(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2014-528925
(P2014-528925A)
(43)公表日　平成26年10月30日(2014.10.30)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/716	***(2006.01)***	A61K	31/716	4B018
A61K 31/733	***(2006.01)***	A61K	31/733	4C086
A61K 31/718	***(2006.01)***	A61K	31/718	4C206
A61K 31/7016	***(2006.01)***	A61K	31/7016	
A61K 31/047	***(2006.01)***	A61K	31/047	

審査請求 有　予備審査請求 未請求　（全 47 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-526252 (P2014-526252)
(86)(22)出願日　平成24年8月17日 (2012.8.17)
(85)翻訳文提出日　平成26年4月8日 (2014.4.8)
(86)国際出願番号　PCT/US2012/051408
(87)国際公開番号　WO2013/032744
(87)国際公開日　平成25年3月7日 (2013.3.7)
(31)優先権主張番号　61/524,524
(32)優先日　平成23年8月17日 (2011.8.17)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　514039082
マイクロバイオーム　セラピューティクス，エルエルシー
アメリカ合衆国　７０１１２　ルイジアナ州　ニューオーリンズ　カナル　ストリート　１４４１
(74)代理人　100083806
弁理士　三好　秀和
(74)代理人　100095500
弁理士　伊藤　正和
(74)代理人　100111235
弁理士　原　裕子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させるための組成物および製剤の使用

(57)【要約】
バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させるための製剤は、好ましくは、体重kgあたり約20～60 mg/kgの発酵可能繊維、体重kgあたり約10～30 mg/kgのベータグルカン、および体重kgあたり約20～60 mg/kgのブルーベリー抽出物または同様のフェノール類を含有する果物もしくはベリー成分調製物由来の総ポリフェノールを含む。この製剤は、好ましくはヒトにおいて、体重、身体組成、および血中ブドウ糖制御を管理するために好ましく使用され、好ましくは1日2回、好ましくは経口で投与される。

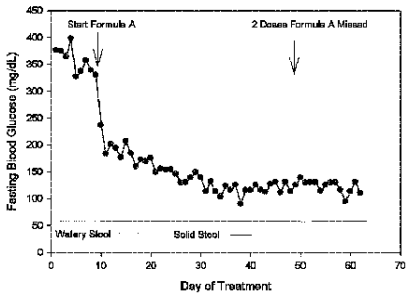

FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
200利用可能カロリー（837キロジュール）未満を有する用量中に、
4gの、胃腸微生物相により発酵可能な消化不能炭水化物；
2gの食物性ベータグルカン；および
700 mgの食物性ポリフェノール化合物
を少なくとも含有する製剤。
【請求項２】
200利用可能カロリー（837キロジュール）未満を有する用量中に、
4gの、胃腸微生物相により発酵可能な消化不能炭水化物；
2gの食物性ベータグルカン；および
4.7gのブルーベリー搾りかす抽出物
を少なくとも含有する製剤。
【請求項３】
前記消化不能炭水化物は、イヌリン、オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、アラビノキシラン、難消化性デンプン、キシロオリゴ糖、キシロオリゴサッカライド、ポリデキストロース、ダイズオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、グルコオリゴ糖、パラチノース、ゲンチオオリゴ糖、ラクチトール、ソルビトール、マルチトール、キシリトール、およびこれらの混合物からなる群から選択され、
前記ベータグルカンは、パン酵母、オートムギ、オオムギ、コムギ、真菌、キノコ、および細菌のうちの少なくとも1つ由来のベータグルカンであり、
前記食物性ポリフェノール化合物は、アントシアニジンおよびフラボノイドのような、ベリー、ブドウ、およびメロンに存在するものを含む、
請求項1に記載の製剤。
【請求項４】
前記用量は150利用可能カロリー（628キロジュール）未満を有する、請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項５】
前記用量は100利用可能カロリー（419キロジュール）未満を有する、請求項4に記載の製剤。
【請求項６】
前記用量は70利用可能カロリー（293キロジュール）未満を有する、請求項5に記載の製剤。
【請求項７】
前記消化不能炭水化物は実質的に純粋なイヌリンである、請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項８】
前記食物性グルカンは、オートムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含む、請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項９】
前記食物性グルカンは、コムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含む、請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項１０】
前記食物性グルカンは、オオムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含む、請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項１１】
前記食物性ポリフェノール化合物は、ブルーベリーから抽出されるものを含む、請求項1または3のいずれかに記載の製剤。
【請求項１２】
前記食物性ポリフェノール化合物は、果物またはベリー成分調製物由来のものである、

請求項1または3のいずれかに記載の製剤。
【請求項１３】
前記消化不能炭水化物は4～40重量%の量で含まれ、
前記食物性グルカンは2～21重量%の量で含まれ、
前記総食物性ポリフェノール化合物は0.5～9重量%の量で含まれる
請求項1または3に記載の製剤。
【請求項１４】
前記消化不能炭水化物は6.5～28重量%の量で含まれ、
前記食物性グルカンは3.5～14重量%の量で含まれ、
前記総食物性ポリフェノール化合物は1～6重量%の量で含まれる
請求項1または3に記載の製剤。
【請求項１５】
前記消化不能炭水化物は8～20重量%の量で含まれ、
前記食物性グルカンは5～10重量%の量で含まれ、
前記総食物性ポリフェノール化合物は1.5～4重量%の量で含まれる
請求項1または3に記載の製剤。
【請求項１６】
(1,3/1,6)βグルカンおよびブルーベリー由来総ポリフェノール抽出物と組み合わせた実質的に純粋なイヌリンを、バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させるために十分な量において含む、食品調製物。
【請求項１７】
請求項16に記載の食品調製物を含む、医療用食品組成物。
【請求項１８】
請求項16に記載の食品調製物を含む薬学組成物であって、経口投与用のものである、薬学組成物。
【請求項１９】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させて、血中ブドウ糖の制御を改善させ、体重および体脂肪%を減少させる方法。
【請求項２０】
体重kgあたり約2～120mgの消化不能炭水化物、
体重kgあたり約2～80mgのベータグルカン、および
体重kgあたり約2～120 mgの、ベリー抽出物または同様のフェノール類を含有する果物もしくはベリー成分調製物由来の総ポリフェノール
を送達する量において、前記製剤を、必要とする対象者に経口投与する、請求項19に記載の方法。
【請求項２１】
体重kgあたり約10～80 mgの消化不能炭水化物、
体重kgあたり約5～50 mgのベータグルカン、および
体重kgあたり約10～80 mgの、ベリー抽出物または同様のフェノール類を含有する果物もしくはベリー成分調製物由来の総ポリフェノール
を送達する量において、前記製剤を、必要とする対象者に経口投与する、請求項19に記載の方法。
【請求項２２】
体重kgあたり約20～60 mgの消化不能炭水化物、
体重kgあたり約10～30 mgのベータグルカン、および
体重kgあたり約20～60 mgの、ベリー抽出物または同様のフェノール類を含有する果物もしくはベリー成分調製物由来の総ポリフェノール
を送達する量において、前記製剤を、必要とする対象者に経口投与する、請求項19に記載の方法。

【請求項２３】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、血中ブドウ糖の制御を改善させ、かつ、ビグアナイドの使用にしばしば付随する下痢副作用を阻止する、方法。
【請求項２４】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、血中ブドウ糖の制御を改善させ、かつ、アルファグルコシダーゼ阻害剤の使用にしばしば付随する下痢副作用を阻止する、方法。
【請求項２５】
請求項1に記載の製剤を、DPP-IV（ジペプチジルペプチダーゼIV型）阻害剤、例えばビルダグリプチン、シタグリプチン、またはこの分類群のその他のものと共に使用することにより、血中ブドウ糖の制御を改善させる方法。
【請求項２６】
過敏性腸症候群（IBS）を治療する方法であって、請求項1に記載の製剤を使用してバクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比を上昇させる、方法。
【請求項２７】
請求項1に記載の製剤を使用してバクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比を上昇させることにより、糞便移植または糞便細菌療法およびその経過観察のためにドナーおよびレシピエントの両方を準備させる方法。
【請求項２８】
請求項1に記載の製剤を使用してバクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比を上昇させることにより、望ましい微生物相の糞便バンキングのためにドナーを準備させる方法。
【請求項２９】
請求項1に記載の製剤を使用してバクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比を上昇させることにより、加齢および紫外線への曝露による白内障の発生を予防または遅延する方法。
【請求項３０】
請求項1に記載の製剤を使用してバクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比を上昇させることにより、ドライアイ症候群（DES）を治療および予防する方法。
【請求項３１】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、大腸におけるSCFAの生成を増加させる方法であって、前記SCFAは、病原性細菌およびウイルスが胃腸管に侵入し棲み付くことを抑制し、肝臓コレステロール生合成を部分的に阻害し、大腸細胞のための栄養分として作用し、大腸pHを低下させ、ミネラル吸収を増加させ、満腹感ホルモンPYYおよびGLP-1の血中への放出を刺激するリガンドとして作用する、方法。
【請求項３２】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、大腸におけるSCFAの生成を増加させる方法であって、前記SCFAの生成の増加が、不活性グレリンの生成および活性グレリンレベルの低下により食欲の減少をもたらす、方法。
【請求項３３】
請求項1に記載の製剤を使用することにより、粘膜保護障壁を維持し、摂取されるブドウ糖およびコレステロールの吸収を減少させ、胃腸免疫系を活性化させる方法。
【請求項３４】
請求項1に記載の製剤を使用してフィルミクテス門の構成員の増殖を抑制することにより、バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させて、血中ブドウ糖の制御を改善させ、体重および体脂肪％を減少させる方法。
【請求項３５】
200利用可能カロリー（837キロジュール）未満を有する用量中に、
a．4gの、例えばイヌリン、オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、アラビノキシラン、キシロオリゴ糖、難消化性デンプン、キシロオリゴサッカライド、ポリデキストロース、ダイズオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、グルコオ

リゴ糖、パラチノース、ゲンチオオリゴ糖、ラクチトール、ソルビトール、マルチトール、キシリトールのような消化不能炭水化物；
b．2gの食物性ベータグルカン；
c．700 mgの食物性ポリフェノール化合物
を少なくとも含む製剤。
【請求項３６】
前記用量は150利用可能カロリー（628キロジュール）未満を有する、請求項35に記載の製剤。
【請求項３７】
前記用量は100利用可能カロリー（419キロジュール）未満を有する、請求項35に記載の製剤。
【請求項３８】
前記用量は70利用可能カロリー（293キロジュール）未満を有する、請求項35に記載の製剤。
【請求項３９】
前記消化不能炭水化物はイヌリンである、請求項35に記載の製剤。
【請求項４０】
前記グルカンはベータグルカンである、請求項35に記載の製剤。
【請求項４１】
前記ポリフェノール化合物は、ブルーベリーから抽出されるものである、請求項35に記載の製剤。
【請求項４２】
動物において、バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させて、血中ブドウ糖の制御を改善させ、体重および体脂肪％を減少させる方法であって、
イヌリン、ベータグルカン、およびポリフェノール化合物からなる群から選択される2つ以上の物質の組合せの有効量を、口当たりの良い食品を産生する目的に十分な食品成分と組み合わせて、
体重kgあたり2.86カロリー（11.97キロジュール）以下を送達し、かつ、体重kgあたり少なくとも30mgのイヌリン（イヌリンが含まれる場合）、体重kgあたり少なくとも15mgのベータグルカン（ベータグルカンが含まれる場合）、および体重kgあたり少なくとも20mgのポリフェノール化合物（ポリフェノール化合物が含まれる場合）を供給する用量において、
前記動物に投与することを含む、方法。
【請求項４３】
前記用量は、体重kgあたり2.14利用可能カロリー（8.96キロジュール）未満を有する、請求項42に記載の方法。
【請求項４４】
前記用量は、体重kgあたり1.43利用可能カロリー（5.99キロジュール）未満を有する、請求項42に記載の方法。
【請求項４５】
前記用量は、体重kgあたり0.83利用可能カロリー（3.47キロジュール）未満を有する、請求項42に記載の方法。
【請求項４６】
動物において、バクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させて、血中ブドウ糖の制御を改善させ、体重および体脂肪％を減少させる方法であって、
イヌリン、ベータグルカン、およびポリフェノール化合物からなる群から選択される2つ以上の物質の組合せの有効量を、医薬用途のために十分な量の医薬賦形剤と組み合わせて、

体重kgあたり2.86利用可能カロリー（11.97キロジュール）以下を送達し、かつ、体重kgあたり少なくとも22mgのイヌリン（イヌリンが含まれる場合）、体重kgあたり少なくとも11mgのベータグルカン（ベータグルカンが含まれる場合）、および体重kgあたり少なくとも10mgの総ポリフェノール化合物（ポリフェノール化合物が含まれる場合）を供給する用量において、
前記動物に投与することを含む、方法。
【請求項４７】
前記用量は、体重kgあたり2.14利用可能カロリー（8.96キロジュール）未満を有する、請求項46に記載の方法。
【請求項４８】
前記用量は、体重kgあたり1.43利用可能カロリー（5.99キロジュール）未満を有する、請求項46に記載の方法。
【請求項４９】
前記用量は、体重kgあたり1.00利用可能カロリー（4.19キロジュール）未満を有する、請求項46に記載の方法。
【請求項５０】
ヒトが少なくとも14日間にわたって実質的に日毎に消費した場合にバクテロイデス門の胃腸微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させるために十分な濃度および量の、以下の3つの成分のうち少なくとも2つを、
体重kgあたり2.86利用可能カロリー（11.97キロジュール）以下を送達し、かつ、体重kgあたり少なくとも20 mgのイヌリン（イヌリンが含まれる場合）、体重kgあたり少なくとも29 mgのベータグルカン（ベータグルカンが含まれる場合）、および体重kgあたり少なくとも20 mgの総ポリフェノール化合物（ポリフェノール化合物が含まれる場合）を供給する用量において含有する製剤：
胃腸微生物相により発酵される消化不能炭水化物であって、イヌリン、オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、アラビノキシラン、難消化性デンプン、およびキシロオリゴ糖からなる群から選択される炭水化物；
パン酵母、オートムギ、オオムギ、コムギ、真菌、キノコ、および細菌由来のベータグルカンである食物性グルカン；ならびに
例えばケルセチン、ミリセチン、カテキン、エピカテキン、ペチュニジン、マルビジン、デルフィニジン、およびシアニジンのような、ベリー類に存在するもののような食物性ポリフェノール化合物。
【請求項５１】
前記用量は、体重kgあたり2.14カロリー（8.96キロジュール）未満を有する、請求項50に記載の製剤。
【請求項５２】
前記用量は、体重kgあたり1.43カロリー（5.99キロジュール）未満を有する、請求項50に記載の製剤。
【請求項５３】
前記用量は、体重kgあたり1.00カロリー（4.19キロジュール）未満を有する、請求項50に記載の製剤。
【請求項５４】
前記製剤の用量が少なくとも1日2回与えられる、請求項19～34および請求項42～49のいずれかに記載の方法。
【請求項５５】
前記製剤の用量が少なくとも1日3回与えられる、請求項19～34、請求項42～49、および請求項54のいずれかに記載の方法。
【請求項５６】
前記製剤の各用量が、食事の前2時間以内に与えられる、請求項54または55に記載の方法。

