01

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ドーパミンＤ２様受容体アゴニストを有効成分とする、１型糖尿病の治療又は予防のための医薬及びスクリーニング方法

(57)【要約】
【課題】　１型糖尿病に対する有効な医薬、及び、前記医薬の効率的なスクリーニング方法を提供すること。
【解決手段】　ドーパミンＤ２様受容体アゴニストを有効成分とすることを特徴とする１型糖尿病の治療又は予防のための医薬、並びに、ドーパミンＤ２様受容体への結合又はドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を指標とすることを特徴とする前記医薬のスクリーニング方法。
【選択図】　なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
１型糖尿病の治療又は予防のための医薬であって、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストを有効成分とする医薬。
【請求項２】
ドーパミンＤ２様受容体アゴニストが非麦角系である、請求項１に記載の医薬。
【請求項３】
ドーパミンＤ２様受容体アゴニストが塩酸プラミペキソール水和物である、請求項２に記載の医薬。
【請求項４】
請求項１から３のうちのいずれか一項に記載の医薬のスクリーニング方法であって、ドーパミンＤ２様受容体への結合を指標とするスクリーニング方法。
【請求項５】
請求項１から３のうちのいずれか一項に記載の医薬のスクリーニング方法であって、ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を指標とするスクリーニング方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、１型糖尿病に対する医薬、及び前記医薬のスクリーニング方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
獲得免疫の中心的役割を担うヘルパーＴ細胞は、産生するサイトカインの違いなどから、細胞性免疫を促進するＴｈ１（タイプ１ヘルパーＴ細胞）と液性免疫を促進するＴｈ２（タイプ２ヘルパーＴ細胞）とに分類される。また、樹状細胞（ＤＣ）は免疫応答の初期に重要な役割を担う抗原提示細胞であるが、近年、Ｔｈ１の誘導を促進（ＤＣ１）、又はＴｈ２の誘導を促進（ＤＣ２）といった機能的差異をもったサブセットが存在することが明らかとなった。これを利用して、ナイーブＴ細胞からのＴｈ１やＴｈ２への誘導をＤＣを介して人為的に制御し、偏向したＴｈ１／Ｔｈ２バランスを是正する方法はいくつか試みられており、成功例も報告され始めている（非特許文献１）。
【０００３】
また、従来から、Ｔｈ１／Ｔｈ２バランスの異常は様々な免疫関連疾患の発症に関与すると考えられている。例えば、Ｔｈ１細胞へのバランス偏向は、慢性炎症性疾患である関節リウマチや、臓器特異的自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、１型糖尿病、炎症性腸疾患、糸球体腎炎、肝炎、肝障害、自己免疫性溶血性貧血、白血球減少症、血小板減少症、脱髄疾患、橋本甲状腺炎、悪性貧血、乾癬）などに関与すると考えられており、また、Ｔｈ２細胞へのバランス偏向は、アレルギー性疾患や、多くの全身性自己免疫疾患に関与すると考えられている。一方、近年、複数の論文により、新たなＴｈ亜分画であるＴｈ１７が報告された。この細胞はもっぱらＩＬ－１７を産生することにより、自己免疫性炎症の増悪に関与している。特に前述の多発性硬化症はこのＴｈ１７への偏向に起因する疑いが強いと考えられている（非特許文献２）。Ｔｈ１７は、Ｔｈ１とは相互抑制的に、Ｔｈ２とは相互増強的に作用する。
【０００４】
前記したような各種免疫関連疾患を効果的に治療又は予防する方法として、異常となったＴｈ１／Ｔｈ２バランスを所望の通りに調整する方法は数多く提案されており、具体的には、例えば、ＴＣＣＲ（Ｔ細胞サイトカイン受容体）ポリペプチドアンタゴニストを投与することによるＴｈ１媒介疾患の治療方法（特許文献１）；多発性硬化症等の自己免疫疾患により引き起こされる過剰Ｔｈ１細胞媒介免疫応答をキサントフィルの使用により抑制する方法（特許文献２）；臓器特異的自己免疫疾患等を治療又は予防するための特定のベンズヒドリル誘導体を含む医薬組成物（特許文献３）；などが提案されている。
【０００５】

