

平成24年12月19日判決言渡

平成23年(行ケ)第10448号 審決取消請求事件

口頭弁論終結日 平成24年12月5日

判 決

原 告		X	
訴訟代理人弁理士	廣 田 雅 紀		
	小 澤 誠 次		
	東 海 裕 作		
	大 高 と し 子		
	高 津 一 也		
	堀 内 真 子		
	山 内 正 明		
	君 野 憲 昌		
	藤 本 昌 平		
被 告	特 許 庁 長 官		
指 定 代 理 人	前 田 佳 与 子		
	今 村 玲 英 子		
	瀬 良 聡 機		
	田 村 正 明		

主 文

原告の請求を棄却する。

訴訟費用は原告の負担とする。

## 事 実 及 び 理 由

### 第 1 原告が求めた判決

特許庁が不服 2008-28310 号事件について平成 23 年 11 月 22 日にした審決を取り消す。

### 第 2 事案の概要

本件は、拒絶審決の取消訴訟である。争点は、発明の進歩性の有無である。

#### 1 特許庁における手続の経緯

原告は、平成 14 年 2 月 8 日、名称を「血管新生抑制剤」とする発明につき、特許出願し（特願 2002-32844 号）、平成 20 年 9 月 29 日、拒絶査定を受けたので、同年 11 月 6 日、不服審判請求をするとともに、同年 12 月 8 日、請求項 1 の特許請求の範囲の記載及び明細書の発明の詳細な説明の記載の一部をそれぞれ改める旨の補正をしたが、拒絶理由通知を受けたので、平成 23 年 8 月 29 日、請求項 1 の特許請求の範囲の記載及び明細書の発明の詳細な説明の記載の一部をそれぞれ改める旨の補正をした。

特許庁は、平成 23 年 11 月 22 日、「本件審判の請求は成り立たない。」との審決をし、この謄本は同年 12 月 5 日に原告に送達された。

#### 2 本願発明の要旨

本願発明は、血管の新生を抑制する薬剤及び血管新生抑制剤を用いた悪性腫瘍等の予防・治療等に関する発明で、出願時の請求項の数は 14 であり、うち上記補正後の請求項 1 の特許請求の範囲は以下のとおりである。

#### 【請求項 1（本願発明）】

「テトラブチルアンモニウム塩を有効成分とすることを特徴とする腫瘍細胞増殖抑制剤。」

#### 3 審決の理由の要点

本願発明は、下記引用例 1 に記載の引用例 1 発明に、下記引用例 2 に記載の引用

例 2 発明を適用することで、本件出願当時、当業者において容易に発明することができたもので、進歩性を欠く。

【引用例 1】 X. YAO, et al., Activity of voltage-gated  $K^+$  channels is associated with cell proliferation and  $Ca^{2+}$  influx in carcinoma cells of colon cancer, Life Sci., 1999, Vol.65, No.1, 55 ないし 62 頁 (甲 1)

【引用例 2】 M. Rapacon, et al., Contribution of calcium-activated potassium channels to the vasodilator effect of bradykinin in the isolated, perfused kidney of the rat, British Journal of Pharmacology, 1996, Vol.118, 1504 ないし 1508 頁 (甲 2)

【引用例 1 発明】

「非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」

【引用例 1 発明と本願発明との一致点】

「非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」である点

【引用例 1 発明と本願発明との相違点】

本願発明の非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤は「テトラブチルアンモニウム塩」であるのに対し、引用例 1 発明の非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤は「テトラエチルアンモニウム塩」である点

【相違点に係る構成の容易想到性判断 (5 頁)】

「引用例 1 には、TPEA (テトラペンチルアンモニウム) およびTEA (テトラエチルアンモニウム) のような非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤が、直腸がん由来のカルシノーマ (癌腫) 細胞DLD-1 の増殖を抑制すること・・・,  $K^+$  チャンネルの動作が大腸癌細胞の増殖を制御している可能性が示唆されていること・・・, さらに,  $K^+$  チャンネルが癌細胞の増殖速度の加速に関連していることが報告されていること・・・, が記載されている。

ここで、腫瘍治療に有効な成分の開発に繋がることを期待して、腫瘍細胞増殖抑制作用を有する新たな化合物を探索することは、医薬分野において自明の課題である。

よって、引用例 1 に接した当業者は、TPEA およびTEA と同様に腫瘍細胞増殖抑制作用が得られることを期待して、非選択的  $K^+$  チャンネル阻害剤の範疇に包含される他の化合物についても、腫瘍細胞増殖抑制作用の測定を試みることを自然に想起するものである。

そして、引用例2には、TEAおよびTBA（テトラブチルアンモニウム）がいずれも非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であり、 $K^+$ チャンネルを効率的に阻害することが記載されているのであるから・・・、引用例1発明におけるTEAと同様に腫瘍細胞増殖抑制作用が得られることを期待して、TEAの代わりに、TEAと同様に非選択的 $K^+$ チャンネル阻害活性を有することが本願出願日前に知られているTBAを用い、本願発明の構成を得ることは、当業者が容易に想到しえた事項である。

また、本願明細書の実施例1（【0030】～【0033】）においてTBAが腫瘍細胞増殖抑制作用効果を有することが確認され、実施例2（【0034】～【0035】）において血球への影響が少ないという効果が記載されているが、本願明細書には、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤の範疇に包含されるTBA以外の化合物を用いた比較例が記載されていないので、TBAから得られた前記のような効果が、引用例1に記載されている事項からみて当業者が予測し得る範囲を超えるほど顕著であるか否かについて、当業者が客観的に判断し得る根拠は何ら存在しない。

