

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5422200号
(P5422200)

(45) 発行日 平成26年2月19日(2014.2.19)

(24) 登録日 平成25年11月29日(2013.11.29)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K 36/899	(2006.01)	A 6 1 K 35/78	U
A 6 1 K 35/74	(2006.01)	A 6 1 K 35/74	G
A 6 1 P 1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 39/06	(2006.01)	A 6 1 P 39/06	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	

請求項の数 3 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2008-333648 (P2008-333648)	(73) 特許権者	000006884
(22) 出願日	平成20年12月26日(2008.12.26)		株式会社ヤクルト本社
(65) 公開番号	特開2010-155789 (P2010-155789A)		東京都港区東新橋1丁目1番19号
(43) 公開日	平成22年7月15日(2010.7.15)	(74) 代理人	110000084
審査請求日	平成23年8月11日(2011.8.11)		特許業務法人アルガ特許事務所
微生物の受託番号	IPOD FERM P-21755	(74) 代理人	100077562
			弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736
			弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156
			弁理士 村田 正樹
		(74) 代理人	100111028
			弁理士 山本 博人
		(74) 代理人	100068700
			弁理士 有賀 三幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肝機能障害改善剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株 (F E R M A P - 2 1 7 5 5) を用いて、麦汁を発酵して得られる麦汁発酵物を有効成分として含有する肝機能障害改善剤。

【請求項2】

ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株 (F E R M A P - 2 1 7 5 5) を用いて、麦汁を発酵して得られる麦汁発酵物を有効成分として含有する抗酸化剤。

【請求項3】

ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株 (F E R M A P - 2 1 7 5 5) を用いて、麦汁を発酵して得られる麦汁発酵物を有効成分として含有する抗炎症剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、植物性原料を用いた肝機能障害改善剤に関するものである。

【背景技術】

【0002】

肝臓は、三大栄養素である炭水化物(糖質)、蛋白質及び脂質の代謝調節・貯蔵、不要物質の分解・解毒、食物の消化を助ける胆汁の生成・分泌など、生体にとって不可欠な様々な機能を担っている。また、肝臓は、予備力が強いいため、沈黙の臓器とも言われており

、倦怠感や黄疸、浮腫、腹水等の症状が表れ難く、その障害の発見が遅れがちになることが多い。

【0003】

通常、肝機能の検査は、血漿又は血清中のALT（アラニントランスアミナーゼ）とAST（アスパラギン酸アミノ基転移酵素）が肝臓細胞壊死の程度を鋭敏に反映することから、これらの値を指標として実施される。

【0004】

近年、食生活の欧米化、栄養バランスの偏り、アルコールの過剰摂取、ストレス、喫煙などによる肝臓への負担はますます大きくなっており、肝障害の患者も増加している。肝障害は、肝細胞の年余に渡る破壊と再生の繰り返しにより、肝組織の線維化が進行し、肝硬変や肝細胞癌等の重篤な疾患を引き起こす。また肝障害の原因には、各種肝炎ウイルス感染、薬物による副作用等もあり、肝障害の初期の段階では、肝炎、すなわち、肝臓に炎症が生じている。肝臓に炎症が生じている段階では、IL-10、AST、ALT、TNF- α などの各種炎症性マーカーの異常低下や異常亢進が発生している。また、肝細胞の障害には、ラジカル反応も関与していると言われている。

10

【0005】

現在、肝障害に対する特効薬はなく、食事療法や安静療法を中心とする治療が主流となっているが、慢性肝疾患に対して、強力ネオミノファーゲンC（登録商標；ミノファーゲン社製）等のグリチルリチン製剤が使用されることが知られている。しかしながら、この薬剤は、静脈内投与で用いられることから、苦痛を伴い、また、高血圧や低カリウム血症等の副作用を生じることが報告されているため、その使用には様々な制約をうける。しかも高価であるため、長期に渡って常用するには経済的にも困難である。

20

また、肝硬変、肝不全等の肝疾患に伴う肝性脳症や低アルブミン血症の改善などを目的として種々のアミノ酸製剤を使用することも知られているが、その目的は、肝疾患による栄養障害の改善である。

