

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5723080号  
(P5723080)

(45) 発行日 平成27年5月27日 (2015. 5. 27)

(24) 登録日 平成27年4月3日 (2015. 4. 3)

(51) Int. Cl.	F I
<b>A 6 1 K 35/74 (2015. 01)</b>	A 6 1 K 35/74 A
<b>A 6 1 P 1/14 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 1/14
<b>A 6 1 P 3/00 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/00
<b>A 6 1 P 13/12 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 13/12

請求項の数 10 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2006-534116 (P2006-534116)	(73) 特許権者	506105526
(86) (22) 出願日	平成16年9月30日 (2004. 9. 30)		キボウ バイオテック、インク
(65) 公表番号	特表2007-507526 (P2007-507526A)		K I B O W B I O T E C H, I N C.
(43) 公表日	平成19年3月29日 (2007. 3. 29)		アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/032250		073、ニュートン スクエア、ウェスト
(87) 国際公開番号	W02005/032591		チェスター パイク 4629、ニュー
(87) 国際公開日	平成17年4月14日 (2005. 4. 14)		トン ビジネス センター
審査請求日	平成19年9月26日 (2007. 9. 26)	(74) 代理人	100102842
審査番号	不服2013-8899 (P2013-8899/J1)		弁理士 葛和 清司
審査請求日	平成25年5月15日 (2013. 5. 15)	(72) 発明者	ランガナタン、ナタラジャン
(31) 優先権主張番号	10/676, 622		アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19
(32) 優先日	平成15年9月30日 (2003. 9. 30)		008、ブルーモール、コレット サーク
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ル 10
(31) 優先権主張番号	10/676, 558		
(32) 優先日	平成15年9月30日 (2003. 9. 30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腎臓機能を増大させるための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腎不全を有する対象における腎臓機能を増大させるための医薬組成物であって、プロバイオティック細菌を含み、ここで前記プロバイオティック細菌が、*Streptococcus thermophilus*、*Lactobacillus acidophilus*および*Bifidobacterium longum*を含むものであり、前記プロバイオティック細菌が、腎不全を有する対象におけるクレアチニンおよびBUNレベルを低下させる、前記医薬組成物。

【請求項 2】

さらに、少なくとも1種のビタミン成分および少なくとも1種のミネラル成分を含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

さらに、腸溶コーティングを含む、請求項1または2に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

請求項1～3のいずれか一項に記載の医薬組成物であって、対象に投与して、毒素の増加、代謝廃棄物の増加、および望まない細菌の過剰増殖を、対象において低減し、これにより腎臓機能を増大させるための、前記医薬組成物。

【請求項 5】

対象に投与して、尿毒症の症状を寛解するための、請求項1～4のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

対象に投与して、癌、H I VまたはA I D Sの化学療法処置を受けている対象における増大したクレアチニンまたはB U Nレベルを寛解するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

対象に投与して、代謝症候群を有する対象における増大したクレアチニンまたはB U Nレベルを寛解するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

対象に投与して、高タンパク質および低炭水化物食物を消費する対象における増大したクレアチニンまたはB U Nレベルの症状を寛解するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 9】

対象に投与して、胃腸の健康を回復し、維持するための請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

対象に投与して、代謝疾患の進行を遅らせるかまたは解消するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の背景

20

腎臓疾患は、米国における主な疾患の中で4番目に順位付けされており、2000万人を超えるアメリカ人を苦しめている。90,000人を超える患者が、毎年腎臓疾患のために死亡している。近年、慢性腎不全の患者の数は、毎年約11パーセント増大している。約80,000人の透析を受けているアメリカ人が、毎年種々の合併症で死亡しており、27,000人を超える人々が、毎年腎臓移植のための待機リスト上にあり、これらの患者のわずか約11,000人が、移植を受けている。さらに、350,000人近くのアメリカ人が、末期腎不全(ESRD)を患っており、これは、慢性腎不全における最終段階である。

【0002】

正常な、健康なヒトにおいて、代謝廃棄物窒素は、主に腎臓を介して尿素、尿酸クレアチニンなどとして尿中に分泌される。しかし、腎臓疾患および多くの他の疾患、例えば尿素回路酵素欠損における先天異常を有する個体において、廃棄物窒素は、身体中に蓄積し、これにより毒性症状が出現する。高アンモニウム(hyperammonium)により、精神的遅れおよび重篤な場合においては昏睡がもたらされ得る。

30

【0003】

血液透析または腹膜透析および腎臓移植は、唯一の処置モダリティである。しかし、これらの処置モダリティの経済的な費用は、極端に高い。例えば、1996年に米国のみにおいて、末期腎不全(ESRD)処置の年間の費用は、140億ドルを超えた。低いヘルスケア予算を有する開発途上国および低開発国において、ESRD患者は、これらの高い費用のためにこのような処置へのアクセスを奪われている。従って、尿毒症の処置の代替

40

【0004】

多くの処置の試行は、腸を腎臓機能についての代用として用いることに基づいていた。正常な消化プロセスの間、消化管は、栄養素および水を血流に送達し、ある種の廃棄物生成物および未消化の物質を腸を通して消失させる。腸壁は、栄養素、電解質、水およびある種の消化補助物質、例えば胆汁酸の吸収を調節する。腸壁はまた、小さい分子が腸管から血流中に通過するのを可能にし、大きい分子が循環に進入するのを防止する半透膜として作用する。

【0005】

窒素性廃棄物、例えば尿素、尿酸、クレアチニンおよび尿酸は、数種の他の小さい、お

50

よび中程度の分子量の化合物と共に、小腸中に流入し、小腸上皮を横断して平衡させる。腸透析の研究により、7.1グラムの尿素、2.9グラムのクレアチニン、2.5グラムの尿酸および2.0グラムのリン酸塩の腸液中への毎日の流れが示された (Sparks (1975) *Kidney Int. Suppl.* 7 (suppl 3):373-376)。従って、外部腸瘻孔、腸透析、誘発された下痢および経口吸着剤および/またはカプセル封入されたウレアーゼ酵素の投与を含む種々の侵襲性の、および非侵襲性の試行が、尿毒症廃棄物を消化管から抽出するためになされた (Twiss and Kolff (1951) *JAMA* 146:1019-1022; Clark et al. (1962) *Trans. Am. Soc. Artif. Intra. Organs* 8:246-251; Pateras et al. (1965) *Trans. Am. Soc. Artif. Intra. Organs* 11:292-295; Shimizu et al. (1955) *Chemical Abstracts* 103:129004; Kjellstrand et al. (1981) *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* 27:24-29; Kolff (1976) *Kidney Int.* 10:S211-S214)。

10

## 【0006】

さらに、遺伝子改変の*E. herbiicola*細胞が、カプセル封入され、アンモニアを、腸により消失する前に、細胞のための使用可能なアミノ酸に変換することが例証された。マイクロカプセル封入された遺伝子改変の大腸菌DH5細胞はまた、インビトロ系において、および尿毒症ラット動物モデルにおいて尿素およびアンモニアを除去するのに有効であると示された (Prakash and Chang (1995) *Biotech. Bioengin.* 46:621-26; Prakash and Chang (1996) *Nature Med.* 2:883-887)。