【請求項５７】
前記製剤の各用量が、食事の前1時間以内に与えられる、請求項55に記載の方法。
【請求項５８】
明細書中の表1の行1および行2に記載された成分のうちの少なくとも2つを、行4に記載された量において含み、前記少なくとも2つの成分は異なる列からのものである、製剤。
【請求項５９】
前記成分は行1に記載されたものである、請求項58に記載の製剤。
【請求項６０】
前記成分は行5に記載された範囲内にある、請求項58または59に記載の製剤。
【請求項６１】
前記成分は行6に記載された範囲内にある、請求項58または59に記載の製剤。
【請求項６２】
前記成分は、ほぼ行7に記載された量である、請求項58または59に記載の製剤。
【請求項６３】
本明細書に実質的に示され、および／または記述されている、発明。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、体重管理および代謝フィットネスに関する。より具体的には、本発明は、ヒトの腸において望ましい微生物相を増加させ、望ましくない微生物相を減少させて、健康的なブドウ糖制御、代謝フィットネス、包括的腸管健康状態、および健康的な体重を達成するための組成物および方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
過去5年間において、国立衛生研究所による、ヒトマイクロバイオームプロジェクト（HMP）と呼ばれる大規模な国際的事業（国際ヒトマイクロバイオームコンソーシアム（IHMC）としてより広く知られている）が、我々の身体中および身体上に住む微生物を解析することに取り組んでいる（http://hmpdacc.org/data_browser.phpを参照）。大腸には推定100兆の微生物が住んでおり、上部胃腸（GI）管により吸収されない食物、薬、および栄養サプリメントを代謝する上で重要な役割を果たしていると見られる。さらに、これらの微生物の中には、健康を維持するために必要な必須の栄養素およびビタミンを産生するものもある。そのような腸管内環境における微生物相互作用は、ヒト宿主の代謝、行動、および免疫の制御系にシグナルを送ることにおいて非常に重要な役割を果たしている。
【０００３】
部分的に解析された最初のGIマイクロバイオームは、肥満の個体および痩身の個体の大便から得られたものである（非特許文献1、2）。フィルミクテス門の微生物相は、痩身のボランティアと比較して、肥満の個体の大便において多い。別の主要な門であるバクテロイデスの微生物相は、痩身の個体において、フィルミクテス門のものよりも多い。従って、肥満および糖尿病のような代謝疾患において、バクテロイデス種に対するフィルミクテス種の豊富さを表す、これら2つの主要細菌群間の不均衡（B:F比）が、不健康な体質量を有する個体の1つの特徴となる。これらの発見は肥満および痩身のマウスにおいて確証されている（非特許文献3）。さらに、肥満または痩身のどちらかの個体のヒト大便から得られたマイクロバイオームを、無菌マウスに接種することができる。標準的マウス飼料で飼育すると、そのGI微生物相移植の供給源に依存して、肥満となるかまたは痩身を維持する（非特許文献4）。ヒトGI微生物相を移植したマウスは、単純な糖および脂肪に富んだ飼料で数週間飼育すると肥満となる。脂肪も糖も少ないが植物多糖類が豊富である食事に切り替えると、これらのマウスのB:F比は上昇する（非特許文献5、6）。
【０００４】
バクテロイデス門に属する微生物相は、炭水化物を輸送し代謝するスペシャリストである（非特許文献7）。これらは、周囲にあるあらゆる利用可能な炭水化物を食べあさるよ

うである。しかしながら、ほとんどの糖およびデンプンは、宿主によって代謝され、上部GIにより吸収される。（宿主により）消化不能である炭水化物は、下部GIに達し、そこでバクテロイデスの構成員によって消費される。この過程の最終産物は短鎖脂肪酸（small chain fatty acids（SCFA））であり、これは宿主にとっての健康的利益があるものである。これらの消化不能炭水化物の多くは植物多糖類、あるいはより一般的に繊維または難消化性デンプンと呼ばれるものであり、プレバイオティクスとして分類される（非特許文献8）。高繊維食を維持している子供の大便において特徴付けられるマイクロバイオームは、典型的なヨーロッパ式食事を食べている子供の大便において見られるものと比較して、より高いB:F比を有する（非特許文献9）。

【０００５】

以下の米国およびその他の特許文献は、参照により本明細書に組み入れられる。

【０００６】

上記および下記において引用する以下の文献も、参照により本明細書に組み入れられる

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】US20020009436 「Methods and compositions for inhibiting adhesion by microorganisms」

【特許文献２】US20040132164 「Methods and compositions for inhibiting adhesion by microorganisms」

【特許文献３】US20050239706 「Modulation of fiaf and the gastrointestinal microbiota as a means to control energy storage in a subject」

【特許文献４】US20070036836 「Amino acid supplementation for a healthy microbiota ecosystem」

【特許文献５】US20070196890 「Prebiotic effect analysis」

【特許文献６】US20080102162 「Prebiotic Preparation」

【特許文献７】US20080261916 「Synergistic Prebiotic Compositions」

【特許文献８】US20080274127 「AMINO ACID SUPPLEMENTATION FOR A HEALTHY MICROBIOTA ECOSYSTEM」

【特許文献９】US20090142442 「GUT MICROBIOTA IN INFANTS」

【特許文献１０】US20090148414 「Novel Composition to Improve Gut Health and Animal Performance and Methods of Making the Same」

【特許文献１１】US20090170141 「GHRELIN O-ACYLTRANSFERASE (GOAT) BIOCHEMICAL ASSAY」

【特許文献１２】US20100048595 「USE OF ARCHAEA TO MODULATE THE NUTRIENT HARVESTING FUNCTIONS OF THE GASTROINTESTINAL MICROBIOTA」

【特許文献１３】US20100086527 「SYNBIOTIC TO IMPROVE GUT MICROBIOTA」

【特許文献１４】US20100086955 「Small Molecule Inhibitors of Ghrelin O-Acyltransferase」

【特許文献１５】US20100129816 「Microbial Population Analysis」

【特許文献１６】US20100172874 「GUT MICROBIOME AS A BIOMARKER AND THERAPEUTIC TARGET FOR TREATING OBESITY OR AN OBESITY RELATED DISORDER」

【特許文献１７】US20100254949 「PREBIOTIC OLIGOSACCHARIDES」

【特許文献１８】US20100317573 「PEDIATRIC FIBER MIXTURE」

【特許文献１９】US20110009359 「USE OF NON-DIGESTIBLE CARBOHYDRATES FOR IMPROVING INTESTINAL MICROBIOTA」

【特許文献２０】US20110034407 「USE OF SPHINGOMYELIN AND NON-DIGESTIBLE CARBOHYDRATES FOR IMPROVING INTESTINAL MICROBIOTA」

【特許文献２１】US20110123501 「GUT FLORA AND WEIGHT MANAGEMENT」

【特許文献２２】US20050239706 「MODULATION OF FIAF AND THE GASTROINTESTINAL MICR

OBIOTA AS A MEANS TO CONTROL ENERGY STORAGE IN A SUBJECT」
【特許文献２３】US20110280840 「COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING OBESITY AND RELATED DISORDERS BY CHARACTERIZING AND RESTORING MAMMALIAN BACTERIAL MICROBIOTA」
【特許文献２４】US20120027724 「METHODS OF TREATING IMPAIRED GLUCOSE METABOLISM VIA ADMINISTRATION OF ALGAL BIOMASS」
【特許文献２５】US20120058094 「COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING OBESITY AND RELATED DISORDERS BY CHARACTERIZING AND RESTORING MAMMALIAN BACTERIAL MICROBIOTA」
【特許文献２６】US20120135957 「COMPOSITIONS CONTAINING MIXTURES OF FERMENTABLE FIBERS」
【特許文献２７】WO/2012/024638 A2 「COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING OBESITY AND RELATED DISORDERS BY CHARACTERIZING AND RESTORING MAMMALIAN BACTERIAL MICROBIOTA」
【特許文献２８】WO/2011/107482 A9 「METHOD OF DIAGNOSTIC OF OBESITY」
【特許文献２９】WO/2011/103123 A2 「REDUCING SHORT-CHAIN FATTY ACIDS AND ENERGY UPTAKE IN OBESE HUMANS BY MANAGING THEIR INTESTINAL MICROBIAL COMMUNITIES」
【特許文献３０】WO/2011/022660 A1 「METHODS OF DIAGNOSING AND TREATING MICROBIOME-ASSOCIATED DISEASE USING INTERACTION NETWORK PARAMETERS」
【特許文献３１】WO/2008/076696 A2 「THE GUT MICROBIOME AS A BIOMARKER AND THERAPEUTIC TARGET FOR TREATING OBESITY OR AN OBESITY RELATED DISORDER」
【特許文献３２】WO/2008/076696 A3 「THE GUT MICROBIOME AS A BIOMARKER AND THERAPEUTIC TARGET FOR TREATING OBESITY OR AN OBESITY RELATED DISORDER」
【特許文献３３】WO/2010/002890 A2 「METHODS OF PROMOTING WEIGHT LOSS AND ASSOCIATED ARRAYS」
【特許文献３４】WO/2010/002890 A3 「METHODS OF PROMOTING WEIGHT LOSS AND ASSOCIATED ARRAYS」
【特許文献３５】WO/2010/151842 A2 「METHODS AND SYSTEMS FOR PHYLOGENETIC ANALYSIS」
【特許文献３６】EP2102350 A2 「THE GUT MICROBIOME AS A BIOMARKER AND THERAPEUTIC TARGET FOR TREATING OBESITY OR AN OBESITY RELATED DISORDER」
【非特許文献】
【０００８】
【非特許文献１】Peter J. Turnbaugh, Ruth E. Ley, Michael A. Mahowald, Vincent Magrini, Elaine R. Mardis, Jeffrey I. Gordon. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444, 1027-1031, 2006.
【非特許文献２】Peter J. Turnbaugh, Micah Hamady, Tanya Yatsunenko, Brandi L. Cantarel, Alexis Duncan, Ruth E. Ley, Mitchell L. Sogin, William J. Jones, Bruce A. Roe, Jason P. Affourtit, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457, 480-484, 2008.
【非特許文献３】Ruth E. Ley, Fredrik Backhed, Peter Turnbaugh, Catherine A. Lozupone, Robin D. Knight, and Jeffrey I. Gordon. Obesity alters gut microbial ecology. PNAS 102: 11070-11075, 2005.
【非特許文献４】Peter J. Turnbaugh, Ruth E. Ley, Michael A. Mahowald, Vincent Magrini, Elaine R. Mardis & Jeffrey I. Gordon. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444: 1027-1031, 2006.
【非特許文献５】Andrew L. Goodman, George Kallstrom, Jeremiah J. Faith, Alejandro Reyes, Aimee Moore, Gautam Dantas, and Jeffrey I. Gordon. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. PNAS 108: 6252-6257, 2011

【非特許文献６】Peter J. Turnbaugh, Vanessa K. Ridaura, Jeremiah J. Faith, Federico E. Rey, Rob Knight, and Jeffrey I. Gordon. The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. Sci Transl Med 1: 1-10, 2009.
【非特許文献７】Justin L. Sonnenburg, Jian Xu, Douglas D. Leip, Chien-Huan Chen, Benjamin P. Westover, Jeremy Weatherford, Jeremy D. Buhler, and Jeffrey I. Gordon. Glycan Foraging in Vivo by an Intestine-Adapted Bacterial Symbiont. Science 307: 1955-1959, 2005.
【非特許文献８】Glenn R. Gibson, Hollie M. Probert, Jan Van Loo, Robert A. Rastall and Marcel B. Roberfroid. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr. Res. Rev. 17: 259-275, 2004.
【非特許文献９】Carlotta De Filippo, Duccio Cavalieri, Monica Di Paola, Matteo Ramazzotti, Jean Baptiste Poullet, Sebastien Massart, Silvia Collini, Giuseppe Pieraccini, and Paolo Lionetti. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. PNAS 107: 14691-14696, 2010.
【非特許文献１０】Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. 1999 Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 402: 656-60.
【非特許文献１１】Carine De Vriese, Francoise Gregoire, Roger Lema-Kisoka, Magali Waelbroeck, Patrick Robberecht and Christine Delporte. Ghrelin Degradation by Serum and Tissue Homogenates: Identification of the Cleavage Sites. Endocrinol 145: 1 4997-5005, 2005.
【非特許文献１２】Carlotta Gauna, Rosalie M. Kiewiet, Joop A. M. J. L. Janssen, Bedette van de Zande, Patric J. D. Delhanty, Ezio Ghigo, Leo J. Hofland, Axel P. N. Themmen, and Aart Jan van der Lely. Unacylated ghrelin acts as a potent insulin secretagogue in glucose-stimulated conditions Am J Physiol Endocrinol Metab 293: E697-E704, 2007.
【非特許文献１３】Gutierrez, J. A. et al. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. Proc Natl Acad Sci U SA 105, 6320-5 (2008).
【非特許文献１４】Yang, J., Brown, M.S., Liang, G., Grishin, N.V. & Goldstein, J.L. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. Cell 132, 387-96 (2008).
【非特許文献１５】Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N, Minamitake Y, Tanaka S, Matsuo H, Kojima M, Hayashi Y, Kangawa K. Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. Biochem Biophys Res Commun. 2001 Sep 14;287(1): 142-6.
【非特許文献１６】Kirchner, H., Gutierrez, J.A., Solenberg, P.J., Pfluger, P.T., Czyzyk, T.A., Willency, J.A., Schurmann, A., Joost, H.G., Jandacek, R.J., Hale, J.E., et al. (2009). Nat. Med. 15, 741-745.
【非特許文献１７】Yvette van Kooyk and Gabriel A Rabinovich. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses. Nat Immunol 9: 593-601, 2008.
【非特許文献１８】Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Remesy, and Liliana Jimenez. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr 79:727-47, 2004.
【非特許文献１９】Kathrin Kahle, Michael Kraus, Wolfgang Scheppach, Matthias Ackermann, Friederike Ridder, and Elke Richling. Studies on apple and blueberry fruit constituents: do the polyphenols reach the colon after ingestion? Mol. Nutr. Food Res. 50: 418-423, 2006.