よって、本願発明により得られた効果は格別顕著な効果ではない。」

### 第3 原告主張の審決取消事由

#### 1 取消事由1（引用例1発明の認定の誤り）

(1) 引用例1には、結腸癌に由来する腫瘍細胞（癌細胞）DL D-1に $[^3H]$ チミジン（トリチウムチミジン）を取り込ませる実験において、テトラエチルアンモニウム（TEA）のような非選択的（非特異的）カリウムイオン（ $K^+$ ）チャンネル阻害剤が、 $[^3H]$ チミジンの取込みを阻害したという実験結果を得たことや、かかる実験結果から、カリウムイオンチャンネル活性が結腸癌細胞（結腸腫瘍細胞）へのカルシウムイオン（ $Ca^{2+}$ ）の流入を調整し、細胞の増殖を調整する可能性があること（カリウムイオンチャンネルの活性とカルシウムイオンの細胞内への流入の関係の点から考察した、腫瘍細胞増殖におけるカリウムイオンチャンネル活性の作用機序）が記載されているにすぎず、テトラエチルアンモニウム塩を腫瘍細胞増殖抑制剤の用途に用いることは記載されていない。

引用例1の実験で腫瘍細胞DL D-1の増殖を強く抑制（減少）させたのは、電位依存性 $K^+$ チャンネル阻害剤である4-アミノピリジンであるから、引用例1に腫瘍細胞増殖抑制剤に係る実験が記載されているのであれば、当業者はテトラエチル

アンモニウム塩よりも阻害作用が強い4-アミノピリジンを選択するはずである。

また、引用例1に記載されているのは腫瘍細胞を用いた実験の結果にすぎないし、薬剤の投与濃度が変われば、薬理作用は大きく変わるところ、引用例1の阻害剤は生体への重大な障害が避けられないほど高濃度で投与されている（例えば、20 mMでは、体重40 gのマウスは致死する）。したがって、引用例1に記載の実験は、生体内組織で腫瘍細胞が増殖する機構に阻害剤が関与してされたものではないし、生体に投薬（ドラッグデリバリー）したときに有効に作用する抗腫瘍物質を探索する実験に係るものとはいうことができない。当業者が一次スクリーニングの結果から、当該薬剤の投与径路や投与量等を適宜変更して二次スクリーニングを行い、抗腫瘍活性を評価するのが当業者の技術常識であるともいえないし、そもそも引用例1の実験は一次スクリーニングとしての実験ではない。

なお、引用例1で用いられた培地にテトラエチルアンモニウム塩が存在するか否かは確認されていない。

そうだとすると、引用例1には「非選択的K<sup>+</sup>チャネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明（引用例1発明）が記載されているとの審決の認定（3頁）は誤りである。

(2) 当業者は、まず生体外で腫瘍細胞を用いて抗腫瘍活性を評価し（一次スクリーニング）、良好な成績を示した薬剤につきさらに生体内の腫瘍組織に対する実験を行って抗腫瘍活性を評価する（二次スクリーニング）という決まった手順を踏まなければならないわけではなく、かかる手順を踏んで抗腫瘍活性を評価するという技術常識はない。抗腫瘍活性を評価するのにかかる手順を踏むかどうかは、当業者において適宜選択できる事柄にすぎない。抗腫瘍薬剤の効果は相対的なものであるから、腫瘍細胞を用いた生体外の実験で抗腫瘍活性を評価するだけでは、腫瘍細胞の増殖に対する作用と正常細胞の増殖に対する作用の差異を確認することは困難である。また、生体外の実験では、投薬によって有効に作用するとともに、正常細胞、正常な生体組織に対する悪影響を回避できる抗腫瘍物質を探索することは困難であ

る。そこで、本願発明においては、生体内組織で腫瘍細胞が増殖する機構に着目し、正常細胞、正常な生体組織に対する作用の差異に着目して、極力、正常細胞、正常な生体組織を傷付けることなく作用する抗腫瘍物質を探索すべく、当初から生体組織に投薬する方法により抗腫瘍活性を評価するという手法を採用した。そして、実験の結果、最も影響を受ける血液の細胞に影響がない一方、腫瘍細胞に影響があることを確認している。

また、結腸癌由来の腫瘍細胞DLD-1や培地RPMI 1640が当業者においてよく用いられるものだとしても、引用例1でかかる腫瘍細胞等が用いられているのは普通の事柄にすぎず、引用例1の実験を生体内組織でも有効に作用する腫瘍細胞増殖抑制剤の実験と結びつける論拠となるものではない。

したがって、被告主張のように二段階で抗腫瘍活性を評価する手法があるとしても、引用例1にテトラエチルアンモニウム塩を腫瘍細胞増殖抑制剤の用途に用いる実験が記載されていることになるわけではない。

## 2 取消事由2（一致点・相違点の認定の誤り）

前記1のとおり、引用例1に記載されているのは腫瘍細胞を用いた実験の結果にすぎず、審決がした引用例1発明の認定は誤りである一方、本願発明は、生体への投薬上、有効な抗腫瘍医薬である「テトラブチルアンモニウム塩を有効成分とする腫瘍細胞増殖抑制剤」を開示するものである点が異なる。

