

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02003/063886

発行日 平成17年5月26日(2005.5.26)

(43) 国際公開日 平成15年8月7日(2003.8.7)

(51) Int. Cl.⁷

F I

A 6 1 K 38/00
 A 2 3 L 1/30
 A 6 1 K 35/20
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 31/04

A 6 1 K 37/02
 A 2 3 L 1/30
 A 6 1 K 35/20
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 31/04

Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

出願番号	特願2003-563575 (P2003-563575)	(71) 出願人	301049744 日清ファルマ株式会社 東京都千代田区神田錦町一丁目2 5 番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2003/000724	(71) 出願人	000129976 株式会社ゲン・コーポレーション 岐阜県岐阜市折立2 9 6 番地 1
(22) 国際出願日	平成15年1月27日(2003.1.27)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(31) 優先権主張番号	特願2002-18606 (P2002-18606)	(74) 代理人	100096183 弁理士 石井 貞次
(32) 優先日	平成14年1月28日(2002.1.28)	(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(74) 代理人	100101904 弁理士 島村 直己
(81) 指定国	AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, B B, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, M Z, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤

(57) 【要約】

本発明は、消化性潰瘍の発生に關与するヘリコバクター・ピロリ(Helicobacter pylori)を胃内から排除しうるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤、およびその製造方法、並びにこれを含むヘリコバクター・ピロリに關連する疾患の予防または治療のための医薬および食品に關する。本発明のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤は、ヘリコバクター・ピロリに対して優れた除菌作用を有し、且つ安全性が高く、これを含む医薬組成物および食品は前記疾患の予防または治療に非常に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

糖とタンパク質との褐変反応生成物を有効成分とするヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤。

【請求項 2】

タンパク質が小麦、大麦、米、トウモロコシ、大豆、小豆由来の植物性タンパク質および牛乳、卵、魚、肉由来の動物性タンパク質からなる群から選択される 1 種以上である、請求項 1 記載のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤。

【請求項 3】

糖が、D - グルコース、D - フラクトース、D - マンノース、D - ガラクトース、D - キシロース、L - アラビノース、D - リボースおよび乳糖からなる群から選択される 1 種以上である、請求項 1 または 2 記載のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤。

10

【請求項 4】

水溶液中で、糖とタンパク質とを褐変反応させる工程を含む、ヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤の製造方法。

【請求項 5】

水溶液中で、糖とタンパク質とを含む食品に褐変反応を起こさせる工程を含む、ヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤の製造方法。

【請求項 6】

タンパク質が小麦、大麦、米、トウモロコシ、大豆、小豆由来の植物性タンパク質および牛乳、卵、魚、肉由来の動物性タンパク質からなる群から選択される 1 種以上である、請求項 4 または 5 記載の方法。

20

【請求項 7】

糖が、D - グルコース、D - フラクトース、D - マンノース、D - ガラクトース、D - キシロース、L - アラビノース、D - リボースおよび乳糖からなる群から選択される 1 種以上である、請求項 4 または 5 記載の方法。

【請求項 8】

前記食品が牛生乳、牛乳粉、脱脂粉乳、乳清または練乳である、請求項 5 の記載の方法。

【請求項 9】

褐変反応を、5 % 水溶液で測定して 405 nm の吸光度が 0.01 以上になるまで行う、請求項 4 ~ 8 のいずれかの項記載の方法。

30

【請求項 10】

糖とタンパク質との褐変反応生成物と胃酸分泌抑制剤からなるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤。

【請求項 11】

糖とタンパク質との褐変反応生成物とヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有する他の物質からなるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤。

【請求項 12】

前記物質が、ポリフェノール、抗生物質、ヘリコバクター・ピロリに対する抗体、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼに結合しうる多糖類および糖タンパク質からなる群から選択される 1 種以上である請求項 11 記載の接着阻害剤。

40

【請求項 13】

請求項 1 ~ 3 および請求項 10 ~ 12 のいずれかに記載のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤を含む、ヘリコバクター・ピロリに関連する疾患の予防または治療のための医薬組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 3 および請求項 10 ~ 12 のいずれかに記載のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤を含む、ヘリコバクター・ピロリに関連する疾患の予防または改善のための食品。

【発明の詳細な説明】

技術分野

50

本発明は、消化性潰瘍の発生に關与するヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*) を胃内から排除しうるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤、およびその製造方法、並びにこれを含有するヘリコバクター・ピロリに關連する消化性疾患の予防または治療のための医薬および食品に關する。

背景技術

ヘリコバクター・ピロリは、一端に数本の鞭毛 (*flagella*) を持つ、螺旋型をしたグラム陰性桿菌で、ヒトの胃粘膜に生息する菌である。この菌は、1983年オーストラリアの Marshall, B. J. と Warren, J. R. によって胃炎、胃潰瘍患者の胃生検材料から高率に検出されることが報告され、それ以降、疫学的研究から、胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の起因菌であり、さらに胃癌などの疾患と關連があるとの報告が相次いでなされている。

従って、現在、消化性潰瘍の根本的治療にはヘリコバクター・ピロリの除菌が不可欠であると考えられており、その除菌療法として以下に説明するように抗生物質と胃酸分泌抑制剤との併用療法が広く提唱されている。

ヘリコバクター・ピロリが一旦胃粘膜に定着すると、感染に対する免疫応答が強い (抗体価が高い) にもかかわらず、除菌されず胃内に生息し続ける。そのため、抗生物質による治療によって完全に除菌できない限り、投薬を中止すると約1ヶ月以内に治療前の感染状態に戻ってしまう。しかも胃内は塩酸によってpHが非常に低く保たれているので、多くの抗生物質は不活化される。このような理由で、ヘリコバクター・ピロリの除菌には、胃酸分泌を強力に抑制するプロトンポンピンヒビターと除菌薬 (抗生物質) が併用の形で使用されている。また、現状ではヘリコバクター・ピロリの除菌には、アモキシシリン、クラリスロマイシンおよびランソプラゾール等の三剤併用療法が、日本における標準的な治療法となっている。しかしながら、抗生物質の長期間投与は、その副作用に加え、耐性菌の増加という非常に重大な問題が危惧される。