【非特許文献２０】R. Puupponen-Pimia, L. Nohynek, C. Meier, M. Kahkonen, M. Heinonen, A. Hopia, and K.-M. Oksman-Caldentey. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. J Appl Microbiol 90: 494-507, 2001.
【非特許文献２１】R. Puupponen-Pimia, L. Nohynek, S. Hartmann-Schmidlin, M. Kahkonen, M. Heinonen, K. Maatta-Riihinen and K.-M. Oksman-Caldentey. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. J Appl Microbiol 98: 991-1000, 2005.
【非特許文献２２】U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2010. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Home Page, http://www.ars.usda.gov/nutrientdata
【非特許文献２３】A.J. Stull, K.C. Cash, W. D. Johnson, C. M. Champagne, and W. T. Cefalu. Bioactives in Blueberries Improve Insulin Sensitivity in Obese, Insulin-Resistant Men and Women. J. Nutr. 140: 1764-1768, 2010.
【非特許文献２４】K.B.M.S Islam, S. Fukiya, M. Hagio, N. Fujii, S. Ishizuka, T. Ooka, Y. Ogura, T. Hayashi, A. Yokota. Bile Acid is a Host Factor that Regulates the Composition of the Cecal Microbiota in Rats, Gastroenterology (2011), doi:10.1053/j.gastro.2011.07.046.
【非特許文献２５】L. Agot Lia, G. Hallmans, A. Sandberg, B. Sundberg, P. Aman, and H. Andersson. Oat Beta glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. Am J Clin Nutr 1995;62:1245-51.
【非特許文献２６】American Diabetes Association. Diabetes Care. 2012;35(suppl. 1):S11-S63.
【非特許文献２７】Nandona P, Fonseca V, Mier A, Beckett A. Diarrhea and metformin in a diabetic clinic. Diabetes Care. 1983:6:472-4.
【非特許文献２８】M. Rajilic-Stojanovic, E. Biagi, H.G.H.J. Heilig, K. Kajander, R.A. Kekkonen, S. Tims, and W.M. de Vos. Global and Deep Molecular Analysis of Microbiota Signatures in Fecal Samples from Patients with Irritable Bowel Syndrome. Gastroenterology 2011 Nov;141(5):1792-801.
【非特許文献２９】T.J. Borody and A. Khoruts. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology 9, 88-96, 2012.
【非特許文献３０】A. Vrieze, E. van Nood, F. Holleman, J. Salojarvi, R.S. Kootte, J.F.W.M. Bartelsman, G.M. Dallinga-Thie, M.T. Ackermans, M.J. Serlie, R. Oozeer, M. Derrien, A. Druesne, J.E.T. van Hylckama Vlieg, V.W. Bloks, A.K. Groen, H. G.H.J. Heilig, E.G. Zoetendal, E.S. Stroes, W.M. de Vos, J.B.L. Hoekstra, M. Nieuwdorp. Transfer of Intestinal Microbiota from Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Subjects with Metabolic Syndrome. Gastroenterology (2012), doi: 10.1053/j.gastro.2012.06.031.
【非特許文献３１】M. Oresic, T. Seppanen-Laakso, L. Yetukuri, F. Backhed, and V. Hanninen. Gut microbiota affects lens and retinal lipid composition. Experimental Eye Research 89 (2009) 604-607.
【非特許文献３２】M. Rolando and M. Zierhut. The Ocular Surface and Tear Film and Their Dysfunction in Dry Eye Disease. Survey of Opthalamology 45, Suppl 2, S203-S210, 2001.

【発明の概要】

【０００９】

本発明は、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させるための組成物および製剤の使用を含む。

【図面の簡単な説明】

【００１０】
本発明の性質、課題、および利点のさらなる理解のために、下記の詳細な説明を、図面とともに読みながら参照するべきであり、図面の説明は以下の通りである。
【図１】図1は、60日間の処置にわたる空腹時血糖値を示す。
【図２】図2は、60日間の処置にわたる空腹時血糖値を10日ずつの期間に分割したものを示す。
【発明を実施するための形態】
【００１１】
本発明の一側面は、イヌリン、オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、難消化性デンプンのような消化不能炭水化物を製剤に含ませることである。バクテロイデス種のための食物を提供してそれらの増殖を選別することに加えて、大腸における短鎖脂肪酸（short chain fatty acids（SCFA））の生成が、病原性の細菌およびウイルスが胃腸管に侵入して棲み着くことを抑制し、肝臓のコレステロール生合成を部分的に阻害し、大腸細胞のための栄養分として作用し、大腸pHを低下させ、ミネラル吸収を増加させ、血中へのペプチドYY（PYY）およびグルカゴン様ペプチド1（GLP-1）の放出を刺激するリガンドとして作用する。
【００１２】
PYYおよびGLP-1は、大腸から産生され血中に放出されるホルモンである。PYYは満腹感のシグナルとなる。GLP-1は、インスリン分泌細胞のブドウ糖感受能を刺激し、その細胞のアポトーシスを防ぎ、それら膵ベータ細胞の増殖を刺激し、胃内容排出を抑制する。GLP-1も満腹感を促進するが、これは胃内容排出を減少させるその重要な役割によるものであり得る。
【００１３】
グレリンは、胃によって分泌され食欲を刺激するホルモンである。グレリンがユニークである理由は、その受容体（GHS-R1a）に結合して引き金となるために第3残基において中鎖脂肪酸（MCFA）でアシル化されなければならないということである（非特許文献10）。オクタン性（C-8）またはデカン性（C-10）MCFAを含むグレリンは活性グレリンの最も一般的な形態である（非特許文献10）。脂肪酸をグレリン骨格に繋げるアシル結合を切断して、食欲および栄養分消費に関してグレリンを不活性化するが（非特許文献11）、T2DMの治療のためには有益となり得る（非特許文献12）循環カルボキシルエステラーゼも存在する。グレリンを合成する胃細胞におけるアシル化酵素は約3年前に同定され（非特許文献13、14）、現在いくつかのグループが創薬ターゲットとしている。GOAT（グレリンO-アシルトランスフェラーゼ）と呼ばれるこの酵素は、MCFAに対する高い親和性を有するが、様々な長さの脂肪酸でグレリンをアセチル化できる。GOATがMCFAを好むだけでなく、MCFAでアシル化されたグレリンは、短鎖脂肪酸または長鎖脂肪酸のどちらかで強制的に合成されたグレリンよりもはるかに強力である（非特許文献15）。興味深いことに、循環する中鎖脂肪酸のレベルは、どの時点においても、長鎖脂肪酸と比べて比較的低い。これは主に食事の結果である。現代の食事およびほとんどの食品は長鎖脂肪酸に富んでいる。MCFAはヤシ油およびヒトの母乳において豊富である。短鎖脂肪酸（SCFA）もまた食物連鎖中においては稀であり、バターおよびココナツ中に少量見出される。しかしながら、短鎖脂肪酸は、バクテロイデス門の微生物相による多糖類消費の副産物として、大腸中のマイクロフローラによって多量産生される。GOATはSCFAを用いてグレリンをアシル化することができ、このホルモンをその受容体に関して不活性化させ得ることを最近の証拠は示している（非特許文献16）。
【００１４】
従って、本発明の別の新規な側面は、GOATのための基質として作用し、不活性グレリンを生じさせ、結果として食欲を減少させるSCFAの、微生物相による生成を著しく増強させるように設計された製剤である。
【００１５】
本発明の諸側面は炭水化物を集める大腸微生物相の群を増加させることを狙ったもので

あるが、これらの微生物は、栄養分の利用可能状況に応じて、その炭水化物収穫活性を食事由来の多糖類から宿主の多糖類へと方向転換する可能性がある（非特許文献7）。大腸の粘液層はムチンから構成されており、ムチンは糖タンパク質であって0結合型オリゴ糖鎖あるいは0-グリカンを有し、これらはムチンの質量の最大80%を占める（非特許文献17）。この粘液層は胃腸上皮を覆い、そこにおいて、豊富に存在する腸管内マイクロバイオームだけでなくあらゆる病原体に対する保護層を提供している。マイクロバイオーム生育地におけるそのようなグリカンの内因性供給源は、代替的な栄養分となり得る。しかしながら、食事由来のグリカンが存在するときは、食事からのエネルギー収穫の方が好まれると見られる（非特許文献7）。

【００１６】

最近、胆汁酸塩が盲腸微生物相に対して静菌性であるという証拠が提示された（非特許文献24）。さらに、そのデータは、胆汁酸塩に対してバクテロイデス門の微生物相が最も敏感であることを示している。胆汁酸塩の腸管への分泌は脂肪の摂取によって刺激される。すなわち、脂肪含有食品の摂取が胆汁分泌を増加させ、それがバクテロイデス微生物相の数を減少させる。粘稠性のベータグルカンは胆汁酸を被包または捕捉し（非特許文献25）、従って、脂肪摂取時であってもバクテロイデスの構成員を維持させる能力を有する。

【００１７】

従って、本発明の重要な一側面は、食物性グリカンを含む。ほとんどは消化不能炭水化物である。グリカンは酵母の細胞壁においても豊富であるため、食物性グリカンの1つの供給源は酵母である。他の供給源としては、食物性ベータグルカンが含まれる。ベータグルカンは天然の多糖類であり、最も一般的にはオートムギ、オオムギ、およびコムギから単離することができるが、パン酵母、ある種の真菌類、キノコ、および細菌からも単離され得る。ベータグルカンの添加は本発明の重要な構成要素であり、粘膜保護障壁を維持するだけでなく、炭水化物を糧食とすることを好む微生物相にとっての栄養分を提供し、B:F比を上昇させる。

【００１８】

バクテロイデス門およびフィルミクテス門に属する微生物相間の不均衡を改変する別の手段は、1つの門の構成員の増殖を抑制することである。フィルミクテス門の構成員に対するそのような静菌または殺菌作用は、ベリー類その他の果物に多量に存在する数多くのフェノール類化合物について報告されている（非特許文献18）。アントシアニンは、ベリー類に存在するフェノール類化合物の主要な群であり、特に豊富である（非特許文献18）。食物性ポリフェノールの大部分は腸管内腔において吸収されずに残り、回腸および大腸に濃縮される。ブルーベリーのアントシアニンの最大85%は大腸に入り（非特許文献19）、バクテロイデス門よりもフィルミクテス門の構成員に対してより大きな増殖抑制効果を発揮すると見られる（非特許文献20、21）。そのようなポリフェノールを含有するブルーベリー粉末、ブルーベリー搾りかす、またはブルーベリー抽出物が好ましいが、本発明は、同様のフェノール類を含有するあらゆる果物（果実）またはベリーの成分調製物（例えば非特許文献18に列記されているもの）を好ましく包含する。

【００１９】

好ましい3種類の成分である発酵性多糖類、ベータグルカン、およびベリー抽出物は、液体に混ぜる粉末、バー、スムージー、ヨーグルト、シェイク等、あらゆる種類の食用製品として調製され得る。混合物をカプセル中に調製し、または圧縮して錠剤にすることもできる。好ましくは、製剤は、第1の食事と第2の食事の間、および第2の食事と第3の食事の間において、1日2回摂取される。

【００２０】

好ましくは、この製剤の各投与量が、少なくとも約4gの消化不能多糖類、少なくとも約2gのベータグルカン、および少なくとも約4gのベリー粉末抽出物（およそ800 mgの総フェノール類、100 mgのアントシアニン、および6900μモルのTE抗酸化活性を含有する、2カップ（16オンス）あるいは0.47リットルの丸ごとのブルーベリーに相当）を含有する。好ましくは、この投与量が、第1の食事の前1時間以内または第2の食事の前1時間以内、そし

て第3の食事の前1時間以内において、1日に2回投与される。これらは本発明者らによる最善の概算であるが、この製剤は変化し得る。

【００２１】

成分の範囲は、好ましくは、体重kgあたり約2～120mgの消化不能多糖類、体重kgあたり約2～80mgのベータグルカン、および、体重kgあたり約2～120mgのブルーベリー粉末抽出物または非特許文献18に列記されているものと同様のフェノール類を含有するあらゆる果物もしくはベリーの成分調製物を含む。これらの成分の範囲は、より好ましくは、体重kgあたり約10～80mgの消化不能多糖類、体重kgあたり約5～50mgのベータグルカン、および、体重kgあたり約10～80mgのブルーベリー粉末または非特許文献18に列記されているものと同様のフェノール類を含有するあらゆる果物もしくはベリーの成分調製物を含む。これらの成分の範囲は、最も好ましくは、体重kgあたり約20～60mgの、発酵性繊維または難消化性デンプンである消化不能多糖類、体重kgあたり約10～30mgのベータグルカン、および、体重kgあたり約20～60～320mgのブルーベリー粉末抽出物または非特許文献18に列記されているものと同様のフェノール類を含有するあらゆる果物もしくはベリーの成分調製物を含む。製剤中にこれらの成分の1つが存在することが、1つも存在しないよりは好ましく、いずれか2つが存在することが、1つだけしか存在しないよりは好ましく、最も好ましくは、3つ全てが、70利用可能カロリー（Calまたはkcal）（293キロジュール）未満を含む本発明の製剤中に存在する。製剤のカロリーまたはジュール含量は、製剤中の多量養素について決定される誘導定数から算出することができる。しかしながら、製剤中の成分の大部分は消化・吸収されず、従って人体において同化されたりエネルギーのために利用されたりしない。利用可能なカロリーまたはジュールとは、人体において同化されたりエネルギーのために利用されたりするカロリーまたはジュールのみをいう。

【００２２】

1つの好ましい消化不能炭水化物はイヌリンであり、これはバナナ、アスパラガス、ニンニク、タマネギ、および小麦粉において少量が自然に存在する。最も好ましい用量のレベルを達成するために十分である量を消費することは、可能ではあるが、これらの食品は利用可能なカロリーまたはジュールも含有することから、既に不健康な体重を有している個体の1日あたりのカロリー摂取にかなりの利用可能カロリーまたはジュールを加えることになるであろう（下記表を参照）。生のキクイモ、チコリー根、およびリュウゼツランのイヌリン含量は高い。イヌリンの精製調製物の摂取は、イヌリン含有野菜の摂取と比べて、1日あたりのカロリー摂取量に寄与する利用可能カロリーまたはジュールが著しく低い（表1を参照）。より一般的な野菜を食べることによりイヌリンの望ましい用量を得ることは、精製イヌリンの場合の約40倍のカロリーまたはジュールを取ることとなる。

【表１】

表1．好ましい用量の消化不能炭水化物の分量および
カロリーまたはキロジュールの含量

成分	分量	カロリー(Cal)／キロジュール
精製イヌリン	4g	0.48/2.01
バナナ	バナナ6本	630/2,638
生アスパラガス	1カップ（0.237リットル）	27/113
生ニンニク	15かけ	60/251
生タマネギ	みじん切り大さじ10	40/167
小麦粉	1カップ（0.237リットル）	455/1,905
生キクイモ	1/4カップ（0.059リットル）	18/75
生チコリー根	1/2本	20/84

【００２３】
ベータグルカンは、オートムギ、オオムギ、キノコ、およびパン酵母に自然に見出される。最も好ましい用量のレベルを達成するために十分である量のこれらの食品を消費することは、可能ではあるが、これらの食品は利用可能なカロリーまたはジュールも含有することから、既に不健康な体重を有している個体の1日あたりのカロリー摂取にかなりの利用可能カロリーまたはジュールを加えることになるであろう（表2を参照）。

【表２】

表2．好ましい用量のベータグルカンの分量および
カロリーまたはキロジュールの含量

成分	分量	カロリー(Cal)／キロジュール
PromOat成分	2g	5.26/22.02
OatWell 22%	2g	4.3/18.0
オールドファッションロールドオーツ	乾燥、1/2カップ（0.118リットル）	150/628
オオムギ	乾燥、1/2カップ（0.118リットル）	350/1,465
シイタケ	細切れ、5カップ（1.18リットル）	400/1,675
パン酵母	2塊（34 g）	35.8/149.9