また、テトラブチルアンモニウム塩が非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤に分類されるとしても、本願発明の腫瘍細胞増殖抑制剤は、腫瘍細胞が増殖する際の血管新生に関与する、血管内皮から遊離される内皮由来過分極因子（Endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF）の作用を阻害し、腫瘍新生血管の収縮、腫瘍の梗塞を生じさせ、その結果、腫瘍細胞の増殖を抑制するという、生体内における腫瘍細胞の増殖に対する作用機序に着目して発明されたものであって、単にカリウムイオンチャンネルの機能を阻害することに着目して発明されたわけではない。そうすると、引用例1発明と本願発明とは作用機序が異なる。

したがって、引用例1発明と本願発明とは、「非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」である点で一致するとの審決の認定は誤りであるし、両発明の相違点が、本願発明の非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤は「テトラブチルアンモニウム塩」であるのに対し、引用例1発明の非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤は「テトラエチルアンモニウム塩」である点であるのみとする審決の認定は誤りである。

### 3 取消事由3（相違点に係る構成の容易想到性判断の誤り）

(1) 前記1のとおり、引用例1に記載の実験は、生体内組織で腫瘍細胞が増殖する機構に阻害剤が関与してされたものではないし、生体に投薬したときに有効に作用する抗腫瘍物質を探索する実験に係るものとはいうことができないから、引用例1に接した当業者がテトラエチルアンモニウム（TEA）やテトラペンチルアンモニウム（TpeA）と同様の腫瘍細胞増殖抑制作用が得られることを期待して、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤の範疇に属する他の化合物を試みようとする動機付けがあるとはいえない。

また、引用例1にも引用例2にも、テトラエチルアンモニウム塩に代えてテトラブチルアンモニウム塩を採用することを想起させるような記載はないし、腫瘍治療に有効な成分の開発につながることを期待して、腫瘍細胞増殖作用を有する新たな薬剤を探索するという、医療分野の当業者に自明な技術的課題が、引用例1、2の記載に基づいて本願発明に想到する動機付けとなるものではない。

そうすると、「引用例1に接した当業者は、TpeAおよびTEAと同様に腫瘍細胞増殖抑制作用が得られることを期待して、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤の範疇に包含される他の化合物についても、腫瘍細胞増殖抑制作用の測定を試みることを自然に想起するものである。」との審決の認定判断（5頁）は誤りである。

(2) 前記2のとおり、本願発明はEDHFの作用の阻害等による腫瘍細胞増殖抑制効果に着目してされたものであるところ、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であることと抗EDHF作用を有することとは必ずしも連関しない（すべてのカリウムイ

オンチャンネル阻害剤が抗EDHF作用を有するわけではないし、カリウムイオンチャンネル阻害剤以外の薬剤が抗EDHF作用を有することもある)。

したがって、テトラエチルアンモニウム (TEA) とテトラブチルアンモニウム (TBA) とがいずれも非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であることを示すにすぎない引用例2の記載内容は、生体に投薬したときに有効に作用する抗腫瘍物質としてテトラブチルアンモニウムを選択する動機付けとなるものではない。仮に本願発明の腫瘍細胞抑制効果が非選択的にカリウムイオンチャンネルを阻害することにあるのであれば、テトラブチルアンモニウムよりテトラペンチルアンモニウムの方が効果が大きいことになるはずである。

そうすると、「引用例1発明におけるTEAと同様に腫瘍細胞増殖抑制作用が得られることを期待して、TEAの代わりに、TEAと同様に非選択的 $K^+$ チャンネル阻害活性を有することが本願出願日前に知られているTBAを用い、本願発明の構成を得ることは、当業者が容易に想到しえた事項である。」との審決の判断(5頁)は誤りである。

なお、審決は本願発明の作用効果を正しく認定・評価していない。

#### 第4 取消事由に対する被告の反論

##### 1 取消事由1に対し

引用例1の $[^3H]$ チミジン取込み及び細胞増殖の実験に係る記載(訳文3頁下から6行~4頁上から5行)及び本件出願当時の技術常識(甲3の10頁,乙1の27~29頁)によれば、引用例1で用いられた培地RPMI640にテトラエチルアンモニウム塩が存在することは明らかである。また、引用例1の55頁「Summary」(要約,訳文の1頁1~6行),57,58頁「Results」(結果,訳文6頁19~21行)にも、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウムが腫瘍細胞の増殖を抑制したことが記載されている。そうすると、引用例1にテトラエチルアンモニウム塩を腫瘍細胞増殖抑制剤の用途に用いることが記載され

ていることは明らかである。

そして、本願発明の請求項 1 の特許請求の範囲では、投薬により生体内組織で友好に作用する腫瘍細胞増殖抑制剤に限定しているわけではない一方、生体内組織で有効に作用する腫瘍細胞増殖抑制剤の一次スクリーニングとして、生体外 (in vitro) で腫瘍細胞を用いて実験し、抗腫瘍活性を評価するという手法を用いることは当業者の常識である。培地 RPMI 1640 及び結腸癌由来の腫瘍細胞 (癌細胞) DLD-1 を用い、抗腫瘍活性を評価することも、抗腫瘍活性の評価において [<sup>3</sup>H] チミジン取込みの実験結果を利用することも、いずれも当業者がよく用いる試験法にすぎない。しかるに、引用例 1 では非選択的 K<sup>+</sup>チャネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩が生体外ではあっても腫瘍細胞の増殖を抑制したことが記載されているから、引用例 1 に接した当業者は、テトラエチルアンモニウム塩が、生体外の腫瘍細胞に止まらず、生体内組織でも有効に作用する腫瘍細胞増殖抑制剤の実験が記載されていると認識することができる。