除菌を目的とした抗生物質の投与による副作用および耐性菌の増加などの問題を解決する手段として、現在、経口ワクチンによる免疫療法のアプローチが見られるが、実験の際の複雑な条件が障害となって、新しい予防、治療法の確立を目指した研究はほとんど進展していない。また、ワクチンはあくまで予防を主体とするものであり、一旦ヘリコバクター・ピロリが感染した患者に対しては、効果は望めない。

一般に細菌の感染が成立するためには細菌が宿主細胞に接着し、そこで増殖することによって定着することが感染の第一歩となる。細菌の宿主細胞への接着には、接着因子 (*adhesin*) の宿主細胞表面の受容体 (*receptor*) への結合が必要である。特開平10-287585は、ヘリコバクター・ピロリの接着機構に關して、それまで解明されていなかった接着因子が、この菌が産生するウレアーゼであり、このウレアーゼに対する鶏卵黄抗体をヘリコバクター・ピロリの胃内増殖を顕著に抑制することを開示している。

また、特許第3255161号は、牛乳から乳脂肪およびカゼインを除去して得られる乳清由来のムチンがヘリコバクター・ピロリの消化管への定着を阻害しうることを開示している。

しかしながら、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼが、胃粘膜に接着するのを、種々の糖とタンパク質との褐変反応生成物によって阻害されうるとは知られていない。

発明の開示

本発明の課題は、消化性潰瘍の発生に關与するヘリコバクター・ピロリの胃粘膜への接着を効果的に阻害でき、しかも従来の抗生物質の使用に伴う副作用や耐性菌増加等の欠点を持たない安全性の高いヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤を提供することである。

本発明者等は、ウレアーゼの胃粘膜への付着を阻止しうる物質を種々検討した結果、糖とタンパク質との褐変反応生成物が、接着因子であるウレアーゼの胃粘膜への接着を効果的に阻止しうることを見出し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は、糖とタンパク質との褐変反応生成物を有効成分とするヘリコバク

10

20

30

40

50

ー・ピロリ接着阻害剤に関する。ここで、タンパク質は経口摂取しうる任意のタンパク質であり、糖は経口摂取しうる任意の還元糖を包含する。

本発明はまた、水溶液中で糖とタンパク質とを褐変反応させる工程を含む、ヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤の製造方法に関する。

さらに、本発明は、水溶液中で糖とタンパク質を含む食品に褐変反応を起こさせる工程を含む、ヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤の製造方法に関する。本発明において、褐変反応は糖とタンパク質の混合物の5%水溶液における波長405nmの吸光度が0.01以上になるまで行う。ここで、食品とは、糖とタンパク質を含むものであれば特に限定されないが、好ましくは牛生乳、牛乳粉(全脂粉乳)、脱脂粉乳、乳清および練乳(コンデンスミルク)などである。

10

本発明は、糖とタンパク質との褐変反応生成物と、胃酸分泌抑制剤からなるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤に関する。本発明はまた、糖とタンパク質との褐変反応生成物とヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有する他の物質からなるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤に関する。さらに本発明は、糖とタンパク質との褐変反応生成物、胃酸分泌抑制剤およびヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有する他の物質からなるヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤に関する。なお、本発明において「除菌作用」とは、インピボおよびノまたはインピトロにおいて、ヘリコバクター・ピロリに対する接着阻害、増殖抑制もしくは防止、殺菌などの作用を意味する。

本発明はまた、上述のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤を含む、ヘリコバクター・ピロリが関与する疾患の予防または治療するための医薬組成物に関する。さらに、本発明は、上述のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤を含む、ヘリコバクター・ピロリが関与する疾患の予防または改善のための食品に関する。

20

以下に本発明を詳細に説明する。

本発明のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤の有効成分は、糖とタンパク質の褐変反応生成物、すなわちアミノ-カルボニル反応の生成物である。褐変反応は、各種糖と、各種タンパク質とを混合して水溶液中で加熱処理することにより行わせることができる。

本発明におけるタンパク質は、経口摂取しうる任意のタンパク質、例えば小麦、大麦、米、トウモロコシ、大豆、小豆等由来の植物性タンパク質または牛乳、卵、魚、肉由来の動物性タンパク質であればいずれでもよいが、これらに限定されない。具体的には、牛乳に含まれるカゼイン、 α -ラクトグロブリン、 β -ラクトアルブミン、牛血清アルブミン、免疫グロブリン、ラクトフェリン等や、小麦に含まれるグルテニン、アルブミン等や、トウモロコシに含まれるゼイン、卵に含まれるオボアルブミン、オボトランスフェリン、オボムコイド、オボムシン、リゾチーム等、魚肉や肉類に含まれるミオシン、アクチン等が挙げられる。これらの各種タンパク質は、常法により精製したものを使用してもよいし、また市販のものをそのまま用いることもできる。これらのタンパク質は単独でも、また2種以上を組合わせて使用してもよい。あるいは、これらタンパク質を含有する食品素材、例えば牛乳由来タンパク質を含む牛生乳、牛乳粉、脱脂粉乳、乳清や練乳などをタンパク質の混合物をとしてそのまま用いてもよい。

30

褐変反応生成物の製造に使用する糖としては、D-グルコース、D-フラクトース、D-マンノース、D-ガラクトース、D-キシロース、L-アラビノース、D-リボース、乳糖などの種々の還元糖が挙げられる。これらの糖は精製品を用いてもよいが、脱脂粉乳や乳清などを用いる場合には、上述のように、タンパク質を含有しているので、牛乳由来タンパク質を別途混合することなく、褐変反応を行えばよい。

40

糖とタンパク質の質量比は割合は任意の割合でよいが、通常は1:100~10:1の範囲であり、好ましくは1:9~1:1の範囲である。

本発明において、褐変反応生成物は、糖とタンパク質とを混合して水溶液中で褐変反応させる代わりに、糖およびタンパク質を含有する食品、好ましくは糖およびタンパク質を上記の質量比で含有する食品、例えば牛生乳、牛粉乳、脱脂粉乳、乳清および練乳などをそのまま水溶液中で加熱処理などにより褐変反応を起こさせて得ることもできる。