【００２４】
ポリフェノール類は、アントシアニジンおよびフラボノイドという主要な群に分けることができる。これらはブルーベリー、クランベリー、ラズベリー、およびイチゴに自然に見出される。これらのベリー類は、非特許文献22および下記の略表によれば、異なるレベルのアントシアニジンおよびフラボノイドを含有する。ブルーベリーは最も広範に渡るポリフェノール類化合物を含有する。さらに、2カップ（16オンスあるいは0.47リットル）の新鮮なブルーベリーに相当する量の摂取は、非特許文献23において実証されているよう

に、インスリン抵抗性患者におけるインスリン感受性を改善させるために十分な生理活性化合物を提供する。

【表３】

表3. 選ばれた食品のアントシアニン含量に関するUSDAデータベース、リリース2.1(2007)。

数値は、丸ごとの生のベリーの食用部分100gあたりのmgの平均を示す。

アントロシアニン — 生ブルーベリー			
シアニジン	デルフィニジン	マルビジン	ペチュニジン
16.97	47.40	61.35	26.42
アントロシアニン — 生クランベリー			
シアニジン	デルフィニジン	マルビジン	ペチュニジン
41.81	7.66	0.31	0
アントロシアニン — 生ラズベリー			
シアニジン	デルフィニジン	マルビジン	ペチュニジン
35.84	0.29	0.70	0
アントロシアニン — 生イチゴ			
シアニジン	デルフィニジン	マルビジン	ペチュニジン
1.96	0.32	0	0.08

【表４】

表4．選ばれた食品のフラボノイド含量に関する
USDAデータベース、リリース2.1（2007）。

数値は、丸ごとの生のベリーの
食用部分100gあたりのmgの平均を示す。

フラボノイド — 生ブルーベリー			
エピカテキン	カテキン	ミリセチン	ケルセチン
13.69	37.24	2.66	5.05
フラボノイド — 生クランベリー			
エピカテキン	カテキン	ミリセチン	ケルセチン
4.37	0.39	6.78	15.09
フラボノイド — 生ラズベリー			
エピカテキン	カテキン	ミリセチン	ケルセチン
4.07	1.56	0	1.23
フラボノイド — 生イチゴ			
エピカテキン	カテキン	ミリセチン	ケルセチン
0.12	3.32	0	1.14

【００２５】

ブルーベリーの最も好ましい用量のレベルを達成するために十分である量（2カップ（16オンス）あるいは0.47リットル）を消費することは、可能ではあるが、この食品は利用可能なカロリーまたはジュール、特に糖分も含有することから、既に不健康な体重を有している個体の1日あたりのカロリー摂取にかなりの利用可能カロリーまたはジュールを加えることになるであろう（表5を参照）。搾りかすは、ベリージュースを製造する際に果汁を搾り出して糖分および水分を取り除いた後の、ブルーベリーの固形残余物である。搾りかすは消化不能炭水化物を含有し、これがカロリーまたはジュールの85%を占める。その他の利用可能カロリーを除去するために、搾りかすをアルコールまたは水のような溶媒で抽出することができる。搾りかすのブルーベリー抽出物は10利用可能カロリー（42キロジュール）未満を含有する。

【表５】

表5．好ましい用量のベリー搾りかすの分量および カロリーまたはキロジュールの含量

ベリー	カロリー(kcal)／(キロジュール) 新鮮な丸ごとベリー	カロリー／キロジュール ベリー搾りかす(糖分除去)
ブルーベリー(2カップ) (0.47リットル)	158/662	53.2/223
クランベリー(5.38カップ) (1.27リットル)	323/1,352	179.7/752.4
ラズベリー(9.41カップ) (2.23リットル)	602/2,520	398/1,666
イチゴ(59.3カップ) (14.03リットル)	2965/12,414	1209.7/5,064.7

【００２６】

いくつかの例では、投与は、1日1回で処置を始めて最大1週間GIマイクロバイオームを順化させ、その後1日2回の投与に切り替えるものであり得る。他の例では、例えば子供や老人において、最適投与量の半分を1日2回投与することが望ましい。いくつかの例では、1日2回投与により刺激された変化を維持させるために、最適な1日2回投与を日毎の投与レジメンに変更し得る。他の例では、例えば好ましい投与量に耐えることができない子供や大人において、1日2回投与を、最も好ましい投与量の半分を1日2回投与することに切り替え得る。

【００２７】

本発明は、薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、全身性感染症に対して処方される広範な抗生物質は、上部GI系により完全には吸収されず、微生物相環境に到達する。これは一時的にGIマイクロバイオームを変化させるため、抗生物質療法のあいだ、抗生物質適用に備えて、または抗生物質治療介入の後において、本発明の製剤を摂取することが望ましくなり得る。特定の抗生物質はグラム陽性またはグラム陰性細菌を標的とし得る。本発明のプレバイオティクスの上記組合せの摂取の前、最中、または後におけるグラム陽性抗生物質を用いた処置は、所望の結果を向上させ得る。本発明の製剤はGLP-1のレベルを上昇させると予測されるため、その治療介入をDPP-IV（ジペプチジルペプチダーゼIV型）阻害剤（例えばビルダグリプチン、シタグリプチン、またはこの分類群におけるその他のもの）と組み合わせることが望ましくなり得る。これは、大腸から放出されるGLP-1の半減期を大きく延長させ、この組合せは、DPP-IV阻害剤単独、またはGLP-1ペプチドアゴニスト（例えばバイエッタ）の注射よりも好ましいであろう。本発明は、ビグアナイドのような他の糖尿病治療介入と組み合わせることもできる。一例として、メトホルミン（グルコファージ、グルコファージXR、リオメット、フォルタメット、およびグルメッツァ）が挙げられる。事実、メトホルミンと組み合せた本発明の使用は、血中ブドウ糖制御を改善させ得るだけでなく、メトホルミンにしばしば関連付けられる下痢副作用を阻止する（実施例5を参照）。これは潜在的に重要な臨床的観察である。メトホルミンは2型糖尿病の治療において最初に選ぶべき薬剤として推奨されている（非特許文献26）。メトホルミンは、それを服用している糖尿病患者において20%の下痢発生率を引き起こすのに対し、それを服用していない糖尿病患者ではわずか6%であることが報告されている（非特許文

献27）。事実、メトホルミンによる下痢は、この薬剤に耐えられない糖尿病患者がでるほどの問題である。メトホルミンは安全性の成績が良く、およそ2～3 kgの体重減少を引き起こし、低コストの一般的薬物であるので、安全な食品サプリメントを使用してメトホルミンの認容性を増加させながらその効力を増加させることは、有益な公衆衛生的意義があり得る。本発明は、血中ブドウ糖を
調節することにおいて有効であるが下痢を伴うためあまり耐用されない、プレコース（アカルボース）およびグリセット（ミグリトール）のようなアルファグルコシダーゼ阻害剤とも組み合わせ得る。さらに、非定型抗精神病薬およびインスリンのようなある種の薬剤は、一定の患者において体重増加を引き起こす。本発明は、そのような薬剤と組み合わせて、抗精神効力に干渉することなく体重増加と戦うことができる。

【００２８】

本発明は、その他の疾患および症候群を治療するためにも使用され得る。過敏性腸症候群（IBS）は、腹部の痛みまたは不快感、および排便習慣の変化（慢性的もしくは反復的な下痢、便秘、またはそれら両方の混合もしくは交互発生）により特徴付けられる障害である。便秘を伴うIBSは、IBS-Cあるいは便秘型IBSと呼ばれることもある。下痢を伴うIBSは、IBS-Dと呼ばれることもある。IBSの手掛かりとなる症状は、腹部痛または腹部のどこかにおける不快感である。それは時間経過によって変化し得る。IBSの影響は、軽度の不自由から重度の衰弱にまで及び得る。中程度から重度のIBSを有する人々は、肉体、感情、経済、教育、および社会生活の健常をしばしば損なわせる症状と戦わなければならない。IBSの正確な原因はわかっていない。症状を管理するためのIBS治療法はあるが、病因に対処するものは無いようである。IBSを患う患者の糞便微生物相は、健康な個体と比べた場合、バクテロイデス対フィルミクテスの比が2倍減少している（非特許文献28）。従って、バクテロイデス門対フィルミクテス門の構成員の比の上昇を刺激する本発明は、IBSを治療するための効果的かつ安全な療法となるはずである。

【００２９】

本発明は、糞便移植あるいは糞便細菌療法のための準備またはその事後処置において使用され得る。糞便微生物相移植は、例えばクロストリジウム・ディフィシルによる感染（非特許文献29）あるいはより最近では2型糖尿病（非特許文献30）のような疾患の治療として、健康な個体由来の糞便微生物相をレシピエントに移植するプロセスである。ドナーおよびレシピエントの両方についての指針が作成されているところであり、これはドナーおよびレシピエントの双方についての方略を示すであろう。この手順のための双方の対象者の準備における本発明の使用および移植後のレシピエントによる継続的使用は、成功の確率を上昇させるであろう。本発明は、糞便バンキングの準備においても使用され得る。そのようなプラクティスは、対象者が、必要なときまで預託しておくための特定の糞便試料を用意することを可能にするであろう。このようなことは、長期の抗菌的手術、癌化学療法、および不測の慢性疾患の備えとして生じ得る。

【００３０】

本発明は、眼性疾患を治療するために使用され得る。最近、通常飼育の実験用マウスの微生物相が眼球水晶体に有害な変化を起こすことが実証された（非特許文献31）。本発明はGIマイクロバイオームの変化を引き起こすように設計されている。従って、本発明は、白内障の予防において有用となるであろう。もう1つの眼の症候群は、ドライアイ症候群（DES）と一般的に呼ばれている。従来、DESは、眼球表面における涙の欠乏として考えられてきた。しかしながら近年、DESは以前考えられていたよりもはるかに複雑であること、「涙膜機能障害症候群」の方がこの状態をより正確に言い表しているかもしれないことが、研究者らによって示されている。涙膜機能障害は2つの基本的な病因論的分類に分けることができる。すなわち、不十分な涙産生、または、眼球表面からの涙の蒸発の増加である（非特許文献32）。涙膜は、脂質成分、水性成分、およびムチン成分から構成されている。ドライアイ症候群を有する個体は、これらの成分のいずれかにおいて欠乏している可能性があり、これら全ては、健康的なGI機能に部分的に関係していると見られる。従って、本発明はDESを治療することにおいて有用となるであろう。

【表６】

表6．最も好ましい製剤とその機能

成分	質量（g／用量）	機能	参考文献
ブルーベリー抽出物	4.7	体重減少、抗微生物、抗酸化	1-5
βグルカン	2	↑満腹感、↓LDLコレステロール、↑PPY、↑GLP-1、↓グレリン、↓空腹感	6- 11
イヌリン	4	↑GLP-1、↑PPY、↑満腹感、↓グレリン、↓TG、胃腸免疫系をサポート	12-15

↑は増加が報告されていることを示す
↓は減少が報告されていることを示す
TGはトリグリセリド

1. J. Nutr. 140: 1764–1768, 2010.
2. Chemico-Biological Interactions 189: 1–8, 2011
3. J. Agric. Food Chem. 58: 3970, 2010
4. J Appl Microbiol. 90: 494, 2001
5. Am J Clin Nutr. 79:727, 2004
6. J Med Food 10 : 720, 2007
7. Nutr Res 26: 644, 2006.
8. J. Nutr. 138: 732, 2008
9. J Am. Coll. Nutr. 26: 639, 2007.
10. Appetite 53:338, 2009
11. Eur J Clin Nutr 62: 600, 2008.
12. Am J Clin Nutr 89:1751, 2009
13. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 35: 9–16 (2010)
14. J. Nutr. 137: 2552S–2556S, 2007
15. J. Nutr. 137: 2547S–2551S, 2007

【表７】

表7．70利用可能カロリー（293キロジュール）以下を含有する有効な用量を調合するための成分の分量（イヌリンおよびベータグルカンの量は純量であり、それらを含有している製品の分量はより高い）

行1	成分	イヌリン	オートムギ由来ベータグルカン	ブルーベリー搾りかす抽出物粉末
行2	代替	オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、アラビノキシラン、難消化性デンプン、キシロオリゴ糖、ポリデキストロース、ダイズオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、グルコオリゴ糖、パラチノース、ゲンチオオリゴ糖、ラクチトール、ソルビトール、マルチトール、キシリトール	パン酵母、オートムギ、オオムギ、コムギ、真菌、キノコ、細菌、およびその他の生体適合性供給源由来のベータグルカン	ベリー類、ブドウ、メロンの搾りかすの抽出物に存在するもののような、食物性ポリフェノール化合物

行3	機能	大腸における短鎖脂肪酸の生成を刺激、病原性細菌およびウイルスが胃腸管に棲みつくことを抑制、肝コレステロール生合成を阻害、大腸細胞に栄養分を提供、大腸pHを低下、大腸ミネラル吸収を増加、血中へのペプチドYY（PYY）およびグルカゴン様ペプチド1（GLP−1）の放出を刺激するリガンドを提供、不活性グレリンを生成。	総コレステロールを減少、LDLコレステロールを減少、HDLコレステロールを増加、血中ブドウ糖を減少、腸粘膜を保護、胃腸免疫系を調整、胃腸マイクロバイオームの粘性を増加、大腸において過剰な水を吸収。	ある種の胃腸微生物相の増殖を阻害、腸マイクロバイオーム低減を誘導または抗酸化剤として作用、還元環境において育つ微生物相の増殖を刺激。
行4	好ましい範囲	1- 12g	0.5-6g	1-15g
行5	より好ましい範囲	2-8g	0.75-4g	2-10g
行6	最も好ましい範囲	3-5g	1-3g	2-6g
行7	実施例	4g	2g	4.7g

【００３１】

製剤A

製剤Aは、4.7gの乾燥ブルーベリー搾りかす抽出物粉末（Milne Fruit Products社、ワシントン州プロッサー、製品番号FG20155）、9.22g のOatWell 22（登録商標）ベータグルカン（CreaNutrition社、スウェーデン）、4.4gのリュウゼツランイヌリン（イヌフィブ）（Iidea Company、ハリスコ州トラケパケ、メキシコ）から作られ、好ましくは、香味、食感、テクスチャー、および混合のための不活性成分が添加され、そのような不活性成分としては、8.5gのエリスリトール、0.5gのダイズタンパク質、0.4gのキサンタンガム、0.38gのクエン酸、0.14gのステビア、および0.4gの天然香料が含まれるが、これらは製剤Aの効力に影響するとは考えられていない。製剤Aは、例えば180mlの水、牛乳、ジュース等のような液体に加えて混ぜ、懸濁液として消費される。本発明との関係で使用される乾燥ブルーベリー搾りかす抽出物粉末は、好ましくは、ワシントン州プロッサーのMilne Fruit Products社から入手できるブルーベリー抽出物粉末（製品番号FG20155）である。

【００３２】

下記実施例では製剤Aが使用される。製剤Aの1用量は、子供および大人についての抗酸化活性の推奨1日栄養所要量（RDA）の120%を供給するほか、男性についての食物繊維の30%、女性についての食物繊維の50%、1～3歳の子供についての食物繊維の60%、4～8歳の子供についての食物繊維の45%、9～13歳の男の子についての食物繊維の36%、9～13歳の女の子についての食物繊維の45%を供給する。