なお、腫瘍細胞増殖抑制剤の候補物質を生体内組織に適用するに当たって (2 次スクリーニング)、生体の重大な障害が生じないようにすることは当業者が当然に考慮すべき事項にすぎない (乙 2 参照)。そうすると、生体外の腫瘍細胞に対して用いられた腫瘍細胞増殖抑制剤の候補物質が高濃度であったとしても、当業者が投与径路、投与スケジュール、投与量を適宜調整して生体への適用を試みるのは当然であって、引用例 1 に接した当業者が、テトラエチルアンモニウム塩が、生体外の腫瘍細胞に止まらず、生体内組織でも有効に作用すると認識する上で格別支障にならない。

よって、引用例 1 に「非選択的 K<sup>+</sup>チャネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明 (引用例 1 発明) が記載されているとした審決の認定に誤りはない。

## 2 取消事由 2 に対し

(1) 審決は、本願発明と引用例 1 発明とが腫瘍細胞の増殖を抑制する作用機序

の点で一致すると認定したわけではなく、本願発明の有効成分「テトラブチルアンモニウム塩」と引用例1発明の「テトラエチルアンモニウム塩」とが「非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤」の範疇に属する薬剤として一致する旨を認定したにすぎない。したがって、両者の間に腫瘍細胞の増殖を抑制する作用機序の点で差異があるとしても、引用例1発明に基づく進歩性の有無の判断に影響しない。

ところで、本願明細書（甲4）の段落【0007】には、「非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるテトラブチルアンモニウム」との記載があるから、本願発明にいう「テトラブチルアンモニウム塩」が「非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤」であることは明らかである。他方で、引用例1の「テトラエチルアンモニウム塩」は「非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤」であることが明らかであるから（甲1の55頁「Summary」（要約）、訳文の1頁3、4行）、審決がした本願発明と引用例1発明の一致点の認定に誤りはない。

(2) 前記1のとおり、引用例1には「非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明（引用例1発明）が記載されているから、審決には本願発明と引用例1発明の相違点の看過はない。

### 3 取消事由3に対し

(1) そもそも、腫瘍治療に有効な薬剤の開発につながることを期待して、腫瘍細胞増殖抑制作用を有する新たな薬剤（化合物）を探索することは、医療分野の当業者に自明な技術的課題である。

そして、引用例1（甲1）には、非選択的K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤の範疇に属する薬剤（化合物）のうち、テトラペンチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウムという複数の薬剤が、結腸癌由来の腫瘍細胞（癌細胞、カルシノーマ）DLD-1の増殖を抑制したとの実験結果（57、58頁「Results」（結果）、訳文6頁19～21行）や、カリウムイオンチャンネル活性が上記腫瘍細胞の増殖に重要な関与を果たしていること（61頁「Discussion」（考察）、訳文15頁18～23行）が記載され

ている。

そうすると、引用例 1 に接した当業者は、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤の範疇に属するテトラペンチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム以外の薬剤のなかに、腫瘍細胞増殖抑制作用を有する新たな化合物があることを容易に理解することができ、したがって、テトラペンチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム以外の非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤を探索しようとする動機付けがある。

ところで、引用例 2（甲 2）に記載されているとおり、テトラブチルアンモニウムも非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であり、かつテトラエチルアンモニウムと化学構造が酷似しているから、引用例 2 に接した当業者であれば、引用例 1 の腫瘍細胞増殖抑制効果の実験において、テトラエチルアンモニウムに代えてテトラブチルアンモニウムを採用することを自然に想起するものである。

(2) 前記 2 のとおり、審決はテトラエチルアンモニウムとテトラブチルアンモニウムがいずれも非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤である点に着目して進歩性判断を行ったもので、当業者が本願発明の抗 EDHF 作用に着目しなければ、引用例 1 発明から本願発明に想到できないわけではない。また、引用例 1 の記載からは、本願発明にいうテトラブチルアンモニウム塩がテトラペンチルアンモニウム塩よりも腫瘍細胞増殖抑制作用が小さいか否かは不明である。

(3) 以上のとおり、本件出願当時、引用例 1 発明に引用例 2 発明を適用することにより、当業者において本願発明と引用例 1 発明の相違点に係る構成に容易に想到することができたというべきであり、この旨の審決の判断に誤りはない。

そして、引用例 1 にはカリウムイオンチャンネル活性が腫瘍細胞の増殖に重要な関与を果たしていることが記載されているから、非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤の範疇に属するテトラブチルアンモニウム塩がテトラエチルアンモニウム塩、テトラペンチルアンモニウム塩と同様に、腫瘍細胞増殖抑制作用を有することは当業者が容易に予測できる事項にすぎない。他方、本願明細書にはテトラブチルアンモニウム塩がテトラエチルアンモニウム塩、テトラペンチルアンモニウム塩に比して際だって

優れた腫瘍細胞増殖抑制作用を有することを示す記載はなく、本願発明の作用効果は格別顕著なものではない。

## 第5 当裁判所の判断

### 1 取消事由1（引用例1発明の認定の誤り）について

(1) 原告は、審決が引用例1には「非選択的 $K^+$ チャネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明が記載されているとした認定に誤りがあると主張するところ、「Activity of voltage-gated  $K^+$  channels is associated with cell proliferation and  $Ca^{2+}$  influx in carcinoma cells of colon cancer」（電位依存性 $K^+$ チャネルの活性と、結腸癌の癌細胞の細胞増殖及び $Ca^{2+}$ 流入との関連）と題する学術文献である引用例1には、次のとおりの記載がある。