【0006】

そこで、副作用が少なく、日常的に摂取することができる天然物由来の成分により、肝機能障害を改善しようとする方法が提案されている。例えば、ウコン、マリアアザミ、ゴマリグナン、牡蠣エキス、レバーエキスなどを使用する方法を挙げることができる（非特許文献1）。また、これ以外にもラクトパーオキシダーゼ及び/又はラクトフェリンを使用する方法（特許文献1）、ホエーを使用する方法（特許文献2）、甘茶のアルコール又は含水アルコール抽出物を使用する方法（特許文献3）、穀物又は豆類由来のセルロースおよびヘミセルロース等の食物繊維質を使用する方法（特許文献4）等を例示することができる。

30

【0007】

一方で、麦汁は、麦芽（モルトともいう）を糖化させて調製され、主にビールやウイスキー等の酒類の製造用原料として利用されていることは良く知られている。また、麦汁を、整腸作用や免疫賦活作用等の生体にとって有益な生理機能を有する乳酸菌を用いて発酵することも古くから行われている。例えば、抗アレルギー活性を有する乳酸菌による乳酸発酵を行った後、アルコール発酵を行う発酵麦芽飲料の製造方法（特許文献5）を例示することができる。

40

【0008】

しかしながら、これまでに報告されている乳酸菌を用いた麦汁の発酵は、アルコール発酵を伴うものであり、アルコール発酵を伴わない麦汁の乳酸菌発酵物についての報告はほとんどなく、その機能性についての検討もほとんど行われていない。

【特許文献1】特開2001-226289号公報

【特許文献2】国際公開第2005/094848号パンフレット

【特許文献3】特許第4104853号

【特許文献4】特公平7-121867号公報

【特許文献5】特開2006-50979号公報

50

【非特許文献1】FOOD Style 21, 2巻12号、1998年、食品化学新聞社

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の目的は、植物性原料を有効利用し、日常的に連用が可能で、安価で安全性に優れた肝機能障害改善剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者等は、前記課題を解決するために鋭意検討を重ねた結果、麦汁に生理活性を有する植物起源の特定の乳酸菌を接種・培養して得られる麦汁発酵物が、優れた抗酸化作用及び抗炎症作用を有し、肝機能障害を改善し得ることを見出し、本発明を完成した。

10

【0011】

すなわち、本発明は、ラクトバチルス・ペントーサスYIT10313株(FERM AP-21755)を用いて、麦汁を発酵して得られる麦汁発酵物を有効成分として含有する肝機能障害改善剤、抗酸化剤及び抗炎症剤を提供するものである。

【発明の効果】

【0012】

本発明に用いる麦汁発酵物は、優れた抗酸化作用、抗炎症作用、肝機能障害を改善および治療する効果を有し、安全性に優れた日常的にも連用可能であることから、医薬品として、またこれを利用することで健康増進を志向とした各種の飲食品を提供することが可能となる。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

本発明の肝機能障害改善剤は、ラクトバチルスに属する乳酸菌、具体的には、ラクトバチルス・ペントーサスYIT10313株を用いて、麦汁を発酵することにより得られる麦汁発酵物を有効成分として含有するものである。

この麦汁発酵物の調製に用いるラクトバチルス・ペントーサスYIT10313株は、発酵茶から常法に従って単離したものである。具体的には、試料(発酵茶)に0.85%のNaCl溶液を加えて懸濁し、10倍段階希釈液とした。この希釈液を0.5%炭酸カルシウム溶液とアジ化ナトリウムとシクロヘキシミドとをそれぞれ10ppmとなるように加えたMRS寒天に広げ、30で2日間、嫌気条件下で培養することにより、菌株を単離した。

30

【0014】

この菌は、麦汁中で良好に生育し、10で1ヶ月(4週間)保存した場合でも高い生残性を有する。また、酸や胆汁酸に対する耐性を有し、免疫細胞におけるサイトカイン産生能や脂質ミセル不溶化活性を有することが確認されており、FERM AP-21755として、平成20年12月25日付けで独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センター(郵便番号305-8566 日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6)に寄託した。

40

【0015】

なお、このYIT10313株の菌学的性質については以下に示すとおりである。

A) 形態的性質

(1) 細菌の形; 桿菌

(2) 細菌の大きさ; 1 μm

(3) 細菌の多形性; 無し

(4) 運動性; 無し

(5) 孢子; 無し

B) 培養的性質(生育状態)