## 【0007】

ヒト消化管は、多数であり、かつ種々の細菌を含む複雑な微生物エコシステムを有する。ヒト消化管中の滞留する細菌集団は、胃腸機能に対して、並びにこれによりヒト健康および幸福に対して主な影響を有する。これらの中で、数種の細菌は、日和見性であるか、または有害であると考えられており、悪い状態、例えば下痢、感染症、胃腸炎および内痔血症を生じ、一方数種の細菌種は、これらが、ヒト生物体についての有益な機能を発揮する点で、「プロバイオティック (probiotic)」であると考えられる (Holzapfel, et al. (1998) *Int. J. Food Microbiol.* 41(2):85-101)。

20

## 【0008】

プロバイオティック細菌の中で、*Bifidobacteria*種は、最も顕著である。*Bifidobacteria*種は、生きており、および生存可能な形態における際に、免疫系を刺激し、病原菌および腐敗菌の競合的排除を行い、血液中のアンモニアおよびコレステロールの量を減少させ、ミネラルの吸収を促進する。さらに、*Bifidobacteria*は、前発癌物質を発癌物質に変換する数種の酵素の活性を低下させることにより、大腸癌に対する防止的作用を奏することが示唆された (von Wright, et al. (1999) *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 11(11):1195-1198)。

30

## 【0009】

乳酸菌、例えば *Lactobacillus bulgaricus*、*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus plantarum* および *Streptococcus faecium*、*Streptococcus thermophilus* もまた、プロバイオティックである。これらの細菌は、病原性微生物に対してアントゴニスト効果を生じ、免疫系を刺激し、ラクトース消化を改善し、脂肪を一層消化可能にする脂肪分解活性を遂行し、コレステロールの血漿値を低下させ、腸粘膜を保護して栄養素の均一な同化を確実にし、いくつかの癌に対して活性である多糖類を産生し、かつ前発癌物質の発癌物質への変換を触媒する数種の酵素産生微生物の生存可能性を低下させる。

40

## 【0010】

プロバイオティック細菌は、腸の病原菌/有害な細菌の増殖を抑制し、遅延させるこれらの効果を、相乗的な方式で奏すると、考えられる (Marteau, et al. (2001) *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (2 Suppl):430S-436S; Cummings, et al. (2001) *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (2 Suppl):415S-420S)。

## 【0011】

腸内細菌叢は、抗生物質処置および他の療法を受けている患者、並びに炎症性腸疾患、

50

腎臓疾患および肝臓疾患を患っている個体においては減少し、不均衡になり、または消失し得る。さらに、通常に加齢の間、Bifidobacteria集団は、減少し、一方病原菌および腐敗菌の濃度は、付随して増大することが示された(Orrhage, et al. (2000) *Drugs Exp. Clin. Res.* 26(3):95-111)。

#### 【 0 0 1 2 】

また、微生物、例えばBifidobacterium種の有益な効果は、部分的に、大腸中に存在する、プレバイオティック (prebiotic) として知られている非消化性糖を発酵させるこれらの能力によることが、知られている。プレバイオティックは、大腸中の1種または限定された数の細菌の増殖および/または活性を選択的に刺激することにより宿主に有益に影響する非消化性食物成分である。プレバイオティックは、典型的には、比較的短い鎖の長さの炭水化物として考えられている。プレバイオティックは、発酵のための基質であることにおいて、盲腸に到達する他の炭水化物、例えば非デンプン多糖類、糖アルコール類、および耐性デンプンと類似している。しかし、これらは、マイクロフローラに対するこれらの選択的な効果において独特である。有効であるために、プレバイオティックは、盲腸に到達しなければならない(Bezkorovainy (2001) *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (2 Suppl):399S-405S)。

10

#### 【 0 0 1 3 】

米国特許第5,733,568号には、マイクロカプセル封入されたLactobacillus細菌を抗生物質に関連した、または他の急性の、および慢性の下痢並びに皮膚および膣の酵母感染症の処置のために用いることが教示されている。マイクロカプセル封入は、桿菌の不活性化を防止し、これを腸に送達し、並びに前述の下痢において見られるラクトース不耐性を回避すると言われている。

20

#### 【 0 0 1 4 】

米国特許第5,032,399号には、Lactobacillus acidophilusの種の、腸粘膜に付着し、これにより有益な細菌集団を減少させる抗生物質療法の胃腸の副作用を低下させるための使用が教示されている。

#### 【 0 0 1 5 】

米国特許第5,531,988号には、有益な細菌に加えて、免疫グロブリンを組成物中で栄養補助食品として用いることが教示されている。

米国特許第5,840,318号にはまた、動物の免疫系を変調させることができる有益な細菌組成物が教示されている。

30

#### 【 0 0 1 6 】

プロバイオティック、例えばLactobacillus acidophilusを用いることは、細菌の過剰増殖並びに尿毒症毒素および発癌性化合物の蓄積を抑制することが示唆された。尿毒症患者の食事における吸収不能な炭水化物はまた、糞便の窒素を増大させることが示された。ラクトースおよび食物繊維を用いることはまた、血漿尿素を11~27%減少させ、糞便の窒素分泌を39~62%まで増大させることが示された(Lange (1997) *Nature Med.* 3:2-3)。

#### 【 0 0 1 7 】

しかし、これらの従来技術の方法の主な欠点の1つは、これらが、個別の尿毒症溶質または毒素を扱う傾向があることである。しかし、腎臓、肝臓および胃腸疾患または障害の適切な臨床的な取り扱いには、実際に、複数の症状の寛解が必要である。本発明は、腎臓機能を増大させるための組成物および方法を提供する。

40

#### 【 0 0 1 8 】

発明の概要

本発明は、ヒトまたは動物対象における腎臓機能を増大させるための組成物に関する。この組成物は、対象におけるクレアチニンおよびBUNレベルを低下させる少なくとも1種のプロバイオティック細菌を含む。特定の態様において、プロバイオティック細菌は、Lactobacillus、BacillusまたはStreptococcus、Bifidobacterium属からの種である。他の態様において、組成物は、さらに、少なくとも1種の炭水化物、少なくとも1種の脂肪

50

成分、少なくとも1種のタンパク質成分、少なくとも1種のビタミン成分、少なくとも1種のミネラル成分、または少なくとも1種のプレバイオティックを含む。他の態様において、組成物は、約50億~200億個のプロバイオティック細菌のコロニー形成単位を提供する。

#### 【0019】

本発明はさらに、腎臓機能を増大させるための方法であって、プロバイオティック組成物を用い、従って毒素および代謝廃棄物の増加、並びに望まない細菌の過剰増殖を、対象において低減し、これにより腎臓機能を増大させる、前記方法に関する。特定の態様において、プロバイオティック組成物により、尿毒症の症状；癌、HIVもしくはAIDSの化学療法処置を受けている対象における増大したクレアチニンもしくはBUNレベル；代謝症候群を有する対象における増大したクレアチニンもしくはBUNレベル；または高タンパク質および低炭水化物食物を消費する対象における増大したクレアチニンまたはBUNレベルの症状が寛解される。

10

#### 【0020】

対象にプロバイオティック組成物を投与することにより、胃腸の健康を回復し、維持するための、および代謝疾患の進行を遅らせるかまたは解消するための方法もまた、提供する。