・ 55頁「Summary」（要約）（訳文1頁要約部分）

「Cell proliferation of carcinoma cells DLD-1 derived from colon cancer as measured by [ $^3H$ ] thymidine incorporation was drastically reduced in the presence of 4-aminopyridine, an inhibitors of voltage-gated  $K^+$  channel. A number of nonspecific  $K^+$  channel inhibitors including TPeA, TEA, verapamil and dilitiazem also inhibited [ $^3H$ ] incorporation at the concentration reported to inhibit voltage-gated  $K^+$  channels. The presence of voltage-gated  $K^+$  channels was confirmed by reverse transcription-PCR and cDNA sequencing. Charybdotoxin and iberiotoxin, inhibitors for  $Ca^{2+}$ -sensitive  $K^+$  channel, and glibenclamide, a specific inhibitor for ATP-sensitive  $K^+$  channel, did not have effect on cell proliferation. These experiments suggested a critical role of voltage-gated  $K^+$  channels in proliferation of colon cancer cells. Mechanism of action of  $K^+$  channel activity in cell proliferation was explored by studying the relationship between the  $K^+$  channel activity and  $Ca^{2+}$  entry. The results from experiments indicated that  $K^+$  channel inhibitors blocked [ $Ca^{2+}$ ]i influx. Therefore, it is likely that  $K^+$  channel activity may modulate  $Ca^{2+}$  influx into

colon cancer cells, and subsequently modulate the proliferation of these cells.]

( $[^3\text{H}]$  チミジン取り込みにより測定された場合の結腸癌由来の癌細胞 (カルシノーマ) DLD-1 の細胞増殖は, 電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルの阻害剤である4-アミノピリジンの存在によって強く減少した。TPeA (テトラペンチルアンモニウム), TEA (テトラエチルアンモニウム), ベラパミルやジルチアゼムを含むいくつかの非特異的 $\text{K}^+$ チャネル阻害剤もまた, 電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルを阻害すると報告された濃度において,  $[^3\text{H}]$  チミジン取り込みを阻害した。電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルの存在は, 逆転写PCR及びcDNAシーケンシングにより確認した。 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性 $\text{K}^+$ チャネルの阻害剤であるカリブドトキシシン及びイベリオトキシシン, 並びにATP感受性 $\text{K}^+$ チャネルの特異的阻害剤であるグリベンクラミドは, 細胞増殖に影響しなかった。これらの実験は, 電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルが結腸癌細胞の増殖に重要な役割を演じていることを示唆した。細胞増殖における $\text{K}^+$ チャネル活性の作用機序を,  $\text{K}^+$ チャネル活性と $\text{Ca}^{2+}$ 流入との関係を研究することによって調査した。実験結果により $\text{K}^+$ チャネル阻害剤が $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 流入を遮断することが示された。したがって,  $\text{K}^+$ チャネル活性が結腸癌細胞への $\text{Ca}^{2+}$ 流入を調整し, それによって, それらの細胞の増殖を調整するかもしれない。)

- ・ 55頁本文1～3行 (訳文2頁1～3行)

「 $\text{K}^+$  channels have been reported to be involved in the proliferation of many types of cells, including tumor cell lines. Increased potassium channel activity is associated with increased proliferation rates.」

( $\text{K}^+$ チャネルは, 腫瘍細胞株を含む多くの種類の細胞の増殖に関与していることが報告されてきた。カリウムチャネル活性の増加は, 増殖速度の増加と関連している。)

- ・ 56頁26～35行 (訳文3頁下から6行～4頁上から5行)

「 $[^3\text{H}]$  thymidine uptake and cell growth

$10^5$  cells per well were cultured in flat-bottomed 96-well culture plates in 0.25 ml of 90%

RPMI 1640 supplemented with 10% FBS containing 100 U/ml penicillin and 100  $\mu$ g/ml streptomycin. Cells were incubated for 24 hours with or without K<sup>+</sup> channel inhibitors in an atmosphere of 37°C and 5% CO<sub>2</sub> in air. Cultures were pulsed with 1  $\mu$  Ci/well of [<sup>3</sup>H] thymidine, and uptake was measured 6 hours later by harvesting the cells with a multiple cell harvester (Cambridge Technology, Inc. USA). The amount of [<sup>3</sup>H] thymidine incorporated into cellular DNA was measured by a liquid scintillation counter (Beckman LS1801). Some cells without [<sup>3</sup>H] thymidine pulse were harvested directly from the monolayer and counted under phase contrast in a haemocytometer.]