(1) MRS寒天平板培養; 良好

50

(2) MRS 液体培養； 良好

C) 生理学的性質

(1) グラム染色性； 陽性

(2) カタラーゼ反応； 陰性

【0016】

また、前記ラクトバチルス・ペントーサス YIT 10313 株 (FERM AP-21755) を用いて発酵する麦汁とは、周知の通り、大麦等の麦類に水を加えて発芽させ、乾燥したもの (麦芽又はモルトともいう) に、温水を加えて一定の条件下で処理することにより、麦芽に含まれる酵素の働きでデンプン質を分解 (糖化) して得られる一般的なものである。

10

【0017】

本発明においては、常法に従って調製した麦汁であれば、特に制限されることなく好適に使用することができるが、麦汁には、糖質、アミノ酸、 α -グルカン、ポリフェノール等の成分が含まれており、これらの成分含有比率が乳酸菌の発酵性に影響を与える場合があるため、乳酸菌の発酵性に有益な成分含有比率となるように、麦汁を調製する際の条件 (糖化条件) を適宜設定することがより好ましい。

【0018】

具体的には、麦汁を調製する際、麦芽由来の酵素による糖化を 60 ~ 65 で、およそ 1 時間程度行い、その後 75 ~ 80 で、10 分程度で処理することが好ましい。この場合において、糖化处理を 65 よりも高い温度下で行うと、乳酸菌発酵に必要な資化性糖やアミノ酸等を十分確保できない場合があるため好ましくない。なお、糖化处理に要する時間は、麦汁の成分含有比率に影響を与えないことを確認しているため、作業性などを考慮して設定すれば良い。

20

【0019】

また、本発明の麦汁の調製においては、原料となる麦芽の一部にカラメル麦芽を使用することもできる。カラメル麦芽とは、麦芽調製の際の乾燥温度を 100 以上 (通常は 80 ~ 85 程度) で行って、カラメル化反応 (糖分が加熱されて褐色化する反応) を生じさせて得られる甘く香ばしい焙煎香を有する麦芽 (色麦芽ともいう) のことをいう。このカラメル麦芽を用いることにより、麦汁に独特の風味や香気を付与することができ、麦汁発酵物の嗜好性を高めることができる。本発明において、カラメル麦芽の使用量は適宜設定すればよく、特に制限されるものではない。

30

【0020】

また更に、本発明においては、前記した麦汁以外に、発酵麦芽飲料用に市販されている麦芽 (モルト) エキスをそのまま或いは前記麦汁と適宜混合して利用することも可能である。本発明で使用することができる麦芽エキスとしては、例えば、MALT EXTRACT PASTE (DIAMALTERIA ITALIANA S.r.l 社製) などを挙げることができる。

【0021】

本発明の麦汁発酵物の調製は、乳酸菌を用いた発酵食品等と同様に、通常の製造法で行えばよく、特に制限されるものではない。すなわち、上記により調製した麦汁に、ラクトバチルス・ペントーサス YIT 10313 株 (FERM AP-21755) を接種して、常法に従って培養することにより行うことができる。

40

【0022】

このとき、麦汁は、適宜殺菌処理を施して、乳酸菌の発酵基質とすればよく、殺菌条件等も特に制限されない。麦汁濃度としては、固形分換算で 8 ~ 30 % が発酵性等の点から好ましい。また、麦汁は、それだけで乳酸菌発酵に必要な充分量の栄養源を含有しているため、そのまま発酵基質とすればよいが、更に発酵性を高めることを目的として、一般的に乳酸菌発酵時に副次的に用いられる成分を配合することができる。このような成分としては、例えば、酵母エキス、クロレラエキス、ビタミン A、ビタミン B 類、ビタミン C、ビタミン E 等のビタミン類や、各種のペプチド類を含むタンパク分解物、アミノ酸類、カ

50

リウム、カルシウム、マグネシウム、マンガン等の塩類を挙げることができる。なお、これら別途配合する成分の使用量は、特に制限されず、目的に応じて使用すればよい。

【0023】

また、ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株 (F E R M A P - 2 1 7 5 5) は、予め前培養して調製した前培養液として麦汁に接種することが好ましい。この前培養液は、ラクトバチルス・ペントーサスに属する乳酸菌が増殖し得る可食性培地、例えば、L a c t o b a c i l l i M R S プロス (D i f c o 社製) 等を用いて、30 ~ 37 で、16時間 ~ 24時間程度培養することにより調製したものをいう。