#### 【0021】

発明の詳細

腎不全において、糸球体濾過速度の低下があり、腎臓は、血液の恒常性を維持することができない。水、ナトリウム、カリウム、カルシウムおよび他の塩の恒常性均衡は、もはや可能ではなく、窒素性廃棄物は、分泌されない。水の保持により、浮腫が生じ、水素イオンの濃度が上昇するに従って、アシドーシスが発生する。窒素性廃棄物は蓄積し、尿毒症と呼ばれる状態が、血液および組織中に発生する。尿毒症毒素は、健康な腎臓により正常に分泌される溶質として定義され、腎不全の発生の際に次第に蓄積し得、従ってこれらの濃度は上昇し、種々の生理学的および生化学的機能が阻害される；概して、これらは、尿毒症症候群を含む臨床的な症状の複雑な組の原因となる。尿毒症毒素の例には、アンモニア、尿素、クレアチニン、フェノール類、インドール類、および中程度の分子量の分子が含まれるが、これらには限定されない。尿素レベルは、血液尿素窒素測定値として表される。

20

30

#### 【0022】

さらに特に、尿毒症において、血清クレアチニン、血液尿素窒素(BUN)、尿酸、およびグアニジノ化合物、例えばN-メチルグアニジン(NMG)およびグアニジノコハク酸(GSA)の濃度は、酸-塩基平衡、電解質および水保持における随伴する異常に伴って顕著に変化する。尿素は、肝臓がアンモニアから産生する化学物質である。アンモニアは、食物タンパク質の分解から腸中で吸収される。肝臓における産生の後に、尿素は、腎臓により分泌される。尿素は、脱水症および尿道閉塞を含む他の疾患状態において同様に増大する。クレアチニンは、筋肉の分解生成物であり、腎臓により一定の速度で分泌される。クレアチニンは、腎臓機能についての重要なマーカーとして作用する。腎不全において、対象におけるリンレベルは、増大し、身体における種々の部位のミネラル化がもたらされ得る。さらに、また蓄積する尿毒症毒素として同定されている、低い、および中程度の分子量の数種の既知の、および未知の物質がある。未処置である場合には、アシドーシスおよび尿毒症により、昏睡および最終的には死が生じ得る。

40

#### 【0023】

腎臓透析の導入は、腎不全の臨床的処置および尿毒症の説明における急速な進歩に寄与した。患者が、血清クレアチニンレベルが $1.2 \text{ mg/dL}$ またはこれ以下の正常な範囲を超える穏和な腎不全を有する際には、患者は、腎臓置換療法、例えば透析または腎臓移植を必要としない。しかし、一般的に、血清クレアチニンレベルが $13.6 \pm 4.6 \text{ mg/dL}$ に上昇した際には、患者は、生存するために常習的な透析または腎臓移植を必要とする。

50

## 【 0 0 2 4 】

透析は、E S R D患者のための生涯の療法として作用し得る。リン酸塩結合剤、例えばレナゲル(RENAGEL) (登録商標) (Geltex/Genzyme, Boston, Massachusetts)、酢酸カルシウム、炭酸カルシウムまたは水酸化アルミニウムは、一般的に、上昇したリン酸塩レベルを低下させるために透析を受けている尿毒症患者のために処方される。しかし、一般的に、透析は、極めて高価であり、不都合であり、時間を消費し、時々1または2以上の副作用を生じ得る。成功した腎臓移植と共に、患者は、比較的低い長期費用を伴って一層正常な生活を営むことができる。しかし、また移植手術に関連する高い費用、回復期間および拒絶反応防止投薬への継続的な必要性がある。さらに、しばしば、好適なドナーの不足がある。従って、代替の方法への必要性がある。

10

## 【 0 0 2 5 】

本発明は、特に腎不全を有する対象における腎臓機能を増大させるための組成物であって、少なくとも1種のプロバイオティック細菌を含み、ここで前記プロバイオティック細菌が、対象におけるクレアチニンおよびB U Nレベルを低下させる、前記組成物を提供する。この組成物は、当該組成物が経口的に摂取された際に対象の腸に到達するように、腸溶コーティングを含むことができる。あるいはまた、この組成物は、市販可能な栄養補給食品、栄養補助食品および粉末、健康バー、ヨーグルト、錠剤、乾燥食品、およびペット処方物の形態であってもよい。本発明の食品または栄養製品は、プロバイオティック細菌を含むインスタントの携帯用の栄養補助食品である。

## 【 0 0 2 6 】

プロバイオティックは、所要に応じて他の成分を有する食品または栄養製品中に存在して、これらのインスタント食品の保存寿命を増大してもよい。本明細書中で用いる保存寿命の用語は、食品または栄養製品が、製造および/または包装された後に、これが腐敗、微生物による損傷、酸化、成分の分離または他の原因により販売するには不適となるまでの期間の長さを意味する。例えば、光、熱、酸素および水分は、プロバイオティック細菌の生存可能性に悪影響を及ぼす。細菌を食品または栄養製品中に導入すると、これらが、ピルまたは散剤剤剤と同様にこれらの悪条件から保護される。

20

## 【 0 0 2 7 】

本発明は、摂取した際に腸(intestinal or gut)細菌叢となり、尿素およびアンモニアを好ましくはアミノ酸に代謝することができ、これを細菌または患者により用いることができる、プロバイオティック細菌として知られている共生の、および食品階級の細菌の処方物を提供する。このようなプロバイオティック細菌を点滴することにより、透析への必要性の頻度を減少させ、さらにはこれを解消することが可能になる。本発明のプロバイオティック細菌は、ヒトおよび動物の消化管中に天然に存在する生きている微生物である。これらは、多数の健康障害に対する身体の防御を増強する有益な細菌である。

30

## 【 0 0 2 8 】

本発明において有用なプロバイオティック細菌には、以下のものが含まれる：Lactobacillus sp.、例えばL. acidophilus、L. bulgaricus、L. casei、L. rhamnosus、L. fermentum、L. salivarius、L. brevis、L. plantarum、L. ruteri、またはL. sporogenes；Streptococcus sp.、例えばS. thermophilus；Bacillus sp.、例えばB. pasteurii；およびBifidobacterium sp.、例えばB. adolescentis、B. infantis、B. longum、B. thermophilus、またはB. bifidum。特定の態様において、プロバイオティック細菌は、以下のものの1種または2種以上を含む：L. bulgaricus、S. thermophilus、L. acidophilus、L. sporogenesまたはB. bifidum。他の態様において、プロバイオティック細菌は、高いウレアーゼ活性を示す(例えばB. pasteuriiまたはS. thermophilus)。

40

## 【 0 0 2 9 】

特定の態様において、プロバイオティック細菌は、有益な細菌と有害な細菌との間の正常な均衡を回復し、正常なタンパク質代謝の過剰な尿素廃棄物生成物を除去し、これにより罹患している腎臓に対する負担を軽減し、かつアンモニアを除去して精神的遅れおよび関連する状態を防止し、かつ親アンモニア性(ammoniophilic)尿素分解微生物として作用

50

する機能を奏し得る。

【0030】

プロバイオティック細菌が*S. thermophilus*である際には、用いられる*S. thermophilus*菌株は、KB4、KB19またはKB25であるのが望ましい。これらのプロバイオティックの、尿素分解単離物を、種々の食物供給源から単離し、模擬した胃液(表1)および模擬した腸液(図1A~1C)中で増殖する間に尿素を異化するこれらの能力を評価することにより、インビトロで特徴づけした。