しかしながら、獲得免疫システムには様々な要因が複雑に関与しており、どの免疫関連疾患にＴｈ１偏向、Ｔｈ２偏向、Ｔｈ１７偏向のいずれが関与しているかは、未だ推測の域を超えない面もあると考えられる。したがって、Ｔｈ１／Ｔｈ２／Ｔｈ１７偏向と各種疾患との関係性について、より正確な知見を得ること、及び、各種疾患に対するより有効な医薬を開発することが、未だ望まれているのが現状である。

【特許文献１】特表２００３－５１２８２４号公報
【特許文献２】特表２００３－５１０３５３号公報
【特許文献３】特開２００３－３００８８１号公報
【非特許文献１】Ｍｏｒｉｔａ　Ｙら；Ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ　ｃｅｌｌｓ　ｇｅｎｅｔｉｃａｌｌｙ　ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ　ｔｏ　ｅｘｐｒｅｓｓ　ＩＬ－４　ｉｎｈｉｂｉｔ　ｍｕｒｉｎｅ　ｃｏｌｌａｇｅｎ－ｉｎｄｕｃｅｄ　ａｒｔｈｒｉｔｉｓ．Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｉｎｖｅｓｔ．２００１　Ｍａｙ；１０７（１０）：１２７５－８４
【非特許文献２】Ｂａｔｔｅｎ，Ｍら；Ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ　２７　ｌｉｍｉｔｓ　ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ　ｅｎｃｅｐｈａｌｏｍｙｅｌｉｔｉｓ　ｂｙ　ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｎｇ　ｔｈｅ　ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　ｏｆ　ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ　１７－ｐｒｏｄｕｃｉｎｇ　Ｔ　ｃｅｌｌｓ．Ｎａｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００６．７：９２９－９３６

【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
本発明は、前記従来における諸問題を解決し、免疫関連疾患の中でも、特に、１型糖尿病に対する有効な医薬、及び前記医薬の効率的なスクリーニング方法を提供することを目的とするものである。

【課題を解決するための手段】
【０００７】
本発明者は、上記課題を解決すべく鋭意検討を行った結果、塩酸プラミペキソール水和物等のドーパミンＤ２様受容体アゴニストを用いることによれば、１型糖尿病に対して優れた効果を奏することができることを新たに見出した。さらに、本発明者は、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの作用機序について解析を進めた結果、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストが、Ｔ細胞におけるＩＬ－１７生産を低下させ、あるいは、抗原提示細胞におけるｃＡＭＰ濃度を低下させる作用を有することを見出し、本発明を完成させた。
【０００８】
本発明は、本発明者による前記知見に基づくものであり、前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。
【０００９】
＜１＞　１型糖尿病の治療又は予防のための医薬であって、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストを有効成分とする医薬である。
【００１０】
＜２＞　ドーパミンＤ２様受容体アゴニストが非麦角系である、＜１＞に記載の医薬である。
【００１１】
＜３＞　ドーパミンＤ２様受容体アゴニストが塩酸プラミペキソール水和物である、＜２＞に記載の医薬である。
【００１２】
＜４＞　前記＜１＞から＜３＞のうちのいずれかに記載の医薬のスクリーニング方法であって、ドーパミンＤ２様受容体への結合を指標とするスクリーニング方法である。
【００１３】
＜５＞　前記＜１＞から＜３＞のうちのいずれかに記載の医薬のスクリーニング方法であって、ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を指標とするスクリーニング方法である。