【００３３】

好ましくは、製剤Aの1用量が、少なくとも1日1回摂取され、より好ましくは少なくとも1日2回、さらに好ましくは少なくとも1日3回摂取される。製剤Aの各用量は、表8に記載される活性成分および不活性成分を含有することが分析される。

【表８】

表8．製剤Aの最も好ましい用量において測定された活性および不活性成分

分析物	質量／用量
活性成分	
総アントロシアニン	162.53mg
総ポリフェノール	723.99mg
抗酸化活性	6964.4μモル TE
ベータグルカン	2.03g
イヌリン	3.79g
その他の可溶性繊維	3.03g
不溶性繊維	2.30g
不活性成分	
タンパク質	2.87g
脂質	0.34g
カルシウム	54.81mg
鉄	1.63mg
ナトリウム	52.99mg
カリウム	132.32mg
エリスリトール	8.39g
スクロース	0.17g
フルクトース	1.54g
グルコース＆ガラクトース	0.71g

【００３４】

製剤Aのフェノール類含量のさらなる分析が表9に記載される。

【表９】

表９．製剤Ａの最も好ましい用量中に存在する
ポリフェノール類のフィンガープリント分析

カテキン[1]	
没食子酸エピガロカテキン	158.2mg
没食子酸エピカテキン	110.5mg
エピガロカテキン	21.9mg
カテキン	6.7mg
エピカテキン	3.5mg
ケルセチン	3.2mg
没食子酸ガロカテキン	1.1mg
ガロカテキン	ND
没食子酸カテキン	ND
アントシアニン[1]	
マルビジン3−O−ガラクトシド	30.9mg
マルビジン3−O−アラビノシド	17.7mg
マルビジン3−O−グルコシド	12.4mg
デルフィニジン3−O−アラビノシド	9.4mg
デルフィニジン3−O−ガラクトシド	7.5mg
ペチュニジン3−O−ガラクトシド	6.8mg
ペチュニジン3−O−アラビノシド	6.4mg
ペチュニジン3−O−グルコシド	5.0mg
デルフィニジン3−O−グルコシド	4.5mg
ペオニジンクロリド	1.5mg
シアニジン3−O−アラビノシド	1.2mg
ペオニジン3−O−グルコシド	1.2mg
シアニジン3−O−グルコシド	0.7mg
デルフィニジンクロリド	0.6mg
ペオニジン3−O−アラビノシド	0.5mg
ペオニジン3−O−ガラクトシド	0.4mg
ペチュニジンクロリド	0.4mg
シアニジンクロリド	0.4mg
シアニジン3−O−ガラクトシド	ND
シアニジン3−O−ルチノシド	ND
マルビジンクロリド	ND

[1]HPLC分析、[2]ORACトロロックス当量、ND=検出不能

【実施例】

【００３５】
［実施例1］
製剤Aを利用して、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させ、ブドウ糖制御を改善させ、身体組成を改善させることについての、ヒトにおける調査
【００３６】
対象および方法
a)必要な数の対象者を、必要な条件を満たすように適切にスクリーニングし、
b)適切な実験的評価を実施し、
c)明白な一次的および二次的結果応答の測定値を記録し、
d)有害事象を記述し、
e)患者を十分に追跡調査する。
【００３７】
概略
この調査は、食事を随意に取っている、空腹時血中ブドウ糖の障害を有する体重過剰の対象者が、4週間に渡って、第1の食事の前1時間以内または第2の食事の前1時間以内のいずれか、および第3の食事の前1時間以内に製剤Aを摂取すると、以下のようになることを実証することが予測される。
1．処置の開始時の便における微生物相と比較して、および、プラシーボを摂取している対象者と比較して、バクテロイデス門由来微生物種対フィルミクテス門由来微生物種の比がより高い便を排便し、
2．75gのブドウ糖を摂取する前、最中、および120分後における血中ブドウ糖およびインスリンレベルにより測定される経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）が、開始時OGTTと比較して、および、プラシーボを摂取している対象者と比較して、改善され、
3．朝食をとる前の血中ブドウ糖監視により測定されるオーバーナイト空腹時血中ブドウ糖レベルが、処置開始時のオーバーナイト空腹時血中ブドウ糖値と比較して、および、プラシーボを摂取している対象者と比較して、低下し、
4．体重の減少、体脂肪あるいは体脂肪％の減少、腹囲測定値の減少により測定される身体組成の改善が見られ、
5．プラシーボを摂取している対象者と比較して、食事前の食欲の減少、食事中の満腹感の増加が見られ、
6．処置の第3週目において、プラシーボを摂取している対象者のものと数値を比較した場合、標準化された食事の後におけるGLP-1およびPYYのレベルの上昇ならびに活性グレリンのレベルの低下が見られる。
【００３８】
一般的事項
本調査では、対象者は、毎日、第1の食事または第2の食事のいずれかの摂取の前1時間以内に、および、第3の食事の摂取の前1時間以内に、経口により、180mlの製剤Aを摂取するか、または、製剤Aと同じ食物繊維総量を含有するがその食物繊維が不活性のセルロースであるプラシーボを摂取する。プラシーボ製剤は、製剤Aの食物繊維総含量（8.75g）と同等になるように、食品着色剤および香料とともにセルロースを含有する。プラシーボは、Merlin Development社によって製剤Aと同時に調製される。
【００３９】
対象者らは週ごとに測定および副作用評価のために来所する。対象者は、製剤Aまたはプラシーボのいずれかの処置を開始する前、および、4週間の処置期間の終わりに、大便試料を採取するよう求められる。また、副作用の存在およびその頻度を記録することも求められる（チェックリスト評価）。対象者は、処置の3週目において、標準化された食事のあいだ食欲（どれくらい空腹か）および満腹感（どれくらい満腹か）を記録するよう求められる。対象者にはこれらを記録するための適切な書面が提供される。
【００４０】

対象者のスクリーニングおよび選抜
全部で30人の対象者が選抜される。15人が製剤Aに割り当てられ、15人がプラシーボに割り当てられる。
【００４１】
対象者の資格
1）18～70歳であってBMIが25～35である健康な男性および女性が適格とされる。
2）空腹時血中ブドウ糖が100～125mg/dlである。
3）2ヶ月間に渡って体重が安定している。
【００４２】
本調査から除外された対象者
a）ブドウ糖に影響する薬を服用している人。
b）インスリンに影響する薬を服用している人。
c）体重に影響する薬を服用している人。
d）細菌相に影響する薬を服用している人。
e）腸疾患を有するか、または近い過去に腸疾患を有していた人。
f）胃または腸の手術をした人。
g）甲状腺機能低下症の人。
h）妊娠している人。
i）心疾患を有する人。
【００４３】
適切な実験的評価
参加者となり得る人々のスクリーニングにおいて、調査の開始時において、および4週間の処置期間の終わりにおいて、様々な検査を行う。
【００４４】
1）スクリーニング：対象者をスクリーニングして、甲状腺機能低下症、妊娠、および心疾患を排除する。このためには以下の検査で足り得る：T4（チロキシン）、T3（トリヨードチロニン）、TSH（甲状腺刺激ホルモン）、尿妊娠検査、血圧およびECG（心電図）。
2）調査の開始：最初のスクリーニングを通った対象者を、第1週目の開始時において以下のように評価する。
a）空腹時血中ブドウ糖およびインスリンのレベル
b）尿酸および肝機能検査を含むSMA 20（コンピューターを用いた連続的マルチチャンネル解析20、代謝関連の20種類の異なる分析物の群）
c）トリグリセリド
d）コレステロール（画分を含む）
e）糖化ヘモグロビンA1（HgbA1）
f）体重（毎回同じ体重計で測定する）
g）DXA（二重エネルギーX線吸収測定法）により測定される、体脂肪％および総体脂肪
h）身長
i）腰部および臀部の測定値
j）75g経口ブドウ糖負荷に対する血中ブドウ糖、インスリン、GLP-1、PYY、およびグレリンの応答
k）視覚的アナログ尺度を使用した食欲および満腹感の評価
l）便を採取し凍結保存するが、調査の最後まで分析しない。
3）調査終了時の評価
a）調査開始時におけるステップ2において行った全ての検査および評価、
b）初期試料および最終試料の両方からの糞便マイクロバイオームDNAの解析。
【００４５】
研究デザイン
参加者として選ばれた対象者らは、随意に食事を許され、食前および食後に食欲および満腹感を評価するための評価シートを渡される。除外された食品としてはアルコールが挙

げられる。果実ジュース、牛乳、甘いお茶（砂糖を入れたお茶）、通常のソフトドリンク、砂糖を入れたコーヒー等のような高カロリーあるいは高ジュールの液体のかわりに低カロリーあるいは低ジュールの液体に重きがおかれる。対象者らは、無作為に、製剤A処置またはプラシーボ処置のいずれかに割り当てられる。誰が製剤Aをとり誰がプラシーボをとるかは、実験実施者にも対象者にもわからない状態とする。対象者は、朝食または昼食のいずれかの前1時間以内、および夕食の前1時間以内に、どちらかの処置物を消費するよう奨励される。

【００４６】

期間

対象者は、開始時に、4週間分の製剤Aまたはプラシーボのどちらかを与えられ、第1の食事または第2の食事のどちらかの前1時間以内に180ml用量の全部を服用し、第3の食事の前1時間以内に製剤Aまたはプラシーボのどちらかを含む180ml用量を再び服用するよう指導される。これらの志願者は、4週間に渡って随意に食事をとるが、ただし、唯一の間食として製剤Aまたはプラシーボを消費するよう指導される。

【００４７】

結果

この調査は、製剤Aが次のことを示すことを実証することが予測される。

1）調査終了時における試料を調査開始時における試料と比較した場合、および、プラシーボ群由来の試料と種比を比較した場合において、糞便試料中のバクテロイデス種対フィルミクテス種の比を上昇させる。

2）OGTTに対する血中ブドウ糖およびインスリンの応答を、インスリン曲線下面積を減少させることにより、向上させる（インスリン感受性の改善）。

3）空腹時血中ブドウ糖値を低下させる。

4）体重の減少、体脂肪の減少、および（または）体脂肪％の減少を生じる。

5）OGTTの最終的な数値を初期測定値と比較した場合、および、標準化された食事の際のプラシーボ群のものと比較した場合、経口ブドウ糖負荷に対するGLP-1およびPYYの応答を増加させ、OGTTおよび標準化された食事の1時間後における空腹時グレリンレベルを低下させる。

6）便のpHを低下させる。

7）便のSCFAを増加させる。

【００４８】

対象者が4週間より長い期間、特に、最低8週間に渡って製剤Aを摂取すると、その対象者は、有意な体重減少を経験し、それは主に脂肪の減少であった。

【００４９】

［実施例2］

製剤Aまたはプラシーボのどちらかの間食代替物を利用して、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させ、ブドウ糖制御を改善させ、身体組成を改善させることについての、ヒトにおける調査

【００５０】

対象および方法

a)必要な数の対象者を、必要な条件を満たすように適切にスクリーニングし、

b)適切な実験的評価を実施し、

c)明白な一次的および二次的結果応答の測定値を記録し、

d)有害事象を記述し、

e)患者を十分に追跡調査する。

【００５１】

概略

この調査は、食事を随意に取っている、空腹時血中ブドウ糖の障害を有する体重過剰の対象者であって、4週間に渡って、第1の食事または第2の食事のいずれかをとる前2時間以内、および第3の食事をとる前2時間以内に、間食代替物として製剤Aを摂取する者は、プ

ラシーボを摂取することに割り当てられた対象者とは異なって、以下のようになることを実証することが予測される。

1．処置の開始時の便における微生物相の比と比較して、バクテロイデス門由来微生物相種対フィルミクテス門由来微生物相種の比がより高い便を排便し、

2．75gのブドウ糖を摂取する前、最中、および120分後における血中ブドウ糖およびインスリンレベルにより測定される経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）が、開始時OGTTと比較して改善され、

3．体重の減少、体脂肪あるいは体脂肪％の減少、腹囲測定値の減少により測定される身体組成の改善が見られ、

4．開始時の値またはプラシーボ群のものと比較して、空腹時血中ブドウ糖レベルの低下が見られ、

5．食事前の食欲の減少、食事中の満腹感の増加が見られ、

6．調査開始時のもの（OGTT）またはプラシーボ群（標準化された食事の試験）と数値を比較した場合、OGTTおよび標準化された食事の1時間後においてGLP-1およびPYYのレベルの上昇ならびに活性グレリンのレベルの低下が見られる。

【００５２】

一般的事項

本調査では、対象者らは、毎日、第1または第2の食事のいずれかをとる前2時間以内に、および、第3の食事をとる前2時間以内に、経口により、180mlの製剤Aまたはプラシーボ製剤のいずれかを消費するように無作為に選抜される。対象者および実験実施者は処置の割り当てについてはわからない状態とする。プラシーボ製剤は、製剤Aの食物繊維総含量（8.75g）と同等になるように、食品着色剤および香料とともにセルロースを含有する。プラシーボは、Merlin Development社によって製剤Aと同時に調製される。どちらの製剤もMerlin Development社によってコードが付され、このコードは、調査の終了時に全てのデータが収集されるまで、同社に保管され、かつ調査実施クリニックにおける薬剤師により秘密状態で保持される。

【００５３】

対象者らは週ごとに測定および副作用評価のために来所する。対象者らは、製剤Aまたはプラシーボの処置を開始する前、および、4週間の処置期間の終わりに、大便試料を採取するよう求められる。また、副作用の存在およびその頻度を記録することも求められる（チェックリスト評価）。対象者らは、調査の開始時および終了時の両方のOGTTの際ならびに3回目の標準化された食事の際に、食欲（どれくらい空腹か）および満腹感（どれくらい満腹か）を記録するよう求められる。対象者にはこれらを記録するための適切な書面が提供される。

【００５４】

対象者のスクリーニングおよび選抜

全部で30人の対象者が選抜される。15人の対象者は製剤Aを消費するよう無作為に割り当てられ、残りの15人の対象者は製剤A群に割り当てられる。各群の構成員属性を注意深く適合させる。

【００５５】

対象者の資格

1）18～70歳であってBMIが25～35である健康な男性および女性が適格とされる。

2）空腹時血中ブドウ糖が100～125mg/dlである。

3）2ヶ月間に渡って体重が安定している。

【００５６】

本調査から除外された対象者

a）ブドウ糖に影響する薬を服用している人。

b）インスリンに影響する薬を服用している人。

c）体重に影響する薬を服用している人。

d）細菌相に影響する薬を服用している人。

e）腸疾患を有するか、または近い過去に腸疾患を有していた人。
f）胃または腸の手術をした人。
g）甲状腺機能低下症の人。
h）妊娠している人。
i）心疾患を有する人。