【0031】

【表1】

表 1

菌株	pH	生存 (cfu/mL)			
		0 時間	1 時間	2 時間	3 時間
KB19	1.4	$10^{10}$	0	0	0
	2.0	$10^{10}$	0	0	0
	2.4	$10^{10}$	$10^4$	$10^4$	$10^4$
	3.0	$10^{10}$	$10^8$	$10^8$	$10^6$
KB4	1.4	$10^{10}$	$10^3$	0	0
	2.0	$10^{10}$	$10^3$	0	0
	2.4	$10^{10}$	$10^5$	$10^4$	$10^4$
	3.0	$10^{10}$	$10^{10}$	$10^{10}$	$10^9$
KB25	1.4	$10^{10}$	0	0	0
	2.0	$10^{10}$	0	0	0
	2.4	$10^{10}$	ND	ND	$10^6$
	3.0	$10^{10}$	ND	ND	$10^7$

【0032】

すべての3種の菌株は：大腸環境に特有の5.5~7.5のpH範囲において、供給された状態の模擬した人工的な腸液(AIF)中で増殖し；尿素を単一の窒素供給源として用い；かつ尿素を、他の窒素供給源の存在下で異化した。尿加水分解は、増殖およびpH依存性であった。図2A~2Cは、それぞれKB19、KB4およびKB25が、血液中の尿素を加水分解するにあたり有効であることを示す。試験したすべての条件の下で、尿素加水分解の速度は、菌株に依存し、尿毒症用途のための最良の候補の選択を可能にした。1種の選択された単離物である*S. thermophilus* KB19は、 $10^9$  cfu/mLのKB19の初期密度において接種した際に、24時間以内にpH6.3において、尿素濃度を300mg/dLから20mg/dLに低下させ、酸性のpH3.0において3時間、cfuにおける2対数の損失のみを伴って生存し、胆汁を通過することができた。

【0033】

さらに、KB19による尿素分解は、AIF中で評価した際に、他の尿素を利用する細菌、例えば*B. pasteurii*および遺伝子改変の尿素分解大腸菌(図3)に匹敵することが見出された。AIFは、米国薬局方により、改変(1%デキストロース、100μMのNiCl<sub>2</sub>、10%のMRSプロスおよび100mg/dLの尿素並びに、プラスミド保有大腸菌の増殖のために、0.01%アンピシリンの添加)を伴って調製された。細菌菌株を、改変したAIF中に、*S. thermophilus*および*B. pasteurii*について $10^9$  cfu/mLの、および大腸菌について $10^8$  cfu/mLの初期密度において接種し、37にお

10

20

30

40

50

いてインキュベートした。アリコートを、0、2、4、8、12および24時間において採取し、尿素窒素および光学的密度(OD)データを記録した。24時間以内に、すべての菌株は、100%の尿素を系から除去した。従って、*S. thermophilus* KB19は、尿素を除去するために、本発明の組成物において有利に用いられる。さらに、菌株KB19は、一般的に用いられている抗生物質に対していかなる耐性をも示さなかった。

#### 【0034】

プロバイオティック細菌は、 $10^9 \sim 10^{11}$  cfu (コロニー形成単位)の範囲において有効であることが見出された。例えば、*Lactobacillus acidophilus*は、 $10^9 \sim 10^{10}$  cfuで特に有用であり、一方*B. longum*は、 $10^9 \sim 10^{10}$  cfuで、および*S. thermophilus*は、 $10^{10} \sim 10^{11}$  cfuで望ましく用いられる。例1の表3を参照。一般的に、本発明の組成物は、約 $5 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$  cfuの生存可能な細菌を提供する。特定の態様において、組成物は、約 $5 \times 10^9 \sim 9 \times 10^9$  CFUを含む。他の態様において、組成物は、約 $6 \times 10^9 \sim 8 \times 10^9$  CFUの生存可能な細菌を含む。当業者は、所望の用途および使用に基づいて、プロバイオティック細菌の適切な範囲を常習的に決定することができる。

10

#### 【0035】

プロバイオティック細菌を用いて、腎不全による窒素性廃棄物の増加を減少させる有効性を例示するために、プロバイオティック組成物を、尿毒症のラットに供給した。281.20 ± 41.6グラムの体重を有するSprague-Dalyラットに、基準の重量、BUN、血清クレアチニン、尿容積および糞便菌叢組成の測定の後、5/6の腎摘出を施した。調査群は、十分な腎機能障害を有する(血清クレアチニン =  $1.0 \pm 0.4$ ) 36匹の腎摘出したラット(18匹の雄および18匹の雌)並びに6匹の対照からなっていた。ラットを、6つの整合した群(GP)に分布させ、ANOVAは、基準において群間の有意な差異を示さなかった( $p = 0.516$ )。2週間の手術後の安定化の後、6匹のラットと同齢集団に、標準的なラット固形飼料と以下のレジメンの1つとを供給した：1) プラシーボ；2) *B. pasteurii*；3) *L. sporogenes*；4) *L. acidophilus*、*L. bulgaricus*、*B. bifidus*、*S. thermophilus*、*L. casei*、および*L. reuteri*；5) *L. acidophilus*、*L. bulgaricus*、*B. bifidus*、*S. thermophilus*；並びに6) *S. boulardii*。腎摘出していないラットの対照群( $n = 7$ 、血清クレアチニン =  $0.2 \pm 0.1$ )に、栄養補助食品を何も含まない同一の食物を施与した。対照のラットはすべて生存し、調査の終了時に0.5 ± 0.1の血清クレアチニンレベルを有していた。実験動物について、血液、尿および糞便測定を、30日おきに合計で120日にわたり得た。生存の日数は、主要評価項目変数であった(表2)。

20

30

#### 【0036】

【表 2】

表 2

群	生物体	生存	死滅	生存 %	平均日 ±SD	中央値
6	<i>S. bouvardi</i>	2	4	33.3	111±44	113
1	プラシーボ	2	4	33.3	116±39	122
5	H1001	2	4	33.3	116±36	110
4	SF101	3	3	50	126±33	132
2	<i>B. pasteurii</i>	4	2	66.7	148±14	156
3	<i>L. sporogenes</i>	5	1	83.3	149±16	156

10

## 【0037】

表 2 に示すように、*B. pasteurii* および *L. sporogenes* の食物は、他の点では未処置の尿毒症ラットにおける生存を増大させるにあたり、他の型よりも有効であった ( $p < 0.05$ )。

20

## 【0038】

*B. pasteurii* および *L. sporogenes* を供給した腎摘出したラットは、プラシーボ ( $99.0 \pm 46 \text{ mg/dL}$ ) と比較して、低い BUN レベル (それぞれ  $62.0 \pm 21 \text{ mg/dL}$  および  $63.0 \pm 26 \text{ mg/dL}$ ) を有しており、減少は (それぞれ 38% および 37%) であった。血清クレアチニンレベルは、*B. pasteurii* および *L. sporogenes* を供給したラットにおいて、プラシーボ ( $1.5 \pm 0.56 \text{ mg/dL}$ ) と比較して同様に低下し (それぞれ  $0.9 \pm 0.25 \text{ mg/dL}$  および  $0.9 \pm 0.2 \text{ mg/dL}$ )、両方の群において 40% の減少であった。他のレジメンは、プラシーボと比較して BUN または血清クレアチニンレベルを低下させるにあたり、比較的有効ではなかった。供給により、8 週においてすべての群において、細菌の適切な群についての糞便の計数が増大した。これらの結果は、栄養補助食品として経口的に投与された *B. pasteurii* および *L. sporogenes* が、尿素およびクレアチニンをインビボで対象において代謝することを示す。