【発明の効果】
【００１４】
本発明によると、従来における諸問題を解決することができ、１型糖尿病に対する有効な医薬、及び前記医薬の効率的なスクリーニング方法を提供することができる。
【発明を実施するための最良の形態】
【００１５】
（医薬）
本発明の医薬は、１型糖尿病の治療又は予防のために使用され得る医薬であり、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストを有効成分として含有し、更に必要に応じてその他の成分を含有してなる。
【００１６】
＜ドーパミンＤ２様受容体アゴニスト＞
「ドーパミン受容体」にはＤ１～Ｄ５までの５つのサブタイプが存在し、Ｇタンパク質と共役して細胞内にシグナルを送る働きを有することが一般に知られている。前記Ｄ１及びＤ５は「ドーパミンＤ１様受容体」として、アデニルシクラーゼ活性を上昇させ、ｃＡＭＰ濃度を上昇させるＧｓタンパクと共役することが知られている。一方で、前記Ｄ２～Ｄ４は「ドーパミンＤ２様受容体」として、アデニルシクラーゼ活性を抑制するＧｉタンパクと共役することが知られている。したがって、前記「ドーパミンＤ２様受容体アゴニスト」としては、前記ドーパミン受容体のサブタイプＤ２～Ｄ４の少なくともいずれかの作用を活性化させる働きを有する物質を使用することができる。
【００１７】
即ち、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、公知のドーパミンＤ２様受容体アゴニスト（ドーパミンＤ２様受容体作用薬）を使用してもよいし、後述する本発明のスクリーニング方法により、ドーパミンＤ２様受容体に対する結合能力及び／又はドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を有すると評価された物質を使用してもよい。
【００１８】
前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの具体例としては、例えば、塩酸プラミペキソール水和物、塩酸ロピニロール、塩酸タリペキソール、ロチゴチンなどの非麦角系のドーパミンＤ２様受容体アゴニスト、及び、カベルゴリン、メシル酸ブロモクリプチンなどの麦角系のドーパミンＤ２様受容体アゴニストが挙げられるが、これらの中でも、塩酸プラミペキソール水和物や塩酸ロピニロール等の非麦角系のドーパミンＤ２様受容体アゴニストが特に好ましい。なお、前記塩酸プラミペキソール水和物は、商品名「ビ・シフロール」として日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社から、前記塩酸ロピニロールは、商品名「レキップ」としてグラクソ・スミスクライン株式会社から、前記塩酸タリペキソールは、商品名「ドミン」として日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社から、前記ロチゴチンは、商品名「ニュープロ」としてシュワルツワーマ社から、前記カベルゴリンは、商品名「カバサール」としてファイザー株式会社から、前記メシル酸ブロモクリプチンは、商品名「パーロデル」としてノバルティスファーマ株式会社から、それぞれ入手することができる。
【００１９】
前記医薬中の前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの含有量は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、また、前記医薬は前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストそのものであってもよい。
【００２０】
＜その他の成分＞
前記その他の成分としては、特に制限はなく、本発明の効果を損なわない範囲内で、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、医薬的に許容され得る担体などが挙げられる。前記担体としても、特に制限はなく、例えば、後述する前記医薬の剤型等に応じて適宜選択することができる。また、前記医薬中の前記その他の成分の含有量としても、特に

制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。

【００２１】

＜剤型、製造＞

前記医薬の剤型としては、特に制限はなく、例えば、所望の投与方法に応じて適宜選択することができ、例えば、経口固形剤（錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等）、経口液剤（内服液剤、シロップ剤、エリキシル剤等）、注射剤（溶液、懸濁液、用事溶解用固形剤等）、坐剤、軟膏剤、貼付剤、ゲル剤、クリーム剤、外用散剤、スプレー剤、吸入散剤などが挙げられる。

【００２２】

前記経口固形剤としては、例えば、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストに、賦形剤、更には必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味・矯臭剤等の添加剤を加え、常法により製造することができる。

【００２３】

前記賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、微結晶セルロース、珪酸などが挙げられる。前記結合剤としては、例えば、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、エチルセルロース、シェラック、リン酸カルシウム、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。前記崩壊剤としては、例えば、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、乳糖などが挙げられる。前記滑沢剤としては、例えば、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ砂、ポリエチレングリコールなどが挙げられる。前記着色剤としては、例えば、酸化チタン、酸化鉄などが挙げられる。前記矯味・矯臭剤としては、例えば、白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸などが挙げられる。

【００２４】

前記経口液剤としては、例えば、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストに、矯味・矯臭剤、緩衝剤、安定化剤等の添加剤を加え、常法により製造することができる。

【００２５】

前記矯味・矯臭剤としては、例えば、白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸などが挙げられる。前記緩衝剤としては、例えば、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。前記安定化剤としては、例えば、トラガント、アラビアゴム、ゼラチンなどが挙げられる。

【００２６】

前記注射剤としては、例えば、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストに、ｐＨ調節剤、緩衝剤、安定化剤、等張化剤、局所麻酔剤等を添加し、常法により皮下用、筋肉内用、静脈内用等の注射剤を製造することができる。

【００２７】

前記ｐＨ調節剤及び前記緩衝剤としては、例えば、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウムなどが挙げられる。前記安定化剤としては、例えば、ピロ亜硫酸ナトリウム、ＥＤＴＡ、チオグリコール酸、チオ乳酸などが挙げられる。前記等張化剤としては、例えば、塩化ナトリウム、ブドウ糖などが挙げられる。前記局所麻酔剤としては、例えば、塩酸プロカイン、塩酸リドカインなどが挙げられる。