脱脂粉乳は、カゼインを主体とする各種牛乳タンパク質、および乳糖などの糖を含有して

50

いる。脱脂粉乳は、常法により生乳より遠心分離により脂肪分を分離除去し、生じた脱脂乳を粉末化して得ることができるが、市販の脱脂粉乳を使用してもよい。

乳清は、脱脂乳よりカゼインを除去したものであり、乳糖などの糖、および - ラクトグロブリン、 - ラクトアルブミン、血清アルブミン、免疫グロブリン、ラクトフェリンなどの乳清タンパク質を含有している。本発明において使用する乳清としては、常法により牛乳汁から調製してもよいし、市販の乳清（濃縮液、粉末など）をそのまま使用してもよい。

本発明において、褐変反応は中性水溶液またはアルカリ水溶液中で行うのが好ましい。アルカリ水溶液としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素ナトリウム（重曹）、炭酸ナトリウム、リン酸水素二ナトリウムなどの種々のアルカリ水溶液が使用できる。添加するアルカリ濃度は特に限定されないが、例えば0.05～0.5規定の水酸化ナトリウムを用いることができる。水溶液の量は、糖とタンパク質の混合物、または糖とタンパク質を含む食品を十分に均一に懸濁できる量であればよく、例えば1～100倍量、好ましくは5～20倍量とする。

褐変反応は、糖とタンパク質の混合物の5%水溶液における405nmの吸光度が0.01、好ましくは0.1以上になるまで行う。405nmの吸光度が0.01以上であることは褐変反応が進行していることを意味する。吸光度は、例えば5%水溶液100μlをマイクロプレートリーダーで測定する。

褐変反応の条件としては、中性水溶液中で行う場合、反応温度は100℃以上、特に120℃以上が好ましく、反応時間は通常20分間以上であり、好ましくは30分～10時間である。また、アルカリ水溶液中で褐変反応を行う場合は、反応温度は室温から100℃、特に40～90℃が好ましく、反応時間は通常1～20時間、好ましくは2～8時間である。

得られた褐変反応生成物は、そのまま摂取させても良いが、慣用の手段、例えば限外濾過、イオン交換樹脂などを用いて未反応の糖の除去、脱塩を施しても良い。また、等電点沈殿、塩析、有機溶媒沈殿など、タンパク質の選択的沈殿に用いられる通常的手段により褐変反応生成物を沈殿させさせてもよい。褐変反応生成物は、製剤化や食品などへの添加を容易にするため、慣用の手段、例えば凍結乾燥または噴霧乾燥などの手段により乾燥させるのが好ましい。褐変反応を中性水溶液中で行った場合には、そのまま乾燥してもよいが、上述の手段により未反応の糖の除去、脱塩の後に乾燥させ粉末化するのが好ましい。褐変反応をアルカリ水溶液中で行った場合には、反応溶液を酸（無機酸および/または有機酸）により中和してもよい。また、中和後、そのまま乾燥してもよいが、上述の手段により未反応の糖の除去、脱塩の後に乾燥させ粉末化してもよい。

本発明の褐変反応生成物は、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼに優先的に結合することにより、胃粘膜の受容体への接着を阻止することができる。このため、本発明の褐変反応生成物は、ヘリコバクター・ピロリに対して優れた除菌作用を有しており、ヘリコバクター・ピロリが関与する疾患、例えば消化性潰瘍等の予防、改善に有用である。また、原料となる糖およびタンパク質は、食品または食品素材に由来するなど経口摂取可能なものであり、褐変反応もまた食品の加熱調理の過程で常に起こっている反応であり、本発明の褐変反応生成物は非常に安全性が高く、副作用などの心配がない。従って、本発明の褐変反応生成物を含有するヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤は、医薬や食品に配合して、ヘリコバクター・ピロリに関与する疾患の予防、改善のために用いることができる。

本発明の褐変反応生成物からなる接着阻害剤は、褐変反応生成物をそのまま、あるいは適宜担体や賦型剤（増量剤、結合剤など）と共に、通常の任意の製剤化方法により製造できる。必要に応じて、その他の添加剤や薬剤、例えば制酸剤（炭酸水素ナトリウム、炭酸マグネシウム、沈降炭酸カルシウム、合成ヒドロタルサイト等）、胃粘膜保護剤（合成ケイ酸アルミニウム、スクラルファート、銅クロロフィリンナトリウム等）や消化酵素（ピオジアスターゼ、リパーゼ等）を加えてもよい。本発明の接着阻害剤の投与は経口により行い、投与量は成人1日当たり褐変反応生成物として通常0.01～10.0g（乾物量）

10

20

30

40

50

、好ましくは0.5～5.0gである。

本発明の褐変反応生成物からなる接着阻害剤は、胃酸分泌抑制剤を併用することにより一層その効果を高めることができる。使用できる胃酸分泌抑制剤としては、例えばファモチジン、ニザチジン、ロキサチジン、ラニチジン、シメチジン等のH₂ブロッカーや、オメプラゾール、ランソプラゾール、ラベプラゾールナトリウム等のプロトンポンプインヒビターがあるが、これらに限定されない。胃酸分泌抑制剤の投与量は、その薬剤により異なるが、通常は成人1日当たり10～50mg、好ましくは20～30mgである。

また、本発明の接着阻害剤は、ヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有する他の物質と組み合わせることで、ヘリコバクター・ピロリの除菌作用をさらに向上させることができる。そのような他の物質には、例えば種々の抗生物質、ポリフェノール、ヘリコバクター・ピロリに対する抗体、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼに結合しうる多糖類および糖タンパク質などが包含される。さらに、本発明の接着阻害剤は、ビスマス製剤などの胃疾患治療薬、メトロニザゾールなどの駆虫薬と組み合わせてもよい。