そして、この前培養液を、麦汁に対して、およそ 0 . 0 1 重量% ~ 1 . 0 重量% 程度接種し、培養する。このときの培養条件は、特に制限されるわけではなく、一般的な乳酸菌の培養条件に従って行えばよい。例えば、培養条件としては、培養温度が、25 ~ 40、好ましくは、30 ~ 37 であり、培養時間が、16時間 ~ 50時間、好ましくは、18時間 ~ 36時間程度とすればよい。また、培養方法としては、静置培養、攪拌培養、振盪培養、通気培養などからラクトバチルス・ペントーサスに属する乳酸菌の培養に適した方法を適宜選択すればよい。

10

【0024】

また、本発明の麦汁発酵物の調製においては、ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株 (F E R M A P - 2 1 7 5 5) の発酵性や麦汁発酵物の機能性等に影響を与えない範囲であれば、腸内環境の改善等、生体に有益な他の動植物性由来の乳酸菌を併用することもできる。このような乳酸菌としては、例えば、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・プラントラム、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・ファーマメンタム等を挙げることができる。

20

【0025】

前記の麦汁発酵物は、後記実施例に示すように、優れた抗酸化作用、抗炎症作用及び肝機能障害改善作用を有することから、各種の原因による肝機能低下を改善するための医薬品、食品等として有用である。ここで、肝機能障害には、ウイルス性肝炎、脂肪肝、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪肝、薬物性肝障害、疲労やストレス等により肝機能が障害又は低下している状態が含まれる。肝機能が低下している又は障害されているか否かは、肝疾患マーカーである血漿又は血清中の A L T、A S T、直接ビリルビン、間接ビリルビン、A L P、 γ -G T P、コリンエステラーゼ (C H E)、血清アルブミン値 (A L B) 等によって判定できるが、A L T、A S T で判定するのが好ましい。また肝炎によって変動する I L - 1 0、T N F - α 、I N F - γ 、S T 6 G a l I 等によって判定してもよい。

30

【0026】

本発明の抗酸化剤、抗炎症剤及び肝機能障害改善剤 (以下、肝機能障害改善剤等と云う) は、上記して得られる麦汁発酵物を医薬や食品等の適宜な形態或いは液状、ペースト状、固形状等の適宜な形状とすることにより調製される。また、前記の麦汁発酵物は、安全性に優れ日常的に連用することが可能であることから、これをそのまま或いはその処理物を乳酸菌が生きたまま含まれる状態で利用することができる他、加熱殺菌処理を施したもののや、濾過・遠心分離等により発酵物から菌体を除去したものの、更には、凍結乾燥、噴霧乾燥、熱風乾燥またはスプレードライ等の既存の方法により粉末化したものを利用することができる。

40

【0027】

例えば、本発明の肝機能障害改善剤等は、そのまま或いは加熱殺菌や凍結乾燥等の処理を適宜施した加工処理物を薬理的に許容され得る担体と混合して、慣用の医薬品製剤の形態として投与することができる。このような製剤としては、例えば、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等の固形剤；溶液剤、懸濁剤、乳剤などの液剤；凍結乾燥製剤などが挙げられる。これらの製剤は、製剤上の常套手段により調製することができる。医薬用無毒性担体としては、グルコース、乳糖、シヨ糖、デンプン、マンニトール、デキストリン、脂肪酸グリセリド、ポリエチレングリコール、ヒドロキシエチルデンプン、エチレングリコ

50

ール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、アミノ酸、ゼラチン、アルブミン、水、生理食塩水などが挙げられる。また、必要に応じて、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、結合剤、等張化剤等の慣用の添加剤を適宜添加することもできる。