【００２８】

前記坐剤としては、例えば、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストに、ポリエチレングリコール、ラノリン、カカオ脂、脂肪酸トリグリセリド等の公知の坐剤製剤用担体と、必要に応じてツイーン（ＴＷＥＥＮ：登録商標）等の界面活性剤などを加えた後、常法により製造することができる。

【００２９】

前記軟膏剤としては、例えば、前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストに、公知の基剤、安定剤、湿潤剤、保存剤等を配合し、常法により混合し、製造することができる。

【００３０】

前記基剤としては、例えば、流動パラフィン、白色ワセリン、サラシミツロウ、オクチルドデシルアルコール、パラフィンなどが挙げられる。前記保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピルなどが挙げられる。

【００３１】

前記貼付剤としては、例えば、公知の支持体に前記軟膏剤としてのクリーム剤、ゲル剤、ペースト剤等を、常法により塗布し、製造することができる。前記支持体としては、例えば、綿、スフ、化学繊維からなる織布、不織布、軟質塩化ビニル、ポリエチレン、ポリウレタン等のフィルム、発泡体シートなどが挙げられる。

【００３２】

＜投与＞

前記医薬の投与対象としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウシ、ブタ、サルなどが挙げられる。

【００３３】

また、前記医薬の投与方法としては、特に制限はなく、前記医薬の剤型等に応じて適宜選択することができ、例えば、経口投与、注射による投与などが挙げられる。

【００３４】

また、前記医薬の投与量としては、特に制限はなく、投与対象である患者の年齢、体重、性別、症状等に応じて適宜選択することができるが、ヒト成人１日あたり、有効成分である前記ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの量として、０．１～３０ｍｇ程度が好ましいと考えられる。また、前記医薬の投与頻度としても、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記１日あたりの投与量を、１日に１回で投与してもよいし、複数回に分けて投与してもよい。

【００３５】

また、前記医薬の投与時期としても、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記疾患の発症前に予防的に投与されてもよいし、前記疾患の発症後に治療的に投与されてもよい。前記医薬は、発症前の投与、及び発症後の投与のいずれにおいても、優れた効果を奏することができる。

【００３６】

（スクリーニング方法）

本発明のスクリーニング方法は、本発明の前記医薬をスクリーニングするための方法であり、例えば、ドーパミンＤ２様受容体への結合を指標とする方法（第１のスクリーニング方法）、及び、ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を指標とする方法（第２のスクリーニング方法）、が挙げられる。

【００３７】

＜第１のスクリーニング方法（結合を指標）＞

前記第１のスクリーニング方法としては、前記ドーパミンＤ２様受容体への結合を指標とする方法であれば、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、（ａ）被験物質のドーパミンＤ２様受容体への結合能力を評価する工程、及び、（ｂ）前記工程（ａ）で前記ドーパミンＤ２様受容体への結合能力を有すると評価された前記被験物質を選択する工程、を含む方法などが挙げられる。

【００３８】

なお、前記被験物質としては、特に制限はなく、例えば、前記医薬の候補物質の中から、目的に応じて適宜選択することができる。

【００３９】

－（ａ）評価工程－

前記評価工程における、前記被験物質の前記ドーパミンＤ２様受容体への結合能力の評価方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ドーパミンＤ２様受容体タンパク質を発現させた細胞株と前記被験物質との結合アッセイによる方法などが挙げられる。