[<sup>3</sup>H] チミジン取込み及び細胞増殖

1 ウェルあたり 10<sup>5</sup>細胞が 0. 25 ml の 100 U/ml ペニシリン及び 100  $\mu$ g/ml ストレプトマイシンを含む 10% FBS 添加 90% RPMI 1640 中で、平底 96 ウェル培養皿上で培養された。細胞は 37°C、大気中 5% CO<sub>2</sub> の雰囲気下で 24 時間、K<sup>+</sup>チャネル阻害剤の存在下又は非存在下で培養された。培養物を、[<sup>3</sup>H] チミジンの 1  $\mu$  Ci / ウェルで刺激し、multiple cell harvester (細胞収集器, Cambridge Technology, Inc. USA 製) で収集して、取込み (uptake) を 6 時間後に測定した。細胞の DNA に取り込まれた [<sup>3</sup>H] チミジンの量を液体シンチレーションカウンター (Beckman, LS1801) で測定した。[<sup>3</sup>H] チミジン刺激なしのいくつかの細胞を、単分子層から直接収集し、ヘモサイトメーターの位相差で計測した。)

- 57 頁下から 2 行 ~ 58 頁 8 行 (訳文 6 頁下から 12 行 ~ 最終行)

「Tetraethylammonium (TEA) and tetrapentylammonium (TPeA) are nonspecific K<sup>+</sup> channel blockers which inhibit K<sub>Ca</sub>, K<sub>ATP</sub> and K<sub>V</sub>. We found that 50  $\mu$  M TPeA almost completely blocked cell proliferation while 20mM TEA inhibited cell proliferation to 66% of its original value. Table 1 shows that [<sup>3</sup>H] thymidine incorporation is also significantly reduced in the presence of 100  $\mu$  M verapamil or 100  $\mu$  M diltiazem. The effect of K<sup>+</sup> channel inhibitors on cell proliferation was further confirmed by counting the cell number

after 30 hours of inhibitor treatment, the cell growth was inhibited to a percentage close to that in [<sup>3</sup>H] thymidine incorporation study (data not shown). The cultured cells appeared to be healthy after treating with channel inhibitors since cells retained their normal morphology and more than 95% of cells were viable as indicated by 0.2% trypan blue test.]

(テトラエチルアンモニウム (T E A) 及びテトラペンチルアンモニウム (T P e A) は,  $K_{Ca}$ ,  $K_{ATP}$ , 及び $K_V$ を阻害する非特異的 $K^+$ チャンネル阻害剤である。我々は,  $50 \mu M$ のT P e Aがほぼ完全に細胞増殖を阻害するのに対し,  $20 mM$ のT E Aは細胞増殖を本来の66%に阻害することを見いだした。表1は [<sup>3</sup>H] チミジンの取込みが $100 \mu M$ のベラパミル又は $100 \mu M$ のジルチアゼムの存在下で著しく減少することを示す。細胞増殖への $K^+$ チャンネル阻害剤の作用は, さらに30時間の阻害剤での処理後に細胞数を計測することによっても確認し, 細胞増殖は [<sup>3</sup>H] チミジンの取込み実験と近い割合で阻害された (データ示さず)。細胞は正常な形態を維持し, 0.2%トリパンブルー検査で示されるように95%を超える細胞が生存していたので, チャンネル阻害剤で処理した後も培養細胞は健康であるように見受けられた。)

・ 61頁46～52行 (訳文15頁18～26行)

「Through these experiments, a solid linkage has been established between  $K^+$  channel activity and  $Ca^{2+}$  influx. Modulation of  $Ca^{2+}$  influx could then influence the transition from G1 to S during mitosis and affect the cell proliferation.

In conclusion, we have demonstrated that voltage-gated  $K^+$  channel is critically involved in the proliferation of colorectal carcinoma cell line DLD-1. It is likely that  $K^+$  channel activity may modulate  $Ca^{2+}$  influx into these cells, and therefore affect the proliferation of these cells.]

(これらの実験を通して,  $K^+$ チャンネル活性と $Ca^{2+}$ 流入との間の強い関連が確立された。 $Ca^{2+}$ 流入の調節は, 次いで有糸分裂中のG1からSへの移行に影響し, 細胞増殖に影響する可能性がある。

結論として、我々は、電位依存性 $K^+$ チャンネルが、結腸癌細胞株DLD-1の増殖に重要な関与をしていることを示した。 $K^+$ チャンネル活性が、これらの細胞への $Ca^{2+}$ 流入を調節し、そのためにこの細胞の増殖に影響する可能性がある。）

(2) 前記(1)の記載によれば、引用例1には、非選択的（非特異的）カリウムイオンチャンネル阻害剤であるテトラペンチルアンモニウムやテトラエチルアンモニウムが結腸癌由来の腫瘍細胞（癌細胞）であるDLD-1の増殖を抑制することが記載されていることが認められる。ここで、腫瘍細胞DLD-1を用い、 $[^3H]$ チミジン取込みの実験を行って候補物質の抗腫瘍活性を評価するという手法は、当業者が一般的に採用する程度の事柄にすぎない（乙2, 4, 5）。そして、この種の細胞の培養に一般的に使用され、引用例1の実験においても使用された培地RPMI 1640は、塩化ナトリウムや塩化カリウム等の無機塩を含有するから（乙1）、引用例1の実験において用いられたテトラペンチルアンモニウムやテトラエチルアンモニウムが、実験系内で無機塩から遊離した例えば塩化物イオンと塩を構成することは当業者にとって明らかである。

そうすると、引用例1には、「非選択的 $K^+$ チャンネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明（引用例1発明）が記載されているとした審決の認定に誤りはない。

(3) この点、原告は、本願発明が生体内の腫瘍組織に対する実験を経てされたものであるのに対して、引用例1では腫瘍細胞を用いて実験を行っているにすぎず、引用例1にはテトラエチルアンモニウム塩を腫瘍細胞増殖抑制剤の用途に用いる発明は記載されていない旨を主張する。