そのようなポリフェノールの例には、カテキン、ガロカテキン、ガロカテキンガラート、エピカテキン、エピカテキンガラート、エピガロカテキン、エピガロカテキンガラート、遊離型テアフラビン、テアフラビンモノガラート、テアフラビンガラート、レズベラトロール、プロアントシアニジン、ケルセチン、アントシアニン、スルフォラファン、イソフラボンなどが挙げられる。本発明の接着阻害剤は、これらのポリフェノールを混合しても良いし、これらのポリフェノールを含有する茶、カカオ、果実などの食品素材またはこれらの抽出物に本発明の接着阻害剤を配合しても良い。

ヘリコバクター・ピロリに対する抗体としては、全菌体に対する抗体、菌表面分子に対する抗体が挙げられるが、入手の容易さ・除菌作用の向上などから菌表面分子に対する鶏卵抗体、特にヘリコバクター・ピロリの接着に關与するウレアーゼ、鞭毛に対する鶏卵抗体（特開平10-28758）が好ましい。

ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼに結合しうる糖タンパク質の例としては、哺乳動物の消化管由来のムチン、乳精由来のムチン、鶏卵卵自由来ムチン等のムチン、これらムチンを構成する糖タンパク質が挙げられる。該ウレアーゼに結合しうる多糖類の例としては、硫酸デキストラン（Antimicrobiol Agents and Chemotherapy, Vol. 44, No. 9, pp. 2492-2497, 2000）、フコダイン（Gastroenterology, Vol. 119, pp. 358-367, 2000年）などが挙げられる。また該ウレアーゼの活性を抑制するものとしてプロポリス抽出物があり、特に超臨界抽出法にて抽出したプロポリスが有効であることが報告されている（Medical Nutrition, 2003年1月1日号）。

また、抗生物質としては、ペニシリン系、セフェム系、マクロライド系、ニューキノロン系、テトラサイクリン系の抗生物質を挙げることができ、特にアモキシシリンおよびクラリスロマイシンが好ましい。抗生物質の投与量は、その薬剤により異なるが、通常は成人1日当たり100～5000mg、好ましくは500～3000mgである。

本発明の褐変反応生成物を含む接着阻害剤は食品に含有させることより、摂取がさらに容易となる。本発明の褐変反応生成物の食品への配合量は通常0.5～10質量%程度、好ましくは1.0～3.0質量%である。そのような食品、例えば健康食品、機能性食品としては、細粒、錠剤、顆粒剤、カプセル剤、流動食等の各種医薬形態、さらにスープ類、ジュース類、茶飲料、乳飲料、ココア飲料、ゼリー状飲料などの液状食品、プリン、ヨーグルト等の半固形食品、パン、菓子、うどんなどの麺類、クッキー、チョコレート、キャンディ、せんべいなどの菓子、ふりかけ、バター、ジャムなどのスプレッド類等の形態が挙げられる。ヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有するポリフェノール、多糖類または糖タンパク質を多く含む食品素材を用いる食品が好ましい。具体的にはポリフェノールを含有する果実、茶、カカオを用いるジュース類、茶飲料、ココア飲料、チョコレートなど、多糖類または糖タンパク質を含有する乳飲料、乳発酵飲料などが挙げられる。

また、特定保健用食品としては、特に形態は限定されないが、菓子類、粉末スープ類、飲料等継続して摂取できるものが好ましい。病者用食品（低ナトリウム食品、低カロリー食

10

20

30

40

50

品、低タンパク質食品)等として、スープ、飲料、流動食等の医療用食品とすることができる。

さらに食品には種々の食品添加物、例えば各種栄養素、種々のビタミン、ミネラル、食物繊維、多価不飽和脂肪酸、分散剤および乳化剤等の安定剤、甘味料、呈味成分、フレーバー等を配合することができる。また、液状食品は、最初から液状食品として調製してもよいが、粉末またはペースト状で調製し、所定量の水性液体に溶解するものでもよい。

発明を実施するための最良の形態

次に、本発明を下記の実施例により具体的に説明するが、これにより本発明の範囲が限定されるものではない。

実施例

10

実施例 1 カゼインと乳糖のアルカリ水溶液での褐変反応

50ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液10mlに、下記の表の量の乳糖とカゼインを添加し、試験管ミキサーで均一な懸濁液となるまで振とうした。50の水浴で4時間加温し、褐変反応をおこなった。0.2N HClを反応液のpHが7.0になるまで添加した。中和した反応液を凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

表1

実施例	乳糖	カゼイン
1-1	100mg	900mg
1-2	300mg	700mg
1-3	400mg	600mg
1-4	500mg	500mg

20

実施例 2 カゼインナトリウムと乳糖の水溶液での褐変反応

50ml容スピッツ管中の蒸留水10mlに、乳糖400mgとカゼインナトリウム600mgを添加し、試験管ミキサーで振とうして溶解した。高圧滅菌器で、120、20分間褐変反応をおこなった。次いで、反応溶液を凍結乾燥して、褐色の粉末を得た。

実施例 3 - ラクトグロブリンと乳糖の褐変反応

15ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液1.0mlに、乳糖40mgと - ラクトグロブリン60mgを添加し、試験管ミキサーで振とうして溶解した。50の水浴で4時間加温し、褐変反応を行った。0.2N HClを反応液のpHが7.0になるまで添加した。中和した反応液をSephadex G-25(Amersham-Pharmacia)を用いたゲル濾過により脱塩し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

30

実施例 4 - ラクトアルブミンと乳糖の褐変反応

15ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液1.0mlに、乳糖40mgと - ラクトアルブミン60mgを添加し、試験管ミキサーで振とうして溶解した。50の水浴で4時間加温し、褐変反応を行った。実施例3と同様に中和して脱塩し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

40

実施例 5 脱脂粉乳の褐変反応

牛乳粉(キョウプロE-22、協同乳業製)1.0gを0.2N NaOH水溶液10mlに添加した。攪拌して均一な懸濁液とした後、50の水浴で4時間放置し、褐変反応を行った。反応液を実施例3と同様に中和し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

実施例 6 乳清の褐変反応

乳清(SIMPLESSE 100、CPKelco社製)1.0gを0.2N NaOH水溶液10mlに添加した。攪拌により均一な懸濁液とした後、50の水浴で4時間放置し、褐変反応を行った。反応液を実施例3と同様に中和し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