【0028】

また、本発明の肝機能障害改善剤等は、上記した医薬品製剤として用いるだけでなく、飲食品等として摂取することもできる。この場合には、前記麦汁発酵物或いは加熱殺菌や粉末化等した加工処理物をそのまま、或いは各種の食品中に含有せしめて、肝機能障害の改善に有用な食品素材又は保健用食品として摂取することができる。例えば、種々の食品、ハム、ソーセージなどの食肉加工食品；かまぼこ、ちくわなどの水産加工食品；パン、菓子、バター、粉乳、発酵乳製品に添加して使用したり、水、果汁、牛乳、清涼飲料等の飲料に添加して使用してもよい。

10

【0029】

更には、前記麦汁発酵物そのまま或いはその加工処理物に、各種の食品素材を配合して、消費者の嗜好に合わせた飲料やタブレット等の飲食品の形態として摂取することもできる。これらの飲食品は、通常の方法により製造することができる。

この場合に配合できる食品素材としては、ショ糖、グルコース、フルクトース、パラチノース、トレハロース、ラクトース、キシロース、麦芽糖、ブドウ糖果糖液糖、蜂蜜等の各種糖質、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、ラクチトール、パラチニット、還元水飴、還元麦芽糖水飴等の各種糖アルコール、アスパルテーム、スクラロース、アセスルファムK等の各種高甘味度甘味料、甘草、ステビア、グリチルリチン酸配糖体等の各種天然甘味料、ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、レシチン等の各種乳化剤、寒天、ゼラチン、カラギナン、グアガム、キサンタンガム、ペクチン、ローカストビーンガム、ジェランガム、カルボキシメチルセルロース、大豆多糖類、アルギン酸プロピレングリコール等の各種増粘（安定）剤、ポリデキストロース、 α -グルカン、マンナン、ガラクトマンナン、アラビノガラクトマンナン、グルコマンナン、ガラクトマンナン、小麦ファイバー、コーンファイバー、リンゴファイバー、パインファイバー等の各種食物繊維或いはそれらの加水分解物、オレンジ果汁、レモン果汁、ブドウ果汁、グレープフルーツ果汁、リンゴ果汁、パイナップル果汁等の各種果汁、クエン酸、乳酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、グルコン酸等の各種酸味剤、ビタミンA、ビタミンB類、ビタミンC、ビタミンE類等の各種ビタミン類、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、鉄、マンガン等の各種ミネラル分、ベリー系、オレンジ系、シトラス系、アップル系、ミント系、グレープ系等の各種フレーバー類を挙げることができる。

20

30

【0030】

また、本発明において、所望の抗酸化効果、抗炎症効果、肝機能障害改善効果を得るために必要な麦汁発酵物の使用（摂取）量には厳格な制限はないが、乾燥固形分として、一日当たり5g～30g、好ましくは10g～20gである。

【実施例】

【0031】

以下、実施例、試験例及び参考例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明は、これらに何ら制約されるものではない。

40

【0032】

（実施例1）

<麦汁発酵物の調製>

常法に従って調製した麦汁から遠心分離（8,000rpm、10分）を用いて不純物を除去した後、121で15分間オートクレーブ滅菌した。この麦汁（12°Bx）1Lに、予めLactobacilli MRS プロス（Difco社製）を用いて前培養して調製したラクトバチルス・ペントーサスYIT10313株（FERM AP-21755）前培養液を1%接種し、37で48時間培養し、麦汁発酵物（実施品1）を得た。また、ラクトバチルス・プランタラムYIT0102株、ラクトバチルス・プラン

50

タラム Y I T 1 1 2 0 1 株およびラクトバチルス・プランタラム Y I T 1 1 2 0 3 株を用いて前記と同様の方法により、麦汁発酵物（試料 1 ~ 3）を調製した。

【 0 0 3 3 】

（試験例 1）

< 抗酸化能の検討 >

実施例 1 で調製した麦汁発酵物（実施品 1 及び試料 1 ~ 3）をプレートに 0、2、4、6、8、10、20、40、60、80、100 μ L 入れ、更に全量が 100 μ L となる様に 50% エタノールを添加した。このサンプル溶液に、0.1 M MES バッファー（pH 6.0）と、0.1 mM 1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル（DPPH）とを 50 μ L ずつ加えて暗所室温に放置して反応させた。反応開始から 30 分後、プレートリーダーにて 515 nm における吸光度を測定し、減少率が 50% になる時のサンプル溶液の添加量を求めた。その結果を図 1 に示す。