30

## 【0039】

従って、本発明は、1 種のプロバイオティックまたはプロバイオティックの混合物を含む摂取可能な組成物に関する。組成物を、1 種または 2 種以上のプロバイオティックで構成することができ、さらに少なくとも 1 種のビタミン成分および少なくとも 1 種のミネラル成分を含むことができる。このようにして、組成物は、増強した多種のビタミンまたはカルシウム栄養補助食品の形態を採ることができる。

40

## 【0040】

インビボで用いるための組成物は、有利には、腸溶コーティングされており、かつ/またはマイクロカプセル封入されており、即ちゲルキャップまたは他の所望の形態にある。組成物の腸溶コーティングは、本発明の組成物を腸の回腸および大腸領域に送達するように特定の設計されており、ここで尿毒症溶質および他の分子の最大の再吸収が起こることが見出されている。これは、6.6 ~ 7.5 またはこれより高い pH において分解され、溶解するコーティング材料により、望ましく達成される。これらの特徴を有する腸溶コーティングの例には、ゼイン (Zein)、ポリグリコ乳酸 (polyglycolactic acid)、ポリ乳酸、ポリラクチド - コ - グリコリドおよび同様のコーティング材料が含まれるが、これらには限定されない。1 つの態様において、コーティングは、二層ゼラチンコーティングであ

50

る。

【0041】

本発明の組成物は、さらに、リン酸塩結合剤、例えば水酸化アルミニウムゲル、炭酸カルシウムまたは酢酸カルシウム、水酸化マグネシウムゲルおよび/または水結合剤、例えばオオバコ繊維、天然に存在するゴム、例えばローカストビーンガム、グアーガムまたは改変デンプンを含むことができる。

【0042】

本発明の組成物は、さらに、少なくとも1種の炭水化物、少なくとも1種の脂肪、少なくとも1種のタンパク質および/または少なくとも1種のプロバイオティック細菌を含むことができる。このような追加の添加剤を、1種または2種以上のプロバイオティック細菌と混ぜ合わせ、カプセル、ゲルキャップ、またはピルの形態で投与することができる一方、組成物を、栄養食品または栄養食品製品中に処方するのが望ましい場合がある。栄養食品または栄養食品製品は、例えば容易に消費され、携帯用であり、好都合な食物バー；栄養補助食品；栄養補給食品製品；ヒトまたは他の動物が摂食することを意図する医薬食品または機能性食品であるがこれらには限定されないすべてのプロバイオティック含有消費可能食品を意味する。食物バーを、圧縮、押出、または当業者に十分知られている他の方法により形成することができる。他の形態の食品、ヨーグルトまたは栄養製品はまた、通常の当業者に十分知られている。

【0043】

1つの態様において、本発明の組成物は、少なくとも1種のプロバイオティック細菌、少なくとも1種の炭水化物、少なくとも1種の脂肪、および少なくとも1種のタンパク質を含む栄養食品または栄養食品製品である。他の態様において、本発明の組成物は、少なくとも1種のプロバイオティック細菌、少なくとも1種の炭水化物、少なくとも1種の脂肪、少なくとも1種のタンパク質、少なくとも1種のビタミン、少なくとも1種のミネラルおよび少なくとも1種のプロバイオティック成分を含む栄養食品または栄養食品製品であり、ここで、プロバイオティック細菌は、窒素性廃棄物生成物を加水分解する傾向を有する。

【0044】

長い保存寿命を確実にするために、栄養食品または食品製品は、約5重量%より少ない、または一層好適には約2~4重量%の合計水分を有しなければならない。これらの重量は、100重量%とした栄養食品または食品製品の合計重量に基づいている。特定の態様において、栄養食品または食品製品の水活性は、約0.47よりも低く、またはさらに好適には約0.43よりも低い。

【0045】

炭水化物成分は、デキストロース、グルコース、スクロース、フルクトース、ラクトース、マルトース、ガラクトース、例えばソルビトール、マンニトール、キシリトールなどの糖アルコール類、転化糖シロップ、ブラウンシュガー、コーンシロップ、コーンシロップ固形物、蜂蜜、糖液、ブラウンシュガー、メープルシロップ、果汁、ステビア、または当業者に知られている供給源から商業的に入手できる炭水化物およびこれらの混合物であってもよい。また、特定の用途のために望ましい場合があるように、炭水化物成分に、調味料（例えばウマおよびヒトのためのリンゴまたは甘草風味バー）を提供することができる。あるいはまた、人工甘味料成分を、低い、または一層低いカロリーの食品または栄養製品のために加えることができる。人工甘味料には、アスパルテーム、アセサルフェーム、アルチテーム(albitame)の塩、サッカリンおよびこの塩、シクラミン酸およびこの塩、グリチルリジン酸塩、ジヒドロカルコン類、タウマチン、モネリンなどが、単独で、または組み合わせて含まれるが、これらには限定されない。

【0046】

栄養食品または食品製品処方物中のこれらの甘味料の範囲は、アリテーム(alitame)、タウマチンおよびジヒドロカルコン類について約0.02%~約0.10%、アスパルテーム、スクラロース、アセサルフェームおよびサッカリンについて約0.1%~約0.2

10

20

30

40

50

％の範囲内である。これらの重量は、100重量％とした食品の合計重量に基づいている。糖および/または無糖甘味料の組み合わせもまた、用いることができる。低カロリー甘味料を含む態様はまた、低カロリー充填剤を含む。低カロリー充填剤の例には、以下のものが含まれるが、これらには限定されない：ポリデキストロース；ラフチロース(Raftilose)、ラフチリン(Raftilin)；フルクトオリゴ糖類；パラチノース(Palatinose)オリゴ糖；グアーガム加水分解物；または消化不能なデキストリン。

【0047】

一般的に、栄養食品または食品製品は、約40～78重量％の炭水化物成分を含む。本発明の食品または栄養製品がバーの形態である際には、炭水化物成分は、望ましくは、合計重量のバーの約47～82重量％、またはさらに好適には65～73重量％である。

10

【0048】

脂肪成分は、オリーブ油、菜種油、パーム油、ココナッツ油、ヒマワリ油、ピーナッツ油、植物油、レシチン、魚油、綿実油、大豆油、ラード、モノグリセリド類、ジグリセリド類、バター、マーガリン、他の動物脂肪、植物脂肪、海産脂肪または乳脂肪であってもよい。合計の脂肪成分（本明細書中で用いる脂肪は、脂肪および油を共に含むことを意図する）の含量は、一般的に、100重量％とした食品または栄養製品の合計重量の約2.0～12.0重量％またはさらに好適には約3.0～5.0重量％である。この脂肪の少なくとも一部は、食用の水素添加された植物油またはこのような植物油から由来する製品である。1つの態様において、水素添加された植物油は、約0.5～1.0重量％のレベルで存在する。他の態様において、食用脂肪は、食品の合計重量の約0.7～0.8重量％である。水素添加された植物油は、食品のための水分障壁および潤滑剤として作用することができる。これらの食用油は、プロバイオティック細菌を水分、細菌の生存可能な集団の維持に対する有害物から保護する加えられた利点を有する。