実施例 7 カゼインナトリウムとブドウ糖の褐変反応

50

蒸留水100mlに、ブドウ糖4gとカゼインナトリウム6gを添加し、固形物が溶解するまで攪拌した。高圧滅菌器で、下記の表に示す反応温度および反応時間にて褐変反応を行った。Sephadex G-25 (Amersham-Pharmacia社製)を用いたゲル濾過により、低分子区分を除去した後、凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

表2

実施例	反応温度	反応時間
7-1	110°C	30分間
7-2	120°C	10分間
7-3	120°C	40分間

10

実施例8 カゼインナトリウムと乳糖の炭酸水素ナトリウムを用いた褐変反応

1.5ml容マイクロチューブ中の蒸留水1mlにカゼインナトリウム60mgと乳糖40mgと炭酸水素ナトリウム42mgを加え、攪拌により溶解した。ヒートブロックにて90、5時間褐変反応を行った。Sephadex G-25 (Amersham-Pharmacia)を用いたゲル濾過により脱塩を行った後、凍結乾燥を行い褐色の粉末を得た。

実施例9 大豆蛋白質の褐変反応

50ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液10.0mlに、乳糖400mgと大豆蛋白粉末600mg (和光純薬製)を添加し、試験管ミキサーで振盪し、懸濁した。40の水浴で5時間加温し、褐変反応を行った。0.6N HClを反応液のpHが7.0になるまで添加した。中和した反応液を凍結乾燥して、褐色の粉末を得た。

20

実施例10 小麦アルブミンの褐変反応

50ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液10.0mlに、乳糖400mgと小麦アルブミン600mg (日清ファルマ製)を添加し、試験管ミキサーで振とうし、溶解した。40の水浴で5時間加温し、褐変反応を行った。反応液を実施例9と同様に中和し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

実施例11 卵アルブミンの褐変反応

50ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液10.0mlに、乳糖400mgと卵由来アルブミン600mg (和光純薬製)を添加し、試験管ミキサーで振とうして溶解した。40の水浴で5時間加温し、褐変反応を行った。反応液を実施例9と同様に中和し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

30

実施例12 ゼインと乳糖の褐変反応

50ml容スピッツ管中の0.2N NaOH水溶液10.0mlに、乳糖400mgとゼイン600mg (和光純薬製)を添加し、試験管ミキサーで振盪して懸濁した。40の水浴で5時間加温し、褐変反応を行った。反応液を実施例9と同様に中和し、次いで凍結乾燥して褐色の粉末を得た。

実施例13 カゼインとキシロースのリン酸水素二ナトリウムを用いた褐変反応

エペンドルフチューブ中の0.1mol/Lリン酸水素二ナトリウム水溶液1.0mlに、キシロース40mgとカゼイン60mgを添加し、試験管ミキサーで振盪し、懸濁した。85のヒートブロックで2時間加温し、褐変反応を行った。Sephadex G-25 (Amersham-Pharmacia社製)を用いたゲル濾過により、低分子区分を除去した後、凍結乾燥を行い、褐色の粉末を得た。

40

試験例1 褐変反応の進展の測定

褐変反応の進展を405nmにおける吸光度で測定した。

実施例1~13で調製した褐変反応生成物50mgを蒸留水1mlに溶解した。10,000Gで15分間遠心分離し、上清100μlを96穴プレート (NUNC immunoplate, 注文番号442404) に注入した。マイクロプレートリーダー (Molecular Device社Versa Max) で650nmの吸光度を対照波長とし

50

た際の405nmの吸光度を測定した。表3に示すように、実施例の褐変反応生成物が0.1以上の吸光度を示しており、実施例の全てにおいて褐変反応が十分に進展していたことが確認された。

表3

実施例	吸光度 (405nm、対照波長650nm)
1-1	0.363
1-2	0.956
1-3	1.017
1-4	1.03
2	0.128
3	1.761
4	1.911
5	1.431
6	1.302
7-1	0.164
7-2	0.582
7-3	1.219
8	1.893
9	0.601
10	0.561
11	0.455
12	0.347
13	0.807

10

20

試験例2 ヘリコバクター・ピロリ接着阻害活性の測定

実施例1～13の褐変反応生成物について、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼの胃粘膜への接着阻害効果を以下のようにしてインビトロ実験系において調べた。なお、ヘリコバクター・ピロリの接着因子であるウレアーゼが、胃粘膜ムチンと特異的な結合することによって、ピロリ菌が宿主の胃に定着する。従って、このヘリコバクター・ピロリのウレアーゼと胃ムチンとの接着を、より低濃度で阻害するものが、より強いヘリコバクター・ピロリ接着阻害活性を持つものである。

30

(実験材料および方法)

本接着阻害試験に用いるウレアーゼおよびブタ胃ムチンの調製は、以下のように行った。

(1) ウレアーゼの調製

ヘリコバクター・ピロリ#130株(東海大学医学部感染症学教室より入手)のブルセラブローズ培養菌液(3.5×10^8 CFU/ml)を12,000×Gで20分間遠心した後、ペレットを精製水に溶解し、ポルテックスミキサーで60秒間処理した。再び遠心し、ウレアーゼを含む抽出上清液を得た。精製は以下に示した方法によって行った。

緩衝液(20mM リン酸塩、pH6.8, 1mM EDTA, 1mM 2-メルカプトエタノールおよび10%PEG300)で平衡化したDEAE-セファセルカラムに上記抽出液をアプライし、0.5ml/分の流速でゲルに吸着させた。溶出は0～0.5M KClの濃度勾配によって実施した。各分画液についてウレアーゼ活性をモニターした。ウレアーゼ活性のピークが認められた分画をプールし、濃縮した。次に、緩衝液(20mM リン酸塩、pH6.8, 150mM NaCl)で平衡化したセファクリルS-300カラムに、上記濃縮液をアプライし、溶出した。各分画液のウレアーゼ活性を測定し、ウレアーゼ活性のピークを各々プールし、SDS-PAGEで分析したところ、ウレアーゼA(32kDa)とウレアーゼB(60kDa)のタンパクからなることを確認した。ウレアーゼは、使用するまで、小分けし、-80℃で保存した。