確かに、引用例1には腫瘍細胞DLD-1に生体外でテトラエチルアンモニウム等を投与した実験の結果が記載されているにすぎず、生体内の腫瘍組織に対する投与については言及されていない。しかしながら、生体外で腫瘍細胞に候補物質を投与して、腫瘍細胞増殖抑制作用といった抗腫瘍作用を確認、評価することも、例えば本願明細書のようにマウスの生体に候補物質を投与して、腫瘍組織の増減から抗

腫瘍作用を確認，評価することも，望ましい候補物質を探索するためのスクリーニングである点に変わりはないのであって，引用例1に接した当業者であれば，引用例1の記載から例えばテトラエチルアンモニウム（塩）が，腫瘍細胞の増殖を抑制し得る候補物質として有望であることを認識することができる。したがって，生体内の腫瘍組織に対する実験を経っていないからといって，引用例1の記載が腫瘍細胞増殖抑制剤の発明に関するものでなくなるわけではない。

他方，本願発明の特許請求の範囲では，生体外の腫瘍細胞に対して増殖抑制効果を有する構成が除外されているわけではないし，本願明細書（甲4）中には血管内皮細胞が産生する内皮由来過分極因子（EDHF）の作用に着目して発明に至った旨の記載があるが（段落【0012】～【0017】），本願明細書の実施例に係る記載（段落【0030】～【0035】）にも，マウスの大腿の腫瘍重量の大小を計測した旨の記載があるだけで，腫瘍組織の血管新生の増減等を実験を通じて検証したことを窺わせる記載は存しない（EDHFの作用の阻害によって腫瘍細胞の血管新生を抑制し，腫瘍組織の増殖を抑制するという機構を検証する実験が記載されているということができないのはもちろんである。）。そうすると，引用例1記載の実験と本願明細書（甲4）記載の実験との間に，原告が主張するような明瞭な技術的な階梯があるかは疑問であるし，いずれにしても審決がした引用例1発明の認定に誤りがあることにはならない。

また，原告は，引用例1の実験では高濃度で抗腫瘍物質が使用されており，生体内に投薬したときに有効に作用する抗腫瘍物質を探索する実験が記載されているとはいえないなどと主張する。しかしながら，当業者が引用例1発明に基づいて新たな発明に想到する場合には，抗腫瘍物質（例えばテトラエチルアンモニウム塩）の投与量を増減して生体へ投与した場合の安全性を確保することが当然に予定されているから，引用例1の実験における抗腫瘍物質の濃度が大きいという一事をもって，引用例1の記載が腫瘍細胞増殖抑制剤の発明に関するものでないとはいえない。本願発明のテトラブチルアンモニウム塩でも，マウスに過剰な量を投与すると，マウ

スが致死するところ（甲4の段落【0030】）、本願発明の特許請求の範囲でも、人体等の生体において望ましい腫瘍細胞増殖抑制効果を奏するテトラブチルアンモニウム塩の量的範囲が特定されているわけではない。

なお、引用例1中に他の非選択的カリウムイオンチャネル阻害剤の方がより高い腫瘍細胞増殖抑制効果を奏する旨の記載があるとしても、テトラエチルアンモニウム塩が腫瘍細胞増殖抑制効果を奏することが記載されていることに変わりはないのであって、引用例1からテトラエチルアンモニウム塩に係る引用例1発明を認定した審決の判断に誤りがあるとはいえない。

したがって、上記原告の各主張をもってしても、審決がした引用例1発明の認定に誤りがあるとはいえない。

(4) 結局、審決がした引用例1発明の認定に誤りはなく、原告が主張する取消事由1は理由がない。

## 2 取消事由2（一致点・相違点の認定の誤り）について

前記1のとおり、審決がした引用例1発明の認定に誤りはないから、この認定を前提とする引用例1発明と本願発明の一致点・相違点の認定にも誤りはない。

そして、審決は引用例1発明と本願発明の各有効成分の作用機序に着目して両発明の一致点・相違点を認定したわけではなく、「非選択的K<sup>+</sup>チャネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩を有効成分として含有する腫瘍細胞増殖抑制剤」の発明である引用例1発明に、同じく「非選択的K<sup>+</sup>チャネル阻害剤」である「テトラブチルアンモニウム塩」に関する引用例2発明を適用して容易想到性判断を行ったものであるから、引用例1発明と本願発明の各有効成分の作用機序の違いをいう原告の主張は理由がない。

したがって、審決がした引用例1発明と本願発明の一致点・相違点の認定に誤りはなく、原告が主張する取消事由2は理由がない。

## 3 取消事由3（相違点に係る構成の容易想到性判断の誤り）について

(1) 審決も認定するとおり（5頁）、引用例2にはテトラエチルアンモニウム、

テトラブチルアンモニウムのいずれもが非選択的カリウムイオンチャネル阻害剤であり、効率的に阻害作用を発揮することが記載されているから、引用例2に接した当業者において、非選択的カリウムイオンチャネル阻害剤としてテトラエチルアンモニウム塩だけでなくテトラブチルアンモニウム塩も選択することができることを認識し得ることは明らかである。