【００４０】
なお、例えば、ドーパミンＤ２様受容体の発現に関してのみ相違のある２種類の細胞株への前記被験物質の結合の程度に差があるという結果が得られた場合、前記被験物質は、前記ドーパミンＤ２様受容体に対して結合能力を有していると評価することができる。
【００４１】
－（ｂ）選択工程－
前記選択工程では、前記工程（ａ）で前記ドーパミンＤ２様受容体への結合能力を有すると評価された前記被験物質を選択する。
【００４２】
＜第２のスクリーニング方法（活性作用を指標）＞
前記第２のスクリーニング方法としては、前記ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を指標とする方法であれば、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、（ａ’）被験物質のドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を評価する工程、及び（ｂ’）前記工程（ａ’）で前記ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を有すると評価された前記被験物質を選択する工程、を含む方法などが挙げられる。
【００４３】
－（ａ’）評価工程－
前記評価工程における、前記被験物質の前記ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を評価する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記被験物質存在下での、抗原提示細胞における、細胞内ｃＡＭＰ濃度、細胞内ドーパミン（ＤＡ）合成量、細胞内ドーパミン（ＤＡ）貯蔵量等の変化を調べる方法などが挙げられる。あるいは、Ｔ細胞における、ＩＬ－１７の産生を調べる方法などが挙げられる。前記各種変化は、例えば、従来公知の手法を用いて調べることができる。
【００４４】
なお、例えば、前記被験物質存在下では、前記被験物質非存在下と比較して、細胞内ｃＡＭＰ濃度の低下、細胞内ＤＡ合成量の減少、細胞内ＤＡ貯蔵量の減少、あるいはＩＬ－１７産生の低下が認められた場合、前記被験物質は、前記ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を有していると評価することができる。
【００４５】
－（ｂ’）選択工程－
前記選択工程では、前記工程（ａ’）で前記ドーパミンＤ２様受容体に対する活性作用を有すると評価された前記被験物質を選択する。
【００４６】
前記スクリーニング方法としては、前記第１のスクリーニング及び前記第２のスクリーニングのいずれかのみを行ってもよいし、両者を行ってもよいが、効率的に前記医薬を選択することができる点で、両者を行うことが好ましい。この場合、前記第１のスクリーニング及び前記第２のスクリーニングをこの順に行うことにより、より効率的に前記医薬を選択することができる。
【実施例】
【００４７】
以下に本発明の実施例を説明するが、本発明は、これらの実施例に何ら限定されるものではない。
【００４８】
（実施例１：１型糖尿病の自然発症モデルマウスおけるドーパミンＤ２様受容体アゴニストの効果）
１型糖尿病の自然発症モデルであるＮＯＤマウスに対し、予防的投与として、生後４週齢より週に２回、「ビ・シフロール」（一般名；塩酸プラミペキソール水和物；日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社）の経口投与を行った。前記薬剤はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で溶解し、０．１ｍｇ／ｋｇ／ｄａｙとなるような量で投与した。また、対照群として、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を経口投与した。その後、１７週齢におい

て尿糖をモニターし、各群（ｎ＝２０）の糖尿病発症率を比較した。その結果、対照群における糖尿病発症率が２５％（２０匹中５匹）であったのに対し、ビ・シフロール投与群における発症率は０％（２０匹中０匹）であった（ｐ＝０．０２３）。この事実から、１型糖尿病モデルマウスにおける糖尿病の発症に、ビ・シフロールが有効であることが明らかとなった。

【００４９】

（実施例２：ヒト患者のＴ細胞における、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの作用とＩＬ－１７の発現との関係）

錐体外路症状のある患者（１名）に、ビ・シフロールを経口投与し（０．５ｍｇ／日、一錠を一日一回）、０日目、７日目、１５０日目の３ポイントで末梢血単核細胞（ＰＭＢＣ）を採取して、抗体（ａｎｔｉ－ＣＤ３＋ａｎｔｉ－ＣＤ２８）で刺激し、サイトカイン産生量を測定した（図１）。その結果、ＩＬ－５の産生量は、同じレベルであるにもかかわらず、ＩＬ－１７／ＩＦＮγ比は、１５０日目で、顕著に低下した（ｐ＜０．０１）。即ち、患者のＴ細胞において、ＩＬ－１７の産生性が低下していた。Ｔ細胞のうち、Ｔｈ１細胞はＩＦＮγを産生し、Ｔｈ２細胞はＩＬ－５を産生し、Ｔｈ１７細胞はＩＬ－１７を産生することから、ＩＬ－１７／ＩＦＮγ比が低下したことは、患者におけるＴｈ１／Ｔｈ２／Ｔｈ１７バランスが、Ｔｈ１に偏向し、Ｔｈ１７が抑制されたことを示すものである。