40

(2) ブタ胃ムチンの調製

50

約2ヶ月齢の健康な豚を屠殺し、胃部を摘出し、内部に0.1M リン酸塩 + 0.15M NaCl + 5mM N-エチルマレイミド(NEM) + 1mM フェニルメチルスルホニルフルオライド(PMSF) + 1mM EDTA含有PBS(pH7.4)を加えて洗浄した。胃を切開し、粘膜を削り取り、上記の緩衝液に浮遊させた。この粘膜浮遊液を氷冷しながらポリトロンホモゲナイザーを用いて均一にした。これを15,000×Gで遠心し上清を得た。この上清を25,000×Gで再び遠心し、上清を回収し、蒸留水で透析した後、凍結乾燥して粗精製胃ムチンを得た。次いで、この乾燥粗精製胃ムチンをPBS(pH6.8)(6M 塩酸グアニジンおよびプロテアーゼインヒビター(5mM NEM, 1mM PMSF, 1mM EDTAを含む)に溶解し、これを塩化セシウム密度勾配(1.5g/ml)に重層し、34,000×gで48時間遠心した。シアル酸含有分画の検出はニトロセルロース膜ブロッティングと過ヨウ素酸シフ試薬による染色によって行った。発色した分画をプールし、再び塩化セシウム密度勾配に重層して遠心した。染色陽性分画をプールし、凍結乾燥した。次いで、0.1M リン酸緩衝液(0.1M NaCl含有、pH6.8)で平衡化したセファロースCL-4Bカラムを通してゲル濾過を行い、分画した。PAS染色陽性で、タンパク濃度の高い分画をプールし、PBS(pH6.8)で透析し、精製豚胃ムチンを得た。これを使用時まで-80℃に保存した(精製豚胃ムチン)。なお、精製豚胃ムチンはSDS-PAGEの結果、66kDの糖タンパク質であることを認めた。

10

なお、ブタ精製胃ムチンは、常法に従い、ビオチン化し、アッセイに使用した。

(3) ヘリコバクター・ピロリウレアーゼ接着阻害試験

20

96ウエルマイクロプレートの各々のウエルに、あらかじめ、5μg/mlの濃度に調製したヘリコバクター・ピロリウレアーゼの0.05M炭酸ナトリウム緩衝溶液を50μlずつ加え、4℃で一晩静置し、ウエルにウレアーゼを吸着させた。各ウエルを0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)150μlで3回洗浄後、3%牛血清アルブミン含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)150μlを加えた。37℃、1時間静置することにより、ブロッキングをおこなった。溶液を除去後、0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)150μlで3回洗浄をおこなった。2.5μg/mlのビオチン化ブタ胃ムチンと試験サンプルの一定濃度を含む0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH4.0)50μlをそれぞれのウエルに加え、37℃で1時間静置し、ウレアーゼにビオチン化ブタ胃ムチンを接着させた。ウエルから溶液を除去し、0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH4.0)150μlで、3回洗浄後、65℃で、10分間静置し、タンパクを固定した。0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)150μlで3回洗浄後、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンの0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)50μlを加え、室温で1時間静置した。0.05%ツイーン20含有リン酸緩衝生理食塩水(pH7.0)150μlで5回洗浄後、オルトフェニレンジアミン2塩酸およびH₂O₂を含む基質溶液(pH4.5)50μlを各ウエルに加え、ペルオキシダーゼ反応をおこなった。室温で5分間反応後、2N硫酸50μlを添加し、酵素反応を停止した。各ウエルの490nmの吸光度を測定した。

30

接着阻害活性は、以下の計算式により算出した。

40

接着阻害活性(%) = [1 - (サンプル添加ウエルの吸光度 / サンプル無添加ウエルの吸光度)] × 100

(4) 結果

実施例1~13の褐変反応生成物の100μg/mlの濃度における接着阻害活性を測定した結果、全ての生成物がピロリ菌ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼとブタ胃ムチンの結合を強く阻害することが明らかになった。これらの結果を表4に示す。

表4. 褐変反応生成物の結合阻害活性

実施例	結合阻害活性(%)
1-1	70
1-2	78
1-3	84
1-4	81
2	60
3	72
4	66
5	82
6	69
7-1	50
7-2	52
7-3	43
8	66
9	63
10	38
11	62
12	16
13	48

10

20

試験例3 ヘリコバクター・ピロリ除菌インビボ実験

(方法)

実験動物としてヘリコバクター・ピロリ感染に対して高感受性のNS:HR/ICR系ヘアレスマウス(財団法人動物繁殖研究所, 受託番号 IAR-NHI-9701; ATCC #72024) (Clin. Diagn. Lab. Immunol. 5; 578-582, 1998)を用いた。NSP335株(1×10^9 CFU/マウス)をマウスに経口摂取して1週間飼育した後、マウス用飼料に実施例5の褐変反応生成物または実施例8褐変反応生成物を混餌し、10週間給餌した。供試マウス数は各群とも6匹とした。10週間後に各群のマウスを屠殺し、胃を摘出し、内容物を除去した後、ホモジナイザーで懸濁液を作成した。懸濁液をヘリコバクター・ピロリ検出用試料とした。

30

ヘリコバクター・ピロリの検出は、懸濁液をヘリコバクター・ピロリ検出用培地(ポアメディアヘリコバクター分離培地, 栄研化学)に接種し、ガスパック法で37℃、3日間培養し、コロニー数を計測することによって行った。褐変反応生成物を添加しない飼料を給餌した群をコントロール群とし、コントロール群の平均コロニー数を100として算出した。得られた結果を下記の表5に示す。