20

【0049】

広範囲の食用タンパク質を、本発明の組成物において用いることができる。これらのタンパク質には、例えば、当業者により知られている供給源から商業的に入手できる穀物タンパク質、乳タンパク質、卵タンパク質、動物性タンパク質、植物性タンパク質、乳漿タンパク質、豆タンパク質、ラクトアルブミン-カゼイン共沈殿物、カゼイン酸カルシウム、カゼイン酸ナトリウム、精製もしくは純化した階級のカゼイン、大豆タンパク質、またはピーナッツおよびこれらの混合物が含まれるが、これらには限定されない。

30

【0050】

本発明の栄養食品または食品製品を生産するために用いられるタンパク質は、栄養食品または食品製品の合計重量の約5％～約80％の範囲内である。1つの態様において、タンパク質成分（1種または2種以上）は、約20％～約60％の範囲内である。他の態様において、タンパク質成分（1種または2種以上）は、栄養食品または食品製品の合計重量の約40％である。低、無または高タンパク質健康バー/食品はまた、本明細書中の発明により提供される。

【0051】

ビタミン類およびミネラル類（本明細書中で用いるミネラル類は、主要および微量栄養素を含む）は、本発明の組成物の1つの態様において、合計の組成物重量の約0.5～2重量％のレベルで存在する。1つの態様において、ビタミンおよびミネラルは、合計の組成物重量の約0.5～1.0重量％である。すべてのビタミン（1種または2種以上）またはミネラル（1種または2種以上）を、所望により組成物に加えることができ、これには、以下のものが含まれるが、これらには限定されない：マグネシウム、セレン、カルシウム、銅、並びに脂溶性ビタミン（ビタミンA、D、Eなど）および水溶性ビタミン（ビタミンC、ビタミンBなど）の両方。当業者は、ビタミン類およびミネラル類に加えて、本発明の健康バーが、アミノ酸または大量のタンパク質を供給することを理解する。

40

【0052】

プロバイオティックはまた、本発明の組成物において用いるのに適する成分として意図される。本明細書中で用いるプロバイオティックは、大腸中のプロバイオティック細菌を

50

含む1種または限定された数の細菌の増殖および/または活性を選択的に刺激することにより、宿主の健康を改善する効果と共に、宿主に有益に影響する、すべての無生物の消化可能でない食物成分を意味することを意味する。好適なプレバイオティックには、オリゴ糖類、例えばフルクトオリゴ糖類（例えばイヌリン、しかしこれに限定されない）、ガラクトオリゴ糖類、大豆オリゴ糖類、キシロオリゴ糖類、イソマルトオリゴ糖類、キクイモ粉末、ロールオート、バナナ繊維、ペクチン、ペクチン性多糖類、マンナン、グアーガム、ロカストビーンガム、こんにゃく、およびキサントガム、ペントサン、ベータ-グルカン、アラビナン類またはガラクトナン類、カラマツアラビノガラクトナン類、並びにこれらの混合物が含まれるが、これらには限定されない。1つの態様において、本発明の栄養食品または食品製品は、約2.0%~6.0%のプレバイオティック成分（1種または2種以上）を含む。他の態様において、プレバイオティックは、約3.0%~5.0%である。他の態様において、プレバイオティック成分は、約4.0%~5.0%である。すべての重量は、100重量%とした栄養食品または食品製品の合計重量に基づいている。

10

**【0053】**

対象、特に腎不全を有する対象の健康および幸福に対する本発明の組成物の有益な効果を前提として、本発明はさらに、腎臓機能を増大させ、胃腸の健康を回復および維持し、かつ代謝疾患の進行を遅らせるかまたは解消する方法における本発明の組成物を用いる方法に関する。本発明の組成物が、腎不全を有する対象に対して特に有用である一方、健康な個体もまた、本発明の組成物から利益を得ることが意図される。従って、本発明の方法に従って、対象は、健康な、並びに罹患したヒト並びにブタ、ウマ、ネコおよびイヌを含む動物を含むことを意図する。

20

**【0054】**

本発明の組成物を、対象に、本明細書中に開示した種々の形態で、毒素の増加を有効に減少させるかまたは阻害し、廃棄物の増加を減少させ、かつ/または望まない細菌の過剰増殖を減少させる量で投与する。このような量は、当業者により過度の実験を伴わずに、容易に決定される。例えば、本発明の組成物を、対象に、常習的な基準で、例えばある期間にわたり毎日1回または2回以上投与するのが、望ましい。毒素および窒素性廃棄物の減少は、血液、尿または糞便試料試験により示され、ここで、血液、尿または糞便試料のBUNレベルまたは血清クレアチニンレベルの、最初の、または対照のレベルと比較しての安定化または減少は、有効な処置を示す。

30

**【0055】**

本発明の1つの態様において、尿毒症を有する対象における腎臓機能を増大させる結果、尿毒症の症状の寛解がもたらされ得る。尿毒症の症状の寛解により、組成物が、十分なレベルの尿毒症毒素を除去して、尿毒症を罹患している患者が、透析を必要としないか、透析を比較的低い頻度で、もしくは比較的短い継続時間にわたり必要とし、または処置を伴わずに必要とされると直ちに透析の開始を必要としないようにすることを意味する。本発明の組成物をまた、これを必要とする対象に投与して、腎不全および尿代謝の先天異常のみならず、肝不全並びに胃腸障害および疾患をも処置することができる。

**【0056】**

毒素および廃棄物生成物は、消化管中に、血液中の窒素性廃棄物生成物の増加を分泌する腎臓の能力を崩壊させるすべての条件において蓄積し、これにより窒素性廃棄物生成物の循環する血液から腸中への拡散をもたらす傾向がある。窒素代謝に影響する条件には、高いタンパク質消費、化学療法、代謝疾患、タンパク質代謝における欠陥、および核酸代謝が含まれるが、これらには限定されない。糖尿病、腎不全、および肝臓疾患、並びに他の状態（例えば癌、HIVおよびAIDSのための化学療法；またはタンパク質に富んでおり、炭水化物が低い食物）により、有毒な窒素性化合物、例えばクレアチニンおよび尿素の血液中での増加がもたらされ得る。従って、本発明の組成物は、癌、HIVもしくはAIDSの化学療法処置を受けている対象、代謝症候群を有する対象または高いタンパク質/低い炭水化物の食物を消費する個体における増大したクレアチニンまたはBUNレベルを寛解するにあたり、特に有用である。

40

50

## 【 0 0 5 7 】

有毒な窒素性廃棄物生成物はまた、腸微生物の正常な均衡が崩壊した際に、対象の腸管中に蓄積し得る。適切な粘液産生および適切な細菌の定着を有する健康な消化管により、病原性細菌の過剰増殖が防止され、疾患プロセスが変調され、広範囲の炎症性障害が防止される。複雑な細菌構造および種々の序列が、消化管に存在する微生物中に存在する。健康な消化管を維持し、促進するために、有益な細菌の増殖を有効に促進し、一方有害な細菌の増殖および/または過剰増殖を最小にすることが、重要である。従って、本明細書中で提供するプロバイオティック組成物は、プロバイオティック細菌を提供して胃腸の健康を回復または維持することにより、消化管の全体的な一般的な状態に利益を付与する。これは、特に、胃腸の不快感の傾向を有する個体に対して特に有益である。例示的な胃腸の不快感には、例えば過敏性腸症候群、炎症性腸疾患、大腸炎、クローン病であるがこれらには限定されない炎症状態；および下痢が含まれるが、これらには限定されない。