そして、抗腫瘍効果、腫瘍細胞増殖抑制効果を有する抗腫瘍物質を探索することは、医療分野の当業者にとってごく一般的な技術的課題であるところ、引用例1中には、腫瘍細胞のカリウムイオンチャネル活性が腫瘍細胞の増殖に影響する可能性があるという作用機序(61頁46～52行)、テトラエチルアンモニウムのような非選択的カリウムイオンチャネル阻害剤が腫瘍細胞の増殖を抑制したという実験結果(57頁最終行～58頁8行)が記載されている。加えて、引用例1発明にいうテトラエチルアンモニウム塩と本願発明にいうテトラブチルアンモニウム塩とは、アンモニウムイオンの4つの水素原子をいずれもアルキル基(前者ではエチル基( $-CH_2CH_3$ ), 後者ではブチル基( $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ ))に置き換えた化学構造を有するテトラアルキルアンモニウム塩である点で共通するから、引用例1の記載による限り、当業者が化学構造の類似性に着目して、テトラエチルアンモニウム塩に代えてテトラブチルアンモニウム塩を採用する着想を否定することができない。すなわち、引用例1に接した当業者が、テトラエチルアンモニウム塩に代えて他の非選択的カリウムイオンチャネル阻害剤を採用して腫瘍細胞増殖抑制効果を検証するのは、自然な発想ということが可能であるから、このような引用例1及び2における文献上の記載があつて、着想容易性の可能性があるのに対して、これを覆し、医療分野の当業者にとっての腫瘍細胞増殖抑制剤の進歩性を肯定するには、本願発明の実施例に現れる実験結果を参照しなければならない。

この点を本願明細書(甲4)についてみると、前記認定のように、マウスの大腿の腫瘍重量の大小を計測した旨の記載があるだけで、腫瘍組織の血管新生の増減等を実験を通じて検証したことを窺わせる記載は存しない。また、本願明細書中には、

テトラブチルアンモニウム塩がテトラエチルアンモニウム塩等よりも顕著な腫瘍細胞増殖抑制効果を発揮した旨の記載はない。他方、引用例1にはカリウムイオンチャンネル活性が腫瘍細胞の増殖にとって重要である旨が記載されているから、等しく非選択的カリウムイオンチャンネル阻害剤であるテトラエチルアンモニウム塩の構成（引用例1）をテトラブチルアンモニウム塩の構成（本願発明）に置換することによって奏される腫瘍細胞増殖抑制効果は、引用例1、2から当業者が予測できる範囲を超えるものではない。

そうすると、本件出願当時、医療分野の当業者において、引用例1発明に引用例2発明を適用し、引用例1発明と本願発明の相違点に係る構成に容易に想到することができたというべきである。

(2) 原告は、腫瘍治療に有効な成分の開発につながることを期待して、腫瘍細胞増殖作用を有する新たな薬剤を探索するという、医療分野の当業者に自明な技術的課題が、引用例1、2の記載に基づいて本願発明に想到する動機付けとなるものではないと主張するが、前記(1)のとおり、引用例1には、腫瘍細胞のカリウムイオンチャンネル活性が腫瘍細胞の増殖に影響する可能性があるという作用機序も、非選択的カリウムイオンチャンネル阻害剤が腫瘍細胞の増殖を抑制したという実験結果も記載されているから、引用例1、2との対比において、本願発明の容易想到性を否定することはできない。

また、原告は、本願発明の腫瘍細胞増殖抑制剤と引用例1発明の腫瘍細胞増殖抑制剤の作用機序の違いを主張するが、本願明細書（甲4）自体に「このように命名されたEDHFは、生理学的ならびに病態生理学的に重要であることが近年認識されてきているが、その本体はもとより標的分子についても不明な点が多いとされている。」（段落【0012】）との記載があるし、前記のとおり、本願明細書においても、腫瘍組織の血管新生の増減等を実験を通じて検証したことを窺わせる記載は存しない。また、本願明細書の段落【0020】には、「本発明の血管新生抑制剤としては、内皮由来過分極因子（EDHF）の作用、すなわち、内皮依存性過分極反応

(Endthelium dependent hyperpolarization) を阻害し、血管新生を抑制する物質を有効成分とするものであれば特に制限されるものではないが、微小血管収縮作用を有するものが好ましく、ここで内皮依存性過分極反応とは、内皮のない血管平滑筋には生起せず、内皮のついた血管平滑筋には生じる過分極反応をいう。かかる本発明の血管新生抑制剤としては、内皮細胞等における $K^+$ チャンネルをブロックする $K^+$ チャンネルブロッカーや、局所における $K^+$ 濃度を高めることができる $K^+$ 遊離物質や、・・・を挙げることができ、」との記載があり、段落【0021】には、「上記 $K^+$ チャンネルブロッカーとしては、テトラブチルアンモニウム (tetrabutyl-ammonium) 塩、テトラエチルアンモニウム (tetraethyl-ammonium) 塩、・・・などを挙げることができ、」との記載があるから、本願発明の腫瘍細胞増殖抑制剤と引用例1発明にいう非選択的カリウムイオンチャンネル阻害剤たるテトラエチルアンモニウム塩との間でどの程度の作用効果や具体的な作用機序の相違があるのかにつき、本願発明の発明者においても十分に認識していたかは不明である。そうすると、本願発明がEDHFの作用に着目してされたものとしても、このことの一事をもって本願発明の容易想到性を否定することは困難である。

(3) 結局、審決がした容易想到性判断にも、引用例2の評価にも誤りはなく、原告が主張する取消事由3は理由がない。

## 第6 結論

以上によれば、原告が主張する取消事由はいずれも理由がないから、主文のとおり判決する。

知的財産高等裁判所第2部

裁判長裁判官

---

塩 月 秀 平

裁判官

---

真 辺 朋 子

裁判官

---

田 邊 実