表5 ヘリコバクター・ピロリの除菌効果

褐変反応生成物	0.025%混餌	0.25%混餌	2.5%混餌
実施例5	11	4	12
実施例8	48	18	10

40

以上の結果より、本発明の褐変反応生成物を投与することにより、マウス胃内のヘリコバクター・ピロリの菌数が大幅に減少した。また、実施例5および8の褐変反応生成物投与群において、ヘリコバクター・ピロリが検出されなかったマウスも確認した。これらの結果から、本発明の褐変反応生成物はヘリコバクター・ピロリに対して優れた除菌作用を有することが明らかとなった。

試験例4 ヘリコバクター・ピロリ除菌インビボ実験

以下に、本発明の褐変反応生成物と胃酸分泌抑制剤、ヘリコバクター・ピロリに対して除菌作用を有する種々の物質との組合わせの効果を試験した。

50

試験例 3 と同様に、実施例 5 の褐変反応生成物 (0 . 2 5 % 混餌)、ファモチジン (0 . 0 1 % 混餌)、ヘリコバクター・ピロリのウレアーゼに対する鶏卵抗体 (0 . 2 5 % 混餌)、牛乳清由来のムチン (0 . 2 5 % 混餌)、カゼインナトリウム (0 . 2 5 % 混餌)、カテキン (0 . 2 5 % 混餌)、フコイダン (0 . 2 5 % 混餌)、オメプラゾール (0 . 0 1 % 混餌)、クラリスロマイシン (0 . 1 % 混餌)、アモキシシリン (0 . 1 % 混餌)、デキストラン硫酸 (0 . 2 5 % 混餌)、プロポリス抽出物 (0 . 2 5 % 混餌)、もしくは超臨界抽出プロポリス (0 . 2 5 % 混餌) 単独、または褐変反応生成物とこれらのいずれかを組合わせてヘリコバクター・ピロリ感染マウスに給餌した。10 週間後、マウス胃内のヘリコバクター・ピロリの検出した。その結果、単独投与いずれにおいても、本発明の褐変反応生成物のみと比較して除菌率が向上した。これらの結果を下記の表 6 に示す。

表 6

試験試料	除菌作用
褐変反応生成物	++
ファモチジン	-
鶏卵抗体	++
牛乳清由来ムチン	++
カゼインナトリウム	+
カテキン	+
フコイダン	+
オメプラゾール	-
クラリスロマイシン	++
アモキシシリン	++
デキストラン硫酸	++
プロポリス	±
超臨界抽出プロポリス	+
褐変反応生成物+ファモチジン	+++
褐変反応生成物+鶏卵抗体	+++
褐変反応生成物+牛乳清由来ムチン	+++
褐変反応生成物+カゼインナトリウム	+++
褐変反応生成物+カテキン	+++
褐変反応生成物+フコイダン	+++
褐変反応生成物+オメプラゾール	+++
褐変反応生成物+クラリスロマイシン	+++
褐変反応生成物+アモキシシリン	+++
褐変反応生成物+デキストラン硫酸	+++
褐変反応生成物+プロポリス	+++
褐変反応生成物+超臨界抽出プロポリス	+++

以下に、本発明の褐変反応生成物を含有する医薬の製剤例および食品の配合例を示す。

実施例 14 乾燥スープ

下記の配合にて、次のように乾燥スープを製造した。

肉エキス、オニオンエキス、キャロットペースト、昆布エキス、食塩、調味料を加え攪拌機にて攪拌後、乳化剤を加え、再度、攪拌を行う。次に褐変反応生成物、よく溶いた鶏卵を加え混合する。最後に香辛料を加え攪拌混合し、凍結乾燥を行い、乾燥スープを得る。

本発明の褐変反応生成物 23
 鶏卵 26
 肉エキス 5

10

20

30

40

50

オニオンエキス	17
キャロットペースト	21
昆布エキス	1
乳化剤	1
食塩	2
香辛料（レッドペッパー）	2
調味料（アミノ酸等）	2
全量	100（質量％）

実施例 15 細粒剤

下記の配合にて、湿式造粒法にて造粒を行い、細粒を得た。

本発明の褐変反応生成物	45
乳糖（賦型剤）	35
トウモロコシデンプン	15
ポリビニルピロリドンPVP（K-30）	5
全量	100（質量％）

10

実施例 16 医療用食品流動食

下記の配合にて、医療用食品流動食（200 mL / パック）を製造した。

少量の水にミネラル類、リン酸ナトリウム、リン酸カリウムを加え攪拌した後に、褐変反応生成物、マルトデキストリン、カゼインナトリウム、乳化剤、乳タンパク質、少量の水を加え、50 程度まで加温し攪拌する。懸濁後、室温まで冷却し、植物油、ビタミン類

20

本発明の褐変反応生成物	3.6
マルトデキストリン	38.0
カゼインナトリウム	13.0
植物油	12.0
ビタミン類	1.0
ミネラル類	1.5
乳化剤	0.2
乳タンパク質	10.3
リン酸ナトリウム	1.8
リン酸カリウム	1.2
香料	0.5
安定剤（カラギーナン）	1.5
水 残量	
全量	100（質量％）

30

実施例 17 錠剤

通常湿式顆粒圧縮法にて錠剤を得た。

本発明の褐変反応生成物	40.0
D-マンニトール	20.0
乳糖	20.0
結晶セルロース	10.0
ヒドロキシプロピルセルロース	5.0
クエン酸	5.0
全量	100（質量％）

40

実施例 18 茶飲料

以下の配合により、次のようにして茶飲料（緑茶飲料およびウーロン茶飲料）を製造した。

水100 mLに対し、緑茶3 gを85 で5分間抽出した緑茶抽出液を調製する。あるいは、水100 mLに対し、ウーロン茶4 gを95 で5分間抽出したウーロン茶抽出液を調製する。褐変反応生成物とその5倍量の緑茶抽出液またはウーロン茶抽出液を加え攪拌

50

する。褐変反応生成物を懸濁した後、残りの茶抽出液を加え、褐変反応生成物入り茶飲料を得る。

本発明の褐変反応生成物	1
緑茶抽出液	99
全量	100 (質量%)

実施例 19 ココア飲料

下記の配合にてココア飲料を製造した。

褐変反応生成物にココア(森永乳業製)を加え攪拌する。褐変反応生成物の5倍量のお湯(80程度)を加え、攪拌・懸濁する。懸濁後、残りのお湯と牛乳を加え、ココア飲料を得る。