10

## 【 0 0 5 8 】

対象により摂取された本発明の組成物の正確な量は、開業医または栄養士の判定および各々の対象の環境により決定され得る。

本発明を、以下の非限定的な例によりさらに例示する。

## 【 0 0 5 9 】

例 1 : B U N / クレアチニン減少

プロバイオティック組成物の種々の処方物を、5 / 6 腎摘出した小型のブタについて試験した。6 ヶ月の期間にわたり得られた合計 2 0 匹のブタから、3 匹は、手術後に死亡し ( 3 匹のうち 1 匹は、極度の疾患により安楽死させなければならなかった )、さらに 2 匹は、急性疾患のために、場合によっては感染症により安楽死させた。

20

## 【 0 0 6 0 】

その後、処方物 1 を供給された小型のブタを分離し、再び供給処方物 2 A および 2 B について用いた。同様に、2 A を、投与処方物 2 A c のために再使用した。切換を、以下の手順を用いて行った。初期細菌レジメンを停止し、3 ~ 4 週間のウォッシュアウト期間を、新たな処置レジメンへの切換の前に割り当てた。他方の群中の小型のブタに、専ら割り当てた食物レジメン ( それぞれ 3 A、3 B、4 A、5 A ) を施与した。すべてのスクリーニングし、選択し、特定の用いたプロバイオティック微生物菌株は、*B. pastuerii* の処方物において得られたものを除いて、F D A による一般に安全と認められる ( G R A S ) 分類であった。

30

## 【 0 0 6 1 】

重量測定および採血および分析を、種々の時間間隔において行った。小さい試料の大きさ並びに体重および測定間隔の差異のために、回帰分析および曲線適合を用いて、データを評価した。一般的に、これらの数学的手法を用いて、追加のデータポイントを説明および/または予測する。本分析により、各々の小型のブタについての体重、B U N、およびクレアチニンレベルの変化を決定した。処方、ブタの数、送達方式、毎日の投与量、継続期間、組成および知見の一般的な概要の詳細を、表 3 に列挙する。

## 【 0 0 6 2 】

【表 3】

表 3

処方 (ブタの数)	送達方式／毎日の 投与量／継続期間 (日)	用量あたりの組成、CFU	知見の概要
1 (6)	二層ゼラチンカプセル/ 1 ~ 12/27 ~ 50	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidus</i> ( $10 \times 10^9$ /キャップ)(1:1:1:1)	BUN減少、 クレアチニンわずかに減少、 重量増大
2A (2)	凍結食物ボール/ 1 ~ 2/69	<i>B. pasteurii</i> ( $5 \times 10^9$ ), <i>B. coagulans</i> ( $10 \times 10^9$ )	BUN増大、 クレアチニンわずかに減少、 重量増大
2B (3)	凍結食物ボール/ 1 ~ 2/69	<i>B. coagulans</i> ( $10 \times 10^9$ )	BUNわずかに減少、 クレアチニンわずかに減少、 重量安定
2Ac (2)	錠剤 /10/15	<i>B. coagulans</i> ( $0.78 \times 10^9$ )	BUN増大、 クレアチニンわずかに減少、 重量わずかに減少
3A (3)	凍結食物ボール/ 1 ~ 4/100	<i>S. thermophilus</i> ( $11.6 \times 10^9$ ), <i>L. acidophilus</i> ( $1 \times 10^9$ ), <i>B. longum</i> ( $1 \times 10^9$ )	BUN安定、 クレアチニン安定、 重量安定
3B (2)	凍結食物ボール/ 1 ~ 4/100	<i>L. acidophilus</i> ( $1 \times 10^9$ ), <i>B. longum</i> ( $1 \times 10^9$ )	BUN安定、 クレアチニン安定、 重量安定
4A (3)	凍結食物ボール/ 1 ~ 10/51	<i>S. thermophilus</i> ( $11.6 \times 10^9$ ), <i>L. acidophilus</i> ( $1 \times 10^9$ ), <i>B. longum</i> ( $1 \times 10^9$ )	BUN安定、 クレアチニンわずかに減少、 重量増大
5A (2)	ゼラチンカプセル/ 3 ~ 10/20 (進行中)	<i>S. thermophilus</i> ( $20.4 \times 10^9$ ), <i>L. acidophilus</i> ( $1 \times 10^9$ ), <i>B. longum</i> ( $1 \times 10^9$ )	BUN減少、 クレアチニン減少、 重量決定的でない

10

20

【0063】

試験した数種のプロバイオティック経口処方物の中で、これらの5 / 6腎摘出した小型のブタ (n = 6) における低い頻度の投与量レジメンに対する、4種の微生物菌株の特定の処方物 (処方物1) は、(a) 継続的な体重の獲得 - 約33%、(b) 低下したBUNおよび同様にクレアチニンレベルが約13%減少したことを示した。同様にして、処方物5Aについての2匹の小型のブタはまた、低下したBUNおよびクレアチニンレベルを例証したが、1匹の小型のブタの体重は増加し、他方の体重は減少した。さらに、処方物3A、3bおよび4aは、安定な体重またはわずかに増大した体重、少々安定な、またはわずかに減少した尿素およびクレアチニンのレベルを例証した。一般的に、これらのデータおよび知見のすべては、少なくとも窒素性廃棄物代謝物 (尿素およびクレアチニン) が、血液中に蓄積しなかったことを反映している。これらの結果は、選択的に選択されたプロバイオティック細菌の好適な組み合わせが、経口の腸に基づく尿毒症療法に適することを示す。

30

40

【0064】

例2：室温および比較的低い貯蔵温度の下での製造のための健康バー製法

成分：

1カップのオーツ麦のふすま、1 / 2カップの焼いたヒマワリおよび / またはゴマ種子、または乾燥グラインダーもしくは台所用ミル中で好適に粉碎したピーナッツ

1 / 2カップの低脂肪乳または豆乳粉末 - マルトデキストリンまたはフルクトースまたはアスパルテムと共に加えて、適切な甘みとしてもよい

1 / 2カップのレーズンと大さじ2杯のイナゴマメ粉末。

十分に混合し、次に1 / 2カップの白色または茶色米に加え、調理し、脱水し、粉碎し

50

、（再びフードプロセッサを用いて）1 / 2 カップのピーナッツバターを加える（おおよそコンシステンシーに依存して）

1 / 2 カップの蜂蜜または高フルクトースコーンシロップ、約 1 m L のバニラエッセンス（天然）。

【0065】

手順：

すべての成分を、十分に混合されるまで混ぜ合わせ、練る（所要に応じて、一層多量のオート麦のふすままたはロールオートを加えることができる）。ケーキミキサーは、このために良好に作動する。次に、微生物混合物粉末混合物（約 100 億 c f u / g m）を、混合物に加える。成分を、再び十分に混合する。混合物は、合理的に柔軟であり得、約 24 時間冷却することにより、すべての成分が一緒に結合されることが補助される。バーを、巻くか、または約 1 c m の厚さに延ばし、好適な大きさに切断する。この製法により、約 16 個のバーが製造され、好ましい大きさは、約 1 c m × 1.5 c m × 6 c m である。