【００５７】

適切な実験的評価

参加者となり得る人々のスクリーニングにおいて、調査の開始時において、および4週間の処置期間の終わりにおいて、様々な検査を行う。

【００５８】

4）スクリーニング：対象者をスクリーニングして、甲状腺機能低下症、妊娠、および心疾患を排除する。このためには以下の検査で足り得る：T4（チロキシン）、T3（トリヨードチロニン）、TSH（甲状腺刺激ホルモン）、尿妊娠検査、血圧およびECG（心電図）。
5）調査の開始：最初のスクリーニングを通った対象者を、第1週目の開始時において以下のように評価する。
a）空腹時血中ブドウ糖およびインスリンのレベル
b）尿酸および肝機能検査を含むSMA 20（コンピューターを用いた連続的マルチチャンネル解析20、代謝関連の20種類の異なる分析物の群）
c）トリグリセリド
d）コレステロール（画分を含む）
e）糖化ヘモグロビンA1（HgbA1）
f）体重（毎回同じ体重計で測定する）
g）DXA（二重エネルギーX線吸収測定法）により測定される、体脂肪％および総体脂肪
h）身長
i）腰部および臀部の測定値
j）75g経口ブドウ糖負荷に対する血中ブドウ糖、インスリン、GLP-1、PYY、およびグレリンの応答
k）視覚的アナログ尺度を使用した食欲および満腹感の評価
l）便を採取し凍結保存するが、調査の最後まで分析しない。
6）調査終了時の評価
c）調査開始時におけるステップ2において行った全ての検査および評価、
d）初期試料および最終試料の両方からの糞便マイクロバイオームDNAの解析。

【００５９】

研究デザイン

参加者として選ばれた対象者は、随意に食事を許され、食前および食後に食欲および満腹感を評価するための評価シートを渡される。除外された食品としてはアルコールが挙げられる。果実ジュース、牛乳、甘いお茶（砂糖を入れたお茶）、通常のソフトドリンク、砂糖を入れたコーヒー等のような高カロリーあるいは高ジュールの液体のかわりに低カロリーあるいは低ジュールの液体に重きがおかれる。対象者は、製剤Aまたはプラシーボのいずれかを唯一の間食として消費するよう奨励される。

【００６０】

期間

対象者は、開始時に、4週間分の製剤Aまたはプラシーボのどちらかを与えられ、第1の食事または第2の食事のどちらかの前2時間以内に、いずれかの製剤を含有する180ml用量の全部を服用し、第3の食事の前2時間以内に、いずれかの製剤を含有する180ml用量を再び服用するよう指導される。これらの志願者は、4週間に渡って随意に食事をとるが、ただし、唯一の間食として製剤Aまたはプラシーボを消費するよう指導される。

【００６１】

結果

この調査は、製剤Aが次のことを示すがプラシーボはこれらを示さないことを実証する

ことが予測される。
1）調査終了時における試料を調査開始時における試料と比較した場合、糞便試料中のバクテロイデス種対フィルミクテス種の比を上昇させる。
2）OGTTに対する血中ブドウ糖およびインスリンの応答を、インスリン曲線下面積を減少させることにより、向上させる（インスリン感受性の改善）。
3）体重の減少、体脂肪の減少、および（または）体脂肪％の減少を生じる。
4）最終的な数値を初期測定値と比較した場合、経口ブドウ糖負荷に対するGLP-1およびPYYの応答を増加させ、OGTTの前における空腹時グレリンレベルを低下させる。
5）便のpHを低下させる。
6）便のSCFAを増加させる。

【００６２】
対象者が4週間より長い期間、特に、最低8週間に渡って、製剤Aを間食代替物として摂取すると、その対象者は、有意な体重減少を経験し、それは主に脂肪の減少であった。

【００６３】
［実施例3］
製剤Aとジペプチジルペプチダーゼ4（DPP-4）の阻害剤との組合せを利用して、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させ、GLP-1の上昇の維持によりブドウ糖制御を改善させることについての、ヒトにおける調査

【００６４】
対象および方法
a)必要な数の対象者を、必要な条件を満たすように適切にスクリーニングし、
b)適切な実験的評価を実施し、
c)明白な一次的および二次的結果応答の測定値を記録し、
d)有害事象を記述し、
e)患者を十分に追跡調査する。

【００６５】
概略
この調査は、食事を随意に取っている、インスリン抵抗性を有する2型糖尿病（T2D）の対象者であって、4週間に渡って、第1の食事または第2の食事のいずれかの前1時間以内、および第3の食事の前1時間以内に、DPP-4阻害剤および製剤Aを摂取する者は、以下のようになることを実証することが予測される。
1．処置の開始時の便における微生物相の比と比較して、および、DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較して、バクテロイデス門由来微生物相種対フィルミクテス門由来微生物相種の比がより高い便を排便する。
2．調査開始時と比較して、および、DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較して、インスリン感受性が改善する。インスリン感受性は経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）により測定される。これは、75gのブドウ糖を摂取する前、最中、および120分後における血中ブドウ糖およびインスリンのレベルを測定して、開始時OGTTと比較することにより実施される。
3．DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較して、空腹時血中ブドウ糖値が改善する。
4．ベースライン値と比較して、および、DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較して、体重の減少、体脂肪あるいは体脂肪％の減少、腹囲測定値の減少により測定される身体組成の改善が見られる。
5．ベースライン値と比較して、および、DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較して、標準化された食事の前の食欲の減少、食事中の満腹感の増加が見られる。
6．数値をベースライン値と比較した場合、および、DPP-4阻害剤のみを摂取している者と比較した場合、OGTTおよび標準化された食事の1時間後においてGLP-1およびPYYのレベルの上昇ならびにグレリンのレベルの低下が見られる。

【００６６】
一般的事項

本調査では、T2Dの患者が、毎日、第1または第2の食事のいずれかの前1時間以内に、および、第3の食事の摂取の前1時間以内に、経口により、180mlの製剤Aまたはセルロース含有プラシーボ製剤のいずれかを摂取するように、無作為に割り当てられる。患者および実験実施者はこの割り当てについてわからない状態とする。全ての患者はまた、その糖尿病を管理する治療として、1日1回朝の第1の食事の前に、シタグリプチン（ジャヌビア（登録商標））を100mgの推奨用量にて摂取するよう指導される。

【００６７】

対象者らは週ごとに測定および副作用評価のために来所する。対象者は、調査開始の前および4週間の処置期間の終わりに、大便試料を採取するよう求められる。また、副作用の存在およびその頻度を記録することも求められる（チェックリスト評価）。対象者は、調査の開始時および終了時の両方のOGTTの際ならびに処置の第3週目における標準化された食事の前および最中に、食欲（どれくらい空腹か）および満腹感（どれくらい満腹か）を記録するよう求められる。対象者にはこれらを記録するための適切な書面が提供される。

【００６８】

対象者のスクリーニングおよび選抜

全部で24人の対象者が選抜される。12人の対象者を、ジャヌビア（登録商標）＋プラシーボ（製剤Aと同じ食物繊維総量を含有し、色および味において製剤Aを模倣している、セルロース溶液）、またはジャヌビア（登録商標）＋製剤Aを摂取するよう、無作為に割り当てる。

【００６９】

対象者の資格

1）18～70歳であってBMIが25～35であるT2Dの男性および女性が適格とされる。
2）空腹時血中ブドウ糖が125mg/dl超である。
3）2ヶ月間に渡って体重が安定している。

【００７０】

本調査から除外された対象者

a）ジャヌビア以外に、ブドウ糖に影響する薬を服用している人。
b）ジャヌビア以外に、インスリンに影響する薬を服用している人。
c）体重に影響する薬を服用している人。
d）細菌相に影響する薬を服用している人。
e）腸疾患を有するか、または近い過去に腸疾患を有していた人。
f）胃または腸の手術をした人。
g）甲状腺機能低下症の人。
h）妊娠している人。
i）心疾患を有する人。

【００７１】

適切な実験的評価

参加者となり得る人々のスクリーニングにおいて、調査の開始時において、および4週間の処置期間の終わりにおいて、様々な検査を行う。

【００７２】

7）スクリーニング：対象者をスクリーニングして、甲状腺機能低下症、妊娠、および心疾患を排除する。このためには以下の検査で足り得る：T4、T3、TSH、尿妊娠検査、血圧およびECG。糖尿病状態の評価として、空腹時血中ブドウ糖、空腹時インスリン、およびHgbA1のレベルも測定される。

8）調査の開始：最初のスクリーニングを通った対象者を、第1週目の開始時において以下のように評価する。

a）空腹時血中ブドウ糖、インスリン、およびHgbA1のおよびのレベル
b）尿酸および肝機能検査を含むSMA 20
c）トリグリセリド

d）コレステロール（画分を含む）
f）体重（毎回同じ体重計で測定する）
g）DXAにより測定される、体脂肪％および総体脂肪
h）身長
i）腰部および臀部の測定値
j）75g経口ブドウ糖負荷に対する血中ブドウ糖、インスリン、GLP-1、PYY、およびグレリンの応答
k）視覚的アナログ尺度を使用した、標準化された食事の前、最中および後における食欲および満腹感の評価
l）便を採取し凍結保存するが、調査の最後まで分析しない。
9）調査終了時の評価
e）調査開始時におけるステップ2において行った全ての検査および評価、
f）初期試料および最終試料の両方からの糞便マイクロバイオームDNAの解析。

【００７３】
研究デザイン
参加者として選ばれた患者は、随意に食事を許され、食欲および満腹感を評価するための評価シートを渡される。除外された食品としてはアルコールが挙げられる。果実ジュース、牛乳、甘いお茶（砂糖を入れたお茶）、通常のソフトドリンク、砂糖を入れたコーヒー等のような高カロリーあるいは高ジュールの液体のかわりに低カロリーあるいは低ジュールの液体に重きがおかれる。24人全ての患者はまた、その糖尿病を管理する治療として、1日1回朝に、食べ物と一緒にまたは食べ物を伴わずに、シタグリプチン（ジャヌビア（登録商標））を100mgの推奨用量にて服用するよう指導される。12人の患者は、毎日3回の食事のうち2回の前に製剤Aも摂取するように、無作為に選ばれ、残りの12人の患者は、毎日3回の食事のうち2回の前にプラシーボを摂取するよう指導される。患者および調査実施者は、この間食代替物がプラシーボであるか製剤Aであるかわからない状態とする。

【００７４】
期間
対象者は、開始時に、4週間分のシタグリプチンおよび製剤Aまたはプラシーボのどちらかを与えられ、第1の食事または第2の食事のどちらかの前1時間以内に、いずれかの間食代替物の180ml全部を消費し、第3の食事の前1時間以内に、180mlの間食代替物を再び消費するよう指導される。全ての対象者は、朝、毎日1錠のシタグリプチン（100mg）を、食べ物と一緒にまたは食べ物を伴わずに服用することが求められる。4週間に渡って随意に食事がとられる。

【００７５】
結果
この調査は、製剤Aが次のことを示すことを実証することが予測される。
1）製剤Aに割り当てられた者の調査終了時における試料を調査開始時における試料と比較した場合、および、ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、糞便試料中のバクテロイデス種対フィルミクテス種の比を上昇させる。
2）ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、OGTTに対する血中ブドウ糖およびインスリンの応答を、インスリン曲線下面積を減少させることにより、向上させる（インスリン感受性の改善）。
3）製剤Aに割り当てられた患者を調査開始時におけるサンプルと比較した場合、および、ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、体重の減少、体脂肪の減少、および（または）体脂肪％の減少を生じる。
4）ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、空腹時血中ブドウ糖レベルの低下を生じる。
5）製剤Aに割り当てられた患者を調査開始時における試料と比較した場合、および、ジ

ャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、経口ブドウ糖負荷に対するGLP-1およびPYYの応答を増加させ、OGTTの前における空腹時グレリンレベルを低下させる。

6）製剤Aに割り当てられた患者を調査開始時における試料と比較した場合、および、ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、便のpHを低下させる。

7）製剤Aに割り当てられた患者を調査開始時における試料と比較した場合、および、ジャヌビア＋製剤Aを摂取している対象者をジャヌビア＋プラシーボを摂取している患者と比較した場合、便のSCFAを増加させる。

【００７６】

対象者が製剤Aを他のDPP-IV阻害剤または他のジャヌビアの製剤と共に摂取しても、ブドウ糖制御の有意な改善が得られることが予測される。

【００７７】

［実施例4］

製剤A間食代替物を利用して、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させ、ブドウ糖制御を改善させ、身体組成を改善させることについての、体重過剰の子供における調査

【００７８】

対象および方法

a）必要な数の子供を、必要な条件を満たすように適切にスクリーニングし、親の同意を得、

b）適切な実験的評価を実施し、

c）明白な一次的および二次的結果応答の測定値を記録し、

d）有害事象を記述し、

e）子供およびその両親を十分に追跡調査する。

【００７９】

概略

この調査は、食事を随意に取っている、前糖尿病状態であるかまたはT2D（2型糖尿病）を発生するリスクが高い、体重過剰の子供であって、4週間に渡って、第1の食事または第2の食事のいずれかの前1時間以内、および第3の食事の前1時間以内に、製剤B（製剤Aと同一の活性成分であるが、アイスクリーム、動物ゼリー、クッキー等のような子供が摂取しやすい送達系に製剤されたもの）を摂取する者は、以下のようになることを実証することが予測される。

1．処置の開始時の便における微生物相の比と比較して、バクテロイデス門由来微生物相種対フィルミクテス門由来微生物相種の比がより高い便を排便する。

2．体重1 kgあたり1.75gのブドウ糖（最大75g）を摂取する前、最中、および120分後における血中ブドウ糖およびインスリンのレベルにより測定される経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）が、開始時OGTTと比較して改善する。

3．体重の減少、体脂肪あるいは体脂肪％の減少、腹囲測定値の減少により測定される身体組成の改善が見られる。

4．空腹時血中ブドウ糖レベルの低下が見られる。

5．食事の前の食欲の減少、食事中の満腹感の増加が見られる。

6．調査開始時における数値と比較した場合、 OGTTの1時間後においてGLP-1およびPYYのレベルの上昇ならびにグレリンのレベルの低下が見られる。

【００８０】

一般的事項

本調査では、子供たちは、毎日、第1または第2の食事のいずれかの前1時間以内に、および、第3の食事の前1時間以内に、製剤Bの動物ゼリー6個（各々の動物ゼリーは約20 gの製剤Bを含有する）を消費する。

【００８１】

対象者らは週ごとに測定および副作用評価のために来所する。対象者は、製剤B処置開始の前および4週間の処置期間の終わりに、大便試料を採取するよう求められる。また、副作用を親に報告するよう求められ、親がその副作用の存在および頻度を記録する（チェックリスト評価）。親は、調査の開始時および終了時において、標準化された第3の食事の前、最中、および後に、食欲（どれくらい空腹か）および満腹感（どれくらい満腹か）を尋ねて記録するよう指導される。調査実施者は、調査の開始時および終了時の両方において、在宅時だけでなくOGTTの際にも同じ評価を記録する。親にはこれらを記録するための適切な書面が提供される。

【００８２】

対象者のスクリーニングおよび選抜

全部で10人の子供が選抜される。

【００８３】

対象者の資格

1）7～12歳であってBMIが25～30である健康な思春期前の男の子および女の子が適格とされる。

2）空腹時血中ブドウ糖が100～125mg/dlである。

【００８４】

本調査から除外された対象者

a）ブドウ糖に影響する薬を服用している子供。

b）インスリンに影響する薬を服用している子供。

c）体重に影響する薬を服用している子供。

d）細菌相に影響する薬を服用している子供。

e）腸疾患を有するか、または近い過去に腸疾患を有していた子供。

f）胃または腸の手術をした子供。

g）甲状腺機能低下症の子供。

【００８５】

適切な実験的評価

参加者となり得る人々のスクリーニングにおいて、調査の開始時において、および4週間の処置期間の終わりにおいて、様々な検査を行う。

【００８６】

スクリーニング：子供たちをスクリーニングして、甲状腺機能低下症および思春期の子供を除外する。このためには以下の検査で足り得る：T4、T3、TSH、身体検査、および、身体検査または思春期前後症状に基づいて疑義がある場合には、ゴナドトロピン放出ホルモン負荷試験。

調査の開始：最初のスクリーニングを通った子供たちを、第1週目の開始時において以下のように評価する。

a）空腹時血中ブドウ糖およびインスリンのレベル

b）尿酸および肝機能検査を含むSMA 20

c）トリグリセリド

d）コレステロール（画分を含む）

e）糖化ヘモグロビンA1（HgbA1）

f）体重（毎回同じ体重計で測定する）

g）DXAにより測定される、体脂肪％および総体脂肪

h）身長

i）腰部および臀部の測定値

j）1.75g/kg（最大75g）の経口ブドウ糖負荷に対する血中ブドウ糖、インスリン、GLP-1、PYY、およびグレリンの応答

k）視覚的アナログ尺度を使用した、食欲および満腹感の評価

l）便を採取し凍結保存するが、調査の最後まで分析しない。

調査終了時の評価

a）調査開始時におけるステップ2において行った全ての検査および評価、
b）初期試料および最終試料の両方からの糞便マイクロバイオームDNAの解析。

【００８７】

研究デザイン

参加者として選ばれた子供たちは、随意に食事を許され、親には食欲および満腹感を評価するための評価シートが渡される。果実ジュース、牛乳、通常のソフトドリンク、砂糖を入れたコーヒー等のような高カロリーあるいは高ジュールの液体のかわりに低カロリーあるいは低ジュールの液体に重きがおかれる。子供たちは唯一の間食として製剤Bを消費するよう奨励される。キャンディー、アイスクリーム、ミルクセーキ、クッキー、ポテトチップス等のような他のおやつは控えさせる。

【００８８】

期間

子供たちは、開始時に、4週間分の製剤Bを与えられ、第1の食事または第2の食事のどちらかの前1時間以内に、製剤Bを含有する動物ゼリーまるごと6個を消費し、第3の食事の前1時間以内に、製剤Bを含有する動物ゼリーをさらに6個消費するよう指導される。子供たちは、4週間に渡って随意に食事がとるが、唯一の間食として製剤Bを消費するよう指導される。

【００８９】

結果

この調査は、製剤Bが次のことを示すことを実証することが予測される。

1）調査終了時における試料を調査開始時における試料と比較した場合、糞便試料中のバクテロイデス種対フィルミクテス種の比を上昇させる。
2）OGTTに対する血中ブドウ糖およびインスリンの応答を、インスリン曲線下面積を減少させることにより、向上させる（インスリン感受性の改善）。
3）体重の減少、体脂肪の減少、および（または）体脂肪％の減少を生じる。
4）最終的な数値を初期測定値と比較した場合、経口ブドウ糖負荷に対するGLP-1およびPYYの応答を増加させ、OGTTの前における空腹時グレリンレベルを低下させる。
5）便のpHを低下させる。
6）便のSCFAを増加させる。

【００９０】

子供たちが4週間より長い期間、特に、最低8週間に渡って、間食代替物として製剤Aを摂取すると、その子供たちは、有意な体重減少を経験し、それは主に脂肪の減少であった。

【００９１】

［実施例5］

製剤Aはメトホルミンの効力および胃腸認容性を増強する：事例報告

【００９２】

対象

JHは30歳の白人男性であり、8ヶ月の間に10 kg太って腰痛を発症した。彼はかかりつけの医者に来院してそのことをうったえた。

【００９３】

この患者は、来院の時点で、オメプラゾール（20mg/d）、リシノプリル（40mg/d）、メトプロロール（100mg/d）、およびヒドロクロロチアジド（25mg/d）を服用しており、アレルギーはなく手術歴もなかった。彼は過去の入院、残余物(residua)または輸血に対するトラウマも否定した。彼には喫煙歴はなく、平均で週に3～4回アルコール飲料を飲み、静脈薬物使用の過去もなかった。彼はフルタイムの法学生であり、職業上毒素に晒されることはなかった。彼は来院の前の6ヶ月間は一人の女性と性的関係を有していた。患者の母親と父親は健在であった。彼にはやはり健在である妹が一人おり、子供はいなかった。糖尿病の家族歴はなかった。彼は腰痛以外にうったえることはなかった。身体検査の結果、彼は104 kgであって、身長165cm、肥満度指数（BMI）は38.3kg/mであった。彼の血圧は

116/70、脈拍数は80/分であり、熱はなかった。尿検査によってブドウ糖の存在が示され、追加検査によれば、非絶食時毛細血管血中ブドウ糖が450mg/dlのブドウ糖値であり、ヘモグロビンA1cが8.8%であり、微量アルブミン／クレアチン比が147であった。彼の年齢、アシドーシスの不在、および375 mg/dLの空腹時血糖に基づいて、医師は、2型糖尿病の診断を下した。彼に対して1日2回のメトホルミン500mgの投与が開始され、毎日空腹時血糖を測定するよう指導された。7日間のうちに、1000mgを1日2回としてメトホルミンを増加させるよう彼は指導された。その後の9日間のうちに、彼は持続的に水様便をするようになり、空腹時血糖は約325 mg/dLに減少した。彼は、ニュームヘルスLLC社の関係筋から、この会社が、大便マイクロバイオームに対する有益作用を通じてインスリン感受性を上昇させることを目的とする食品サプリメントを開発・試験していることを知っていた。1000mgのメトホルミン用量による治療の9日目に、彼は、朝食または昼食の前1時間以内と夕食の前1時間以内との1日2回摂取する製剤Aを追加した。製剤Aを開始してから2日以内に、彼の空腹時血糖は325mg/dLから175 mg/dLに下がり、メトホルミンとともに製剤Aを摂取しながら5週間経過した後、彼の空腹時血中ブドウ糖は100mg/dLであった（図1）。

【００９４】

図1は、1日2回の1000mgメトホルミンの開始時における空腹時血中ブドウ糖レベルを示す。第9日目に1日2回の製剤Aが追加され、この組合せが継続されたが、ただし、第49～51日目においてのみ日毎の製剤A摂取が抜かれた。製剤Aが追加されている時を除き、メトホルミンには下痢が伴った。

【００９５】

糖尿病治療の最初の60日間を10日間ずつの期間に分けると、彼の血糖値およびその分散（標準偏差）は、最初の10日間における344±44.1 mg/dLから、2番目の10日間における182.2±14.7、3番目の10日間における144.3±9.6、4番目の10日間における114.5±11.8、5番目の10日間における123.0±9.6、および6番目の10日間における121.0±11.8に減少した（図2）。

【００９６】

この期間のあいだ、彼の体重は5.5kg減り、水様便は、柔らかい通常の有形便通に戻った。追加の1ヶ月の後、彼は製剤Aを使い尽くして2日間製剤Aを切らした。その期間中、彼の血糖値は100 mg/dLから131 mg/dLに上昇し、下痢が再発した。製剤Aを再開した後、彼の血糖値は113 mg/dLまで戻り、便も有形で柔らかいものに戻った。本稿の時点で、メトホルミンと製剤Aとの組合せにより彼の糖尿病管理および大便は制御された状態であり続けており、彼の体重は約5.5kg減少した。彼のヘモグロビンA1cは6.3%に減少し、微量アルブミン／クレアチン比は16であった。

【００９７】

考察

この事例報告は有望なものである。製剤Aは、空腹時血糖に対する明白な効果を有していると見られたのみならず、メトホルミンを用いた治療により引き起こされた水様便が正常化された。これは重要な臨床学的観察である可能性がある。メトホルミンは2型糖尿病の治療において最初に選ぶべき薬剤として推奨されている（非特許文献26）。メトホルミンは、それを服用している糖尿病患者において20%の下痢発生率を引き起こすのに対し、それを服用していない糖尿病患者ではわずか6%であることが報告されている（非特許文献27）。事実、メトホルミンによる下痢は、この薬剤に耐えられない糖尿病患者がでるほどの問題である。メトホルミンは安全性の成績が良く、およそ2～3 kgの体重減少を引き起こし、低コストの一般的薬物であるので、安全な食品サプリメントを使用してメトホルミンの認容性を増加させながらその効力を増加させることは、有益な公衆衛生的意義があり得る。

【００９８】

アカルボースは、その作用機序により水様便の副作用を伴う、糖尿病治療用のもう1つの薬である。製剤Aをアカルボースとともに2型糖尿病の治療に用いると、血中ブドウ糖の制御改善と固形便形成の両方が予測される。

【００９９】
［実施例6］
製剤Aまたはプラシーボを利用して、バクテロイデス門の胃腸管微生物相対フィルミクテス門の微生物相の比を上昇させ、過敏性腸症候群（IBS）の症状を改善させることについての、ヒトにおける調査
【０１００】
対象および方法
a)必要な数の対象者を、必要な条件を満たすように適切にスクリーニングし、
b)適切な実験的評価を実施し、
c)明白な一次的および二次的結果応答の測定値を記録し、
d)有害事象を記述し、
e)患者を十分に追跡調査する。
【０１０１】
概略
無作為化されプラシーボ対照を伴ったこの臨床試験は、下痢がちなIBSを有するヒトにおける製剤Aの有効性および認容性を実証することが予測される。4週間に渡って、第1の食事または第2の食事のいずれかをとる前1時間以内、および第3の食事をとる前1時間以内に、プラシーボではなく製剤Aを摂取するように割り当てられた対象者は、以下のようになる。
1．バクテロイデス門由来微生物相種対フィルミクテス門由来微生物相種の比がより高い便を排便する。
2．4週間全てに渡って十分な緩和を報告する。
3．切迫感の減少を報告する。
4．便頻度の減少を報告する。
5．処置開始の1週間以内に便が硬くなる。
【０１０２】
一般的事項
本調査では、対象者らは、毎日、第1または第2の食事のいずれかの摂取の前1時間以内に、および、第3の食事の摂取の前1時間以内に、経口により、180mlの製剤Aまたはプラシーボ製剤のいずれかを消費するように、無作為に割り当てられる。プラシーボ製剤は、製剤Aの食物繊維総含有量（8.75g）と同等になるようにセルロースと食品着色料および香料とを含有している。プラシーボは、Merlin Development社によって製剤Aと同時に調製される。どちらの製剤もMerlin Development社によってコードが付され、このコードは、調査の終了時に全てのデータが収集されるまで、同社に保管され、かつ調査実施クリニックにおける薬剤師により秘密状態で保持される。
【０１０３】
対象者らは週ごとに測定および副作用評価のために来所する。対象者は、製剤Aまたはプラシーボのいずれかの処置を開始する前、および、4週間の処置期間の終わりに、大便試料を採取するよう求められる。スクリーニング、処置、および追跡期間のあいだ、電話による対話式システムを用いて、日毎および週毎の症状データが収集される。
【０１０４】
スクリーニング段階のあいだ、痛みおよび腸機能に関するデータを収集し、調査開始時において患者が適切な症状レベルを有していたことを確かめる。痛みおよび不快感の重症度を、5ポイントのスケール（0、なし；1、軽度；2、中程度；3、強度；4、重度） に基づき日毎に評価した。大便の硬さのデータを日毎に監視し、次のように評点する：1、非常に硬い；2、硬い；3、有形である；4、緩い；5、水様である。大便の欠如には0の値を割り当てた。患者はまた、処置段階および追跡段階のあいだ、IBS症状の切迫度（0%、排泄の必要性を感じない～100%、排泄の激しい必要性を感じる）、便頻度（1日あたりの便の数）、膨満感（0、腹部膨張の感覚なし；1、軽度；2、中程度；3、重度）、および残便感（0、完全な排便間；1、不完全；2、便秘）を日毎に記録する。

【０１０５】
対象者のスクリーニングおよび選抜
IBSおよび下痢優勢の腸パターンを有する18歳以上の患者であって、その症状が少なくとも6ヶ月間に渡ってIBSのローマI基準を満たしていた者が、本調査に参加する。患者らは、無作為化の前に、2週間のスクリーニング評価を経て、痛みおよび便粘度が十分なレベルであることを確認する。IBS患者を分類するための客観的な基準は存在しないので、医師は、患者の病歴に基づいて腸機能の主要パターンにより患者を評価するように求められる。
【０１０６】
医師らには、患者が下痢を経験した時間のパーセンテージに基づくガイドラインが提供される。＞75%の時間に渡って下痢があるならば、その患者は下痢優勢であると分類される。
【０１０７】
妊娠中、授乳中、もしくは（出産可能な者である場合は）認められた避妊法を使用していない場合；不安定な医学的異常もしくはその他の胃腸異常が存在する場合；過去2年以内に主要な精神障害もしくは薬物乱用がある場合；スクリーニング段階の30日以内に治験薬が使用されていた場合；または、スクリーニング段階に入る前7日以内に、禁止された併用療法（胃腸管機能もしくは痛覚消失に干渉すると思われるもの）が使用されていた場合には、患者は除外される。
【０１０８】
上述のように、スクリーニング段階のあいだ、痛みおよび腸機能に関するデータを収集し、調査開始時において患者が適切な症状レベルを有していたことを確かめる。
【０１０９】
適切な症状および実験的評価
参加者となり得る人々のスクリーニングにおいて、調査の開始時において、日毎に、および4週間の処置期間の終わりにおいて、評価を実施する。
1）調査開始時および日毎
a）痛みおよび不快感の重症度を5ポイントのスケール（0、なし；1、軽度；2、中程度；3、強度；4、重度） に基づき評価する。
b）大便の硬さのデータは次のように評点する：1、非常に硬い；2、硬い；3、有形である；4、緩い；5、水様である。大便の欠如には0の値を割り当てた。
c）切迫度（0%、排泄の必要性を感じない～100%、排泄の激しい必要性を感じる）。
d）便頻度（1日あたりの便の数）
e）膨満感（0、腹部膨張の感覚なし；1、軽度；2、中程度；3、重度）。
f）残便感（0、完全な排便間；1、不完全；2、便秘）を日毎に記録する
g）体重
2）調査開始時
便を採取し凍結保存するが、調査の最後まで分析しない。
3）調査終了時の評価
初期試料および最終試料の両方からの糞便マイクロバイオームDNAの解析。
【０１１０】
研究デザイン
参加者として選ばれた対象者は、随意に食事を許される。除外された食品としてはアルコールが挙げられる。対象者らは、毎日、2つの食事の前1時間以内に製剤Aあるいはプラシーボを消費するように奨励され、3回目の食事前にその試験剤を摂取することは必須とする。
【０１１１】
対象者らは、開始時に、4週間分の製剤Aまたはプラシーボのどちらかを与えられ、第1の食事または第2の食事のどちらかの前1時間以内に、いずれかの製剤を含有する180ml用量の全部を消費し、第3の食事の前1時間以内に、いずれかの製剤を含有する180ml用量を

再び消費するよう指導される。

【０１１２】

対象者らは週ごとに測定およびIBS症状の評価のために来所する。スクリーニング期間および処置期間のあいだ、電話による対話式システムを用いて、日毎の症状データが収集される。

【０１１３】

結果

この調査は、プラシーボとは異なり製剤Aは以下のことを示すことを実証することが予測される。

1) 調査終了時における試料を調査開始時における試料と比較した場合、糞便試料中のバクテロイデス種対フィルミクテス種の比を上昇させる。

2) 痛みおよび不快感の重症度を改善させる。

3) 便の硬さを増加させる。

4) 排泄することの切迫感を減少させる。

5) 便の頻度を減少させる。

6) 膨満感を減少させる。

7) 完全な排泄の感覚を増加させる。

【０１１４】

寄生虫感染症、ウイルス感染症、および食物に対する症候性反応のような特発性下痢を処置するための製剤Aの利用も、痛みおよび不快感の重症度を改善させ、便の硬さを増加させ、排泄することの切迫感を減少させ、便の頻度を減少させ、膨満感を減少させることが予測される。

【０１１５】

［実施例7］

製剤Aの事例報告　糞便細菌療法における使用

【０１１６】

C. difficileによる感染に関連付けられた慢性下痢を有する55歳の女性が、もともと背部手術および肺感染のためのセファロスポリンおよびキノロン抗生物質による処置のしばらく後に始まった、8ヶ月間に及ぶ下痢を、まずかかりつけの医者に提示する。この8ヶ月間のあいだ、彼女は、メトロニダゾールおよびバンコマイシンで反復的に処置され、静脈内補水のために何度か入院が必要となった。この患者は、15分毎にひどい切迫感と直腸テネスムスを伴って緩い少量の排便があることをうったえる。彼女は常時おむつを着用しており、体重が10%減っている。軟性S状結腸鏡検査は典型的な偽膜性大腸炎を示す。大便試料はC. difficile毒素AおよびBについて陽性であり、便培養によりこの細菌の大量増殖が確認される。患者は再びバンコマイシンで処置されるが、応答しない。続いて彼女には、1日2回500 mgの経口のニタゾキサニド（2-アセチルオキシ-N-(5-ニトロ-2-チアゾリル)ベンズアミド）が処方される。ニタゾキサニドを止めた10日後にもとの下痢症状が再発する。

【０１１７】

内視鏡分析は偽膜性大腸炎の再発を示し、大便検査はC. difficileについて再び陽性である。ニタゾキサニドのサイクルをさらに2回（そのうち1回は1ヶ月丸々続けた）行い、フロラストール（Saccharomyces boulardiiを含有するプロバイオティクス剤）の投与を続けたものの、C. difficile誘発性大腸炎が再発する。

【０１１８】

従来型の治療ではC. difficileを解消することができないので、再発サイクルを打破し治癒可能性を達成するために、糞便細菌療法が提案される。潜在的なリスク、利点、および代替選択肢について患者とドナーとの各々と討議した後、両者からインフォームドコンセントを得る。患者は、処置の前日までニタゾキサニドを継続する。患者の44歳の夫（ドナー）には、2週間に渡って1日3回の製剤Aが処方される。彼は血液由来伝染病のリスク因子を有しておらず、抗生物質に最近晒されたことはなく、いかなる種類の胃腸症状も有し

ておらず、一般的な大便病原体およびC. difficileについての検査は陰性であり、その彼から糞便提供物が採取される。細菌療法は、大腸内視鏡によって、患者の右大腸に送達される。患者は、処置後2日目に最初の固形排便をすることが予測される。彼女の腹部痛は次第に治まることが予測され、細菌療法の1ヵ月後、彼女の大便試料はC. difficileについて陰性であることが予測される。患者は1日2回の製剤Aを開始することが予測される。6ヶ月目の経過観察において、患者は1日1回有形の大便をしていることを報告することが予測される。

【０１１９】

本明細書で開示される全ての測定値は、特に示されない限り、地球上の海面レベルにおける標準的な温度および圧力におけるものである。ヒトにおいて使用されるまたは使用が意図される全ての材料は、特に示されない限り、生体適合性である。

【０１２０】

上記実施態様は例として提示されるだけである。本発明の範囲は以下の特許請求の範囲によってのみ限定される。

【図１】

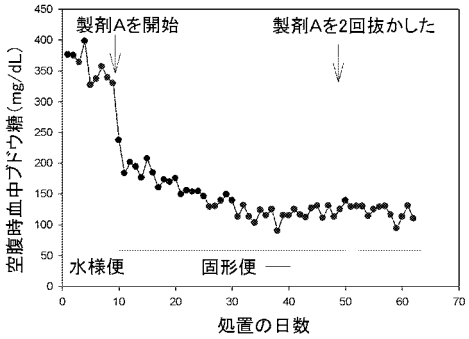

FIG. 1

【図２】

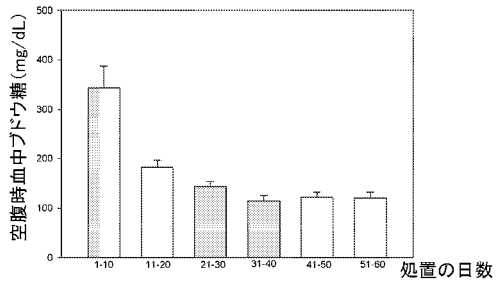

FIG. 2

【手続補正書】
【提出日】平成26年5月27日(2014.5.27)
【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】
200利用可能カロリー未満を有し、
a）少なくとも4gの、胃腸微生物相により発酵可能な消化不能炭水化物；
b）少なくとも2gの食物性ベータグルカン；および
c）少なくとも700 mgの食物性ポリフェノール化合物
を含む製剤。
【請求項２】
少なくとも4.7gの食物性ポリフェノール化合物を含む、請求項1に記載の製剤。
【請求項３】
a）前記消化不能炭水化物は、イヌリン、オリゴフルクトース、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、ガラクトオリゴ糖、アラビノキシラン、難消化性デンプン、キシロオリゴ糖、キシロオリゴサッカライド、ポリデキストロース、ダイズオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、グルコオリゴ糖、パラチノース、ゲンチオオリゴ糖、ラクチトール、ソルビトール、マルチトール、キシリトール、およびこれらの混合物からなる群から選択され、
b）前記食物性ベータグルカンは、パン酵母、オートムギ、オオムギ、コムギ、真菌、キノコ、細菌、およびこれらの混合物からなる群から選択されるものから抽出され、
c）前記食物性ポリフェノール化合物は、ベリー類から抽出され、少なくともアントシアニンおよびフラボノイドを含む、
請求項1または2に記載の製剤。
【請求項４】
a）前記消化不能炭水化物はイヌリンであり、
b）前記食物性ベータグルカンはオートムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含み、
c）前記食物性ポリフェノール化合物はブルーベリーから抽出される、
請求項1～3のいずれかに記載の製剤。
【請求項５】
前記イヌリンはリュウゼツランのイヌリンである、請求項3または4に記載の製剤。
【請求項６】
前記食物性ベータグルカンは、コムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含む、請求項1～5のいずれかに記載の製剤。
【請求項７】
前記食物性ベータグルカンは、オオムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカンを含む、請求項1～6のいずれかに記載の製剤。
【請求項８】
前記食物性ポリフェノール化合物は、ブルーベリー搾りかすから抽出される、請求項1～7のいずれかに記載の製剤。
【請求項９】
150利用可能カロリー未満を含む、請求項1～8のいずれかに記載の製剤。
【請求項１０】
a）前記消化不能炭水化物は4～40重量%の量で含まれ、
b）前記食物性βグルカンは2～21重量%の量で含まれ、
c）前記食物性ポリフェノール化合物は0.5～9重量%の量で含まれる、

請求項1～9のいずれかに記載の製剤。
【請求項１１】
a）前記消化不能炭水化物は6.5～28重量%の量で含まれ、
b）前記食物性βグルカンは3.5～14重量%の量で含まれ、
c）前記総食物性ポリフェノール化合物は1～6重量%の量で含まれる
請求項1～10のいずれかに記載の製剤。
【請求項１２】
食品調製物として製剤される、請求項1～11のいずれかに記載の製剤。
【請求項１３】
請求項12に記載の食品調製物を含む、医療用食品組成物。
【請求項１４】
ビグアナイドで処置されている患者において、血中ブドウ糖の制御を改善させ、かつ、ビグアナイドの使用に付随する下痢副作用を阻止するための、請求項1～12のいずれかに記載の製剤。
【請求項１５】
前記ビグアナイドはメトホルミンである、請求項14に記載の製剤。
【請求項１６】
メトホルミンで処置されている糖尿病患者における食事管理のための医療用食品組成物であって、
a）少なくとも4gの、リュウゼツランのイヌリン；
b）少なくとも2gの、オートムギから抽出される(1,3/1,6)βグルカン；および
c）少なくとも700 mgの、ブルーベリー搾りかすから抽出される食物性ポリフェノール化合物
を含む医療用食品組成物。
【請求項１７】
メトホルミンで処置されている糖尿病患者において、メトホルミンの投与に付随する副作用を管理するための、請求項16に記載の医療用食品組成物。
【請求項１８】
前記医療用食品組成物は、少なくとも1日2回患者に投与される、請求項17に記載の医療用食品組成物。
【請求項１９】
メトホルミンの投与に付随する前記副作用は下痢であり、前記患者は、前記医療用食品組成物が投与されない場合に経験する下痢事象の数と比べて、前記医療用食品組成物が投与される場合には経験する下痢事象がより少なくなる、請求項17または18に記載の医療用食品組成物。
【請求項２０】
メトホルミンで処置されている糖尿病患者において、空腹時血中ブドウ糖レベルを低減させるための、請求項16に記載の医療用食品組成物。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 2012/051408

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/733 *(2006.01)*
A61K 31/716 *(2006.01)*
A61K 31/702 *(2006.01)*
A61K 31/353 *(2006.01)*
A61P 1/00 *(2006.01)*
A61P 3/00 *(2006.01)*
A23L 1/308 *(2006.01)*

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)

A61K 31/733, 31/716, 31/702, 31/353, A61P 1/00, 3/00, A23L 1/308

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DEPATISnet, DWPI, EAPATIS, Esp@cenet, PAJ, PCT Online, PatSearch, PubMed, RUPTO, RUSPAT

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1600061 A1 (COGNIS IP MANAGEMENT GMBH) 30.11.2005, claims 1, 2, p. 2, paragraph [0001]	16-18
Y	WO 2000/064282 A1 (TORTORA DIOMEDE ANTONIO et al.) 02.11.2000, claims 1, 16, p. 1, lines 12-15, p. 2, lines 1-2, 9, 13-14	1-15, 19-62
Y	WO 2011/060307 A2 (KANG, JINGXUAN) 19.05.2011, claims 1, 13, 14, 28, p. 5, paragraphs [0018] - [0019], [0022], p. 8, paragraph [0042]	1-15, 19-62
Y	EP 1214893 A1 (AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH) 19.06.2002, p. 7, paragraph [0062]	29, 31
Y	CALRA S. "Emerging role of dipeptidyl peptidase-IV (DPP-4) inhibitor vildagliptin in the management of type 2 diabetes" J. Assoc. Physicians India, 2011 Apr; 59:237-245 (abstract) [online] [Retrieved 25.01.2013] Retrieved from PubMed, PMID: 21755761	25

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] 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 document 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	Date of mailing of the international search report
28 January 2013 (28.01.2013)	18 April 2013 (18.04.2013)
Name and mailing address of the ISA/ FIPS Russia, 123995, Moscow, G-59, GSP-5, Berezhkovskaya nab., 30-1 Facsimile No. +7 (499) 243-33-37	Authorized officer E. Maslova Telephone No. (495)531-64-81

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 2012/051408

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LI, Yuel et al. "Protective effect of dietary fiber on intestinal mucosa barrier in inflammatory bowel diseases rats". China Medical Herald, 2010, Issue 13, pp. 22-23 (abstract) [online] [Retrieved 25.01.2013] Retrieved from the Internet: <URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YYCY201013012.htm>	33
Y	CAVET M. E. et al. "Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells". Mol. Vis. 2011 Feb 18; 17: 533-542 (abstract) [online] [Retrieved 25.01.2013] Retrieved from PubMed, PMID: 21364905	30
Y	TARINI J. et al. "The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects". Appl. Physiol. Nutr. Metab., 2010 Feb; 35(1): 9-16 (abstract) [online] [Retrieved 29.01.2013] Retrieved from PubMed, PMID: 20130660	32
Y	VOS A.P. et al. "Immune-modulatory effects and potential working mechanisms of orally applied nondigestible carbohydrates". Crit. Rev. Immunol., 2007 ;27(2): 97-140 (abstract) [online] [Retrieved 29.01.2013] Retrieved from PubMed, PMID: 17725499	33
Y	JUHEL C. et al. "Cholesterol-lowering effect of non-viscous soluble dietary fiber Nutriose6 in moderately hypercholesterolemic hamsters", Indian J. Exp. Biol., 2011 Mar; 49(3): 219-28 (abstract) [online] [Retrieved 29.01.2013] Retrieved from PubMed, PMID: 21452602	33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 2012/051408

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 63
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claim 63 is unclear, since it does not define the subject-matter for which the protection is sought and therefore has not been searched.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		テーマコード（参考）
A61K	*31/702*	*(2006.01)*	A61K	31/702	
A61K	*31/7032*	*(2006.01)*	A61K	31/7032	
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	3/10	
A61K	*31/717*	*(2006.01)*	A61K	31/717	
A61K	*31/7048*	*(2006.01)*	A61K	31/7048	
A61K	*31/353*	*(2006.01)*	A61K	31/353	
A61P	*1/12*	*(2006.01)*	A61P	1/12	
A23L	*1/30*	*(2006.01)*	A23L	1/30	B
A61K	*31/70*	*(2006.01)*	A61K	31/70	
A61K	*31/05*	*(2006.01)*	A61K	31/05	

(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,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,VN

(72)発明者 ハイマン、 マーク エル.
アメリカ合衆国 ４６２５０ インディアナ州 インディアナポリス ブルックビュー サークル ７５２３
(72)発明者 スタル、 ディーン ピー.
アメリカ合衆国 ８０５０３ コロラド州 ロングモント ニオット ロード ６２２５
(72)発明者 ペノ、 ジャスティン ダブリュー.
アメリカ合衆国 ７０７７５ ルイジアナ州 セント フランシスビル ローズダウン コート ５３７９

Ｆターム(参考) 4B018 MD15 MD27 MD49 ME03
4C086 AA01 AA02 BA08 EA01 EA04 EA11 EA20 MA03 MA04 NA06
ZA73 ZC35
4C206 AA01 CA05 MA03 MA04 NA06 ZA73 ZC35