本発明の褐変反応生成物	5
ココア	5
牛乳	20
水	70
全量	100 (質量%)

実施例 20 コーヒー飲料

下記の配合にてコーヒー飲料を製造した。

水100mLに対し挽いたコーヒー豆6gを95、1分間抽出し、コーヒー抽出液とする。褐変反応生成物に対し、5倍量のコーヒー抽出液、砂糖を加えた後、攪拌し懸濁する。残りのコーヒー抽出液と牛乳を加え褐変反応生成物入りコーヒー飲料を得る。

本発明の褐変反応生成物	2
砂糖	1
牛乳	30
コーヒー抽出液	67
全量	100 (質量%)

実施例 21 パナナミルクシェーク

下記の配合にてパナナミルクシェークを製造した。

褐変反応生成物と牛乳とバナナを家庭用ミキサーに加え懸濁する。最後にビタミンCを加え褐変反応生成物入りパナナミルク飲料を得る。

本発明の褐変反応生成物	2
ビタミンC	0.5
牛乳	40
バナナ	57.5
全量	100 (質量%)

実施例 22 ふりかけ

下記の配合にてふりかけを製造した。

本発明の褐変反応生成物	40
味付けかつお節	25
味付け白ゴマ	20
味付け海苔	10
ビタミンE	5
全量	100 (質量%)

実施例 23 発酵乳飲料

本発明の褐変反応生成物5gに乳酸菌入り発酵乳(ヤクルト社製)25gを加え懸濁する。懸濁後、乳酸菌入り発酵乳70gを加え、褐変反応生成物入り発酵乳飲料を得る。

実施例 24 乳飲料

本発明の褐変反応生成物に5gに牛乳25gを加え、懸濁する。懸濁後、牛乳70gを加え、褐変反応生成物入り乳飲料を得る。

産業上の利用可能性

本発明によれば、ヘリコバクター・ピロリに対して優れた除菌作用を有し、且つ安全性が

10

20

30

40

50

高く、副作用などの心配がないヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤が提供される。本発明の定着阻害剤は、従来用いられてきた抗生物質のように耐性菌の問題も生じず、胃内のヘリコバクター・ピロリを特異的に除菌することができる。このため、本発明のヘリコバクター・ピロリ接着阻害剤、これを含有する医薬および食品は、ヘリコバクター・ピロリに関連する疾患、例えば消化性潰瘍等の予防、改善に有用である。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00724

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁷ A61K38/00, 45/00, 35/20, 31/7004, 31/7016, A61P1/04, 31/04, A23C9/156, A23F3/00, 5/00, A23L1/22, 1/40, 2/00		
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) Int.Cl. ⁷ A61K38/00, 45/00, 35/20, 31/7004, 31/7016, A61P1/04, 31/04, A23C9/156, A23F3/00, 5/00, A23L1/22, 1/40, 2/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1926-1992 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1996 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1992 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-12172 A (Yakult Honsha Co., Ltd.), 19 January, 1999 (19.01.99), Claims; Par. No. [0011] (Family: none)	1-14
A	JP 5-238947 A (Yakult Honsha Co., Ltd.), 17 September, 1993 (17.09.93), Full text (Family: none)	1-14
A	JP 10-182451 A (Kabushiki Kaisha Kuree), 07 July, 1998 (07.07.98), Full text (Family: none)	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* "A" "E" "L" "O" "P"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance earlier document but published on or after the international filing date 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) document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" "X" "Y" "&"
Date of the actual completion of the international search 23 April, 2003 (23.04.03)	Date of mailing of the international search report 13 May, 2003 (13.05.03)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00724

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 10-245344 A (Ohta's Isan Co., Ltd.), 14 September, 1998 (14.09.98), Full text (Family: none)	1-14
A	WO 98/42323 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 01 October, 1998 (01.10.98), Full text & JP 10-324644 A	1-14
P,A	JP 2002-159566 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 04 June, 2002 (04.06.02), Par. No. [0027] (Family: none)	1-14

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO3/00724
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K38/00, 45/00, 35/20, 31/7004, 31/7016, A61P1/04, 31/04, A23C9/156, A23F3/00, 5/00, A23L1/22, 1/40, 2/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K38/00, 45/00, 35/20, 31/7004, 31/7016, A61P1/04, 31/04, A23C9/156, A23F3/00, 5/00, A23L1/22, 1/40, 2/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1926-1992 日本国公開実用新案公報 1971-1992 日本国登録実用新案公報 1994-1996 日本国実用新案登録公報 1996-2003		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN),		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 11-12172 A (株式会社ヤクルト本社) 1999.01.19 特許請求の範囲、第【0011】段落 (ファミリーなし)	1-14
A	JP 5-238947 A (株式会社ヤクルト本社) 1993.09.17 全文 (ファミリーなし)	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 23.04.03	国際調査報告の発送日 13.05.03	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 岩下 直人 電話番号 03-3581-1101 内線 3451	4C 9841 

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO3/00724
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 10-182451 A (株式会社クレエ) 1998.07.07 全文 (ファミリーなし)	1-14
A	JP 10-245344 A (株式会社太田胃散) 1998.09.14 全文 (ファミリーなし)	1-14
A	WO 98/42323 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 1998.10.01 全文 & JP 10-324644 A	1-14
PA	JP 2002-159566 A (丸善製薬株式会社) 2002.06.04 第【0027】段落 (ファミリーなし)	1-14

フロントページの続き

- (72)発明者 平本 茂
埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡5丁目3番1号 日清ファルマ株式会社 総合研究所内
- (72)発明者 森下 由朗
埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡5丁目3番1号 日清ファルマ株式会社 総合研究所内
- (72)発明者 木村 修武
埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡5丁目3番1号 日清ファルマ株式会社 総合研究所内
- (72)発明者 児玉 義勝
岐阜県岐阜市佐野839番地の1 株式会社ゲン・コーポレーション ゲン免疫研究所内

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