10

【0066】

例3：非冷蔵条件のための健康バー製法

健康バーを、35 ~ 40 で、短期間にわたり製造し、望ましくは室温（非冷蔵条件）において貯蔵する。乾燥成分を混ぜ合わせ、均一に混合する（例2に記載したように）。次に、液体成分を加え、約 50 ~ 60 に加熱する。混合物を、連続的に攪拌しながら放冷する。生成物は、一層粘性になる。温度が、35 ~ 40 である際に、微生物混合物（約 100 億 c f u / g m）を加える。生成物全体を、被覆したかまたは澄ましバターでわずかに油を塗布したトレー中に注入する。生成物を、直ちに放冷し、冷蔵庫中に 12 ~ 24 時間、十分に固いが所要の大きさに切断するのが容易であるまで据える。生成物を、所望の片および寸法に切断し、個別に包装し、梱包する。

20

【0067】

前述の発明を、理解の明確の目的のために、例示および例によりある程度詳細に記載したが、通常の当業者には、本発明の教示の観点から、ある主要でない変更および改変を、添付した特許請求の範囲の精神および範囲を逸脱せずに、本発明になすことができることは、容易に明らかである。さらに、本発明の大規模または商業的な大規模化を、所要の装置および設備を有する通常の、および特別な技能を有する当業者により、容易に達成することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0068】

【図1】pH 5.5（図1A）、pH 6.3（図1B）およびpH 7.5（図1C）における*S. thermophilus*菌株による尿素加水分解を示す図である。AIF、100 μMのNiCl<sub>2</sub>を含む100 mg / dLの尿素。データを、平均 ± SEMとして表す、n = 3 ~ 9。

【図2】尿毒症血液レベルに特有の尿素の濃度における、*S. thermophilus*菌株KB19（図2A）、KB4（図2B）およびKB25（図2C）による尿素加水分解を示す図である。AIF、pH 6.3、100 μMのNiCl<sub>2</sub>を含む。データを、平均 ± SEMとして表す、n = 3 ~ 5。

40

【図3】種々の細菌菌株についての尿素分解および尿素 - 窒素濃度低下速度を示す図である。菱形、対照；円、*Bacillus pasteurii* ATCC 6453；三角、*Streptococcus thermophilus* KB19；正方形、*Klebsiella aerogenes* ウレアーゼオペロンを有する多コピープラスミドで形質転換した大腸菌菌株DH5。

【 図 1 】

図 1A

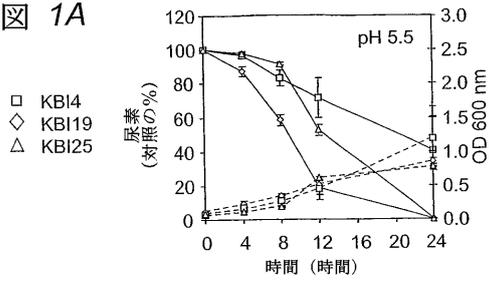


図 1B

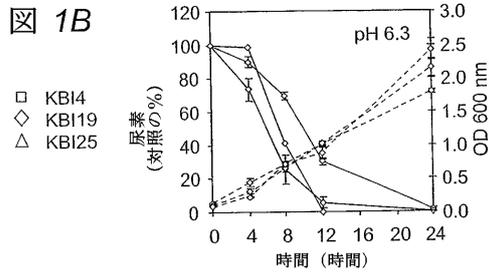
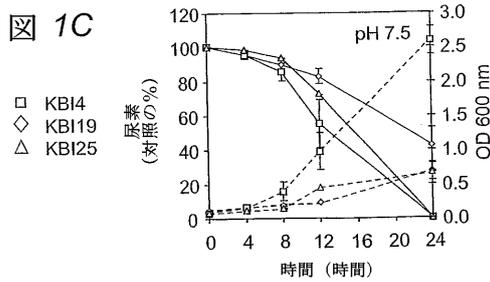


図 1C



【 図 2 】

図 2A

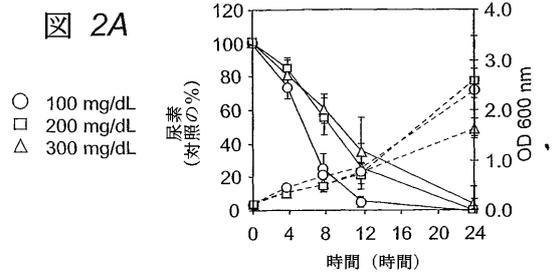


図 2B

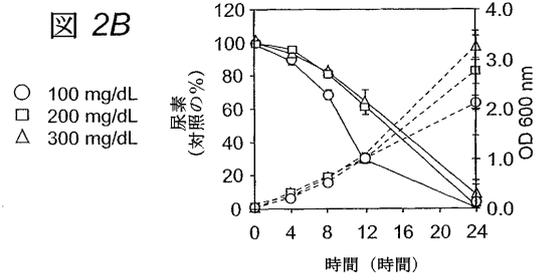
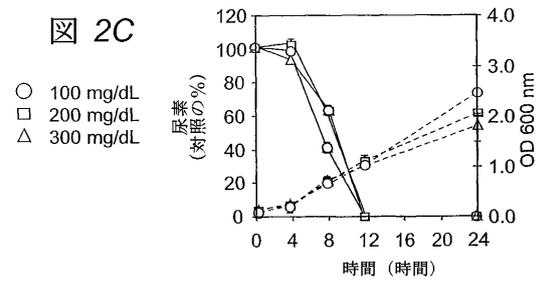


図 2C



【 図 3 】

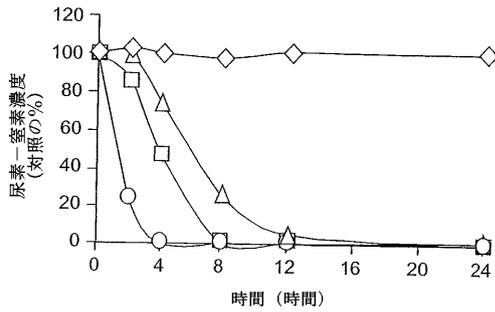


図 3

## フロントページの続き

- (31)優先権主張番号 10/689,359  
(32)優先日 平成15年10月20日(2003.10.20)  
(33)優先権主張国 米国(US)  
(31)優先権主張番号 10/803,211  
(32)優先日 平成16年3月18日(2004.3.18)  
(33)優先権主張国 米国(US)

## 合議体

審判長 村上 騎見高  
審判官 前田 佳与子  
審判官 辰己 雅夫

- (56)参考文献 特開平5 - 252896 (JP, A)  
特開平9 - 110707 (JP, A)  
国際公開第2002/091833 (WO, A1)  
Journal of the American Society of Nephrology, 2000年, Vol. 11, p. 318A  
International Dairy Journal, 1998年, Vol. 8, pp. 545 - 553  
Journal of the American Society of Nephrology, 2001年, Vol. 12, p. 71A - 72A  
日本栄養・食糧学会誌, 1991年, Vol. 44, No. 3, p. 177 - 182  
日本透析医学会雑誌, 2001年, Vol. 34, No. 2, pp. 119 - 124  
第48回日本透析医学会学術集会・総会, 2003年 6月, p. 987  
第46回日本腎臓学会学術総会, 2003年 4月, p. 277  
第46回日本透析医学会学術集会・総会, 2001年, p. 661  
NEPHRON, 1996年, Vol. 74, pp. 349 - 355  
メディカル朝日, 1999年, Vol. 28, No. 10, pp. 18 - 21  
Microbial ecology in health and disease, 1994年, Vol. 7, pp. 17 - 25

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K35/00-35/74  
JSTPLUS、JMEDPLUS、JST7580 (JST)  
CAPLUS, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE (STN)