10

なお、図 1 中、抗酸化活性値は、34 μ M、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）の活性に相当するサンプル溶液の添加量で表す。

【 0 0 3 4 】

図 1 から、麦汁発酵物は、麦汁に比べて DPPH ラジカル消去活性が高く、ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株（FERM AP - 2 1 7 5 5）を用いた麦汁発酵物は、特に高い活性を有することが確認された。

【 0 0 3 5 】

（試験例 2）

< 抗炎症能の検討 >

BALB/c（、7~8 週齢）マウスの腹腔内に 4%（w/v）チオグリコレート培地（Thioglycollate）溶液を 2 mL 投与し、4 日後に腹腔内に誘導されてくる細胞を、ハンクス溶液 5 mL を用いて回収し、腹腔内マクロファージとした。腹腔内マクロファージはハンクス溶液で洗浄後、RPMI 1640 培地（10% FBS（Fetal Bovine Serum）、1% ペニシリン/ストレプトマイシン、0.05 mM 2-Mercaptoethanol）に懸濁した。96 ウェル培養プレートに腹腔マクロファージ 5×10^5 cells/mL を播き、実施例 1 で調製した麦汁発酵物（実施品 1 及び試料 1 ~ 3）を 10% になるように添加して、37 で培養した。24 時間後に培養上清を回収して遠心分離（1800 rpm x 5 分）し、IL-10 及び TNF の濃度を ELISA 法により定量した。その結果を表 1 に示す。

20

30

【 0 0 3 6 】

< ELISA 法 >

ELISA 法は、eBioScience 社のキット（Mouse TNF ELISA Ready-SET-Go!）を用い、説明書に準じて測定した。

【 0 0 3 7 】

【表 1】

	実施品 1	試料 1	試料 2	試料 3
TNF α	1.84 \pm 0.26	2.87 \pm 0.23	4.29 \pm 0.11	4.39 \pm 0.13
IL - 10	230.98 \pm 48.02	210.93 \pm 35.24	188.86 \pm 37.28	173.67 \pm 50.31

40

【 0 0 3 8 】

表 1 から、ラクトバチルス・ペントーサス Y I T 1 0 3 1 3 株（FERM AP - 2 1 7 5 5）を用いた麦汁発酵物は、他の麦汁発酵物に比べて TNF の産生能は低く、IL-10 産生能が高いことが確認され、抗炎症作用を有していることが示された。

【 0 0 3 9 】

（実施例 2）

50

< 肝機能障害改善効果の検討 1 >

5 週齢の C 5 7 B L / 6 N マウス () を 2 週間馴化した後、表 2 で示す組成の飼料を用いて 8 週間飼育し、ブランク群 (n = 1 0)、コントロール群 (n = 1 0)、麦汁発酵物投与群 (n = 1 0) に分けた。飼育後 2 4 時間絶食させ、絶食開始 8 時間後に、表 3 の通りサンプルを投与し、1 6 時間後にエーテル麻酔下で解剖し、腹部大動脈より全採血し、遠心分離 (3 , 0 0 0 r p m、2 0 m i n) して血清を調製した。血清 A S T 及び A L T 活性測定には、トランスアミナーゼ C I I テストワコー (和光純薬) を用いた。その結果を表 4 に示す。

【 0 0 4 0 】

【表 2】

10

飼料組成	(%)
コーンスターチ	19.95
カゼイン	20
ショ糖	10
牛脂	40
セルロース	5
ミネラル混 A I N 9 3 G M X	3.5
ビタミン混 A I N 9 3 G V X	1
L-シスチン	0.3
コリン	0.25

20

【 0 0 4 1 】

【表 3】

30

群	サンプル A ^{*1}	サンプル B ^{*2}
ブランク	11.4% ショ糖溶液	コーン油
コントロール	11.4% ショ糖溶液	CCl ₄ /コーン油 ^{*3}
麦汁発酵物	実施品 1	CCl ₄ /コーン油 ^{*3}

※ 1 ; サンプル A は、1 0 m L / k g を経口で投与

※ 2 ; サンプル B は、5 m L / k g を皮下投与

※ 3 ; C C l₄ とコーン油の混合比は 1 : 1

40

【 0 0 4 2 】

【表4】

群	AST活性 (Karmen unit)	ALT活性 (Karmen unit)
ブランク	89.7±3.2	30.4±3.4
コントロール	5143.9±1486.9	4608.5±1210.7
麦汁発酵物	2212.7±572.0	1718.1±398.2*

平均値±標準誤差

※ コントロール群と比較して $p < 0.05$ で有意差有り

【0043】

表4から、血清AST及びALT活性は、ブランクと比較してコントロール群では上昇しており、四塩化炭素によって肝障害が起こっていることが確認された。そして、麦汁発酵物を投与することにより、コントロール群と比較してASTは有意傾向($P = 0.08$)、ALTは有意($P = 0.04$)に低い値を示し、肝機能障害を改善することが確認された。

【0044】

(実施例3)

<肝機能障害改善効果の検討2>

6週齢のWistarラット()を2週間馴化し、コントロール群($n = 8$)と麦汁発酵物投与群($n = 7$)に分けた。それぞれの群に、表5に示す組成の飼料を与えて10日間飼育した。その後、GalN(D-ガラクトサミン)を体重1kg当り500mg、LPSを体重1kg当り20 μ gの割合でラットの腹腔内に注射し、肝障害を惹起させた。その24時間後にエーテル麻酔下で解剖し、腹部大動脈より全採血し、遠心分離(3,000rpm、20min)して血清を調製した。血清AST及びALT活性測定には、トランスアミナーゼCIIテストワコー(和光純薬)を用いた。その結果を表6に示す。

【0045】

【表5】

飼料組成 (%)	コントロール	麦汁発酵物
カゼイン	200	200
DL-メチオニン	3	3
コーンスターチ	150	15.2
スクロース	500	200
コーン油	50	50
セルロースパウダー	50	50
ミネラル混AIN76	35	35
ビタミン混AIN76	12	12
麦汁発酵物*	0	434.8

※ 実施例1で調製した実施品1

10

20

30

40

50

【 0 0 4 6 】

【表 6】

群	AST活性 (Karmen unit)	ALT活性 (Karmen unit)
コントロール	1 6 8 4 1. 5 ± 2 2 5 5. 9	4 0 5 1. 7 ± 5 5 1. 4
麦汁発酵物	1 3 2 6 0. 1 ± 1 5 7 0. 0	3 0 6 9. 0 ± 2 3 7. 2

【 0 0 4 7 】

10

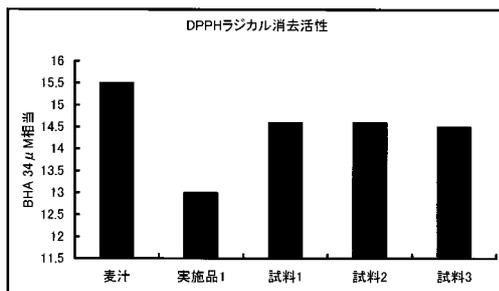
表 6 から、麦汁発酵物の投与により、ガラクトサミンと L P S により生じる肝障害が改善された。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 8 】

【図 1】麦汁発酵物による D P P H ラジカル消去活性を示す図である。

【図 1】



フロントページの続き

- (72)発明者 狩野 光芳
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内
- (72)発明者 増岡 範江
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内
- (72)発明者 石川 文保
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内
- (72)発明者 若林 英行
群馬県高崎市宮原町3番地 キリンホールディングス株式会社フロンティア技術研究所内
- (72)発明者 小川 俊也
栃木県さくら市早乙女字申塚3377 キリンホールディングス株式会社フロンティア技術研究所内
- (72)発明者 小泉 久美子
神奈川県横浜市金沢区福浦1丁目13番5号 キリンホールディングス株式会社フロンティア技術研究所内

審査官 石井 裕美子

- (56)参考文献 特開2004-215529(JP,A)
特開2003-250512(JP,A)
高山清子 他, 甘糖化液発酵適性の高い乳酸菌の選抜, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, 2004年, No.48, p.125-129
NAGANO, H. et al, Microorganisms and characterization of the proteins in traditional fermented meat (sour meat) of Southeast Asia, Nippon Kasei Gakkaishi, 2002年, Vol.53, No.3, p.265-270

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 36/00 - 36/9068

A61K 35/74

A61P 1/16

A61P 29/00

A61P 39/06

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)