【００５０】

（実施例３：麦角系及び非麦角系ドーパミンＤ２様受容体アゴニストの細胞内ｃＡＭＰ濃度に対する効果）

１０％ＦＣＳ／ＲＰＭＩにて培養しているＴＨＰ－１細胞をＰＭＡ（５０ｎｇ／ｍｌ）で４８時間刺激した。その後、刺激した細胞を回収し、遠心（１２００ｒｐｍ、５ｍｉｎ）後、上清を除き、ドーパミンＤ２様受容体アゴニストとして、３０ｐｇ／ｍｌの麦角アルカロイド誘導体であるカバサール、及び５００ｐｇ／ｍｌの非麦角アルカロイド誘導体であるレキップを添加した。その６０分後に１ｍＭ　ＩＢＭＸ（ＰＤＥ阻害剤）で１０分間前処理し、１μＭのドーパミンで１０分間刺激した。対照としては、フォルスコリン（陽性対照）を用いた。その後、ＴＨＰ－１細胞を細胞溶解緩衝液（ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ　ｂｕｆｆｅｒ；Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ社）にて融解した後、Ｃａｔｃｈ　Ｐｏｉｎｔ　Ｃｙｃｌｉｃ－ＡＭＰ　Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ　Ａｓｓａｙ　Ｋｉｔ（Ｂｕｌｋ　ｋｉｔ）（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ社）を用いて細胞内ｃＡＭＰを測定し、その結果を統計解析ソフト（ｓｔａｔｖｉｅｗ）にて解析した。その結果、図２に示すように、ドーパミン（－）において、レキップで前処理した場合、有意にｃＡＭＰ濃度は低下したが、ドーパミン刺激をした場合でも、ｃＡＭＰ濃度は低下していた。一方、カバサールで前処理した場合、ドーパミン（－）において、有意にｃＡＭＰ濃度が上昇したが、ドーパミン刺激をした場合でもｃＡＭＰ濃度は維持された。

【産業上の利用可能性】

【００５１】

本発明の医薬は、１型糖尿病の治療又は予防剤として有用であり、また、本発明のスクリーニング方法は、前記医薬を効率的にスクリーニングする方法として有用である。

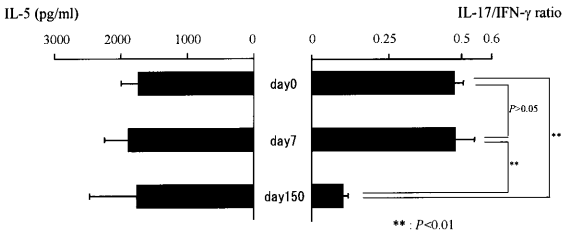
【図面の簡単な説明】

【００５２】

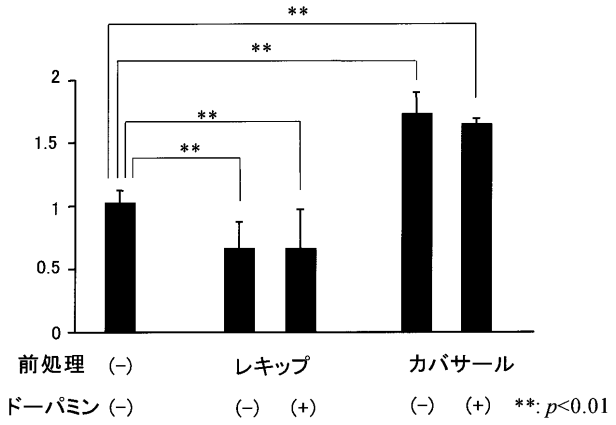
【図１】図１は、ドーパミンＤ２様受容体アゴニスト（ビ・シフロール）の、患者Ｔ細胞におけるＩＬ－１７生産への効果を示したグラフである。

【図２】図２は、ドーパミンＤ２様受容体アゴニスト（カバサール、レキップ）の細胞内ｃＡＭＰ濃度に対する効果を示したグラフである。

【図１】


IL-5 (pg/ml)
IL-17/IFN-γ ratio
3000
2000
1000
0
0
0.25
0.5
0.6
day0
day7
day150
P>0.05
**
**
** : P<0.01

【図２】


**
**
**
**
2
1.5
1
0.5
0
前処理 (−)
レキップ
カバサール
ドーパミン (−)
(−) (+)
(−) (+) **: p<0.01

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
G01N 33/15	*(2006.01)*	G01N 33/15	Z	

Fターム(参考) 4C084 AA17 MA13 MA16 MA17 MA23 MA28 MA31 MA32 MA35 MA37
MA41 MA43 MA44 MA52 MA56 MA60 MA63 MA66 NA14 ZA022
ZC352
4C086 AA01 AA02 BC84 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZC35