

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7370317号  
(P7370317)

(45)発行日 令和5年10月27日(2023.10.27)

(24)登録日 令和5年10月19日(2023.10.19)

(51)国際特許分類

A 6 1 K	35/60 (2006.01)	A 6 1 K	35/60
A 6 1 K	31/202 (2006.01)	A 6 1 K	31/202
A 6 1 K	31/22 (2006.01)	A 6 1 K	31/22
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
A 6 1 K	9/107 (2006.01)	A 6 1 K	9/107

請求項の数 60 (全74頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-507088(P2020-507088)  
 (86)(22)出願日 平成30年8月10日(2018.8.10)  
 (65)公表番号 特表2020-530464(P2020-530464  
 A)  
 (43)公表日 令和2年10月22日(2020.10.22)  
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/046206  
 (87)国際公開番号 WO2019/032959  
 (87)国際公開日 平成31年2月14日(2019.2.14)  
 審査請求日 令和3年8月6日(2021.8.6)  
 (31)優先権主張番号 62/543,437  
 (32)優先日 平成29年8月10日(2017.8.10)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)

(73)特許権者 596115687  
 ザ チルドレンズ メディカル センター  
 コーポレーション  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0  
 2 1 1 5 , ポストン , シャタック・ス  
 トリー 5 5  
 (74)代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74)代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74)代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊  
 (74)代理人 100142929  
 弁理士 井上 隆一  
 (74)代理人 100148699

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 魚油および/またはオメガ3脂肪酸を含むエマルジョンに関する方法および組成物

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

30:70～70:30の間の(ただし両端を含まない)比の、魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または

30:70～70:30の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)を含み、

魚油および/またはオメガ3脂肪酸のトリグリセリドおよびジグリセリドの合計含有量に対するジグリセリドの割合が10%以下である、非経口投与用または静脈内投与用に製剤化されたエマルジョン組成物。

## 【請求項2】

40:60～60:40の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または40:60～60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)を含む、請求項1記載のエマルジョン組成物。

## 【請求項3】

50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)を含む、請求項1記載のエマルジョン組成物。

## 【請求項4】

水中油型エマルジョンである、請求項1～3のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

## 【請求項5】

-トコフェロールをさらに含む、請求項1～4のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項6】

-トコフェロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり少なくとも100mgのレベルで存在する、請求項1～5のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項7】

-トコフェロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり少なくとも120mgのレベルで存在する、請求項1～6のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項8】

少なくとも2:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、請求項1～7のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。 10

【請求項9】

少なくとも10:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、請求項1～8のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項10】

-トコフェロール以外の形態のビタミンEを含まない、請求項1～9のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項11】

フィトステロールが前記組成物中に存在する、請求項1～10のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。 20

【請求項12】

フィトステロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり50mg未満の濃度で該組成物中に存在する、請求項1～11のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項13】

アラキドン酸が、少なくとも900mg/Lの濃度で前記組成物中に存在する、請求項1～12のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項14】

ドコサヘキサエン酸が、少なくとも13.4g/Lの濃度で前記組成物中に存在する、請求項1～13のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項15】

エイコサペンタエン酸が、少なくとも11.6g/Lの濃度で前記組成物中に存在する、請求項1～14のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。 30

【請求項16】

魚油および/またはオメガ3脂肪酸のエマルジョンとMCTのエマルジョンとの混合物を含む、請求項1～15のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項17】

魚油および/またはオメガ3脂肪酸とMCTとの混合物のエマルジョンを含む、請求項1～16のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項18】

魚油および/またはオメガ3脂肪酸が、トリグリセリドの再エステル化がされていない魚油および/またはオメガ3脂肪酸である、請求項1～17のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。 40

【請求項19】

魚油および/またはオメガ3脂肪酸が、蒸留もされておらず、トリグリセリドの再エステル化もされていない魚油および/またはオメガ3脂肪酸である、請求項1～17のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項20】

1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む、請求項1～19のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項21】

10

20

30

40

50

添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、請求項20記載のエマルジョン組成物。

【請求項22】

a)添加物によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む、請求項1~21のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項23】

卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムのうちの1種または複数種をさらに含む、請求項1~22のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項24】

卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムをさらに含む、請求項1~23のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項25】

非経口栄養をそれを必要とする対象に提供することにおける使用のための、請求項1~4のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項26】

非経口投与によって投与される、請求項25記載のエマルジョン組成物。

【請求項27】

完全非経口投与によって投与される、請求項25または26記載のエマルジョン組成物。

【請求項28】

対象が完全非経口栄養を必要としている、請求項25~27のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項29】

対象が経口栄養を受けない、請求項25~28のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項30】

対象が他の非経口製剤を受けない、請求項25~29のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項31】

対象が、栄養バランスを維持するのに十分である経口栄養を受けない、請求項25~30のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項32】

対象が、栄養バランスを維持するのに十分である他の非経口製剤を受けない、請求項25~31のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項33】

対象が、脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、請求項25~32のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項34】

対象が、脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、請求項25~33のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項35】

対象が、必須脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、請求項25~34のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項36】

対象が、必須脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、請求項25~35のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項37】

請求項1~24のいずれか一項記載のエマルジョン組成物が単独療法として投与される、請求項25~36のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項38】

請求項1~24のいずれか一項記載のエマルジョン組成物が、栄養的ニーズに向けた単独

10

20

30

40

50

療法として投与される、請求項25～37のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 39】

対象が、

肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、肺炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窩状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、肺炎、急性肺炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油、オメガ3を主とする脂肪酸油、および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態

からなる群より選択される状態の治療を必要とする対象である、

請求項25～38のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 40】

投与される用量が、0.5gの脂肪酸/kg/日～5gの脂肪酸/kg/日である、請求項25～39のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 41】

投与される用量が、1gの脂肪酸/kg/日～3gの脂肪酸/kg/日である、請求項25～40のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 42】

投与される用量が、2gの脂肪酸/kg/日である、請求項25～41のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 43】

投与される用量が、0.5gの魚油/kg/日～5gの魚油/kg/日である、請求項25～42のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 44】

投与される用量が、1gの魚油/kg/日～3gの魚油/kg/日である、請求項25～43のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 45】

投与される用量が、2gの魚油/kg/日である、請求項25～44のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 46】

対象に、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物がさらに投与される、請求項25～45のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 47】

1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む、請求項25～45のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 48】

前記エマルジョン組成物が添加物をさらに含み、該添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、請求項25～47のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 49】

a)前記エマルジョン組成物が添加物をさらに含み、該添加物によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む、請求項25～48のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

【請求項 50】

混合物が、投与時にまたは投与場所で調製される、請求項49記載のエマルジョン組成物

10

20

30

40

50

。

**【請求項 5 1】**

臨床的に適応されるように混合物が調製される、請求項50記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 2】**

前記魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)、または、前記オメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)が、フィトステロールまたはオメガ6脂肪酸をエマルジョン組成物の100mg/L未満の濃度で含む、請求項1～51のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 3】**

前記オメガ3脂肪酸が、再エステル化を受けていない、オメガ3を主とする脂肪酸油として提供される、請求項1～52のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

10

**【請求項 5 4】**

前記魚油および/またはオメガ3脂肪酸が、ジグリセリドを含まない、請求項1～53のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 5】**

前記エマルジョン組成物が、a)前記魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)を、100mL当たり10g～50gの濃度で、または、b)前記オメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)を100mL当たり10g～50gの濃度で含む、請求項1～54のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 6】**

前記魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)、または、前記オメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)が、オメガ6脂肪酸をエマルジョン組成物の100mg/L未満の濃度で含む、請求項1～55のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

20

**【請求項 5 7】**

前記魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)、または、前記オメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)が、オメガ6脂肪酸をエマルジョン組成物の50mg/L未満の濃度で含む、請求項1～56のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 8】**

前記エマルジョン組成物が、長期的に投与される、請求項1～57のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

**【請求項 5 9】**

エマルジョン組成物の投与による毒性を抑制するために使用される、請求項1～58のいずれか一項記載のエマルジョン組成物。

30

**【請求項 6 0】**

エマルジョン組成物の投与による肝臓における毒性を抑制するために使用される、請求項59記載のエマルジョン組成物。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0 0 0 1】**

関連出願の相互参照

本出願は、その内容の全体が参照により本明細書に組み入れられる2017年8月10日に出願された米国仮特許出願第62/543,437号の、米国特許法第119条(e)に基づく恩典を主張する。

40

**【0 0 0 2】**

政府の支援

本発明は、国立衛生研究所によって授与された助成金第1F32DK104525-01号、第5T32HL007734-22号、および第T35HL110843号のもとで、政府の支援を受けてなされた。政府は、本発明において一定の権利を有している。

**【0 0 0 3】**

技術分野

本明細書において説明する技術は、例えば経口的または非経口的に患者に投与するため

50

の脂質エマルジョンに関する。

【背景技術】

【0004】

背景

長期および短期のPN依存性患者は、炎症性傷害に対して脆弱であり得る。長期のPN依存性患者の場合、慢性的疾患状態およびPN送達のための中心静脈カテーテルの長期留置によって、炎症誘発性の状態が引き起こされる場合がある。短期のPN依存性患者、例えば、外傷患者、術後の患者、および集中治療室を要する急性疾患患者もまた、炎症誘発性の問題をまぬがれない。

【0005】

PNそれ自体の使用に加えて、PNによって投与される特定の脂質エマルジョンは、炎症反応を調整し、PN依存性患者の炎症状態に影響を及ぼすことができる。ダイズ油ベースの脂質エマルジョンは、炎症誘発性のオメガ6脂肪酸に富むのに対し、魚油脂質エマルジョンは、抗炎症性の高いオメガ3脂肪酸を豊富に含む。魚油脂質エマルジョンは、患者の非経口栄養に関する肝疾患(PNALD)、すなわち肝炎および胆汁うっ滞を特徴とする状態を治療するのに利用されている。

10

【発明の概要】

【0006】

概要

炎症反応および/または肝疾患を発症するリスクをさらに低くする脂質エマルジョンの開発により、通常の栄養摂取が推奨もされず適切でもない一部の患者の治療を改善することができる。本明細書において説明するように、本発明者らは、a)MCTならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸(例えば、オメガ3を主とする脂肪酸油)の混合エマルジョンが、単独の魚油またはMCTと比べて、抗炎症性の働きを向上させることを発見した。特定の比のa)MCTならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸(例えば、オメガ3を主とする脂肪酸油)を用いて得られる驚くべき有効性も、本明細書においてさらに説明される。

20

【0007】

特に、FOおよびMCTの混合エマルジョンは、FO単独と比べて、炎症性刺激に応答する抗炎症性利益を向上させることが、本明細書において実証される。特に、比が30:70～70:30の間の混合物は、バランスがうまく取られない混合物と比べて、肝臓保護と炎症反応の抑制とのバランスを驚くほど向上させた。50:50の比が、このような効果をもたらすにあたって、驚くほど最適であった。本明細書において使用される場合、MCTと魚油またはオメガ3脂肪酸との互いに対する比は、w/w単位で与えられる。本発明の組成物中のMCT、魚油、および/またはオメガ3脂肪酸のw/v量は、本明細書において別の箇所で説明する。

30

【0008】

さらに、多くの先行技術の製剤は、明示的に植物油を必要とし、これは、それらの開発者が、植物油が不足すると必須脂肪酸欠乏(EFAD)が起こると考えるためである(例えば、米国特許出願公開第2010/0233280号を参照されたい)。対照的に、本明細書において説明する製剤および方法の態様は、植物油を含まず、かつ主にオメガ6脂肪酸ではなく、しかも、そのような転帰が起こるであろうという専門家の主張にもかかわらず、EFADを誘発しない。

40

【0009】

これらの態様のいずれかの1つの局面において、約30:70～約70:30の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約30:70～約70:30の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含むエマルジョン組成物が、本明細書において説明される。これらの態様のいずれかの1つの局面において、30:70および70:30を含まない30:70～70:30の間の比の、魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せまたはオメガ3脂肪酸およびMCTの組合せを含むエマルジョン組成物が、本明細書において説明される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、約40:60～約60:40

50

の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約40:60～約60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、約50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物のオメガ3脂肪酸は、オメガ3を主とする脂肪酸油として提供される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物のオメガ3脂肪酸は、再エステル化を受けていない、オメガ3を主とする脂肪酸油として提供される。

10

#### 【0010】

本明細書において使用される場合、「オメガ3を主とする脂肪酸油」とは、オメガ6脂肪酸よりも大きな比率のオメガ3脂肪酸を含む脂肪酸油を意味する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、オメガ3を主とする脂肪酸油中の脂肪酸は、50%超、例えば、50%超、60%超、70%超、80%超、90%超、95%超、または98%超がオメガ3脂肪酸である(前述の百分率は、脂肪酸油中の脂肪酸の重量%である)。

#### 【0011】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、-トコフェロールをさらに含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、組成物全体に対して少なくとも100mg/Lのレベルで存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも120mg/Lのレベルで存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、組成物全体中に、少なくとも2:1の重量比で-トコフェロールならびに他の形態のビタミンE(例えば、トコフェロール、トコフェロール、トコフェロール、トコトリエノール、トコトリエノール、トコトリエノール、および/またはトコトリエノール)を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、少なくとも10:1の比で-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、-トコフェロール以外の形態のビタミンEを含まない。

20

#### 【0012】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールは、組成物中に存在しない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールが、組成物中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールが、50mg/L未満の濃度で組成物中に存在する。フィトステロールには、植物ステロールおよび植物スタノール、例えば、-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、エルゴステロール、シトスタノール、カンペスタノール、アベナステロール、および/またはスチグマスタノールが含まれ得る。

30

#### 【0013】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、アラキドン酸が、少なくとも900mg/Lの濃度で組成物中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、ドコサヘキサエン酸が、少なくとも13.4g/Lの濃度で組成物中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エイコサペンタエン酸が、少なくとも11.6g/Lの濃度で組成物中に存在する。

40

#### 【0014】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、経口投与用に製剤化される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、非経口投与用または静脈内投与用に製剤化される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、この添加物は、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む。

50

**【 0 0 1 5 】**

これらの態様のいずれかの1つの局面において、本明細書において説明されるエマルジョン製剤を、それを必要とする対象に投与する段階を含む方法が、本明細書において説明される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与は非経口投与である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与は完全非経口投与である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与は経口投与である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、対象は、肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窓状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、膵炎、急性膵炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態、からなる群より選択される状態の治療または予防を必要とする対象である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、対象は、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)の治療または予防を必要とする対象である。

10

20

**【 0 0 1 6 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、対象は、非経口栄養を必要としている。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、対象は、完全非経口栄養を必要としている。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、経口栄養を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、他の非経口製剤を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、栄養バランスを維持するのに十分である経口栄養を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、栄養バランスを維持するのに十分である他の非経口製剤を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、必須脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、必須脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない。

30

**【 0 0 1 7 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、単独療法として投与される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、治療的利益を得るために単独療法として投与される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、栄養的ニーズに向けた単独療法として投与される。

40

**【 0 0 1 8 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、患者は、肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窓状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、膵炎、急性膵

50

炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態、からなる群より選択される状態の治療を必要とする患者である。

【0019】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与される用量は、エマルジョン中の合計約0.5gの脂肪酸/kg/日～エマルジョン中の合計約5gの脂肪酸/kg/日である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与される用量は、エマルジョン中の合計約1gの脂肪酸/kg/日～エマルジョン中の合計約3gの脂肪酸/kg/日である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、投与される用量は、エマルジョン中の合計約2gの脂肪酸/kg/日である。前述の用量において、「kg」とは、組成物を投与される対象の質量である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、方法は、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物を投与する段階をさらに含む。

10

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1A】図1A～1Bは、処置群間で成長(図1A)にも臓器質量(図1B)にも差はないことを実証する。1群当たりのマウス数N=9～10、統計学的解析単一因子ANOVA。

【図1B】図1A～1Bは、処置群間で成長(図1A)にも臓器質量(図1B)にも差はないことを実証する。1群当たりのマウス数N=9～10、統計学的解析単一因子ANOVA。

20

【図2A】図2A～2Cは、必須脂肪酸の血清レベルを示す。図2A:脂肪供給源を与えられた群のどれも、生化学的EFADを発症しなかった。生理食塩水を与えられたPN給餌群のみがEFADを発症した。\*=固形飼料と比べてp 0.05。

【図2B】図2A～2Cは、必須脂肪酸の血清レベルを示す。図2B:SOおよびSO+ATは、FO処置群よりも、多くのオメガ6脂肪酸を含有している。\*=FOと比べてp 0.05。

【図2C】図2A～2Cは、必須脂肪酸の血清レベルを示す。図2C:FOおよびFO+Pは、SO処置群と比べて、多くのオメガ3脂肪酸を含有している。\*=FOと比べてp 0.05。いずれの統計学的解析も、単一因子ANOVAを用いて実施した。

【図3A】図3A～3Bは、-トコフェロールがSOに肝保護的特性を与えることを実証する。SO+ATは、SOの場合(図3Aおよび3B、上の段、中央の列)と比べて、肝臓構造の正常化(図3A、下の段、中央の列)および肝臓脂肪蓄積の減少(図3B、下の段、中央の列)をもたらす。フィトステロール(FO+P)は、FOの肝保護的特性を弱めない(図3Aおよび3B、右の列、両方の段)。

30

【図3B】図3A～3Bは、-トコフェロールがSOに肝保護的特性を与えることを実証する。SO+ATは、SOの場合(図3Aおよび3B、上の段、中央の列)と比べて、肝臓構造の正常化(図3A、下の段、中央の列)および肝臓脂肪蓄積の減少(図3B、下の段、中央の列)をもたらす。フィトステロール(FO+P)は、FOの肝保護的特性を弱めない(図3Aおよび3B、右の列、両方の段)。

【図4】図4は、PPAR $\gamma$ およびACC2の遺伝子発現プロファイルを示す。脂肪を含まないPNを給餌されたマウスおよびSOを投与されたPNを給餌されたマウスでは、PPAR $\gamma$ およびACC2の発現が増大していた。FO処置群では、SO+AT群と同様に、これらの遺伝子の発現は正常であった。\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.05。結果を、固形飼料食の対照と比べた差の倍率として示している。

40

【図5】図5A～5Bは、PPAR $\gamma$ およびACCのタンパク質発現を示す。図5A:ACC、PPAR $\gamma$ 、およびハウスキーピング遺伝子-アクチンのウェスタンプロット画像。図5B: -アクチンに対して標準化し、固形飼料と比べた、各群のタンパク質発現の定量。

【図6A】図6Aは、肝臓のヘマトキシリン・エオシン染色を示し、図6Bは肝臓のオイルレッドO染色を示す。FO、70:30、および50:50の場合は、固形飼料と同様に、正常な肝臓構造を示している。30:70の場合、生理食塩水群およびSO群と比べて肝臓構造が改善し、軽度の脂肪症が認められる(図6A)。FO、70:30、50:50、および30:70の場合、観察可

50

能な肝臓脂肪蓄積は認められない(図6B)。

【図6B】図6Aは、肝臓のヘマトキシリン・エオシン染色を示し、図6Bは肝臓のオイルレッドO染色を示す。FO、70:30、および50:50の場合は、固形飼料と同様に、正常な肝臓構造を示している。30:70の場合、生理食塩水群およびSO群と比べて肝臓構造が改善し、軽度の脂肪症が認められる(図6A)。FO、70:30、50:50、および30:70の場合、観察可能な肝臓脂肪蓄積は認められない(図6B)。

【図7】図7は、FO、SO、およびFOとMCTの全混合物が、生化学的EFADを効果的に予防することを実証する。\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.0001。

【図8A】図8Aは、生理食塩水またはLPSの投与後のTNFaレベルを示し、図8Bは、生理食塩水またはLPSの投与後のIL-6レベルを示す。3A:\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.05、#=単一因子ANOVAによりFOと比べてp 0.05。3B:\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.002、#=単一因子ANOVAによりFOと比べてp 0.05。

【図8B】図8Aは、生理食塩水またはLPSの投与後のTNFaレベルを示し、図8Bは、生理食塩水またはLPSの投与後のIL-6レベルを示す。3A:\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.05、#=単一因子ANOVAによりFOと比べてp 0.05。3B:\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.002、#=単一因子ANOVAによりFOと比べてp 0.05。

【図9A】図9Aは、各処置群から得た肝臓のヘマトキシリン・エオシン解析を示し、図9Bは、同肝臓のオイルレッドO解析を示す。生理食塩水で処置したマウスおよびSOで処置したマウスは肝脂肪症を発症し(4A)、肝臓脂肪を蓄積した(図9B)。FO、FOE、FO/MCT、およびFOE/MCTの場合は、正常な肝臓構造が維持され(図9A)、観察可能な肝臓脂肪は蓄積されなかった(図9B)。

【図9B】図9Aは、各処置群から得た肝臓のヘマトキシリン・エオシン解析を示し、図9Bは、同肝臓のオイルレッドO解析を示す。生理食塩水で処置したマウスおよびSOで処置したマウスは肝脂肪症を発症し(4A)、肝臓脂肪を蓄積した(図9B)。FO、FOE、FO/MCT、およびFOE/MCTの場合は、正常な肝臓構造が維持され(図9A)、観察可能な肝臓脂肪は蓄積されなかった(図9B)。

【図10】図10Aは、LPS処置マウスの血清TNFaを示し、図10BはLPS処置マウスの血清IL-6を示す。FOの場合と比べて、FOE処置群、FO/MCT処置群、およびFOE/MCT処置群において、どちらのマーカーも減少した。FOE群、FO/MCT群、およびFOE/MCT群の間で、有意な差はなかった。\*=単一因子ANOVAにより固形飼料と比べてp 0.003、#=単一因子ANOVAによりFOと比べてp 0.006。

【図11A】図11A～11Dは、PN食投与群と研究室で調製した脂肪エマルジョンを投与した群との間で、成長パラメーターの差はないことを実証する。図11A:PNレジメンの期間を通じて1日おきに体重をモニターしたところ、群間で成長に統計学的差はなかった。処置群当たりのマウス数N=10。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図11B】図11A～11Dは、PN食投与群と研究室で調製した脂肪エマルジョンを投与した群との間で、成長パラメーターの差はないことを実証する。19日間のPN食の後に安樂死させた時点の肝臓(図11B)、脾臓(図11C)、および右の腎臓(図11D)の質量。臓器質量に群間で差はなかった。処置群当たりのマウス数N=10。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図11C】図11A～11Dは、PN食投与群と研究室で調製した脂肪エマルジョンを投与した群との間で、成長パラメーターの差はないことを実証する。19日間のPN食の後に安樂死させた時点の肝臓(図11B)、脾臓(図11C)、および右の腎臓(図11D)の質量。臓器質量に群間で差はなかった。処置群当たりのマウス数N=10。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図11D】図11A～11Dは、PN食投与群と研究室で調製した脂肪エマルジョンを投与した群との間で、成長パラメーターの差はないことを実証する。19日間のPN食の後に安樂死させた時点の肝臓(図11B)、脾臓(図11C)、および右の腎臓(図11D)の質量。臓器質量に群間で差はなかった。処置群当たりのマウス数N=10。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

10

20

30

40

50

【図12A】図12A～12Cは、研究室で調製した脂肪エマルジョンの投与を伴う19日間のPN食の後の血清脂肪酸プロファイルを示す。図12A:テトラエンに対するトリエンの比率。脂肪供給源を与えたなかったマウス(PN+生理食塩水)のみが、EFADの生化学的基準を満たした。無作為に選択した、処置群当たりの試料数N=3。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図12B】図12A～12Cは、研究室で調製した脂肪エマルジョンの投与を伴う19日間のPN食の後の血清脂肪酸プロファイルを示す。成分オメガ6脂肪酸(図12B)およびオメガ3脂肪酸(図12C)の分布は、各群に投与された脂肪供給源を反映している。無作為に選択した、処置群当たりの試料数N=3。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図12C】図12A～12Cは、研究室で調製した脂肪エマルジョンの投与を伴う19日間のPN食の後の血清脂肪酸プロファイルを示す。成分オメガ6脂肪酸(図12B)およびオメガ3脂肪酸(図12C)の分布は、各群に投与された脂肪供給源を反映している。無作為に選択した、処置群当たりの試料数N=3。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。

【図13】図13A～13Bは、PN食を用いる静脈内脂肪供給源中のSOに-トコフェロールを添加した場合の、肝臓構造および肝臓脂肪蓄積の正常化を示す。代表的なヘマトキシリソ・エオシン(H&E、図13A)画像およびオイルレッドO(図13B)画像は、肝臓構造および肝臓脂肪蓄積をそれぞれ示している。処置群当たりのH&Eのための試料数N=10(図13A)、オイルレッドOのための代表的試料数n=3(図13B)。画像は、100倍の拡大である(10×の対物レンズ、10×の接眼レンズ)。

【図14】図14A～14Bは、ACC(図14A)およびPPAR(図14B)の発現が、脂肪を含まないPN食および脂肪供給源としてのSOを含むPN食によって調節不全になり、FOによって、および脂肪供給源としてのSOに-トコフェロールを添加することによって正常化されることを示す。遺伝子発現は、固形飼料給餌群と比べた差の倍率として測定する。処置群当たりの試料数N=5、それぞれ技術的デュプリケートで実施した。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。結果を、固形飼料食の対照と比べた差の倍率として示している。

【図15】図15A～15Cは、ACC(図15A)およびPPAR(図15B)のタンパク質レベルが、脂肪を含まないPN食および脂肪供給源としてのSOを含むPN食によって上方調節され、FOによって、および脂肪供給源としてのSOに-トコフェロールを添加することによって正常化されることを示す。タンパク質レベルは、各群を対応する-アクチンレベルに対して標準化し、固形飼料給餌群と比較することにより、比較定量した。ウェスタンプロットを、各群について生物学的デュプリケートで実施した。統計学的解析には一元配置ANOVAを用いた。図15C:ウェスタンプロット画像。

【図16】図16は、研究室で調製した脂肪エマルジョンが、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて類似の市販の静脈内脂肪エマルジョンの効果を再現することを実証する。脂肪を含まないPNは、19日の間に、脂肪症の発症をもたらす(左下のパネル)。研究室で調製したFO(PN+FO)および市販のFOエマルジョン(OM)は、PN食によって正常な肝臓構造を維持するのに対し、研究室で調製したSO(PN+SO)および市販のSO(IL)は維持しない。

【図17】図17は、実施例3で使用した脂肪エマルジョンの含有量および粒径についての表を示す。

【図18】図18は、実施例3で使用した脂肪エマルジョンの含有量および粒径についての表を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

詳細な説明

本明細書において説明するように、本発明者らは、a)魚油またはオメガ3脂肪酸およびb)中鎖トリグリセリド(MCT)の特定のエマルジョンが、栄養源として驚くべき有効性をもたらし、かつ例え炎症反応を予防および軽減するにあたって、これらの構成成分のいずれか単独よりもうまく機能することを発見した。さらに、本明細書において説明されるエマルジョンは、安定性が向上している。最後に、この領域の以前の研究とは対照的に、本明

10

20

30

40

50

細書において説明されるエマルジョンは、必須脂肪酸欠乏を誘発せず、患者のための脂肪栄養源に関する単独療法として使用され得る。これらの態様のいずれかの1つの局面において、a)約70:30～約30:70の比の、魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)約70:30～約30:70の比の、オメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含むエマルジョン組成物が、本明細書において説明される。

#### 【0022】

本明細書において使用される場合、用語「エマルジョン」は、1種の液体が液滴の形態で別の液体中に分散している、実質的に不混和性の少なくとも2種またはそれより多い液体を含む不均一な系を意味する。ほんの一例として、エマルジョンは、互いに良く混ざり分散している2種の不混和性液相を含む二相性の系であることができる。エマルジョンの例には、油中水型エマルジョン、水中油型エマルジョン、水中水型、水中油中水型エマルジョン、および油中水中油型エマルジョンが含まれるが、それらに限定されるわけではない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンの連続相は水である。

10

#### 【0023】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは水を含む。いくつかの態様において、エマルジョンは、水中の脂肪総量が約20重量/体積%のものである。いくつかの態様において、エマルジョンは、水中の脂肪総量が約10重量/体積%～水中の脂肪総量が約50重量/体積%のものである。いくつかの態様において、エマルジョンは、水中の脂肪総量が約20重量/体積%のものである。いくつかの態様において、エマルジョンは、水中の脂肪総量が10重量/体積%～水中の脂肪総量が50重量/体積%のものである。

20

#### 【0024】

通常、エマルジョンは、不安定な混合物であり、自然発生的には形成しない。したがって、連続相と分散相を混合し、エマルジョンを形成するために、エネルギーの投入が必要とされる。このエネルギーは、例えば、振盪、攪拌、ホモジナイズ、噴霧処理、高圧ポンピング、および超音波乳化処理によって加えることができる。本明細書において説明されるエマルジョン製剤は、本明細書において列挙する脂肪構成成分を任意のタンパク質、炭水化物、および/または他の付加的な添加物とブレンドし、かつその混合物をホモジナイズして安定なエマルジョンにすることによって、作製することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、MCTと魚油および/またはオメガ3脂肪酸のどちらも乳化され、例えば、混合されるだけでもなく、他方のエマルジョン中に混合されるのでもない。しかし、時間がたてば、形成されたエマルジョンは、別々の油層および水層という安定な状態に戻る傾向があり得る。したがって、いくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン製剤は、当技術分野において公知の任意の天然乳化剤または合成乳化剤をさらに含むことができる。乳化剤の添加により、エマルジョンの動態学的安定性を高めることができ、その結果、ひとたび形成されると、エマルジョンは長期保存の際に大きくは変化しなくなる。

30

#### 【0025】

本明細書において説明されるエマルジョンは、当業者に公知であるいくつかの従来の技術によって調製することができる。例えば、コア脂質は、1種または複数種の乳化剤および使用される場合には抗酸化剤と、最初に混合する。次いで、常時かき混ぜながらこの油層を水中にゆっくりと添加することにより、エマルジョンを調製する。重量オスモル濃度調整剤を使用する場合、油層と混合する前にそれを水に添加する。必要な場合には、この段階でpHを調整することができ、必要な場合には、最終体積を水で調整することができる。

40

#### 【0026】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、例えば、非経口投与用に製剤化する場合、エマルジョン中の油の小滴の粒径は、天然のカイロミクロンのサイズ範囲、すなわち0.4～1.0μmの範囲内であるか、またはそれ未満である。粒径がこれより大きい場合、この脂質粒子は、肝臓、脾臓および肺に沈着して、注入後に顕著な脂肪負荷をもたらし

50

得る(Rahui C.M., et al., Am. Hosp. Pharm. 1992, 49:2749- 2755)。粒径が小さい脂質はエマルジョン中により上手く分散し、より安全かつ安定なエマルジョンを生じる傾向がある。本発明に従ってエマルジョンを調製するために適切な条件の選択は、当技術分野の研究者の通常の技能の範囲内とみなされる。

【0027】

いくつかの態様において、エマルジョンは、安定なエマルジョンである。本明細書において使用される場合、用語「安定なエマルジョン」とは、妥当な保存期間および使用期間を含む長期間(例えば、少なくとも約1ヶ月またはそれより長く)、連続相(または液体担体)の全体にわたって液滴が実質的に均等に分散したままであるエマルジョンを意味する。例えば、液滴は、長期間(例えば、少なくとも約1ヶ月またはそれより長く)後に、凝集もせず沈降もしない。

10

【0028】

本明細書において使用される場合、用語「実質的に不混和性の」は、互いに接触している場合に均質な混合物を形成しない2種またはそれより多い液体を意味する。いくつかの態様において、2種またはそれより多い実質的に不混和性の液体が互いに接触している場合、これらの液体のうちの1つは、別の実質的に不混和性の液体への不完全な溶解性(例えば、わずか10%またはそれより小さい)を有し得る。本明細書において使用される用語「均質な混合物」は、混合物中のすべての構成成分および/または液体が单一の相中に容易に存在していることを意味する。例えば、構成成分および/または液体のうちの1種または複数種は、混合物を長期間(例えば、少なくとも約12時間、少なくとも約18時間、少なくとも約24時間、またはそれより長くを例として含む、少なくとも約6時間またはそれより長く)静置した場合でさえ、別々の相に分離しない。液滴および液体担体の混和性に関係する場合、用語「実質的に不混和性の」は、互いに接触している場合に均質な混合物を形成しない、液滴の少なくとも外表面を形成する液体(例えば、薄い液層)および液体担体を意味する。

20

【0029】

本明細書において使用される場合、かつ本明細書の全体を通して、用語「液滴」は、少なくとも2種またはそれより多い液体または液相を例として含む少なくとも1種の液体または少なくとも1種の液相を含む、有限体積の物質を意味する。液滴は、任意の寸法、外形、および/または形状のものであることができる。本明細書において説明する様々な局面のいくつかの態様において、液滴は、該液滴を含むエマルジョンを投与するのに使用される針の内径よりも小さい(例えば、少なくとも50%小さい)液滴サイズを有することができる。液滴は、指定された「サイズ」あたりに液滴サイズの分布を通常は示すことが、当業者には理解されると考えられる。別段の記載が無い限り、本明細書において使用される用語「液滴サイズ」または「サイズ」は、液体のサイズ分布の最頻値、すなわち、そのサイズ分布中に最も頻繁に存在する値を意味する。液滴サイズを測定するための方法は、当業者に公知であり、例えば、動的光散乱法(光子相關分光法、レーザー回折法、低角度レーザー光散乱(LALLS)、および中角度レーザー光散乱(MALLS)など)、光遮蔽法(コールター解析法など)、または他の技術(レオロジー、および光学顕微鏡法または電子顕微鏡法など)による。

30

【0030】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、約10～50%エマルジョンであり、これは、本明細書において説明されるMCTならびに魚油および/またはオメガ3脂肪酸が、製剤100mLにつき約10g～約50gの量で存在することを意味する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、約20～40%エマルジョンである。

40

【0031】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン製剤は、約10～50%エマルジョンである。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるMCTならびに魚油および/またはオメガ3脂肪酸は、製剤1mLにつき1.1

50

kcal～5kcalを提供する。

【0032】

本明細書において説明される完全経腸栄養または完全非経口栄養のための組成物はエマルジョンとして投与することが意図されるが、他の形態の製剤もまた、本発明に包含される。例えば、本明細書においてエマルジョンとして説明される組成物はまた、当業者に周知の手順を用いて、配合物中の全固体物の比率を高めることにより、粉末形態で作製することもできる。濃縮物または粉末は、水(水道水または脱イオン化滅菌水)を添加してエマルジョンを形成させることにより、栄養法用に再構成することができる。

【0033】

本明細書において使用される場合、「魚油」は、魚または魚組織に由来する油を意味する。魚油は市販されており、例えば、10%(wt/wt)魚油トリグリセリドを、日本のNissuiにNissin Flour Milling Co.から入手することができる。OMEGAVEN(Fresnius Kabi)は、本明細書において説明される方法および組成物において使用するのに適している。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油は、オメガ3脂肪酸、DHA、および/またはEPAを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油は、オメガ3脂肪酸含有量が多いことが公知である1種または複数種の冷水魚に由来する魚油であることができる。冷水魚の非限定的な例には、深海魚、サメ、サケ、タラ、サケ、カツオ、サバ、タイセイヨウサバ、ハドック、ニシン、マヒマヒ、メンハーデン、サバ、カラフトシシャモ、テラピア、サンマ、オキアミ、カタクチイワシ、ポラック、マス、ホワイトフィッシュ、マグロ、キュウリウオ、シャド、およびイワシが含まれ得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油は、1種または複数種の海水冷水魚に由来する魚油であることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油は、サメ、サケ、タラ、サケ、カツオ、サバ、タイセイヨウサバ、ハドック、ニシン、マヒマヒ、メンハーデン、サバ、カラフトシシャモ、テラピア、サンマ、オキアミ、カタクチイワシ、ポラック、マス、ホワイトフィッシュ、マグロ、キュウリウオ、シャド、イワシ、またはそれらの組合せに由来する魚油であることができる。

10

20

30

【0034】

本明細書において使用される場合、用語「脂肪酸」は、不飽和(例えば、一価不飽和、多価不飽和)脂肪酸または飽和脂肪酸などの脂肪酸、ならびにそれらの薬学的に許容されるエステル、遊離酸、モノグリセリド、ジグリセリド、およびトリグリセリド、誘導体、結合体、前駆体、塩、および混合物を含む。

30

【0035】

本明細書において使用される場合、用語「オメガ3脂肪酸」は、天然オメガ3脂肪酸および合成オメガ3脂肪酸、ならびにそれらの薬学的に許容されるエステル、遊離酸、トリグリセリド、誘導体、結合体、前駆体、塩、および混合物を含む。オメガ3脂肪酸には、限定されるわけではないが、ヘキサデカトリエン酸(HTA)、-リノレン酸(ALA)、ステアリドン酸(SDA)、エイコサトリエン酸(ETE)、エイコサテトラエン酸(ETA)、エイコサペンタエン酸(EPA)、ヘンエイコサペンタエン酸(HPA)、ドコサペンタエン酸(DPA)、クルパノドン酸、ドコサヘキサエン酸(DHA)、テトラコサペンタエン酸、およびテトラコサヘキサエン酸(ニシン酸)が含まれ得る。本明細書において説明されるエマルジョン中で使用するためのオメガ3脂肪酸は、高含有量のエイコサペンタエン酸(EPA)およびドコサヘキサエン酸(DHA)を有することができる。オメガ3脂肪酸は、海産物由来または合成由来であってよい。例えば、オメガ3脂肪酸の適切な供給源は、魚油またはアザラシ油である。適切な魚油供給源には、深海魚、サメ、サケ、タラ、サケ、カツオ、サバ、タイセイヨウサバ、ハドック、ニシン、マヒマヒ、メンハーデン、サバ、カラフトシシャモ、テラピア、サンマ、オキアミ、カタクチイワシ、ポラック、マス、ホワイトフィッシュ、マグロ、キュウリウオ、シャド、およびイワシ、ならびに本明細書の別の箇所で説明される冷水魚などが含まれる。

40

【0036】

本開示に記載の脂肪酸は、動物油および/または非動物油に由来してよい。本開示のいく

50

つかの態様において、脂肪酸は、海産物油、藻類油、植物ベースの油、および微生物油より選択される少なくとも1種の油に由来する。海産物油には、例えば、魚油、例えば、マグロ魚油、オキアミ油、および魚由来の脂質組成物が含まれる。植物ベースの油には、例えば、アマニ油、キャノーラ油、カラシ種子油、およびダイズ油が含まれる。微生物油には、例えばMartekによる製品が含まれる。本開示の少なくとも1つの態様において、脂肪酸は、魚油のような海産物油に由来する。少なくとも1つの態様において、海産物油は、精製された魚油である。

#### 【 0 0 3 7 】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンのオメガ3脂肪酸は、EPA、DHA、またはそれらの組合せを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンのオメガ3脂肪酸は、EPA、DHA、またはそれらの組合せから本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンのオメガ3脂肪酸は、EPA、DHA、またはそれらの組合せからなることができる。

10

#### 【 0 0 3 8 】

本開示に包含されるさらなるオメガ3脂肪酸(例えば、オメガ3を主とする油)およびそれらの混合物の例には、欧州薬局方のオメガ3トリグリセリド、またはオメガ3酸が豊富な魚油についてのモノグラフにおいて定義されるオメガ3脂肪酸が含まれ、これらはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。本開示に包含されるさらなるオメガ3脂肪酸(例えば、オメガ3を主とする油)およびそれらの混合物の例には、欧州薬局方のオメガ3トリグリセリド、欧州薬局方のオメガ3酸エチルエステル60、またはオメガ3酸が豊富な魚油についてのモノグラフにおいて定義されるオメガ3脂肪酸が含まれ、これらはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

#### 【 0 0 3 9 】

本開示に適したオメガ3脂肪酸の市販品の例は、限定されるわけではないが以下を含む、(例えば、トリグリセリド(TG)、エチルエステル(EE)、遊離脂肪酸型(FA)の形態で、かつ/またはリン脂質として存在することができる)様々な脂肪酸混合物を含む:Incromega(商標)オメガ3海産物油濃縮物、例えば、Incromega(商標)E1070、Incromega(商標)TG7010 SR、Incromega(商標)E7010 SR、Incromega(商標)TG6015、Incromega(商標)EPA500TG SR、Incromega(商標)E400200 SR、Incromega(商標)E4010、Incromega(商標)DHA700TG SR、Incromega(商標)DHA700E SR、Incromega(商標)DHA500 TG SR、Incromega(商標)TG3322 SR、Incromega(商標)E3322 SR、Incromega(商標)TG3322、Incromega(商標)E3322、Incromega(商標)Trio TG/EE(Croda International PLC, Yorkshire, England); EPAX6000FA、EPAX5000TG、EPAX4510TG、EPAX2050TG、EPAX7010EE、EPAX5500EE、EPAX5500TG、EPAX5000EE、EPAX5000TG、EPAX6000EE、EPAX6000TG、EPAX6000FA、EPAX6500EE、EPAX6500TG、EPAX4510TG、EPAX1050TG、EPAX2050TG、EPAX7010TG、EPAX7010EE、EPAX6015TG/EE、EPAX4020TG、およびEPAX4020EE(EPAXは、ノルウェーの会社であるAustevoll Seafood ASAの完全所有子会社である); MEG-3(登録商標)EP A/DHA魚油濃縮物(Ocean Nutrition Canada); DHA FNO 「Functional Nutritional Oil」およびDHA CL 「Clear Liquid」 (Lonza); Superba(商標)オキアミ油(Aker); Martek製のDHAを含むオメガ3製品; Neptuneオキアミ油(Neptune); Mollers製のタラ肝油製品および抗逆流魚油濃縮物(TG); Lysi製のオメガ3魚油; Seven Seas Triomega(登録商標)タラ肝油ブレンド(Seven Seas);ならびにFri Flytオメガ3(Vesterdalens)。

30

#### 【 0 0 4 0 】

本明細書において使用される魚油および/またはオメガ3脂肪酸は、例えば、非経口投与用の品質規格に合うように精製することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油および/またはオメガ3脂肪酸は、付加的なまたは別のオメガ3脂肪酸トリグリセリドで強化することができ、例えば、別の供給源に由来する精製または合成さ

40

50

れたオメガ3脂肪酸トリグリセリドを魚油および/またはオメガ3脂肪酸に添加して、オメガ3脂肪酸トリグリセリド含有量を増やすことができる。油を抽出および精製する方法は、当技術分野において周知である。これらの油を精製、抽出、または精製するために、これらの油が再エステル化を受ける必要はない。

【0041】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される魚油および/またはオメガ3脂肪酸は、0～100%のDHAおよび0～100%のEPAを含むことができる。

【0042】

本明細書において説明されるこれらの局面のいずれかのいくつかの態様において、例えば、この特定の手順の一環として、オメガ3脂肪酸および/または魚油を高度に精製する、例えば、オメガ3脂肪酸およびそれらのトリグリセリン化合物の初期含有量を超えるまで高度に濃縮することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、これらの組成物は、最低で95重量%、例えば、96重量%、97重量%、98重量%、またはそれより多い単量体トリグリセリドを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、これらの組成物は、1重量%未満の酸化トリグリセリド、0.2重量%未満の三量体トリグリセリドおよびオリゴマートリグリセリド、ならびに0.8重量%未満の二量体ポリグリセリド、ならびに1.5重量%未満の乳化できない、具体的には炭水化物およびステランを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油および/またはオメガ3脂肪酸中のエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサン酸の合計含有量は、約25重量%～50重量%である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、魚油および/またはオメガ3脂肪酸中のエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサン酸の合計含有量は、約35重量%～50重量%である。一般に、魚油は4000～12000ppmのコレステロール含有量を有することができるが通常であるが、(例えば、精製または濃縮後の)本明細書において使用される魚油および/またはオメガ3脂肪酸のコレステロール含有量は、2500ppm未満、例えば1500ppm未満を構成する。

10

20

30

40

【0043】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される組成物の魚油および/またはオメガ3脂肪酸は天然トリグリセリドであり、例えば、それらは蒸留もされておらず、再エステル化もされていない。トリグリセリドの蒸留および/または再エステル化は、(例えば、ミリスチン酸またはパルミトレイン酸を除去するために)当技術分野において公知の特定の組成物において利用されるが、そのような手順はトリグリセリドを変化させてそれらにおいて毒性を誘導し、かつジグリセリド、モノグリセリド、および遊離脂肪酸の存在を増やすことが、本明細書において具体的に予想される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される組成物のオメガ3脂肪酸はトリグリセリドであり、例えば、それらは別の箇所で説明するようなジグリセリドではない。例えば、本明細書において説明される組成物のオメガ3脂肪酸は、例えば、ジグリセリド+トリグリセリドの合計含有量に対する割合として、10%以下、9%以下、8%以下、7%以下、6%以下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下、もしくはそれより少ないジグリセリドを含むことができるか、またはジグリセリドを含まないことができる。

【0044】

本明細書において使用される場合、「中鎖トリグリセリド」または「MCT」は、炭素原子6～12個の鎖の脂肪酸を有するトリグリセリドを意味する。MCTは、飽和脂肪酸を有している。トリグリセリド(「TG」)(トリアシルグリセロールまたはトリアシルグリセリドとしても公知)は、グリセロールが3つの脂肪酸でエステル化されているグリセリドである。MCTは、例えば、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、およびカプロン酸より選択される脂肪酸を含むことができる。MCTは、果物または野菜などの植物、例えば、複数の植物に由来してよい。本開示で使用するためのMCTの説明は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる「Triglycerides, Medium Chain」(Triglycerida saturata

50

media)という題のEPモノグラフ0868(EP 0868, 2008)の要件を満たすことができる。

【0045】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、MCTは、90%またはそれより多いC8脂肪酸および/またはC10脂肪酸を含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、MCTは、95%またはそれより多いC8脂肪酸および/またはC10脂肪酸を含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、MCTは、30%～50%のC10脂肪酸および45%～65%のC8脂肪酸を含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、MCTは、約41%のC10脂肪酸および約54%のC8脂肪酸を含み得る。

【0046】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)70:30～30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)70:30～30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)約60:40～約30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)約60:40～約30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)60:40～30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)60:40～30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。

【0047】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)約50:50～約30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)約50:50～約30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)50:50～30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)50:50～30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。

【0048】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)約40:60～約60:40の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)約40:60～約60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)40:60～60:40の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)40:60～60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。

【0049】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)約50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)約50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、a)50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;またはb)50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含み得る。

【0050】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に約5% w/v～約50% w/vの総脂肪を含む。総脂肪とは、MCTおよび魚油/オメガ3脂肪酸をまとめて指すことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に約15% w/v～約25% w/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に約5% w/v～約50% w/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に約20% w/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に5% w/v～50% w

10

20

30

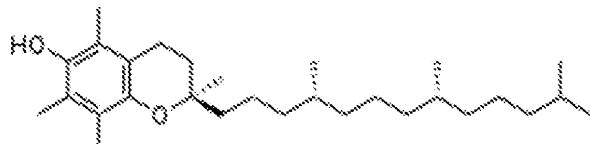
40

50

/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に15% w/v ~ 25% w/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に5% w/v ~ 50% w/vの総脂肪を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン組成物は、組成物の総体積中に20% w/vの総脂肪を含む。

【0051】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、-トコフェロールをさらに含むこともできる。本明細書において使用される場合、「-トコフェロール」は、その立体異性体のいずれかの、式Iの構造を有するビタミンEの形態を意味する。



式 I

【0052】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも50mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも75mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも100mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも120mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも150mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、-トコフェロールは、少なくとも200mg/Lのレベルでエマルジョン中に存在する。

【0053】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、少なくとも2:1の重量比で、-トコフェロールならびに他の形態のビタミンE(例えば、-トコフェロール、-トコフェロール、-トコフェロール、-トコトリエノール、-トコトリエノール、-トコトリエノール、および/または-トコトリエノール)を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、少なくとも3:1の重量比で-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、少なくとも5:1の重量比で-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、少なくとも10:1の重量比で-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、-トコフェロール以外の形態のビタミンEを含まない。

【0054】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、ならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸を含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、ならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸から本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、ならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸からなることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、オメガ3脂肪酸は、オメガ3を主とする脂肪酸油として提供される。

10

20

30

40

50

## 【0055】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc)乳化剤(例えば、卵リン脂質)リン脂質、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種を含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、ならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸から本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc)乳化剤(例えば、リン脂質および/または卵リン脂質)、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種を含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、ならびにb)魚油および/またはオメガ3脂肪酸からなることができる。

10

## 【0056】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc)乳化剤、リン脂質、卵リン脂質、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種を含むことができる。

## 【0057】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc) -トコフェロールを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc) -トコフェロールから本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、ならびにc) -トコフェロールからなることができる。

20

## 【0058】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c) -トコフェロール、ならびにd)乳化剤、リン脂質、卵リン脂質、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種を含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c) -トコフェロール、ならびにd)乳化剤(例えば、リン脂質または卵リン脂質)、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種から本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c) -トコフェロール、ならびにd)乳化剤(例えば、リン脂質および/または卵リン脂質)、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種からなることができる。

30

## 【0059】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムのうちの1種または複数種、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムのうちの1種または複数種、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールから本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムのうちの1種または複数種、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールからなることができる。

40

50

## 【0060】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールから本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびに任意でe) -トコフェロールおよび/またはフィトステロールからなることができる。

## 【0061】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびにe) -トコフェロールを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびにe) -トコフェロールから本質的になることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、a)MCT、b)魚油および/またはオメガ3脂肪酸、c)水、d)卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウム、ならびにe) -トコフェロールからなることができる。

## 【0062】

一定の条件下で、例えばTPNの間に、フィトステロール(例えば、-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、シトスタノール、およびカンペスタノール)は、炎症性状態およびPNALDを誘発し得る。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンはフィトステロールを含まない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンはオメガ6脂肪酸を含まない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、植物供給源から得られた脂肪および/または脂肪酸を含まない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、植物供給源から得られた長鎖脂肪酸を含まない。

## 【0063】

本明細書において説明するように、本発明の製剤は、フィトステロール(例えば、-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、シトスタノールおよびカンペスタノールオメガ)の負の副作用を相殺することができる。したがって、これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールおよび/またはオメガ6脂肪酸が、本明細書において説明されるエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールは、50mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、オメガ6脂肪酸は、50mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。

## 【0064】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールは、100mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、オメガ6脂肪酸は、100mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。

## 【0065】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、フィトステロールは、25mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、オメガ6脂肪酸は、25mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。

10

20

30

40

50

## 【0066】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、植物供給源から得られた脂肪および/または脂肪酸は、100mg/L未満、例えば、100mg/L未満、50mg/L未満、または25mg/L未満の濃度でエマルジョン中に存在する。

## 【0067】

本明細書において使用される場合、「フィトステロール」は、植物由来のステロールおよびスタノール、例えばフィトステロイドを意味する。フィトステロールの非限定的な例には、-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、シトスタノール、およびカンペスタノールが含まれ得る。

## 【0068】

本明細書において使用される場合、「オメガ6脂肪酸」は、天然オメガ6脂肪酸および合成オメガ6脂肪酸、ならびにそれらの薬学的に許容されるエステル、遊離酸、トリグリセリド、誘導体、結合体、前駆体、塩、および混合物を含む。オメガ6脂肪酸には、リノール酸(LA)、-リノレン酸(GLA)、カレンジン酸、エイコサジエン酸、ジホモ-リノレン酸(DGLA)、アラキドン酸(AA、ARA)、ドコサジエン酸、アドレン酸、オズボンド酸、テトラコサテトラエン酸、およびテトラコサペンタエン酸が含まれ得るが、それらに限定されるわけではない。オメガ6脂肪酸は、植物由来または合成由来であってよい。

10

## 【0069】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、アラキドン酸は、少なくとも900mg/Lの濃度で組成物中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、ドコサヘキサエン酸は、少なくとも13.4g/Lの濃度で組成物中に存在する。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エイコサペンタエン酸は、少なくとも11.6g/Lの濃度で組成物中に存在する。

20

## 【0070】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、乳化剤(例えば、リン脂質および/または卵リン脂質)、グリセリン、およびオレイン酸ナトリウムのうちの1種または複数種をさらに含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、10~30%のMCTならびに魚油および/またはオメガ3脂肪酸、0.5~2.5%の卵リン脂質、0.5~5.0%のグリセリン、ならびに0.005~0.1%のオレイン酸ナトリウムを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約20%のMCTならびに魚油および/またはオメガ3脂肪酸、約1.2%の卵リン脂質、約2.5%のグリセリン、ならびに約0.03%のオレイン酸ナトリウムを含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、20%のMCTならびに魚油および/またはオメガ3脂肪酸、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、ならびに0.03%のオレイン酸ナトリウムを含むことができる。

30

## 【0071】

本明細書において説明されるエマルジョンは、例えば、経口的に、非経口的に、または静脈内に投与することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、経口投与用に製剤化される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、非経口投与または静脈内投与用に製剤化される。

40

## 【0072】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される組成物は、各構成成分を別々のエマルジョンとして最初に乳化し、次いで、それらのエマルジョンを一緒に混合するかまたは組み合わせることによって、例えば、オメガ3脂肪酸油供給源(例えば、オメガ3脂肪酸を主とする油)および/または魚油を乳化し、MCTを乳化し、次いで、それら2種の乳化物を一緒に混合するかまたは組み合わせて、前述の組合せ中にMCTおよび魚油(またはオメガ3脂肪酸)の最終的な組み合わせエマルジョンを生じることに

50

より、調製することができる。

【0073】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、各エマルジョンは、高圧ホモジナイゼーションによって以下のように個別に製剤化することができる:最初に、卵リン脂質乳化剤を用いて脂質分散系を作り出し、それを高速剪断混合条件下で、加熱した(75~90 ) USPグレード無菌注射用水(SWFI)に添加する。温度を40~45 に低下させる。次いで、オレイン酸ナトリウムを添加し、剪断混合を3900~4000RPMで40分間継続した。次いで、加熱したSWFIを段階的に添加して、温度を40~45 で維持する。持続的に剪断混合しながら、グリセリンを添加する。これにより、12%の卵リン脂質、25%のグリセリン、および0.3%のオレイン酸ナトリウムから構成される分散系がもたらされる。次いで、未精製の分散系をホモジナイザーに移し、40~45 、9000psiで20サイクル、ホモジナイズし、0.45 μmのメンプランに通してろ過し、0.5N水酸化ナトリウム(NaOH)を用いてpHを10.4に調整する。すべての段階は、窒素雰囲気下で行う。エマルジョンを作製するために、3500~4500RPMで40~45分間の持続的剪断混合条件下で、油(例えば、魚油またはMCT油)を細く流し入れて分散物質に添加し、40~45 の温度を維持する。結果として生じる未精製のエマルジョンをホモジナイザーに移し、40~45 、5000psiで、エマルジョンを9サイクル以上、ホモジナイズする。0.1N NaOHを用いて、エマルジョンのpHを8.8より大きくなるように緩衝化する。作製工程のすべての段階は、窒素雰囲気下で行う。完成したエマルジョンをガラスセラムバイアルに等分し、上部の空間を窒素ガスで満たした後に封をする。すべてのバイアルを加熱滅菌した。これにより、各油タイプの最適なホモジナイゼーションが可能になって、非経口脂肪エマルジョンは、脂肪小滴平均サイズが500nmより小さく、5 μmより大きい脂肪小滴(PFAT5)の比率が0.05%以下であるとする米国薬局方(USP)の第729章の要件に対する適合性が向上する。

10

【0074】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される脂質エマルジョンは、2種またはそれより多いエマルジョンの混合物であることができる。このアプローチは、脂質の最初の乳化処理後に付加的な構成成分を混合物に容易に添加することを可能にするという利点を持ち得る。非限定的な例として、20%魚油エマルジョンを20%MCT油エマルジョンと組み合わせた50:50ブレンドに、製造時ではなく投与時に、患者に固有の状態に対して、例えば、付加的な魚油エマルジョン、トリグリセリド、DHA、リノール酸、または他の脂質を必要に応じてさらに添加することができる。これにより、処方者が患者に固有の状態に対して油のブレンドの用量を設定する際の自由度が高まり、完成したMCTおよび魚油(またはオメガ3脂肪酸)エマルジョン組合せについて多数の組合せを処方者が維持する必要性が小さくなる。

20

【0075】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される組成物は、最初に構成成分を一緒に混合し、次いで、混合物の乳化物を調製することにより、例えば、オメガ3脂肪酸油供給源および/または魚油をMCTと混合し、次いでその混合物を乳化することによって、調製することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される脂質エマルジョンは、脂質調製物の混合物の乳化物であることができる。

30

【0076】

本発明に従って脂質エマルジョンを調製するために、1種または複数種の乳化薬剤を、例えば、オメガ3脂肪酸またはMCTの供給源と混合することができる。通常、この目的のための乳化薬剤は、天然由来、合成由来、または半合成由来のリン脂質である。様々な適切な乳化薬剤が、当技術分野において公知である。適切な乳化薬剤の例には、卵ホスファチジルコリン、卵レシチン、L- -ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、DL- -ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、およびジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)が含まれるが、それらに限定されるわけではない。本発明によれば、乳化剤中のジグリセリドおよびモノグリセリドならびに遊離脂肪酸の合計濃度は、エマル

40

50

ジョンの合計油濃度への寄与を最小限にするために、低くあるべきである。本発明の1つの態様において、乳化剤中のトリグリセリドおよび遊離脂肪酸の合計濃度は、約3.5%より低い。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、レシチンは、脂質エマルジョン中の乳化薬剤として使用される。あるいは、卵レシチンを乳化薬剤として使用することができる。80~85%のホスファチジルコリンおよび約3.5%未満の脂肪を含む卵レシチンもまた、乳化薬剤として使用することができる。当業者は、他の構成成分が、乳化特性に悪影響を及ぼすことなく、卵レシチン中に存在し得ることを理解する。例えば、卵レシチンは、ホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリン、および他の天然構成成分のうちの1種または複数種を含んでよい。

10

#### 【0077】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約0.5%~約5%(w/v)の間の乳化薬剤を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約0.6%~約2%(w/v)の間の乳化薬剤を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約0.8%~約1.8%(w/v)の間の乳化薬剤を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約1.0%~約1.5%(w/v)の間の乳化薬剤を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約1.2%(w/v)の乳化薬剤を含む。

20

#### 【0078】

エマルジョン中のレシチンと油(例えば、MCT、魚油、および/またはオメガ3脂肪酸)の比は、エマルジョン内で形成される油小滴のサイズを決定する際に重要である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、レシチンと油の比は、約1:4~約1:20の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、比は、約1:4~約1:18の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、比は、約1:4~約1:15の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、比は、約1:4~約1:10の間である。

#### 【0079】

本発明による脂質エマルジョンは、エマルジョンの安定性、均一性、および/または他の特性を向上させる付加的な構成成分、例えば、抗酸化剤、キレート剤、重量オスモル濃度調整剤、緩衝剤、および中和剤などをさらに含むことができる。脂質エマルジョンに添加できる適切な抗酸化剤には、-トコフェロール(ビタミンE)およびトコトリエノールが含まれるが、それらに限定されるわけではない。当技術分野において公知であるように、トコトリエノールは、米ぬか油留出物から濃縮されたトコトリエノールおよびビタミンEエキスの天然ブレンドである。トコトリエノールは、ビタミンEと類似した構造を有しており、分子の炭素側鎖中に3つの二重結合を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンに添加される抗酸化剤の濃度は、典型的には、約0.002~約1.0%(w/v)の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン中で使用される抗酸化剤の濃度は、約0.02%~約0.5%(w/v)の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、トコトリエノールが、抗酸化剤としてエマルジョンに添加される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、約0.5%(w/v)のトコトリエノールが、エマルジョンに添加される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、ビタミンEが、抗酸化剤としてエマルジョンに添加される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、約0.02%(w/v)のビタミンEが、エマルジョンに添加される。

30

#### 【0080】

エマルジョンは、エマルジョンの安定性を向上させ酸化脂肪酸の形成を減少させるために、キレート剤をさらに含むことができる。適切なキレート剤は当技術分野において公知であり、一般に安全と認められている(GRAS)化合物であるものである。例にはEDTAが含

40

50

まれるが、それに限定されるわけではない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンはEDTAを含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンは、約 $1 \times 10^{-6}$ M～ $5 \times 10^{-5}$ Mの間の濃度のEDTAを含む。

#### 【0081】

重量オスモル濃度調整剤もまた、エマルジョンの重量オスモル濃度を非経口投与に適した値に調整するために、エマルジョン中に組み込むことができる。非経口エマルジョン中で使用するための重量オスモル濃度調整剤の量およびタイプは、当技術分野において周知である。適切な重量オスモル濃度調整剤の例は、グリセロールである。典型的には、重量オスモル濃度調整剤の濃度は、約2%～約5%(w/v)の範囲にわたる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンに添加される重量オスモル濃度調整剤の量は、約2%～約4%の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンに添加される重量オスモル濃度調整剤の量は、約2%～約3%の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、約2.25%(w/v)のグリセロールが、重量オスモル濃度調整剤としてエマルジョンに添加される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、最終製品は、中心静脈カテーテルまたは末梢静脈カテーテルのいずれかを介するエマルジョンの注入を可能にするために、等張性である。

#### 【0082】

エマルジョンのpHは、緩衝剤または中和剤を用いて調整することができる。生理的pHに近いか、またはそれを上回るpH値を有するエマルジョンは、脂肪酸過酸化を起こす傾向が低いことが示されている。当業者は、脂肪酸の負電荷を中和する適切な塩基を用いて、適切な緩衝剤を用いて、またはそれらの組合せによって、エマルジョンのpHを調整できることを理解するであろう。様々な塩基および緩衝剤が、本発明のエマルジョンと共に使用するのに適している。当業者は、エマルジョンへの緩衝剤の添加がエマルジョンの最終pHだけでなくイオン強度にも影響を及ぼすことを理解するであろう。高いイオン強度は、エマルジョンのゼータ電位(すなわち、油小滴の表面電荷)に悪い影響を与える場合があり、したがって、望ましくない。適切なpHをもたらすのに適切な緩衝強度の選択は、当技術分野の研究者の通常の技能の範囲内であるとみなされる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンのpHは、水酸化ナトリウムを用いて調整される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、pHは、緩衝剤を用いて調整される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、緩衝剤は、リン酸緩衝液である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、水酸化ナトリウムおよびリン酸緩衝液の両方が、エマルジョンに添加される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンの最終pHは、約6.0～約9.0の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンのpHは、約7.0～約8.5の間である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョンの最終pHは、約7.0～約8.0の間である。

#### 【0083】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、脂質エマルジョンは、エマルジョンの安定性を調整するための構成成分、例えば、アミノ酸、またはフルクトースもしくはグルコースなどの炭水化物をさらに含むことができる。脂質エマルジョンはまた、グルコース、アミノ酸、ビタミン、または他の非経口栄養補助物質などの栄養物を含むように製剤化することもできる。治療物質を組み込むように脂質エマルジョンを製剤化することも、本発明の範囲内であるとみなされる。本明細書において使用される「治療物質」とは、動物において1種または複数種の局部的効果または全身的効果をもたらす、生理学的または薬理学的に活性な物質を意味し、通常、薬物、栄養補助物質、ビタミン、ミネラル、酵素、ホルモン、タンパク質、ポリペプチド、抗原、および他の治療または診断に有用な化合物を意味する。

#### 【0084】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、エマルジョン組成物は、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明される方

10

20

30

40

50

法は、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物を投与する段階をさらに含むことができる。添加物は、疾患、例えば、対象がその治療を必要としている疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含むことができる。例えば、DHAは、囊胞性線維症の患者に治療的であり得、囊胞性線維症の対象に対する添加物は、DHAを、例えば、栄養バランスに必要である量より多く含むことができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、治療的である比または配合で脂肪酸を含む。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、ナノグラム～グラム/kg/日の用量で与えられる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、1ナノグラム～10グラム/kg/日の用量で与えられる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、1ナノグラム～100グラム/kg/日の用量で与えられる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、1ナノグラム～1000グラム/kg/日の用量で与えられる。

【0085】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、組成物は、a)添加物(例えば、付加的な脂肪酸)によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む。このアプローチ、すなわち、エマルジョンの混合物により、投与中または投与直前(例えば、患者の枕元で、または院内薬局で)混合物を調製することが可能になり、したがって、例えば、患者の症状、病理、および/または年齢に基づいて臨床的に適応されるように、患者のニーズに合わせて添加物の濃度および/または独自性をカスタマイズすることが可能になる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、添加物は、例えば、必要に応じて、付加的な魚油エマルジョン、トリグリセリド、DHA、リノール酸、または他の脂質であることができる。

【0086】

1つの局面において、本明細書において説明される組成物、例えば、本明細書において説明されるエマルジョンを含むキットが、本明細書において説明される。キットは、本明細書において説明される方法を実施するための単位として販売促進、流通、または販売される、少なくとも1つの試薬、例えばエマルジョンを含む任意の製造物(例えば、包装または容器)である。本明細書において説明されるキットは、本明細書において説明される方法を実施するのに有用な付加的な構成要素、例えば、所望の経路によって投与するのに有用な針、管などを任意で含むことができる。例として、キットは、本明細書において説明されるエマルジョンと共に使用するのに適した液体(例えば緩衝液)、および本明細書において説明される方法の実施について説明する取扱い説明資料などを含むことができる。キットは、本明細書において説明される組成物を送達するための器具および/または試薬をさらに含むこともできる。さらに、キットは、取扱い説明書リーフレットを含んでもよく、かつ/または投与量、投与頻度などに関する情報を提供してもよい。

【0087】

本発明のキットは、エマルジョンの使用および投与量に関する取扱い説明書一式、通常は書面による取扱い説明書と一緒にエマルジョンを含む、1つまたは複数の包装または容器を含む。キットは、投与前にエマルジョンに添加され得る1種または複数種の栄養物または治療的化合物もしくは診断用化合物を含む、付加的な容器をさらに含んでもよい。エマルジョンを含む包装は、単位用量または製薬大量包装の形態であってよい。用量は、各用量が例えばその週の1日に関連付けられているような様式で包装されてよい。生物学的製品の製造、使用、または販売を規制する行政機関によって規定された形式の注意書きが、キットに付随してもよく、この注意書きは、ヒト投与または動物投与のための製造、使用、または販売をその機関によって承認されていることを示す。

【0088】

容器の設計もまた、脂肪エマルジョンを製造する際の重要な因子である。例えば、エマルジョンをガラス中に包装する場合、実際のエマルジョンを添加する前にその容器を窒素で満たすことができる。エマルジョンの添加後、ガラス容器を再び窒素で満たして、ふたを付ける際のデッドスペースを取り除くことができる。このような窒素充填により、過酸

10

20

30

40

50

化物形成を防止する。製品をプラスチック中に包装する場合、気体を通さない、DEHPを含まない容器を使用することができる。容器はまた、脂質中の過酸化物形成ならびに容器から可塑剤が製品それ自体に染み入るのを最小限にするために、適切な上包を有することもできる。さらに、プラスチックを使用する場合、乾燥剤も、上包に空気漏れがあるかを指摘する指示薬と共に、袋中に含めることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、容器は、ラテックスフリーであることができる。

#### 【0089】

これらの態様のいずれかの1つの局面において、本明細書において説明されるエマルジョン製剤を、それを必要とする対象に投与する段階を含む方法が、本明細書において説明される。本明細書において説明されるエマルジョン製剤を必要とする対象は、(経口的もしくは非経口的に)補助栄養を必要とする対象、非経口栄養、完全非経口栄養を必要とする対象、炎症性状態の治療を必要とする対象、および/または炎症の治療もしくは軽減を必要とする対象であることができる。当業者は、本明細書において説明されるエマルジョン製剤を必要とする対象、例えば、炎症の症状ならびに/または(炎症および/もしくは肝臓疾患を含む)副作用のリスクが原因で従来のPNもしくはTPNを減少もしくは中止すべきであるという指標として解釈される症状を明示している、非経口栄養を受けている対象を、容易に特定することができる。このような対象および彼らの症状は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる *Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.)*, Taylor et al.において詳細に説明されている(ワールドワイドウェブの [journals.lww.com/ccmjournal/Fulltext/2016/02000/Guidelines\\_for\\_the\\_Provision\\_and\\_Assessment\\_of.20.aspx](http://journals.lww.com/ccmjournal/Fulltext/2016/02000/Guidelines_for_the_Provision_and_Assessment_of.20.aspx)で入手可能)。

#### 【0090】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン製剤を投与される患者は、肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窩状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、膵炎、急性膵炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態、からなる群より選択される状態の治療を必要とする対象であることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョン製剤を投与される患者は、肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窓状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、膵炎、急性膵炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態、からなる群より選択される状態を有しているか、または有していると診断される対象であることができる。

**【 0 0 9 1 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、肝疾患、例えば脂肪肝疾患に罹患しているか、またはその治療を必要としている。本明細書において使用される場合、「脂肪肝疾患」とは、脂肪(肝細胞)が肝臓中に過剰に蓄積し、慢性肝炎および肝硬変などの重度の疾患を引き起こし得る疾患を意味する。脂肪肝疾患の患者では、脂質、特に中性脂肪が、その量が生理学的に許容される範囲を超える程に、幹細胞中に蓄積する。生化学的観点から、脂肪肝を判定するための基準は、中性脂肪の重量が肝臓組織の湿重量の約10%(100mg/g湿重量)またはそれより多いことである。通常、脂肪肝疾患は、肝細胞損傷の指標となるアミノ基転移酵素ALTおよびASTなどの肝臓特異的酵素の血清レベルの上昇を観察することにより、ならびに疲労および肝臓領域の疼痛を含む症状の提示により、検出されるが、多くの場合、確定診断には生検を必要とする。

10

**【 0 0 9 2 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、PNに関連する肝疾患またはPNによって誘発される肝疾患に罹患しているか、またはその治療を必要としている。この疾患は、生化学的变化、すなわち、血清中アミノ基転移酵素、ビリルビン、およびアルカリホスファターゼの上昇と、組織学的变化、例えば、脂肪症、脂肪性肝炎、リピドーシス、胆汁うっ滞、線維症、および肝硬変の両方を含む。この疾患は進行性で、PN投与の過程とともに悪化する場合があり、小児集団の方が有病率が高いと思われる。この状態のさらなるリスク因子には、未熟児、低出生体重、長期使用、同時に行われる経口摂取の不足、敗血症、および多数の術式が含まれる。全般的にみて、PNによって誘発される肝臓病変の重症度は、患者の年齢と反比例の関係にあると考えられている。

20

**【 0 0 9 3 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、非経口投与(PN)によって投与される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、完全非経口投与(TPN)によって投与される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンが投与される対象は、非経口投与(PN)を必要としている。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンが投与される対象は、完全非経口投与(TPN)を必要としている。PN用途または治療的利益のために患者に脂質エマルジョンを投与する方法は、当技術分野において公知である。典型的には、エマルジョンは、適切な期間にわたって注入によって投与される。適切な投与量および投与;治療計画は、臨床分野の熟練者によって容易に決定され得る。

30

**【 0 0 9 4 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、いかなる経口栄養も投与および/または許可されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、脂肪および/または脂肪酸を含むいかなる経口栄養も投与および/または許可されない。

40

**【 0 0 9 5 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、いかなる他の非経口製剤も投与されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、脂肪および/または脂肪酸を含むいかなる他の非経口製剤も投与されない。

50

## 【0096】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、脂肪および/または脂肪酸の他のいかなる栄養供給源も投与および/または許可されない。

## 【0097】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、必須脂肪酸の他のいかなる栄養供給源も投与および/または許可されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、必須脂肪酸の他のいかなる経口栄養供給源も投与および/または許可されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、必須脂肪酸の他のいかなる非経口栄養供給源も投与および/または許可されない。

10

## 【0098】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、経口投与によって投与される。

20

## 【0099】

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、栄養バランスを維持するのに十分であると思われる他のいかなる栄養供給源も投与および/または許可されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、栄養バランスを維持するのに十分であると思われる他のいかなる経口/経腸栄養供給源も投与および/または許可されない。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを投与される対象は、彼らがエマルジョンを投与される治療期間(例えば、彼らがエマルジョンを投与される数日または数週の期間)の間、栄養バランスを維持するのに十分であると思われる他のいかなる非経口栄養供給源も投与および/または許可されない。本明細書において使用される場合、「栄養バランス」とは、適切な栄養の提供による、成長、発達の維持、および栄養不足がない状態を意味する。栄養バランスは、不都合な転帰をもたらし得るいかなる特定の栄養物も過剰に提供することなく、要件を満たす。

30

## 【0100】

本明細書の別の箇所で説明するように、本明細書において説明されるエマルジョンは、単独療法に適していることが実証されており、例えば、これらのエマルジョンは、単独療法として投与された場合に必須脂肪酸欠乏、炎症、および/または他の栄養不足を誘発しない。これは、他の点では投与(例えば非経口投与)に適している可能性があるすべての脂肪/脂肪酸組成物が共有しているわけではない特徴である。したがって、これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、対象が治療を必要としている状態に対する単独療法として投与される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、栄養的ニーズに向けた単独療法として投与され、例えば、有効な栄養価のない抗炎症剤を同時に投与してよいが、エマルジョンは、栄養的ニーズに関してはそれでもなお単独療法である。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、脂肪酸に関して単独療法として投与され、例えば、脂肪酸の他の供給源が、対象に投与されることもなく、対象によって摂取されることもない。

40

50

**【 0 1 0 1 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約0.5gの脂肪酸/kg/日～約5gの脂肪酸/kg/日の用量で投与することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、0.5gの脂肪酸/kg/日～5gの脂肪酸/kg/日の用量で投与することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約1gの脂肪酸/kg/日～約3gの脂肪酸/kg/日の用量で投与することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、1gの脂肪酸/kg/日～3gの脂肪酸/kg/日の用量で投与することができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンは、約2gの脂肪酸/kg/日の用量で投与することができる。

10

**【 0 1 0 2 】**

これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンの投与は、少なくとも3日間、例えば、3日間もしくはそれより長く、4日間もしくはそれより長く、5日間もしくはそれより長く、7日間もしくはそれより長く、2週間もしくはそれより長く、3週間もしくはそれより長く、4週間もしくはそれより長く、6週間もしくはそれより長く、2ヶ月間もしくはそれより長く、または3ヶ月間もしくはそれより長く、継続される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンの投与は、少なくとも3週間継続される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンの投与は、少なくとも6週間継続される。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書において説明されるエマルジョンの投与は、少なくとも3ヶ月間継続される。

20

**【 0 1 0 3 】**

本明細書において説明される組成物および方法は、本明細書において説明する状態を有しているか、または有していると診断される対象に施すことができる。いくつかの態様において、本明細書において説明される方法は、本明細書において説明される状態の症状を緩和するために、有効量の本明細書において説明される組成物、例えばエマルジョンを対象に投与する段階を含む。本明細書において使用される場合、「症状を緩和すること」とは、任意の状態またはその状態に関連している症状を改善することである。同等の未処置の対照と比較して、このような軽減の程度は、任意の標準技術によって測定した場合に、少なくとも5%、10%、20%、40%、50%、60%、80%、90%、95%、99%、またはそれより多い。本明細書において説明される組成物を対象に投与するための様々な手段が、当業者に公知である。このような方法には、経口投与、非経口投与、または静脈内投与が含まれ得るが、それらに限定されるわけではない。

30

**【 0 1 0 4 】**

本明細書において使用される用語「有効量」とは、疾患または障害の少なくとも1種または複数種の症状を緩和するのに必要とされる、本明細書において説明されるエマルジョンの量を意味し、かつ所望の効果をもたらすために十分な薬理学的組成物の量に関する。したがって、用語「治療的有効量」は、典型的な対象に投与された場合に特定の効果(例えば、栄養的効果または抗炎症性効果)をもたらすのに十分である、本明細書において説明されるエマルジョンの量を意味する。本明細書において様々な文脈で使用される有効量はまた、疾患の症状の発現を遅らせるのに、(例えば、限定されるわけではないが、疾患の症状の進行を遅くして)疾患症状の経過を変化させるのに、または疾患の症状を改善するのに十分な量も含む。したがって、通常、厳密な「有効量」を指定することは実際的ではない。しかし、任意の所与の場合において、適切な「有効量」は、ごく普通の実験のみを用いて、当業者が決定することができる。

40

**【 0 1 0 5 】**

有効量、毒性、および治療的有効性は、例えば、LD50(集団の50%に対して致死的な用量)およびED50(集団の50%において治療的に有効な用量)を決定するための、細胞培養物または実験動物における標準的な薬学的手順によって、明らかにすることができる。投与

50

量は、使用される剤形および利用される投与経路に応じて、変動し得る。毒性作用と治療的効果の用量比が治療指数であり、比LD50/ED50として表すことができる。より大きな治療指数を示す組成物および方法が好ましい。治療的に有効な用量は、細胞培養アッセイ法から最初に推定することができる。また、用量は、細胞培養または適切な動物モデルにおいて決定されるIC50(すなわち、症状の最大抑制の半分を達成するエマルジョンまたはその構成成分の濃度)を含む循環血漿中濃度範囲を実現するように、動物モデルにおいて公式化することができる。血漿中のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。任意の特定の投与量の効果は、適切なバイオアッセイ法、例えば、特に炎症または肝機能についてのアッセイ法によってモニターすることができる。投与量は、医師が決定することができ、必要に応じて、観察される治療効果に合うように調整することができる。

#### 【0106】

いくつかの態様において、本明細書において説明される技術は、本明細書において説明されるように本明細書において説明されるエマルジョンおよび任意で薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物に関する。いくつかの態様において、薬学的組成物の有効成分は、本明細書において説明されるように、本明細書において説明されるエマルジョンを含む。いくつかの態様において、薬学的組成物の有効成分は、本明細書において説明されるように、本明細書において説明されるエマルジョンから本質的になる。いくつかの態様において、薬学的組成物の有効成分は、本明細書において説明されるように、本明細書において説明されるエマルジョンからなる。薬学的に許容される担体および希釈剤には、生理食塩水、水性緩衝溶液、溶媒、および/または分散媒が含まれる。このような担体および希釈剤の使用は、当技術分野において周知である。薬学的に許容される担体の役割を果たすことができる材料のいくつかの非限定的例には、以下のものが含まれる:(1)ラクトース、グルコース、およびスクロースなどの糖;(2)トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなどのデンプン;(3)セルロースならびにその誘導体、例えば、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、微結晶性セルロース、および酢酸セルロース;(4)トラガント末;(5)麦芽;(6)ゼラチン;(7)ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびタルクなどの滑沢剤;(8)ココアバターおよび坐剤用ワックスなどの賦形剤;(9)プロピレングリコールのようなグリコール;(10)グリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコール(PEG)などのポリオール;(11)オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル;(12)寒天;(13)水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤;(14)アルギン酸;(15)パイロジエンフリー水;(16)等張性生理食塩水;(17)リンガー溶液;(18)エチルアルコール;(19)pH緩衝溶液;(20)ポリエステル、ポリカーボネート、および/またはポリ無水物;(21)ポリペプチドおよびアミノ酸などの增量剤;(22)血清アルブミン、HDL、およびLDLなどの血清成分;(23)エタノールのようなC<sub>2</sub>~C<sub>12</sub>アルコール;ならびに(24)薬学的製剤中で使用される他の非毒性で共存可能な物質。潤滑剤、着色剤、離型剤、被覆剤、甘味剤、矯味剤、芳香剤、保存剤、および抗酸化剤もまた、製剤中に存在することができる。「賦形剤」、「担体」、または「薬学的に許容される担体」などの用語は、本明細書において同義的に使用される。いくつかの態様において、担体は、本明細書において説明される活性物質の分解を阻害する。エマルジョンそれ自体が、水を含むことができることに留意されたい。エマルジョンは、非経口栄養溶液中で使用される他の構成成分(例えば、デキストロース、結晶アミノ酸、微量元素、総合ビタミン剤、電解質、およびミネラル)と共に投与することができる。

#### 【0107】

いくつかの態様において、本明細書において説明されるように本明細書において説明されるエマルジョンを含む薬学的組成物は、非経口投与形態であることができる。非経口剤形の投与は、典型的には、汚染菌に対抗する患者の天然防御を迂回するため、非経口剤形は、好ましくは、無菌であるか、または患者に投与する前に滅菌することができる。非経口剤形の例には、そのまま注射できる溶液、薬学的に許容される注射用ビヒクルにすぐに溶解または懸濁できる乾燥製品、そのまま注射できる懸濁液、およびエマルジョンが含ま

10

20

30

40

50

れるが、それらに限定されるわけではない。さらに、DUROS(登録商標)タイプの剤形および過量放出を非限定的に含む放出制御非経口剤形も、患者に投与するために調製することができる。

#### 【0108】

本明細書において説明されるエマルジョンを含む薬学的組成物はまた、例えば、個別の剤形として経口投与に適するように製剤化することもでき、この個別の剤形は、例えば、非限定的に、錠剤(非限定的に、切れ目をつけた錠剤もしくは被覆錠剤を含む)、丸剤、カプレット、カプセル剤、チュアブル錠、小袋入り散剤、カシェ剤、トローチ剤、ウェーハ、または液剤、例えば、非限定的に、水性液体、非水性液体、水中油型エマルジョン、もしくは油中水型エマルジョンに溶かされたシロップ剤、エリキシル剤、溶液剤、もしくは懸濁剤である。このような組成物は、開示される化合物の薬学的に許容される塩の所定量を含み、当業者に周知の製薬方法によって調製され得る。一般には、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams, and Wilkins, Philadelphia PA. (2005)を参照されたい。

10

#### 【0109】

本明細書において説明される方法は、例えば、組合せ療法の一環として、対象に第2の作用物質および/または治療薬を投与することをさらに含むことができる。非限定的な例として、本明細書において説明される方法に従って対象の疼痛または炎症を治療しようとする場合、疼痛または炎症に苦しんでいる対象にとって有益であることが公知である第2の作用物質および/または治療薬も対象に投与することができる。このような作用物質および/または治療薬の例には、非ステロイド系抗炎症薬(NSAID、例えば、アスピリン、イブプロフェン、またはナプロキセン);糖質コルチコイド(例えば、コルチゾール、プレドニゾン、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、ベタメタゾン、トリアムシンロン、およびベクロメタゾン)を含む、コルチコステロイド;メトトレキサート;スルファサラジン;レフルノミド;抗TNF薬剤;シクロホスファミド;炎症収束性薬物;ミコフェノール酸;またはアヘン剤(例えば、エンドルフィン、エンケファリン、およびダイノルフィン)、ステロイド、鎮痛薬、バルビツレート、オキシコドン、モルヒネ、ならびにリドカインなどが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

20

#### 【0110】

特定の態様において、本明細書において説明されるように本明細書において説明されるエマルジョンを含む組成物の有効な用量を、患者に一回投与することができる。特定の態様において、本明細書において説明されるエマルジョンを含む組成物の有効な用量を、繰り返し、例えば、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも1週、少なくとも2週、少なくとも3週、少なくとも4週、少なくとも6週、少なくとも2ヶ月、または少なくとも3ヶ月の期間、毎日または1日に数回、患者に投与することができる。

30

#### 【0111】

本明細書において説明される組成物の投与量は、医師が決定することができ、必要に応じて、観察される治療効果に合うように調整することができる。治療の継続期間および頻度に関して、治療がいつ治療的利益をもたらしているかを明らかにするために、および投与量を増やすか減らすか、投与頻度を増やすか減らすか、治療を中断するか、治療を再開するか、または治療計画に他の変更を加えるかを決定するために、熟練した臨床医が対象をモニターすることが典型的である。投与計画は、エマルジョンの構成成分に対する対象の感受性のようないくつかの臨床的因子に応じて、週に一度から毎日まで様々であってよい。活性化のために望ましい用量または量は、一度に投与するか、または分割用量、例えば2~4個の分割用量に分割し、ある期間にわたって、例えば、1日を通してまたは他の適切なスケジュールを通して適切な間隔で投与することができる。いくつかの態様において、投与は長期的、例えば、数週または数ヶ月の期間にわたって毎日の、1回または複数回の投与および/または治療であることができる。投与および/または治療のスケジュールの例は、1週、2週、3週、4週、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、もしくは6ヶ月、

40

50

またはそれより長い期間にわたる、毎日、毎日2回、毎日3回、または毎日4回もしくはそれより多い投与である。本明細書において説明されるエマルジョンを含む組成物は、ある期間にわたって、例えば、5分、10分、15分、20分、または25分の期間にわたって、投与することができる。

#### 【 0 1 1 2 】

本明細書において説明される方法に従って本明細書において説明されるエマルジョンを投与する際の投与量範囲は、例えば、エマルジョンの形態、その効能、および本明細書において説明される状態の症状、マーカー、または指標の減少が望まれる程度に応じて変わる。投与量は、有害な副作用を引き起こすほど多量であるべきではない。一般に、投与量は、年齢、状態、および患者の性別と共に変動し、当業者によって決定され得る。なんらかの合併症が発生したら、個々の医師が投与量を調整することもできる。

10

#### 【 0 1 1 3 】

例えば、本明細書において説明される状態の治療における、または本明細書において説明される応答を誘導するための、本明細書において説明されるエマルジョンの有効性は、熟練した臨床医によって明らかにされ得る。しかし、「有効な治療」という用語が本明細書において使用される場合、本明細書において説明される状態の徵候または症状のうちの1種または複数種が有益に変更されるか、他の臨床的に認められている症状が改善されるか、もしくはさらに良くなるか、または例えば、本明細書において説明される方法に従う治療の後に少なくとも10%、所望の応答が誘導される場合に、治療は「有効な治療」とみなされる。有効性は、例えば、本明細書において説明される方法に従って治療される状態のマーカー、指標、症状、および/もしくは発病率、または他の任意の適切な測定可能パラメーター、例えば、栄養バランス、炎症、および/もしくは肝機能を測定することによって評価することができる。有効性はまた、入院または医学的介入の必要に基づいて評価した場合に個体が悪化しないこと(すなわち、疾患の進行が停止される)に基づいて測定することができる。これらの指標を測定する方法は、当業者に公知であり、かつ/または本明細書において説明される。治療には、個体または動物(いくつかの非限定的な例にはヒトまたは動物が含まれる)における疾患の任意の治療が含まれ、(1)疾患を抑制すること、例えば、症状(例えば、疼痛もしくは炎症)の悪化を防ぐこと、または(2)疾患の重症度を和らげること、例えば、症状の軽減を引き起こすことを含む。ある疾患の治療のための有効量とは、それを必要とする対象に投与された場合に、その疾患に対して本明細書において該用語が定義されるような効果的治療をもたらすのに十分である量を意味する。ある作用物質の有効性は、状態の物理的指標または所望の応答を評価することによって判定することができる。このようなパラメーターのいずれか1つまたはパラメーターの任意の組合せを測定することによって投与および/または治療の有効性をモニターすることは、当業者の能力で十分に対応できる範囲である。有効性は、本明細書において説明される状態の動物モデルにおいて評価することができる。実験動物モデルを使用する場合、治療の有効性は、マーカーの統計学的に有意な変化が観察された場合に証明される。

20

#### 【 0 1 1 4 】

本明細書において説明されるエマルジョンの所与の用量の評価を可能にするインビトロアッセイ法および動物モデルアッセイ法が本明細書において提供される。非限定的な例として、ある用量のエマルジョンの効果は、そのエマルジョンを経口的または非経口的に投与し、次いで、血清脂肪酸レベル、炎症マーカー(例えば、循環血中のTNF-α および/またはIL-6)、ならびに肝臓、脾臓、および/または腎臓の組織像を評価することによって判断することができる。

30

#### 【 0 1 1 5 】

便宜上、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲で使用されるいくつかの用語および語句の意味を下記に提供する。別段の記載が無い限り、または文脈によって暗に示されない限り、次の用語および語句は、下記に提供する意味を含む。これらの定義は、個々の態様を説明するのを助けるために提供される。本発明の範囲は特許請求の範囲によってのみ限定されるため、これらの定義は、特許請求される本発明を限定することを意図し

40

50

ていない。他に規定されない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。ある用語の当技術分野における用法と本明細書において提供されるその定義の間に明らかな矛盾がある場合、本明細書内で提供される定義が優先されるものとする。

#### 【0116】

便宜上、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲において本文書で使用するいくつかの用語をここにまとめる。

#### 【0117】

用語「減少する」、「低減された(reduced)」、「低減(reduction)」、または「抑制する」はすべて、統計学的に有意な量の減少を意味するために本明細書において使用される。いくつかの態様において、「低減する(reduce)」、「低減」、もしくは「減少する」、または「抑制する」は、典型的には、参照レベル(例えば、所与の治療または作用物質がない場合)と比べて少なくとも10%の減少を意味し、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または99%超の、減少を含むことができる。本明細書において使用される場合、「低減」または「抑制」は、参照レベルと比べて全面的な抑制も低減も含まない。「全面的な抑制」は、参照レベルと比べて100%の抑制である。減少は、好ましくは、所与の障害を持たない個体の場合の正常範囲内として認められるレベルまで減ることであり得る。

10

#### 【0118】

用語「増加した(increased)」、「増加する(increase)」、「向上させる」、または「活性化する」はすべて、統計学的に有意な量の増加を意味するために本明細書において使用される。いくつかの態様において、用語「増加した」、「増加する」、「向上させる」、または「活性化する」は、参照レベルと比べて少なくとも10%の増加、例えば、少なくとも約20%の、もしくは少なくとも約30%の、もしくは少なくとも約40%の、もしくは少なくとも約50%の、もしくは少なくとも約60%の、もしくは少なくとも約70%の、もしくは少なくとも約80%の、もしくは少なくとも約90%の増加、もしくは最大100%および100%を含む増加、または参照レベルと比べて10~100%の間の任意の増加、あるいは参照レベルと比べて少なくとも約2倍、もしくは少なくとも約3倍、もしくは少なくとも約4倍、もしくは少なくとも約5倍、もしくは少なくとも約10倍の増加、または2倍~10倍もしくは10倍超の間の任意の増加を意味することができる。マーカーまたは症状についての文脈では、「増加(increase)」は、そのようなレベルの統計学的に有意な上昇を意味する。

20

#### 【0119】

本明細書において使用される場合、「対象」は、ヒトまたは動物を意味する。通常、動物は、靈長類、げっ歯動物、飼育された動物、または狩猟動物などの脊椎動物である。靈長類には、チンパンジー、カニクイザル、クモザル、およびマカク、例えばアカゲザルが含まれる。げっ歯動物には、マウス、ラット、ウッドチャック、フェレット、ウサギ、およびハムスターが含まれる。飼育された動物および狩猟動物には、雌ウシ、ウマ、ブタ、シカ、バイソン、水牛、ネコ科の種、例えばイエネコ、イヌ科の種、例えばイヌ、キツネ、オオカミ、トリの種、例えば、ニワトリ、エミュー、ダチョウ、および魚、例えば、マス、ナマズ、およびサケが含まれる。いくつかの態様において、対象は、哺乳動物、例えば靈長類、例えばヒトである。用語「個体」、「患者」、および「対象」は、本明細書において同義的に使用される。

30

#### 【0120】

好ましくは、対象は哺乳動物である。哺乳動物は、ヒト、非ヒト靈長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、または雌ウシであることができるが、これらの例に限定されるわけではない。ヒト以外の哺乳動物を、本明細書において説明される疾患および状態の動物

40

50

モデルになる対象として有利に使用することができる。対象は、雄または雌であることができる。

#### 【0121】

対象は、治療を必要とする状態またはそのような状態に関係する1種または複数種の合併症を患っているかまたは有すると以前に診断または特定されており、かつ任意で、その状態またはその状態に関係する1種または複数種の合併症に対する治療を既に受けている、対象であることができる。あるいは、対象はまた、その状態またはその状態に関係する1種または複数種の合併症を有していると以前に診断されていない対象であることもできる。例えば、対象は、その状態もしくはその状態に関係する1種もしくは複数種の合併症についての1つもしくは複数のリスク因子を示す対象、またはリスク因子を示さない対象であることができる。

10

#### 【0122】

特定の状態の治療を「必要とする対象」は、その状態を有するか、その状態を有すると診断されるか、またはその状態を発症するリスクがある、対象であることができる。

#### 【0123】

本明細書において使用される場合、用語「治療する(treat)」、「治療(treatment)」、「治療すること(treating)」、または「改善」は、目的が、疾患または障害に関連する状態、例えば、本明細書において説明される状態、疾患、または障害の進行または重症度を逆行させるか、緩和するか、改善するか、抑制するか、遅くするか、または止めることである、治療的処置を意味する。用語「治療すること」は、状態、疾患または障害の少なくとも1つの有害作用または症状を低減または緩和することを含む。一般に、1種または複数種の症状または臨床マーカーが低減される場合に、治療は「有効」である。あるいは、疾患の進行が減速または停止される場合に、治療は「有効」である。すなわち、「治療」は、治療が行われない場合に予想されるものと比べて、症状またはマーカーの改善だけでなく、症状の進行または悪化を止めること、または少なくとも遅くすることも含む。有益な臨床結果または所望の臨床結果には、検出可能であるか検出不可能であるかを問わず、1種もしくは複数種の症状の緩和、疾患の程度の低減、安定化された(すなわち、悪化していない)疾患状態、疾患進行の遅延もしくは緩徐化、疾患状態の改善もしくは一時的緩和、寛解(部分的であるか全体的であるかを問わない)、および/または死亡率の低下が含まれるが、それらに限定されるわけではない。疾患の「治療」という用語はまた、疾患の症状または副作用を除去することも含む(緩和療法を含む)。

20

#### 【0124】

本明細書において使用される場合、用語「薬学的組成物」は、薬学的に許容される担体、例えば、製薬業界でよく使用される担体と組み合わせた活性物質を意味する。語句「薬学的に許容される」は、本明細書において、適切な医学的判断の範囲内であり、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応も、および他の問題も困難な状況も伴うことなく、ヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに適し、妥当な便益/リスク比に相応しているような化合物、材料、組成物、および/または剤形を意味するために用いられる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、薬学的に許容される担体は、水以外の担体であることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、薬学的に許容される担体は、エマルジョン、ゲル、リポソーム、ナノ粒子、および/または軟膏であることができる。これらの局面のいずれかのいくつかの態様において、薬学的に許容される担体は、人工または設計された担体、例えば、天然には活性成分がその中に存在しないであろう担体であることができる。

30

#### 【0125】

本明細書において使用される場合、用語「投与すること」は、所望の部位に作用物質の少なくとも部分的な送達をもたらす方法または経路により、本明細書において開示される化合物を対象の体内に入れることを意味する。本明細書において開示される化合物を含む薬学的組成物は、対象に有効な治療をもたらす任意の適切な経路によって投与することができる。

40

50

## 【0126】

用語「統計学的に有意な」または「有意に」は、統計学的有意性を指し、通常、標準偏差の2倍(2SD)またはそれより大きな差を意味する。

## 【0127】

実施される例以外で、または特に指示が無い場合、本明細書において使用される成分の量または反応条件を表す数字はすべて、あらゆる場合において用語「約」で修飾されると理解されるべきである。百分率に関連して使用される場合の用語「約」は、±1%を意味することができる。

## 【0128】

本明細書において使用される場合、用語「含む」は、提示された定義済みの要素に加えて、他の要素もまた存在できることを意味する。「含む」の使用は、限定ではなく包含を示す。

10

## 【0129】

用語「からなる」は、その態様の説明で挙げられていない任意の要素を除く、本明細書において説明される組成物、方法、およびそれらの個々の構成要素を意味する。

## 【0130】

本明細書において使用される場合、用語「から本質的になる」は、所与の態様に必要とされるような要素を意味する。この用語は、本発明のその態様の基本的特徴および新規または機能的な特徴に実質的に影響を及ぼさない付加的な要素の存在を許容する。

## 【0131】

単数形の用語「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈において特に指示がない限り、複数の指示対象を含む。同様に、単語「または」は、文脈において特に指示がない限り、「および」を含むと意図される。本明細書において説明するものと同様または等価な方法および材料が、本開示の実践または試験において使用され得るが、適切な方法および材料を後述する。略語「例えば(e.g.)」は、ラテン語の例えば(exempli gratia)に由来し、非限定的な例を示すために本明細書において使用される。したがって、略語「e.g.」は、用語「例えば」と同義である。

20

## 【0132】

本明細書において開示される本発明の代替の要素または態様のグループ分けは、限定として解釈されるべきではない。各グループメンバーは、個々に、またはグループの他のメンバーもしくは本明細書において見出される他の要素との任意の組合せにおいて、言及され、特許請求され得る。グループの1つまたは複数のメンバーは、簡便性および/または特許性を理由として、グループ中に含めるか、またはグループから削除されてよい。任意のこのような包含または削除が行われる場合、本明細書は、添付の特許請求の範囲において使用されるすべてのマーカッシュ群の記載された説明を満たす、そのように改変されたグループを含むと本明細書においてみなされる。

30

## 【0133】

本明細書において他に規定されない限り、本出願に関連して使用される科学用語および技術用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味を有する。本発明は、本明細書において説明する特定の方法論、プロトコール、および試薬などに限定されず、したがって様々であり得ることを理解すべきである。本明細書において使用される専門用語は、特定の態様を説明する目的のためにすぎず、特許請求の範囲によってのみ定義される本発明の範囲を限定することは意図されない。免疫学および分子生物学の一般的用語の定義は、

40

50

**The Merck**

Manual of Diagnosis and Therapy, 19th Edition, published by Merck Sharp & Dohme Corp., 2011 (ISBN 978-0-911910-19-3); Robert S. Porter *et al.* (eds.), The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, published by Blackwell Science Ltd., 1999-2012 (ISBN 9783527600908); and Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, published by VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8); Immunology by Werner Luttmann, published by Elsevier, 2006; Janeway's Immunobiology, Kenneth Murphy, Allan Mowat, Casey Weaver (eds.), Taylor & Francis Limited, 2014 (ISBN 0815345305, 9780815345305); Lewin's Genes XI, published by Jones & Bartlett Publishers, 2014 (ISBN-1449659055); Michael Richard Green and Joseph Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4<sup>th</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (2012) (ISBN 1936113414); Davis *et al.*, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (2012) (ISBN 044460149X); Laboratory Methods in Enzymology: DNA, Jon Lorsch (ed.) Elsevier, 2013 (ISBN 0124199542); Current Protocols in Molecular Biology (CPMB), Frederick M. Ausubel (ed.), John Wiley and Sons, 2014 (ISBN 047150338X, 9780471503385), Current Protocols in Protein Science (CPPS), John E. Coligan (ed.), John Wiley and Sons, Inc., 2005; および Current Protocols in Immunology (CPI) (John E. Coligan, ADA M Kruisbeek, David H Margulies, Ethan M Shevach, Warren Strobe, (eds.) John Wiley and Sons, Inc., 2003 (ISBN 0471142735, 9780471142737))

において見出すことができ、これらの文献の内容は、その全体が参照により本明細書にすべて組み入れられる。

**【 0 1 3 4 】**

他の用語は、本発明の様々な局面の説明の範囲内で、本明細書において定義される。

**【 0 1 3 5 】**

本出願の全体を通して引用される、参照文献、発行済みの特許、公開された特許出願、および同時係属中の特許出願を含む、特許および他の刊行物はすべて、例えば、本明細書において説明される技術に関連して使用され得る、そのような刊行物で説明されている方法論を説明および開示するために、参照により本明細書に明確に組み入れられる。これらの刊行物は、本出願の出願日より前のそれらの開示を示すためだけに提供される。この点に関するいかなる事も、本発明者らが、以前の発明のせいで、または他のなんらかの理由のために、そのような開示に先行する権利がないことを認めるものとして解釈されるべきではない。日付に関する記載またはこれらの文献の内容に関する表現はすべて、出願者が入手可能な情報に基づいており、これらの文献の日付または内容の正確さに関して何ら認めるものではない。

**【 0 1 3 6 】**

本開示の態様の説明は、網羅的であることとも、開示されるまさにその形態に開示を限定することも、意図しない。本開示の具体的な態様および本開示のための実施例は、例示を目的として本明細書において説明されるが、関連技術分野の熟練者が認識するように、様々な同等の修正が、本開示の範囲内で可能である。例えば、方法の段階または機能が所与の順序で提示されるが、代替の態様において、異なる順序で機能を果たしてもよく、または実質的に同時に機能を果たしてもよい。本明細書において提供される本開示の教示は、適宜、他の手順または方法に適用することができる。本明細書において説明される様々な態様を組み合わせて、別の態様を提供することができる。本開示の局面を、上記の参照文

10

20

30

40

50

献および出願の組成物、機能、および概念を使用するために必要に応じて修正して、本開示のさらに別の態様を提供することができる。これらおよび他の変更は、詳細な説明に照らし合わせて、本開示に加えることができる。このような修正はすべて、添付の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【0137】

前述の態様のいずれかの特定の要素は、組み合わせるか、または他の態様の要素の代わりに用いることができる。さらに、本開示の特定の態様に関連している利点がこれらの態様との関連で説明されているが、他の態様も同様にそのような利点を示す場合があり、本開示の範囲に収まるためにすべての態様がそのような利点を必ずしも示す必要があるとは限らない。

10

【0138】

本明細書において説明される技術は、さらに限定するものとして決して解釈されるべきではない以下の実施例によってさらに例示される。

【0139】

本明細書において説明される技術のいくつかの態様は、番号を付けた以下のパラグラフのいずれかによって定義することができる。

1. 約30:70～約30:70の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約30:70～約30:70の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む、エマルジョン組成物。

2. 約40:60～約60:40の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約40:60～約60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

3. 約50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または約50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

4. 50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せ;または50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)の組合せを含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

5. -トコフェロールをさらに含む、パラグラフ1～4のいずれかのエマルジョン組成物。

6. -トコフェロールが少なくとも100mg/Lのレベルで存在する、パラグラフ1～5のいずれかのエマルジョン組成物。

7. -トコフェロールが少なくとも120mg/Lのレベルで存在する、パラグラフ1～6のいずれかのエマルジョン組成物。

8. 少なくとも2:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、パラグラフ1～7のいずれかのエマルジョン組成物。

9. 少なくとも10:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、パラグラフ1～8のいずれかのエマルジョン組成物。

10. -トコフェロール以外の形態のビタミンEを含まない、パラグラフ1～9のいずれかのエマルジョン組成物。

11. フィトステロールが前記組成物中に存在する、パラグラフ1～10のいずれかのエマルジョン組成物。

12. フィトステロールが50mg/L未満の濃度で前記組成物中に存在する、パラグラフ1～11のいずれかのエマルジョン組成物。

13. 経口投与用に製剤化された、パラグラフ1～12のいずれかのエマルジョン組成物。

14. 非経口投与用または静脈内投与用に製剤化された、パラグラフ1～12のいずれかのエマルジョン組成物。

15. 1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む、パラグラフ1～14のいずれかのエマルジョン組成物。

16. 添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、パラグラフ15のエマルジョン組成物。

20

30

40

50

17. パラグラフ1～16のいずれかのエマルジョン組成物を、それを必要とする対象に投与する段階を含む、方法。
18. 投与が非経口投与である、パラグラフ17の方法。
19. 投与が完全非経口投与である、パラグラフ17の方法。
20. 投与が経口投与である、パラグラフ17の方法。
21. 対象が非経口栄養を必要としている、パラグラフ17～20のいずれかの方法。
22. 対象が完全非経口栄養を必要としている、パラグラフ17～21のいずれかの方法。
23. 患者が経口栄養を受けない、パラグラフ17～22のいずれかの方法。
24. 患者が他の非経口製剤を受けない、パラグラフ17～23のいずれかの方法。
25. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である経口栄養を受けない、パラグラフ17～24のいずれかの方法。 10
26. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である他の非経口製剤を受けない、パラグラフ17～25のいずれかの方法。
27. 患者が、脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ17～26のいずれかの方法。
28. 患者が、脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ17～27のいずれかの方法。
29. 患者が、必須脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ17～28のいずれかの方法。
30. 患者が、必須脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ17～29のいずれかの方法。 20
31. パラグラフ1～14のいずれかのエマルジョン組成物が、単独療法として投与される、パラグラフ17～30のいずれかの方法。
32. パラグラフ1～14のいずれかのエマルジョン組成物が、栄養的ニーズに向けた単独療法として投与される、パラグラフ17～31のいずれかの方法。
33. 患者が、  
肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、炎症性感染症、炎症性状態、全身炎症反応症候群(SIRS)、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態 30
- からなる群より選択される状態の治療を必要とする患者である、  
パラグラフ17～32のいずれかの方法。
34. 投与される用量が、約0.5gの脂肪酸/kg/日～約5gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ17～33のいずれかの方法。
35. 投与される用量が、約1gの脂肪酸/kg/日～約3gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ17～34のいずれかの方法。
36. 投与される用量が、約2gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ17～35のいずれかの方法。 40
37. 1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物を投与する段階をさらに含む、パラグラフ17～36のいずれかの方法。
38. 添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、パラグラフ37の方法。
- 【0140】
- 本明細書において説明される技術のいくつかの態様は、番号を付けた以下のパラグラフのいずれかによって定義することができる。
1. 30:70～約70:30の間の(ただし両端を含まない)比の、魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または
- 約30:70～約70:30の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT) 50

を含む、エマルジョン組成物。

2. 約40:60～約60:40の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または

約40:60～約60:40の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)を含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

3. 約50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または

約50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)

を含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

4. 50:50の比の魚油および中鎖トリグリセリド(MCT);または

50:50の比のオメガ3脂肪酸および中鎖トリグリセリド(MCT)

を含む、パラグラフ1のエマルジョン組成物。

5. 水中油型エマルジョンである、パラグラフ1～4のいずれかのエマルジョン。

6. -トコフェロールをさらに含む、パラグラフ1～5のいずれかのエマルジョン組成物。

7. -トコフェロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり少なくとも100mgのレベルで存在する、パラグラフ1～6のいずれかのエマルジョン組成物。

8. -トコフェロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり少なくとも120mgのレベルで存在する、パラグラフ1～7のいずれかのエマルジョン組成物。

9. 少なくとも2:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、パラグラフ1～8のいずれかのエマルジョン組成物。

10. 少なくとも10:1の比の-トコフェロールおよび他の形態のビタミンEを含む、パラグラフ1～9のいずれかのエマルジョン組成物。

11. -トコフェロール以外の形態のビタミンEを含まない、パラグラフ1～10のいずれかのエマルジョン組成物。

12. フィトステロールが前記組成物中に存在する、パラグラフ1～11のいずれかのエマルジョン組成物。

13. フィトステロールが、前記エマルジョン組成物1リットル当たり50mg未満の濃度で該組成物中に存在する、パラグラフ1～12のいずれかのエマルジョン組成物。

14. アラキドン酸が、少なくとも900mg/Lの濃度で前記組成物中に存在する、パラグラフ1～13のいずれかのエマルジョン組成物。

15. ドコサヘキサエン酸が、少なくとも13.4g/Lの濃度で前記組成物中に存在する、パラグラフ1～14のいずれかのエマルジョン組成物。

16. エイコサペンタエン酸が、少なくとも11.6g/Lの前記組成物中に存在する、パラグラフ1～15のいずれかのエマルジョン組成物。

17. 魚油および/またはオメガ3脂肪酸油のエマルジョンとMCTのエマルジョンとの混合物を含む、パラグラフ1～16のいずれかのエマルジョン組成物。

18. 魚油および/またはオメガ3脂肪酸油とMCTとの混合物のエマルジョンを含む、パラグラフ1～17のいずれかのエマルジョン組成物。

19. 魚油および/またはオメガ3脂肪酸油が蒸留もされておらず、再エステル化もされていない、パラグラフ1～18のいずれかのエマルジョン組成物。

20. 魚油および/またはオメガ3脂肪酸油のトリグリセリドおよびジグリセリドを合わせた全体内容物が10%以下のジグリセリドを含む、パラグラフ1～19のいずれかのエマルジョン組成物。

21. 非経口投与または静脈内投与用に製剤化された、パラグラフ1～20のいずれかのエマルジョン組成物。

22. 1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む、パラグラフ1～21のいずれかのエマルジョン組成物。

23. 添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、パラグラフ22のエマルジョン組成物。

24. a)添加物によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む、パラグラフ1～23のいずれかのエマルジョン組成物。

10

20

30

40

50

25. 卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムのうちの1種または複数種をさらに含む、パラグラフ1～24のいずれかのエマルジョン組成物。
26. 卵リン脂質、グリセリン、オレイン酸ナトリウム、および水酸化ナトリウムをさらに含む、パラグラフ1～25のいずれかのエマルジョン組成物。
27. パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物を、それを必要とする対象に投与する段階を含む、方法。
28. 投与が非経口投与である、パラグラフ27の方法。
29. 投与が完全非経口投与である、パラグラフ28の方法。
30. 対象が、非経口栄養を必要としている、パラグラフ27～29のいずれかの方法。
31. 対象が、完全非経口栄養を必要としている、パラグラフ27～30のいずれかの方法。 10
32. 患者が経口栄養を受けない、パラグラフ27～31のいずれかの方法。
33. 患者が他の非経口製剤を受けない、パラグラフ27～32のいずれかの方法。
34. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である経口栄養を受けない、パラグラフ27～33のいずれかの方法。
35. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である他の非経口製剤を受けない、パラグラフ27～34のいずれかの方法。
36. 患者が、脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ27～35のいずれかの方法。
37. 患者が、脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ27～36のいずれかの方法。 20
38. 患者が、必須脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ27～37のいずれかの方法。
39. 患者が、必須脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ27～38のいずれかの方法。
40. パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物が単独療法として投与される、パラグラフ27～39のいずれかの方法。
41. パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物が、栄養的ニーズに向けた単独療法として投与される、パラグラフ27～40のいずれかの方法。
42. 患者が、  
肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、膵炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窓状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、膵炎、急性膵炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うっ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油、オメガ3を主とする脂肪酸油、および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態 30
- からなる群より選択される状態の治療を必要とする患者である、  
パラグラフ27～41のいずれかの方法。
43. 投与される用量が、約0.5gの脂肪酸/kg/日～約5gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ27～42のいずれかの方法。
44. 投与される用量が、約1gの脂肪酸/kg/日～約3gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ27～43のいずれかの方法。
45. 投与される用量が、約2gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ27～44のいずれかの方法。
46. 投与される用量が、約0.5gの魚油/kg/日～約5gの魚油/kg/日である、パラグラフ27～45のいずれかの方法。 40

47. 投与される用量が、約1gの魚油/kg/日～約3gの魚油/kg/日である、パラグラフ27～46のいずれかの方法。
48. 投与される用量が、約2gの魚油/kg/日である、パラグラフ27～47のいずれかの方法。
49. 1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物を投与する段階をさらに含む、パラグラフ27～48のいずれかの方法。
50. 添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、パラグラフ49の方法。
51. 前記エマルジョン組成物が、a)添加物によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む、パラグラフ27～50のいずれかの方法。 10
52. 混合物が、投与時にまたは投与場所で調製される、パラグラフ51の方法。
53. 臨床的に適応されるように混合物を調製する段階をさらに含む、パラグラフ52の方法。
54. 非経口栄養をそれを必要とする対象に提供することにおける使用のための、パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物。
55. 非経口投与によって投与される、パラグラフ54のエマルジョン組成物。
56. 完全非経口投与によって投与される、パラグラフ54または55のエマルジョン組成物。
57. 対象が完全非経口栄養を必要としている、パラグラフ54～56のいずれかのエマルジョン組成物。 20
58. 患者が経口栄養を受けない、パラグラフ54～57のいずれかのエマルジョン組成物。
59. 患者が他の非経口製剤を受けない、パラグラフ54～58のいずれかのエマルジョン組成物。
60. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である経口栄養を受けない、パラグラフ54～59のいずれかのエマルジョン組成物。
61. 患者が、栄養バランスを維持するのに十分である他の非経口製剤を受けない、パラグラフ54～60のいずれかのエマルジョン組成物。
62. 患者が、脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ54～61のいずれかのエマルジョン組成物。
63. 患者が、脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ54～62のいずれかのエマルジョン組成物。 30
64. 患者が、必須脂肪酸についての他の栄養供給源を受けない、パラグラフ54～63のいずれかのエマルジョン組成物。
65. 患者が、必須脂肪酸についての他の非経口栄養供給源を受けない、パラグラフ54～64のいずれかのエマルジョン組成物。
66. パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物が単独療法として投与される、パラグラフ54～65のいずれかのエマルジョン組成物。
67. パラグラフ1～26のいずれかのエマルジョン組成物が、栄養的ニーズに向けた単独療法として投与される、パラグラフ54～66のいずれかのエマルジョン組成物。
68. 患者が、
- 肝脂肪症、腸不全、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)、敗血症、囊胞性線維症、鎌状赤血球貧血、脾炎、炎症性腸疾患、クローン病、胆道閉鎖症、原発性硬化性胆管炎、炎症性感染症、炎症性状態、全身性炎症反応症候群(SIRS)、高トリグリセリド血症、重度の高トリグリセリド血症、重度の肝脂肪症、未熟児網膜症、急性尿細管壊死、IgA腎症、虚血再灌流傷害、外傷性脳損傷、多臓器不全、呼吸窮迫症候群、急性心筋梗塞、心筋梗塞、狭心症持続状態、喘息発作重積状態、てんかん重積状態、小窓状態、炎症性腸疾患、限局性腸炎、潰瘍性大腸炎、重度または消耗性の関節炎、関節炎、乾癬、重度の乾癬、熱傷、第3度熱傷、脾炎、急性脾炎、腸不全に関連する肝疾患(IFALD)、非経口栄養に関連する胆汁うつ滞(PNAC)、必須脂肪酸欠乏(EFAD)、ダイズアレルギーによってまたはMCTならびに魚油、オメガ3を主とする脂肪酸油、および/もしくはオメガ3脂肪酸以外の成分を含む脂 40
- 40

質エマルジョンに対するアレルギーによって複雑化した非経口栄養依存状態

からなる群より選択される状態の治療を必要とする患者である、

パラグラフ54～67のいずれかのエマルジョン組成物。

69. 投与される用量が、約0.5gの脂肪酸/kg/日～約5gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ54～68のいずれかのエマルジョン組成物。

70. 投与される用量が、約1gの脂肪酸/kg/日～約3gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ54～69のいずれかのエマルジョン組成物。

71. 投与される用量が、約2gの脂肪酸/kg/日である、パラグラフ54～70のいずれかのエマルジョン組成物。

72. 投与される用量が、約0.5gの魚油/kg/日～約5gの魚油/kg/日である、パラグラフ54～71のいずれかのエマルジョン組成物。 10

73. 投与される用量が、約1gの魚油/kg/日～約3gの魚油/kg/日である、パラグラフ54～72のいずれかのエマルジョン組成物。

74. 投与される用量が、約2gの魚油/kg/日である、パラグラフ54～73のいずれかのエマルジョン組成物。

75. 患者に、1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物がさらに投与される、パラグラフ54～74のいずれかのエマルジョン組成物。

76. 1種もしくは複数種の付加的な脂肪酸またはそれらの混合物である添加物をさらに含む、パラグラフ54～74のいずれかのエマルジョン組成物。

77. 添加物が、ある疾患に対して治療的である1種または複数種の脂肪酸を含む、パラグラフ54～76のいずれかのエマルジョン組成物。 20

78. a)添加物によるエマルジョンとb)i)魚油および/またはオメガ3脂肪酸ならびにii)MCTによる1種または複数種のエマルジョンとの混合物を含む、パラグラフ54～77のいずれかのエマルジョン組成物。

79. 混合物が、投与時にまたは投与場所で調製される、パラグラフ78のエマルジョン組成物。

80. 臨床的に適応されるように混合物を調製する段階をさらに含む、パラグラフ79のエマルジョン組成物。

#### 【実施例】

##### 【0141】

実施例1 非経口栄養に関連する肝損傷からの魚油を介した保護における -トコフェロールおよびフィトステロールの役割 30

非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)は、肝炎および胆汁うっ滞の発症を特徴とする、長期の非経口栄養(PN)依存のリスクである。ダイズ油ベースの静脈内脂質エマルジョンを非経口脂肪供給源として使用すると、PNALDを発症するリスクを増大させる場合があるが、PN依存性患者に対する静脈内脂肪は、必須脂肪酸欠乏のリスクがあるため、排除することはできない。静脈内魚油脂質エマルジョンは、十分な必須脂肪酸を与えつつ、PNALDを効果的に治療することができる。しかし、魚油が肝臓を保護するメカニズムは、完全には理解されていない。魚油とダイズ油との2つの重要な違いは、フィトステロール含有量および -トコフェロール含有量である。本明細書において説明するように、非経口栄養に関連する肝損傷のマウスモデルにおいて肝臓保護を調節する際のフィトステロールおよび -トコフェロールの役割を調査するために、静脈内脂質エマルジョンを研究室で調製した。

研究室で調製した脂質エマルジョンを利用したところ、ダイズ油エマルジョン(SO)の場合は、マウスにおいてPNによって誘発される肝臓脂肪症から保護できなかったのに対し、-トコフェロールを添加しておいたダイズ油のエマルジョン(SO+AT)の場合は、正常な肝臓構造が維持された。魚油エマルジョン(FO)およびフィトステロールが添加された魚油のエマルジョン(FO+P)のどちらの場合も、PNによって誘発される脂肪症から保護することができた。肝臓の重要な脂肪代謝遺伝子であるアセチルCoAカルボキシラーゼ(ACC)およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR )の発現は、SOを投与された動物において増大していたのに対し、SO+AT、FO、およびFO+Pを与えられた動物では、ACCレベ 40

50

ルおよびPPAR レベルは、固体飼料を給餌された対照と同等であった。この研究により、PNによって誘発される肝損傷における -トコフェロールの肝保護的役割、およびフィトステロールは魚油の肝保護的効果を弱めないと思われることが実証される。

#### 【0142】

非経口栄養(PN)とは、炭水化物、アミノ酸の形態のタンパク質、脂質、ビタミン、および微量元素を含む、多量栄養素および微量栄養素の静脈内投与である。PNは、腸の不十分な長さまたは腸の機能不全が原因となって経口的に摂取された十分な栄養物を吸収することができない、腸不全(IF)患者に対する治療法の不可欠な構成要素である。PNはIF患者にとって生命を維持するものであるが、静脈内への栄養の投与に付随する合併症がある。1つのこのような合併症は、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)の発症であり、これは、肝硬変および肝臓移植を必要とする末期肝疾患に進行し得る胆汁うっ滯性肝疾患を特徴とする。従来、患者がPNをやめ、腸の自律性を実現できた場合にしか、PNALDの進行を止めることはできなかった。さらに最近では、非経口脂肪供給源として魚油を使用することにより、動物モデルにおいてPNによって誘発される肝損傷を予防できること、およびPNALD患者において胆汁うっ滯を改善し、肝疾患の進行を止めるかまたは遅くできることが、実証されている。10

#### 【0143】

脂肪は、PNの重要な構成成分である。PN中の脂肪は、高エネルギーのカロリー供給源であり、オメガ3脂肪酸ファミリーおよびオメガ6脂肪酸ファミリーを含む、長鎖多価不飽和必須脂肪酸(EFA)の供給源もある。脂肪を含まないPNの投与は、カロリー要求量に応じるために過剰な炭水化物カロリーを必要とする。また、脂肪を含まないPNを与えることにより、必須脂肪酸欠乏(EFAD)が発症し、これは、皮膚炎、脱毛、発育遅延、および成長障害を特徴とし得る。PN依存性患者のEFADは、血清脂肪酸のプロファイリングおよびトリエンである非必須オメガ9脂肪酸ミード酸とテトラエンである必須オメガ6脂肪酸アラキドン酸との比の測定によって、生化学的にモニターすることができる。EFADの生化学的定義は、テトラエンに対するトリエンの比が0.2より大きいことである。20

#### 【0144】

PN中の脂肪は、リン脂質単層に取り囲まれた小滴として油が水性媒体内に分散している水中油型エマルジョンとして投与される。小滴は、塞栓事象を引き起こさずに血液循環中を移動するのに十分な小ささでなければならない。米国では、米国薬局方(USP)により、静脈内脂肪エマルジョンの小滴平均サイズは直径500nm未満であり、直径が5 μmより大きい脂肪小滴(PFAT5)の百分率は0.05%以下でなければならないという規格が定められている。投与される脂肪酸のタイプおよび比率は、エマルジョンを調製するのに使用される油の組成に基づいて決められる。油はまた、天然に存在する非トリグリセリド構成成分またはそのような油と共に配合されエマルジョン中に混合される添加物も含んでよい。30

#### 【0145】

ダイズ油ベースの脂肪エマルジョンは、最も一般的に使用される非経口脂肪供給源である。米国において、食品医薬品局(FDA)によって認可されている唯一の非経口脂肪供給源は、ダイズ油を含む。静脈内ダイズ油エマルジョン(SO)への曝露により、PNALDを発症するリスクが高まる場合がある。静脈内魚油エマルジョン(FO)は、動物モデルにおいて、PNによって誘発される肝損傷を予防することが示されている。FOは、PNALDを発症する患者に唯一の非経口脂肪供給源として投与される場合、胆汁うっ滯を改善し、肝疾患の進行を止めることができる。FOの肝保護的特性およびSOの肝毒性特性のメカニズムは完全には理解されていないが、肝臓に対するSOおよびFOの差のある作用の重要な要因である可能性があるいくつかの差異が、魚油とダイズ油の間にある。40

#### 【0146】

この研究の目的は、静脈内脂肪エマルジョンに -トコフェロールが肝保護的特性を与え、フィトステロールが肝毒性特性を与えるという仮説を検証することである。様々なレベルのフィトステロールおよび -トコフェロールを含むSOおよびFOは存在しないため、この仮説を検証するために市販の静脈内脂肪エマルジョンを利用することはできない。した50

がって、各エマルジョン中の -トコフェロールおよびフィトステロールの量の調節と油のタイプのみが変化する全エマルジョン構成成分の均一性との両方を可能にするエマルジョンを研究室で調製した。研究室で調製したSOおよびFOは安全であり、マウスで忍容性が良好であった。研究室で作製されたFOおよびSOは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、市販の対応物と同じ作用を肝臓に対して有する。本明細書において、魚油にフィトステロールを添加することによってFOが肝毒性になるかどうか、およびダイズ油に -トコフェロールを添加することによってSOが肝保護的になるかどうかを試験した。

#### 【0147】

##### 方法

10

魚油によって、マウスモデルにおいて、非経口栄養によって誘発される肝臓脂肪症から保護することができる。あるアプローチを用いて、魚油にフィトステロールを添加することによって静脈内魚油エマルジョンの肝保護的特性が弱まるかどうか、および/またはダイズ油に -トコフェロールを添加することによってダイズ油エマルジョンが肝保護的になるかどうかを調査した。

#### 【0148】

研究室で、ダイズ油(SO)、魚油(FO)、200mg/Lの -トコフェロールを添加したダイズ油(SO+AT)、または450mg/Lのフィトステロール(85% -シトステロール、15%スチグマステロール)を添加した魚油(FO+P)を含む、20%水中油型エマルジョンを調製した。エマルジョンは、高圧ホモジナイゼーションを用いて調製した。最終的なエマルジョンはすべて、20%の油、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、および0.03%のオレイン酸ナトリウムを含んだ。表2は、これらの油を用いて作製したエマルジョン、ならびに市販のFO(OM)およびSO(IL)中のフィトステロールレベルおよび -トコフェロールレベルを示す。SO、SO+AT、およびFO+Pを用いて調製したエマルジョン中のフィトステロールレベルは、同程度であった。FO、FO+P、およびSO+ATを用いて調製したエマルジョン中の -トコフェロールレベルは、同程度であった。すべてのエマルジョンの小滴平均サイズおよびPFAT5の解析は、USP規格に合った(表1)。

20

#### 【0149】

本明細書において提供される実施例において、使用した魚油は、約38%のEPA+DHAの混合物を含み、11.4%がDHAであり26.9%がEPAである(面積に基づく)Crystalpure 28/12 TG(商標)(製品番号30572344; BASF Pharma, Florham Park NJ)であった。別段の指定が無い限り、本明細書において説明する各実施例で使用するエマルジョンの各構成成分は、医薬品グレード、食品グレード、かつ/またはテクニカルグレードであった。

30

#### 【0150】

PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、エマルジョンを脂肪供給源として使用した。マウスを、標準的な固形飼料食、または患者に与えられるものと同等である、脂肪を含まないPNからなる経口液体食に割り当てた。PN給餌マウスには、生理食塩水(脂肪供給源なし)または調製したエマルジョンのうちの1種のいずれかを投与した(尾静脈注射によって静脈内に2.4g/kg/日)。各食餌を与えて19日後に、マウスを安楽死させた。組織学的検査(ヘマトキシリン・エオシンおよびオイルレッドO)、RT-PCRによる遺伝子発現解析、およびウェスタンプロットによるタンパク質発現解析のために、肝臓を採取した。右の腎臓および脾臓もまた、組織学的検査のために採取した。

40

#### 【0151】

##### 脂質エマルジョンの調製

エマルジョン用の材料:無菌注射用水(SWFI, Hospira, Lake Forest, IL)、卵リン脂質(Lipoid LLC, Newark, NJ)、オレイン酸ナトリウム(Lipoid LLC, Newark NJ)、およびグリセリン(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を用いて、分散系を調製した。使用した油は、USPグレードのダイズ油(Spectrum Chemicals, New Brunswick, NJ)およびCrystalPure EPA 28/12 TG魚油(BASF Ludwigshafen, Germany)であった。使用した添加物は、 -トコフェロール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、 -シトステロール(Sigma-

50

Aldrich, St. Louis, MO)、およびスチグマステロール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)であった。解析に使用した市販のエマルジョンには、Omegaven(Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany)およびIntralipid(Fresenius Kabi, Uppsala, Sweden)が含まれた。

#### 【0152】

FO+P油の準備:連続的攪拌条件下でCrystalPure EPA 28/12 TG魚油を加熱して、50～60 の間の温度を維持した。油1グラム当たりフィトステロール2.25mgの最終濃度になるようにフィトステロール(85% -シトステロール、15%スチグマステロール)を添加し、溶解するまで攪拌した。20%エマルジョンを調製するために使用する場合、算出されたフィトステロール濃度は、エマルジョン1リットル当たりフィトステロール450mgである。

10

#### 【0153】

SO+AT油の準備:連続的攪拌条件下でダイズ油を加熱して、50～60 の間の温度を維持した。油1グラム当たり -トコフェロール1mgの最終濃度になるように -トコフェロールを添加し、10～15分間、攪拌した。20%エマルジョンを調製するために使用する場合、算出された -トコフェロール含有量は、エマルジョン1リットル当たり -トコフェロール200mgである。

20

#### 【0154】

エマルジョン調製:以前に説明されているようにして(Fell et al. JPEN 2017 41:181-187)、高圧ホモジナイゼーションによってエマルジョンを調製した。別段の指定が無い限り、すべての段階は、40～45 で実施した。すべての工程は、窒素雰囲気下で行った。

20

#### 【0155】

凍結した卵リン脂質を、75～90 に加熱したSWFIに高速剪断混合条件下で添加し、その混合物を40～45 で平衡にさせることにより、最初に分散系を調製した。オレイン酸ナトリウムを添加し、剪断混合を40分間継続し(4000～4100RPM)、その後、グリセリンを添加した。未精製の分散系を9000psiで20サイクル、ホモジナイズした(Panda Plus(商標)ホモジナイザー、GEA Niro Saovi, Columbia, MD)。この分散系を0.45umのメンブランに通してろ過し、0.5N水酸化ナトリウムを用いてpHを10.4に調整した。最終的な分散系は、12%の卵リン脂質、25%のグリセリン、および0.3%のオレイン酸ナトリウムから構成された。1バッチ分の分散系は、1リットルのエマルジョンを5つ調製するのに十分であった。

30

#### 【0156】

高速剪断混合条件(3800～4200RPM、泡立ちを避けるように調整)下で適切な体積の分散系に油を添加し、混合を40～45分間継続し、かつ温度を40～45 で維持しつつ、SWFIによってゆっくりと最終体積を500mLにすることによって、エマルジョンを調製した。未精製のエマルジョンを5000psiで少なくとも9サイクル、ホモジナイズした。0.1N水酸化ナトリウムを用いて、最終的なエマルジョンのpHを9～9.5に調整し、上部の空間を窒素ガスで満たした20mL容セラムバイアルに入れ、容器に入れたエマルジョンをオートクレーブした。最終的なエマルジョン組成は、20%の油、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、および0.03%のオレイン酸ナトリウムであった。

40

#### 【0157】

すべてのエマルジョンを、USP 401 規格に従う小滴平均サイズおよびPFAT5の試験(Micro Measurements, Deerfield, IL)に供した。

#### 【0158】

エマルジョン中のフィトステロールレベルおよび -トコフェロールレベルの測定:フィトステロールレベルを測定するために、2mol/Lのエタノール性KOH溶液で試料をけん化し、n-ヘプタンを用いてステロールを抽出した。キャピラリーガスクロマトグラフィーカラムを用いて、抽出物を蒸発させ、分離した。検出は、フレームイオン化検出器を用いて行った。定量は、エピコプロスタノールを内部対照として用いて行った。 -トコフェロールレベルを、説明されているようにして(Xu et al. Eur. J. Lipid Sci Technol. 2015 1

50

17:15-22)測定した。ただし、内部較正を用いる代わりに外部較正を使用した。

#### 【 0 1 5 9 】

PNによって誘発される肝損傷のマウスモデル。動物実験はすべて、ボストン小児病院の施設内動物管理使用委員会によって承認された。6週齢のC57BL/6マウス(Jackson Labs, Bar Harbor, ME)に、標準的な固形飼料食、またはボストン小児病院で患者に投与されるPNから構成される液体食(20%デキストロース、2%アミノ酸、30mEq/Lナトリウム、20mEq/Lカリウム、15mEq/Lカルシウム、10mEq/Lマグネシウム、10mMol/Lホスファート、36.67mEq/Lクロリド、19.4mEq/Lアセタート、小児用マルチビタミン、小児用微量元素)のいずれかを投与した。PN給餌マウスに、静脈内(IV)生理食塩水、IV FO、IV FO+P、IV SO、またはIV SO+ATを投与した(尾静脈注射により、2.4g/kg/日)。19日後、二酸化炭素窒息によって動物を安樂死させた。血清採取のために血液を抜き取った。さらに解析するために、肝臓、脾臓、および右の腎臓を採取した。この実験を2回、異なるエマルジョンバッチを各実験に対して用いて、行った。1回目の実験では、処置群当たり5匹のマウスを使用し、2回目の実験では、処置群当たり10匹のマウスを使用した。

#### 【 0 1 6 0 】

臓器の処理および組織学的検査。脾臓、腎臓、および各肝臓の1つの部分を10%ホルマリン中に入れ、4℃で24時間保存し、次いで、70%エタノールに移した。検体をパラフィンに包埋し、肝臓の構造を評価するためのヘマトキシリン・エオシン(H&E)染色のために薄片に切った。各肝臓の2つ目の部分を最適切断温度(OCT)培地(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)に入れ、液体窒素中で凍結した。検体を凍結切片化し、オイルレッドO染色に供して、肝臓の脂肪蓄積を評価した。可視化には、Zeiss Axiophot(商標)顕微鏡(Oberkochen, Germany)を用いた。スライドは、処置群に関して盲検化された委員会認定の病理学者によって解析された。各肝臓の3つ目の部分を液体窒素中で急速冷凍し、遺伝子およびタンパク質の発現解析のために-80℃で保存した。

#### 【 0 1 6 1 】

血清脂肪酸のプロファイリング。以前に説明されているようにして、血清脂肪酸の抽出を実施した(Meisel et al. J Pediatr Surg 2011 46:666-673)。簡単に説明すると、内部標準として添加されたトリコサン酸を含む血清試料(試料1つにつき30μL)を、2:1の比のクロロホルムとメタノールを用いる抽出に供して、脂質画分を単離した。0.5Nメタノール性水酸化ナトリウム溶液を用いて試料をけん化した。100℃で30分間、14%BF3/メタノール中で試料をインキュベートした。工程は窒素ガス雰囲気下で実施して、酸化を最小限にした。ガス液体クロマトグラフィー(Hewlett Packard 6890(商標))を用いて解析を実施し、フレームイオン化検出器を用いて検出を行った。外部標準の脂肪酸メチルエステル(NuCheck Prep(商標), Elysian, MN)を用いて、試料の脂肪酸のピークを同定した。

#### 【 0 1 6 2 】

遺伝子発現解析。肝臓を切断して試料1つにつき25mgにし、製造業者の取扱い説明書に従ってQiagen AllPrep(商標)DNA/RNA/タンパク質キット(Gaithersburg, MD)を用いてRNAを抽出した。各反応について、200ng RNAと共に、Taqmanのプライマー(Invitrogen, Carlsbad, CA)および試薬(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)を製造業者の取扱い説明書に従って用いた。ABI One Step Plus(商標)サイクラーで、2段階サイクリングのRT-PCRプロトコールを用いた。50℃で30分および95℃で10分の最初の逆転写段階の後に、95℃で15秒および60℃で1分からなる增幅段階を行い、40回繰り返した。標的遺伝子発現をGAPDH遺伝子に対して標準化し、2- $\Delta\Delta$ Ct法を用いて、固形飼料を給餌された対照群と比較した。

#### 【 0 1 6 3 】

タンパク質解析。肝臓を切断して試料1つにつき25mgにし、Bullet Blender(商標)中でステンレス鋼ビーズを用いて、プロテアーゼ阻害剤およびホスファターゼ阻害剤を含む放射性免疫沈降アッセイ法(RIPA)緩衝液中でホモジナイズした。Bradfordアッセイ法(Bio-Rad, Hercules, CA)を用いてタンパク質濃度を測定した。4~12%のビストリスピリアクリルアミドゲル(Invitrogen, Carlsbad, CA)を用いて、試料1つにつき10mgのタン

10

20

30

40

50

パク質を分離した後に、ニトロセルロースメンプランに移した。メンプランを5%脱脂乳中で1時間プロッキングした。メンプランを1次抗体中で一晩、および二次抗体中で1時間、インキュベートした。ACC抗体およびPPAR抗体は、Cell Signaling technologies(Danvers, MA)製であった。-アクチン抗体は、Santa Cruz Biotechnologies(Paso Robles, CA)製であった。

#### 【0164】

##### 結果

エマルジョンはすべて、小滴平均サイズおよびPFAT5についてのUSP基準を満たした(表1)。FO、FO、およびSO+ATは、同様のレベルの-トコフェロールを有していたのに対し、SOはほとんど-トコフェロールを含まず、市販のSOエマルジョン(IL)と類似していた(表2)。フィトステロールレベルの解析では、SO、SO+AT、およびFO+Pは同様の量のフィトステロールを含んでいたのに対し、FOおよび市販の魚油エマルジョンOMは、ほとんどフィトステロールを含まない(表2)。

10

#### 【0165】

使用したエマルジョンのどれを投与しても、有害な臨床的影響はなく、動物はどのエマルジョンにも良好な忍容性を示した。処置群の間で成長パラメーターに差はなく、臓器の肉眼的評価でも群間で差がなかった(図1A～1B)。

#### 【0166】

不安定な静脈内エマルジョンは、脂肪小滴の沈着が原因で、臓器肥大、特に、脾臓および肝臓の拡大を招き得る。処置群のいずれでも、臓器肥大の証拠はなかった。肝臓(図1B)、脾臓(図1C)、および腎臓(図1D)の質量は、すべての処置群で類似していた。

20

#### 【0167】

各エマルジョンがEFADを予防でき、エマルジョン中で使用された油に対応して予想されるEFAの補完物を送達したことを確認するために、血清脂肪酸のプロファイリングを実施した。SOは、オメガ6脂肪酸が豊富であり、少しのオメガ3脂肪酸しか含まないのに対し、FOは、オメガ3脂肪酸が豊富であり、少量のオメガ6脂肪酸を含む。これらのEFAバランスは、それぞれの各処置群の動物の血清に反映されるはずである。いずれのエマルジョンも、生化学的必須脂肪酸の欠乏を防止した(図2A)。FOエマルジョンおよびFO+Pエマルジョンを用いた場合、SOエマルジョンおよびSO+ATエマルジョンと比べて、オメガ6脂肪酸のアラキドン酸の血清レベルは低く、オメガ3脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)およびドコサヘキサエン酸(DHA)の血清レベルは高いという結果になった(図2C)。

30

#### 【0168】

血清脂肪酸解析により、脂肪供給源を含まないPNを与えられたマウスのみが、テトラエンに対するトリエンの比が0.2より大きい場合と定義される必須脂肪酸欠乏を発症したことが示されている(図2A)。必須脂肪酸のバランスは、各群が与えられた脂肪供給源を反映していた。SOおよびSO+ATを与えられたマウスの方が、FO群およびFO+P群よりも血清中オメガ6脂肪酸のレベルが高く(図2B)、FOおよびFO+Pを与えられたマウスの方が、SOおよびSO+ATを与えられたマウスよりもオメガ3脂肪酸のレベルが高かった。

#### 【0169】

PNによって誘発される脂肪症の発症に対する各エマルジョンの効果を評価するために、肝臓の組織学的解析を実施した。SOは、PNによって誘発される脂肪症を予防しなかった(図3A)。しかし、SOに-トコフェロールを添加した結果(SO+AT)、PN給餌動物の正常な肝臓構造が維持された(図3A)。FOおよびFO+Pもまた、正常な肝臓構造を維持した(図3A)ことから、FOにフィトステロールを添加しても、FOが肝臓をPNによって誘発される脂肪症から保護する能力は弱まらないことが示された。肝臓の脂肪蓄積を評価するためのオイルレッドO解析では、SO+ATによって、SOと比べて肝臓の脂肪蓄積が減少した(図3B)ことから、-トコフェロールがSOに肝保護的特性を与えることが示された。FOおよびFO+Pのどちらの場合も肝臓脂肪蓄積が最小限であったことから、FOにフィトステロールを添加してもFOの肝保護的特性は弱まらないことがやはり示唆された(図3B)。組織学的には、生理食塩水を与えられたPN給餌群は、以前に示されているように、肝臓脂肪症を発症した。

40

50

SOエマルジョンは、肝臓をPNによって誘発される脂肪症から保護することができなかつた。FO、FO+P、およびSO+ATは、PNによって誘発される肝臓脂肪症を予防することができた(図3A～3B)。

#### 【0170】

PN食は肝脂肪症および肝臓脂肪の蓄積をもたらすため、これらの組織学的变化は肝臓脂肪ハンドリング遺伝子の発現の変化に関連している可能性がある、および魚油はそのような遺伝子の正常発現を維持し得るという仮説が立てられた。遺伝子発現解析では、肝臓脂肪ハンドリングの転写調節因子であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR $\gamma$ ) および新規の脂質生合成の律速段階を触媒するアセチルCoAカルボキシラーゼ2(ACC)が、脂肪を含まないPN食およびSOを与えられたPN給餌マウスでは増加していたが、FO、FO+P、およびSO+ATを与えられたマウスでは、固体飼料を給餌された対照のレベル近くまで正常化されていた(図4)。このパターンは、タンパク質発現レベルについても観察された(図5A～5B)。これにより、-トコフェロールの添加によってSOに肝保護的特性を与えることができる事が示される。FOおよびFO+Pの両方とも、ACC2およびPPAR $\gamma$ の正常化された遺伝子発現(図4)およびタンパク質発現(図5)をもたらしたことから、分子レベルで、フィトステロールを添加してもFOの肝保護的特性は弱まらないことが示された。

#### 【0171】

このマウスモデルは、PN+SO食に応答した脂肪症を組織学的に示す。しかし、臨床的相関物、すなわちPNに関連する肝疾患は、胆汁うっ滞を特徴とする。したがって、フィトステロールを含む静脈内脂肪は、胆汁の合成および輸送を調節する遺伝子の発現の混乱を引き起こす可能性があるという仮説が立てられる。本明細書において、以下のことが実証される:

- a フィトステロールを添加しても、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、魚油の肝保護的特性は弱まらない
- b -トコフェロールの添加は、組織学的にも分子レベルでも、ダイズ油に肝保護的特性を与えることから、-トコフェロールが魚油の肝保護的特性に寄与していることが示唆される。
- c 肝保護性が高い脂質エマルジョンを特徴付け、そのようなエマルジョンを肝毒性が高い脂質エマルジョンと区別する分子マーカー(PPAR $\gamma$ およびACC)が、同定された。

#### 【0172】

SHP(Small heterodimer partner)はFXRと共に働いて胆汁酸輸送を調節し、その発現は、フィトステロールの存在下では上方調節されるのに対し、-トコフェロールが存在すると正常化の方向に向かう。興味深いことに、FXRそれ自体は、フィトステロールの存在下で発現が下方調節される。MRP3(また、MRP2およびBSEP)は、FXRを介した遺伝子発現の標的である。MRP3はSOによって下方調節され、ATはMRP3レベルを正常化することができないが、FO+P投与によってMRP3発現は減少しないことから、フィトステロールがこの発現減少を調整しているとは思われない。典型的には、Cyp7a1は、胆汁うっ滞の状況では減少している。本明細書において説明する治療計画は、脂肪供給源にかかわらずPNを与えられているすべてのマウスで、減少している。PN+SOまたはPN+FOPを与えられているマウスでは、他の群と比べて発現がより著しく減少しており、-トコフェロールは、SO+ATを与えられている動物の発現をある程度正常化できると思われる。しかし、FOに添加されたフィトステロール(FOと比べてFO+P)は、Cyp7a1発現に悪影響を与えないと思われる。(一部データ不掲載)。

#### 【0173】

本研究において、-トコフェロールが添加されたダイズ油を用いて研究室で調製された静脈内脂質エマルジョンは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、正常な肝臓構造および2種の重要な肝臓脂肪ハンドリング遺伝子の正常な発現を維持することができた。添加された-トコフェロールを含まないダイズ油を用いて研究室で調製された静脈内脂質エマルジョンは、PNによって誘発される肝臓脂肪症および肝臓脂肪ハンドリングの調節不全を防ぐことができなかつた。この場合、-トコフェロールは、エマルジョン

10

20

30

40

50

を調製する前にダイズ油に添加した。

【0174】

また、この研究により、PN食によって調節不全になり、FOおよび $\alpha$ -トコフェロールを含むSOによって正常化され、ただしSOのみでは正常化されない遺伝子としてPPAR およびACC2が同定された。PPAR は、全身および肝臓の脂肪代謝ならびに炎症の転写調節因子である。興味深いことに、この研究では、PNによって誘発される肝損傷において、魚油にフィトステロールを添加することの肝毒性作用は見出されなかった。1つの考え得る結論は、ダイズ油中のフィトステロールは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおける、ダイズ油に関連した肝毒性作用に関与していないというものである。別の説明は、フィトステロールは肝毒性特性を有するが魚油の肝保護的特性に打ち勝つことはできないというものである。魚油中に豊富なオメガ3脂肪酸は、抗炎症性脂質メディエーターの前駆物質であり、魚油はまた、 $\alpha$ -トコフェロールも豊富である。これらの特性が、フィトステロールの存在によって抑えることができない肝保護を与える可能性がある。第3の考え得る説明は、フィトステロールに関連する肝毒性特性が生じるには、特定の濃度の特定のフィトステロール、またはフィトステロールの特定のバランスが必要とされるというものである。本研究において、魚油に添加されるフィトステロールの組成は、ダイズ油中に見出されるフィトステロールのタイプおよび量を模倣した。

【0175】

本研究において調製したどのエマルジョンも、EFADの発症を防いだ。従来、それぞれ親オメガ6脂肪酸および親オメガ3脂肪酸であるリノール酸(LA)および $\alpha$ -リノレン酸(ALA)は、EFAとみなされている。興味深いことに、本研究により、血清LAレベルおよび血清ALAレベルではなく、血清ARA、血清EPA、および血清DHAが、投与されるエマルジョンによって提供されるEFAのバランスを反映することが判明した。

【0176】

PNによって誘発される肝損傷のモデルにおいて $\alpha$ -トコフェロールがSOの肝毒性を低める能力を有することから、PNALDおよび他の同様の肝臓病変の臨床管理において $\alpha$ -トコフェロールが有用であり得ることが示される。

【0177】

(表1) エマルジョンのUSP 729 解析

エマルジョン	小滴平均サイズ (nm)	PFAT5 (%)
FO	238.7	0.032
FO+P	242.3	0.015
SO	252.8	0.009
SO+AT	252.8	0.013

【0178】

(表2) エマルジョンのフィトステロールおよび $\alpha$ -トコフェロールの含有量

エマルジョン	フィトステロール (mg/L)	$\alpha$ -トコフェロール (mg/L)
OM	10	193
IL	570	12
FO	46	133
FO+P	424	129
SO	461	7
SO+AT	446	164

【0179】

実施例2 PN依存性患者に対する抗炎症性利益を有する脂質エマルジョンの調製

長期および短期のPN依存性患者は、炎症性傷害に対して脆弱であり得る。長期のPN依

10

20

30

40

50

存性患者の場合、慢性的疾患状態およびPN送達のための中心静脈カテーテルの長期留置によって、炎症誘発性の状態が引き起こされる場合がある。短期のPN依存性患者もまた、炎症誘発性の問題をまぬがれず、このような患者には、外傷患者、術後の患者、および集中治療室を要する急性疾患患者が含まれる。

#### 【0180】

非経口脂質エマルジョンは、PN依存性患者の炎症反応を調整し、炎症状態に影響を及ぼすことができる。ダイズ油ベースの脂質エマルジョンは、炎症誘発性のオメガ6脂肪酸に富むのに対し、魚油脂質エマルジョンは、抗炎症性の高いオメガ3脂肪酸を豊富に含む。魚油脂質エマルジョンは、肝炎および胆汁うっ滞を特徴とする、患者の非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)を治療するのに使用されている。しかし、炎症反応に対する経口脂肪供給源の効果についての研究において、単独の脂肪供給源としての魚油は、ダイズ油よりも大きな抗炎症性利益をもたらさなかったことが実証されている。むしろ、魚油および中鎖トリグリセリド(MCT)の混合物が、MCTに対する魚油の比が低下するにつれ高まる抗炎症性利益をもたらした。

10

#### 【0181】

-トコフェロールは、脂肪酸の酸化的分解を防ぐための魚油の重要な構成成分であるが、-トコフェロールがPN依存性患者の炎症反応を弱める際に役割を果たしている可能性があるかどうかは依然として不明である。炎症反応を弱めることによって利益を得そうであるPN依存性患者の多くの集団があるため、本研究の目標は、十分な量の必須脂肪酸をなお提供しつつPN依存性集団に抗炎症性利益を与える静脈内脂質エマルジョンを開発することであった。

20

#### 【0182】

以下のことを調査した:

- 魚油およびMCTの混合エマルジョン組成物が、マウスモデルでのリポ多糖投与に応答して、魚油単独よりも大きな抗炎症性利益を与えるかどうか
- トコフェロールを追加された魚油を含むエマルジョン組成物が、魚油単独よりも大きな抗炎症性利益を与えるかどうか。

#### 【0183】

##### 方法

ダイズ油(SO)、魚油(FO)、またはMCTの20%水中油型エマルジョン組成物。SO、FO、および様々な比のFO:MCTを、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて脂肪供給源として試験し、リポ多糖(LPS)投与後の炎症マーカー腫瘍壞死因子 (TNF $\alpha$ )およびインターロイキン-6(IL-6)に対するそれらの効果を調べた。LPS投与は、Ling PR, Malikan A, Le HD, Puder M, Bistrian BR. Arachidonic acid and docosahexaenoic acid supplemented to an essential fatty acid-deficient diet alters the response to endotoxin in rats. Metabolism. 2012 Mar;61(3):395-406で説明されているようにして行った。

30

#### 【0184】

使用したMCTは、Nestle Health Science(Bridgewater, NJ; HCPCSコードB4155)から入手したMCT OIL(商標)であった。これは、ココナッツ油および/またはパーム核油から得た中鎖トリグリセリドを含む油エマルジョンである。脂肪酸は、C8より短いものが1%未満、C8(オクタン酸)が54%、C10(デカン酸)が41%、およびC10より長いものが5%未満である。

40

#### 【0185】

高圧ホモジナイゼーションを用いて、20%のSO、20%のFO、または20%のMCTのいずれかを含むエマルジョン組成物を調製した。エマルジョンはすべて、20%の油、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、および0.03%のオレイン酸ナトリウムを含んだ。

#### 【0186】

標準的な固形飼料または患者に与えられる脂肪を含まないPNからなる経口液体食のいずれかをマウスに投与した。PN給餌マウスには、生理食塩水(脂肪なし)、または次の脂肪工

50

マルジョン組成物:SO、FO、70%のFO:30%のMCT(70:30)、50%のFO:50%のMCT(50:50)、30%のFO:70%のMCT(70:30)のうちの1つを投与した(2.4g/kg/日、静脈内、尾静脈注射による)。19日間の処置後、動物に生理食塩水またはLPSのいずれかを投与した(150 μg/kg、腹腔内)。腹腔内注射後4時間目に、動物を安楽死させた。脂肪酸解析ならびにELISAによるTNFaおよびIL-6測定のために血清を採取した。組織学的解析のために、肝臓、脾臓、および右の腎臓を採取した。

#### 【0187】

SO、FO、500mg/Lの-トコフェロールを添加したFO(FOE)、またはMCTの100%純粋な油組成物から、20%水中油型エマルジョン組成物を調製した。次いで、様々な比の前記物質の混合物を、体積を用いて調製した。例えば、本明細書において説明するMCT:FOの50:50混合物100mLは、50mLの20%MCTエマルジョンおよび50mLの20%FOエマルジョンを混合することによって作る。したがって、本明細書の実施例で使用するエマルジョン組成物は、w/vに基づいて測定した場合、常に脂肪総量20%の組成物である。

10

#### 【0188】

SO、FO、FOE、ならびにFO:MCTおよびFOE:MCTの50%:50%混合物を、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて脂肪供給源として試験し、LPS投与後の炎症マーカーTNFaおよびIL-6に対するそれらの効果を調べた。

#### 【0189】

高圧ホモジナイゼーションを用いて、20%のSO、20%のFO、20%のFOE、または20%のMCTのいずれかを含むエマルジョンを調製した。エマルジョンはすべて、20%の油、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、および0.03%のオレイン酸ナトリウムを含んだ。エマルジョン組成物の残部は、水を含んだ。

20

#### 【0190】

標準的な固体飼料または患者に与えられる脂肪を含まないPNからなる経口液体食のいずれかをマウスに投与した。PN給餌マウスには、生理食塩水(脂肪なし)、または次の脂肪エマルジョン組成物:SO、FO、FOE、50%のFO:50%のMCT(FO/MCT)、または50%のFOE:50%のMCT(FOE/MCT)のうちの1つを投与した(2.4g/kg/日、静脈内、尾静脈注射による)。19日間の処置後、動物にLPSを投与した(150 μg/kg、腹腔内)。腹腔内注射後4時間目に、動物を安楽死させた。脂肪酸解析ならびにELISAによるTNFaおよびIL-6測定のために血清を採取した。組織学的解析のために、肝臓、脾臓、および右の腎臓を採取した。

30

#### 【0191】

#### 結果

エマルジョンはすべて、小滴平均サイズおよび直径0.5 μm未満の粒子(PFAT5)の百分率についての米国薬局方基準を満たした(表3)。

#### 【0192】

組織学的に、脂肪供給源を含まないPN、および脂肪供給源としてのSOと共にPNを給餌されたマウスは肝脂肪症(図6A)およびオイルレッドOにおける肝臓脂肪蓄積(図6B)を示したのに対し、FOまたは任意の比のFO:MCTで処置されたPN給餌マウスでは、肝臓構造が改善し(図6A)、肝臓脂肪蓄積は最小限であった(図6B)。FO、70:30、および50:50の場合は完全に正常な肝臓構造を示したのに対し、30:70の場合は、極微量の脂肪症を示した(図6B)。

40

#### 【0193】

MCTは必須脂肪酸を含まないため、FO:MCT混合物が必須脂肪酸欠乏(EFAD)を予防するのに十分な濃度の必須脂肪酸を含むかどうかを調べた。SO、FO、およびFO:MCTのあらゆる混合物が、生化学的EFADの発症を予防することができた(図7)。

#### 【0194】

血清TNFaおよびIL-6を評価する際、安楽死より前に生理食塩水を注射されたマウスでは、これらのマーカーのどちらも有意な上昇を示さなかった(図8Aおよび8B、左のグラフ)。LPSを注射されたマウスのうちで、LPS注射後のIL-6レベルおよびTNFaレベルのどちらも、MCTに対するFOの比が小さくなるのに伴って低下した(図8Aおよび8B、右のグラフ)

50

。50:50および30:70のどちらも、FOより有意に低レベルのIL-6を示し、30:70はまた、FOと比べて有意に低レベルのTNFaも示した。

【0195】

エマルジョンはすべて、小滴平均サイズおよびPFAT5についての米国薬局方基準を満たした(表4)。上記の結果に基づき、FOまたはFOEとMCTの混合エマルジョン組成物のために、本実施例では50% FO:50% MCTという比を利用することに決めた。50:50の群は、上記の結果において、正常な肝臓構造と抗炎症性利益との最も好ましいバランスをもたらした。

【0196】

前記の結果に鑑みて、40:60および60:40を含むその他のFO:MCT比を調べた。魚油が30%を上回ると、肝臓構造が改善し、魚油の百分率が最大で50%まで上がるのに伴い、さらなる改善が検出可能であった。30%またはそれより多いMCTを含めると、前述のように測定した抗炎症性プロファイルの向上がもたらされた。したがって、30%より多く70%より少ない魚油(およびしたがって、70%より少なく30%より多いMCT)を含むFOおよびMCTの組成物は、肝臓構造および抗炎症性活性に対する効果を驚くほど有利に結び付けることが本明細書において企図される。

10

【0197】

組織学的解析において、脂肪を含まないPNを給餌された動物およびSOを投与されたPNを給餌された動物は、肝臓脂肪症(図9A)およびオイルレッドO染色での肝臓脂肪蓄積(図9B)を示した。FO群、FOE群、FO/MCT群、およびFOE/MCT群は、固体飼料を給餌された対照と同様の正常な肝臓構造を維持し(図9A)、顕著な肝臓脂肪蓄積はなかった(図9B)。

20

【0198】

LPS投与後の血清TNFaおよび血清IL-6の評価において、FOE、FO/MCT、およびFOE/MCTの場合は、FOと比べて、両方のマーカーが有意に低いレベルであった。FOE群、FO/MCT群、およびFOE/MCT群の間で、これらのマーカーのいずれのレベルにも有意な差はなかった(図10A～10B)。

【0199】

本明細書において、以下のことが実証される:

a FOおよびMCTの混合エマルジョン組成物は、FO単独と比べて、炎症性刺激に応答する抗炎症性利益をもたらす。FOおよびMCTの50:50混合物により、肝臓保護の維持と炎症反応の抑制との最良のバランスが得られた。

30

b FOに-トコフェロールを添加すると、FO単独と比べて、炎症性刺激に応答する抗炎症性利益が高まる。

【0200】

(表3) 仮説1において試験したエマルジョンのUSP 729 解析

エマルジョン	小滴平均サイズ (nm)	PFAT5(%)
SO	273.3	0.025
FO	238.3	0.033
MCT	235.4	0.025

30

40

【0201】

(表4) 仮説2において試験したエマルジョンのUSP 729 解析

エマルジョン	小滴平均サイズ (nm)	PFAT5(%)
SO	273.3	0.025
FO	238.3	0.033
FOE	235.9	0.013
MCT	235.4	0.025

50

## 【0202】

## 実施例3

非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)は、非経口栄養(PN)依存のリスクである。非経口脂肪供給源としての静脈内ダイズ油は、PNALDを発症するリスクを高める場合があるのに対し、静脈内魚油は、肝疾患の進行を止めることができる。しかし、ダイズ油が肝臓に害を与え、魚油が肝臓を保護するメカニズムは不明である。ダイズ油と魚油を区別する2つの特性は、-トコフェロール含有量およびフィトステロール含有量である。ダイズ油はフィトステロールに富み-トコフェロールをほとんど含まないのに対し、魚油は豊富な-トコフェロールを含み、フィトステロールは微量レベルしか含まない。本研究は、静脈内脂肪エマルジョンに-トコフェロールが肝保護的特性を与える一方で、フィトステロールが肝毒性特性を与えるかどうかを調べることを狙いとした。研究室で調製した脂質エマルジョンを利用したところ、ダイズ油エマルジョン(SO)の場合は、マウスにおいてPNによって誘発される肝臓脂肪症から保護できなかったのに対し、-トコフェロールを添加しておいたダイズ油のエマルジョン組成物(SO+AT)の場合は、正常な肝臓構造が維持された。魚油エマルジョン(FO)およびフィトステロールが添加された魚油のエマルジョン(FO+P)のどちらの場合も、PNによって誘発される脂肪症から保護することができた。肝臓の重要な脂肪ハンドリング遺伝子であるアセチルCoAカルボキシラーゼ(ACC)およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR)の遺伝子発現およびタンパク質発現は、SOを投与された動物において増大していたのに対し、SO+AT、FO、およびFO+Pを与えられた動物では、ACCレベルおよびPPARレベルは、固形飼料を給餌された対照と同等であった。この研究により、PNによって誘発される肝損傷における-トコフェロールの肝保護的役割およびフィトステロールが魚油の肝保護的効果を弱めないと思われる事が実証される。

10

20

30

## 【0203】

非経口栄養(PN)とは、炭水化物、アミノ酸の形態のタンパク質、脂質、ビタミン、および微量元素を含む、多量栄養素および微量栄養素の静脈内投与である。PNは、腸の不十分な長さまたは腸の機能不全が原因となって経口的に摂取された十分な栄養物を吸収することができない、腸不全(IF)患者に対する治療法の不可欠な構成要素である。PNはIF患者にとって生命を維持するものであるが、静脈内への栄養の投与に付随する合併症がある。1つのこのような合併症は、非経口栄養に関連する肝疾患(PNALD)の発症であり、これは、肝硬変および肝臓移植を必要とする末期肝疾患に進行し得る胆汁うっ滞性肝疾患を特徴とする。従来、患者がPNをやめ、腸の自律性を実現できた場合にしか、PNALDの進行を止めることはできなかった。さらに最近では、非経口脂肪供給源として魚油を使用することにより、動物モデルにおいてPNによって誘発される肝損傷を予防できること(1、2)、およびPNALD患者において胆汁うっ滞を改善し、肝疾患の進行を止めることができることが、実証されている(3~9)。

## 【0204】

脂肪は、PNの重要な構成成分である。PN中の脂肪は、高エネルギーのカロリー供給源であり、オメガ3脂肪酸ファミリーおよびオメガ6脂肪酸ファミリーを含む、長鎖多価不飽和必須脂肪酸(EFA)の供給源である。脂肪を含まないPNの投与は、カロリー要求量に応じるために過剰な炭水化物カロリーを必要とする。また、脂肪を含まないPNを与えることにより、必須脂肪酸欠乏(EFAD)が発症し、これは、皮膚炎、脱毛、発育遅延、および成長障害を特徴とし得る(10、11)。PN依存性患者のEFADは、血清脂肪酸のプロファイリングおよびトリエンである非必須オメガ9脂肪酸ミード酸とテトラエンである必須オメガ6脂肪酸アラキドン酸との比の測定によって、生化学的にモニターすることができる。EFADの生化学的定義は、テトラエンに対するトリエンの比が0.2より大きいことである(12)。

40

## 【0205】

PN中の脂肪は、リン脂質単層に取り囲まれた小滴として油が水性媒体内に分散している水中油型エマルジョンとして投与される。小滴は、塞栓事象を引き起こさずに血液循環中を移動するのに十分な小ささでなければならない。米国では、米国薬局方(USP)により、静脈内脂肪エマルジョンの小滴平均サイズは直径500nm未満であり、直径が5μmより大

50

きい脂肪小滴(PFAT5)の百分率は0.05%以下でなければならないという規格が定められている(13、14)。投与される脂肪酸のタイプおよび比率は、エマルジョンを調製するのに使用される油の組成に基づいて決められる。油はまた、天然に存在する非トリグリセリド構成成分またはそのような油と共に配合されエマルジョン中に混合される添加物も含んでよい。

#### 【0206】

ダイズ油ベースの脂肪エマルジョンは、最も一般的に使用される非経口脂肪供給源である。米国において、食品医薬品局(FDA)によって認可されている唯一の非経口脂肪供給源は、ダイズ油を含む。静脈内ダイズ油エマルジョン(SO)への曝露により、PNALDを発症するリスクが高まる場合がある(15)。静脈内魚油エマルジョン(FO)は、動物モデルにおいて、PNによって誘発される肝損傷を予防する(1、2)ことが示されている。FOは、PNALDを発症する患者に唯一の非経口脂肪供給源として投与される場合、胆汁うっ滞を改善し、肝疾患の進行を止めることができる(3~9)。FOの肝保護的特性およびSOの肝毒性特性のメカニズムは完全には理解されていないが、肝臓に対するSOおよびFOの差のある作用の重要な要因である可能性があるいくつかの差異が、魚油とダイズ油の間にある。

10

#### 【0207】

ダイズ油は、天然に、植物ベースのステロール化合物であるフィトステロールが豊富である。市販のSOは、約450mg/Lのフィトステロールを含んでいる(16)。市販のSO中の主要なフィトステロールは -シトステロールであり、フィトステロール全体の約70%を構成する(16)。スチグマステロールおよびカンペステロールは、少なめではあるがかなりの量、それぞれ約15%および約13%で存在する(16)。インビトロの研究により、スチグマステロールが胆汁酸輸送体ファルセノイド(Farsenoid)X受容体(FXR)ならびにFXRによって調節される遺伝子の発現を阻害できることが実証されている(17)。PNALDのマウスモデルにおいて、スチグマステロールは、肝損傷を悪化させ、胆汁酸輸送体の活性化を抑制し、肝臓のマクロファージ活性化を引き起こすことができた(18)。SOとは対照的に、FOは微量のフィトステロールしか含まない。

20

#### 【0208】

-トコフェロールは、長鎖の多価不飽和オメガ3脂肪酸の酸化を防止するための魚油中の重要な添加物である抗酸化剤である。ダイズ油は、魚油よりも少ないオメガ3脂肪酸を含み、安定性を維持するために -トコフェロールの添加を必要としない。

30

#### 【0209】

静脈内脂肪エマルジョンに -トコフェロールが肝保護的特性を与える、フィトステロールが肝毒性特性を与えるという仮説の検証を、本明細書において説明する。様々なレベルのフィトステロールおよび -トコフェロールを含むSOおよびFOは存在しないため、この仮説を検証するために市販の静脈内脂肪エマルジョンを利用することはできない。したがって、各エマルジョン組成物中の -トコフェロールおよびフィトステロールの量の調節と油のタイプのみが変化する全エマルジョン構成成分の均一性との両方を可能にするエマルジョン組成物を研究室で調製した。研究室で調製したSOおよびFOは安全であり、マウスで忍容性が良好であった(22)。研究室で作製されたFOエマルジョンおよびSOエマルジョンは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、市販の対応物と同じ作用を肝臓に対して有する(図16)。本明細書において、魚油にフィトステロールを添加することによってFOが肝毒性になるかどうか、およびダイズ油に -トコフェロールを添加することによってSOが肝保護的になるかどうかを試験した。

40

#### 【0210】

##### 結果

エマルジョン解析。以下の油を用いて、20%の水中油型エマルジョンを作製した:魚油、フィトステロールを添加した魚油(FO+P)、ダイズ油、および -トコフェロールを添加したダイズ油(SO+AT)。図17は、これらの油を用いて作製したエマルジョン、ならびに市販のFO(OM)およびSO(IL)中のフィトステロールレベルおよび -トコフェロールレベルを示す。SO、SO+AT、およびFO+Pを用いて調製したエマルジョン中のフィトステロールレ

50

ベルは、同程度であった。FO、FO+P、およびSO+ATを用いて調製したエマルジョン中の-トコフェロールレベルは、同程度であった。すべてのエマルジョンの小滴平均サイズおよびPFAT5の解析は、USP規格に合った(図18)。

#### 【0211】

成長パラメーターおよび脂肪酸プロファイル。使用したエマルジョンのどれを投与しても、有害な臨床的影響はなく、動物はどのエマルジョンにも良好な容忍性を示した。処置群の間で成長に差はなかった(図11A)。

#### 【0212】

不安定な静脈内エマルジョンは、脂肪小滴の沈着が原因で、臓器肥大、特に、脾臓および肝臓の拡大を招き得る(23)。処置群のいずれでも、臓器肥大の証拠はなかった。肝臓(図11B)、脾臓(図11C)、および腎臓(図11D)の質量は、すべての処置群で類似していた。

10

#### 【0213】

各エマルジョンがEFADを予防でき、エマルジョン中で使用された油に対応して予想されるEFAの補完物を送達したことを確認するために、血清脂肪酸のプロファイリングを実施した。SOは、オメガ6脂肪酸が豊富であり、少しのオメガ3脂肪酸しか含まないのに対し、FOは、オメガ3脂肪酸が豊富であり、少量のオメガ6脂肪酸を含む。これらのEFAバランスは、それぞれの各処置群の動物の血清に反映されるはずである。いずれのエマルジョンも、生化学的必須脂肪酸の欠乏を防止した(図12A)。FOエマルジョンおよびFO+Pエマルジョンを用いた場合、SOエマルジョンおよびSO+ATエマルジョンと比べて、オメガ6脂肪酸のアラキドン酸の血清レベルは低く、オメガ3脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)およびドコサヘキサエン酸(DHA)の血清レベルは高いという結果になった(図12Bおよび12C)。

20

#### 【0214】

組織学的解析。PNによって誘発される脂肪症の発症に対する各エマルジョンの効果を評価するために、肝臓を組織学的解析に供した。SOは、PNによって誘発される脂肪症を予防できなかった(図13A、上列、中央のパネル)。しかし、SOに-トコフェロールを添加した結果(SO+AT)、PN給餌動物の正常な肝臓構造が維持された(図13A、下列、中央のパネル)。FOおよびFO+Pもまた、正常な肝臓構造を維持した(図13A、右のパネル)ことから、FOにフィトステロールを添加しても、FOが肝臓をPNによって誘発される脂肪症から保護する能力は弱まらないことが示された。肝臓の脂肪蓄積を評価するためのオイルレッドO解析では、SO+ATによって、SOと比べて肝臓の脂肪蓄積が減少した(図13B、中央のパネル)ことから、-トコフェロールがSOに肝保護的特性を与えることが示された。FOおよびFO+Pのどちらの場合も肝臓脂肪蓄積が最小限であったことから、FOにフィトステロールを添加してもFOの肝保護的特性は弱まらないことがやはり示された(図13B、右のパネル)。

30

#### 【0215】

##### 分子的評価

脂肪供給源としてSOを含むPN食を投与されたマウスが脂肪症を発症するのに対し、脂肪供給源としてFOを含むPN食を投与されたマウスは発症しないことから、SOおよびFOは肝臓脂肪ハンドリングに差次的に影響を及ぼし得るという仮説が立てられた。各エマルジョンが肝臓脂肪ハンドリングに与える影響を調べるために、重要な肝臓脂肪ハンドリング遺伝子の遺伝子発現解析を実施した。新規の脂質生合成の律速段階を触媒するアセチルCoAカルボキシラーゼ2(ACC2)および肝臓脂肪ハンドリングの転写調節因子であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR $\gamma$ )が、脂肪を含まないPN食の場合に発現が増大し、FOの提供によって発現は正常化するが、SOの提供によっては正常化しない遺伝子として同定された(図14Aおよび14B)。SO+ATが、遺伝子発現レベル(図14Aおよび14B)およびタンパク質発現レベル(図15A～15C)でのACC2およびPPAR $\gamma$ の正常化を示したことから、-トコフェロールの添加によってSOに肝保護的特性を与えられることが示された。FOおよびFO+Pの両方とも、ACC2およびPPAR $\gamma$ の正常化された遺伝子発現(図14Aおよび14B)およびタンパク質発現(図15A～15C)をもたらしたことから、分子レベルで、フ

40

50

イトステロールを添加してもFOの肝保護的特性は弱まらないことが示された。

#### 【0216】

##### 考察

血清フィトステロールレベルおよび肝臓フィトステロールレベルは、PNをやめていた患者よりも、ダイズ油を含む静脈内脂質エマルジョンを与えられているPN依存性患者の方が高いことが実証されている(24)。さらに、PN依存性患者において、血清フィトステロールレベルおよび肝臓フィトステロールレベルは、肝機能検査値ならびに組織学的解析での門脈炎症および肝線維症の程度と正の相関がある(24)。新生児のPN依存性患者において、血清フィトステロールレベルは、PNALDではない患者よりもPNALDの生化学的基準を満たす患者の方が高い(25)。インビトロ研究により、SO中の成分フィトステロールのうちの1つであるスチグマステロール(16)が、胆汁酸応答性核受容体FXRの標的遺伝子の発現を阻害することが示されている(17)。対照的に、Ngらは、PNALDの早期仔仔ブタモデルにおいて、市販のFOに -シトステロールおよびスチグマステロールを添加しても胆汁酸排出に悪影響はないことを発見した(21)。MutoらによってPNALDの新生仔期仔ブタモデルにおいて実施された研究により、市販のSOエマルジョンに -トコフェロールを添加した場合、胆汁の流れも、血清中胆汁酸濃度も、直接ビリルビンの血清レベルも改善しないことが示された(26)。

10

#### 【0217】

本研究において、 -トコフェロールが添加されたダイズ油を用いて研究室で調製された静脈内脂質エマルジョンは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおいて、正常な肝臓構造および2種の重要な肝臓脂肪ハンドリング遺伝子の正常な発現を維持することができた。添加された -トコフェロールを含まないダイズ油を用いて研究室で調製された静脈内脂質エマルジョンは、PNによって誘発される肝臓脂肪症および肝臓脂肪ハンドリングの調節不全を防ぐことができなかった。これらの結果は、PNによって誘発される肝損傷の異なるモデルにおいて、研究室で調製された静脈内脂質エマルジョンを利用するとはいえ、Ngらの知見と合致している。静脈内脂質エマルジョンを研究室で調製することにより、本研究で使用するすべてのエマルジョンが厳密に同じ方法で作製されるよう徹底するために調製プロトコールを管理すること、ならびに同じ機器および成分を使用することが可能になった。本実験では、エマルジョンを調製する前に、 -トコフェロールをダイズ油に添加した。これは、市販のFOエマルジョンを調製するための工程を再現するものであり、市販のエマルジョン中に -トコフェロールが組み込まれる際の方法である。

20

#### 【0218】

また、この研究により、PN食によって調節不全になり、FOおよび -トコフェロールを含むSOによって正常化され、ただしSOのみでは正常化されない遺伝子としてPPAR およびACC2が同定された。PPAR は、全身および肝臓の脂肪ハンドリングならびに炎症の転写調節因子である。ACCは、新規の脂質生合成の律速段階を触媒する酵素を表す記号である。PPAR アゴニストであるロシグリタゾンが、メチオニンおよびコリンを欠く食餌を与えられた非アルコール性脂肪性肝炎のマウスモデルにおいて、肝炎および関連するバイオマーカーを低減できることが実証されている(27)。低密度リポタンパク質受容体を欠くマウスでは、ロシグリタゾンが、高脂肪食によって誘発された肝臓脂肪症を改善することが示されている(28)。他の研究により、非アルコール性脂肪性肝疾患のマウスモデルにおける、PPAR 発現の増大と肝臓脂肪症の発症および肝臓トリグリセリドの蓄積との正の相関が報告されている(29～31)。肝臓トリグリセリドが蓄積しているSTAT5ノックアウトマウスもまた、PPAR を弱めると、肝臓脂肪の減少を示す(32)。インビトロ研究もまた、PPAR 発現の増大に関連付けられた脂肪生成効果を示唆している(33)。興味深いことに、SO中の成分フィトステロールのうちの1つである -シトステロールは、放射能によって誘発された酸化ストレスのラットモデルにおいてPPAR 発現を上方調節することも示されている(34)。ACC2発現は、初代マウス肝細胞において、高フルクトース条件に応答して上方調節され、オメガ3脂肪酸ドコサヘキサエン酸(DHA)を用いて処置することにより正常化することが示されている(35)。

30

40

50

## 【0219】

興味深いことに、この研究では、PNによって誘発される肝損傷において、魚油にフィトステロールを添加することの肝毒性作用は見出されなかった。1つの考え得る結論は、ダイズ油中のフィトステロールは、PNによって誘発される肝損傷のマウスモデルにおける、ダイズ油に関連した肝毒性作用に関与していないというものである。別の説明は、フィトステロールは肝毒性特性を有するが魚油の肝保護的特性に打ち勝つことはできないというものである。魚油中に豊富なオメガ3脂肪酸は、抗炎症性脂質メディエーターの前駆物質であり(36、37)、魚油はまた、-トコフェロールも豊富である。これらの特性が、フィトステロールの存在によって抑えることができない肝保護を与える可能性がある。本研究のものと合致する結果がPNALDの早期産仔ブタモデルにおいて観察されているが(21)、他のインビオおよびインビトロの研究により、フィトステロールが肝毒性特性を有することが示唆されている(17、18)。第3の考え得る説明は、フィトステロールに関連する肝毒性特性が生じるには、特定の濃度の特定のフィトステロール、またはフィトステロールの特定のバランスが必要とされるというものである。本研究において、魚油に添加されるフィトステロールの組成は、ダイズ油中に見出されるフィトステロールのタイプおよび量を模倣した。

10

## 【0220】

本研究において調製したどのエマルジョンも、EFADの発症を防いだ。従来、それぞれ親オメガ6脂肪酸および親オメガ3脂肪酸であるリノール酸(LA)および-リノレン酸(ALA)は、EFAとみなされている。より最近のデータから、EFADの発症を予防するには、アラキドン酸(ARA)、エイコサペンタエン酸(EPA)、およびDHAなどのLAおよびALAの代謝産物を提供すれば十分であることが示唆された(38)。興味深いことに、本研究により、血清LAレベルおよび血清ALAレベルではなく、血清ARA、血清EPA、および血清DHAが、投与されるエマルジョンによって提供されるEFAのバランスを反映することが判明した。

20

## 【0221】

PNによって誘発される肝損傷のモデルにおいて-トコフェロールがSOの肝毒性を低める能力を有することから、PNALDおよび他の同様の肝臓病変の臨床管理において-トコフェロールが有用であることが暗に示される。現在、FOは、PNALDの治療のために使用され得るが、FOはすべての患者が容易に利用できるわけではない。PNALDの処置における-トコフェロールの恩恵は、まだ臨床的に試験されておらず、FOは、豊富なオメガ3脂肪酸のような付加的な特性を有しており、このためにFOが-トコフェロール単独よりも有益となっている可能性が高い。しかし、本研究の結果から、-トコフェロールが、FOが利用できない患者においてPNALDを予防または治療する際の選択肢であることが示される。

30

## 【0222】

## 実験手順

## 脂質エマルジョンの調製

エマルジョン用の材料:無菌注射用水(SWFI, Hospira, Lake Forest, IL)、卵リン脂質(Lipoid LLC, Newark, NJ)、オレイン酸ナトリウム(Lipoid LLC, Newark NJ)、およびグリセリン(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を用いて、分散系を調製した。使用した油は、USPグレードのダイズ油(Spectrum Chemicals, New Brunswick, NJ)およびCrystalPure EPA 28/12 TG魚油(BASF)であった。使用した添加物は、-トコフェロール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、-シトステロール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、およびスチグマステロール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)であった。解析に使用した市販のエマルジョンには、Omegaven(Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany)およびIntralipid(Fresenius Kabi, Uppsala, Sweden)が含まれた。

40

## 【0223】

FO+P油の準備:連続的攪拌条件下でCrystalPure EPA 28/12 TG魚油を加熱して、50~60 の間の温度を維持した。油1グラム当たりフィトステロール2.25mgの最終濃度になるようにフィトステロール(85% -シトステロール、15%スチグマステロール)を添加

50

し、溶解するまで攪拌した。20%エマルジョンを調製するために使用する場合、算出されたフィトステロール濃度は、エマルジョン1リットル当たりフィトステロール450mgである。

【0224】

SO+AT油の準備:連続的攪拌条件下でダイズ油を加熱して、50~60 の間の温度を維持した。油1グラム当たり -トコフェロール1mgの最終濃度になるように -トコフェロールを添加し、10~15分間、攪拌した。20%エマルジョンを調製するために使用する場合、算出された -トコフェロール含有量は、エマルジョン1リットル当たり -トコフェロール200mgである。

【0225】

エマルジョン調製:以前に説明されているようにして、高圧ホモジナイゼーションによってエマルジョンを調製した(22)。別段の指定が無い限り、すべての段階は、40~45 で実施した。すべての工程は、窒素雰囲気下で行った。

【0226】

凍結した卵リン脂質を、75~90 に加熱したSWFIに高速剪断混合条件下で添加し、その混合物を40~45 で平衡にさせることにより、最初に分散系を調製した。オレイン酸ナトリウムを添加し、剪断混合を40分間継続し(4000~4100RPM)、その後、グリセリンを添加した。未精製の分散系を9000psiで20サイクル、ホモジナイズした(Panda Plusホモジナイザー、GEA Niro Saovi, Columbia, MD)。この分散系を0.45umのメンブランに通してろ過し、0.5N水酸化ナトリウムを用いてpHを10.4に調整した。最終的な分散系は、12%の卵リン脂質、25%のグリセリン、および0.3%のオレイン酸ナトリウムから構成された。1バッチ分の分散系は、1リットルのエマルジョンを5つ調製するのに十分であった。

【0227】

高速剪断混合条件(3800~4200RPM、泡立ちを避けるように調整)下で適切な体積の分散系に油を添加し、混合を40~45分間継続し、かつ温度を40~45 で維持しつつ、SWFIによってゆっくりと最終体積を500mLにすることによって、エマルジョンを調製した。未精製のエマルジョンを5000psiで少なくとも9サイクル、ホモジナイズした。0.1N水酸化ナトリウムを用いて、最終的なエマルジョンのpHを9~9.5に調整し、上部の空間を窒素ガスで満たした20mL容セラムバイアルに入れ、容器に入れたエマルジョンをオートクレーブした。最終的なエマルジョン組成は、20%の油、1.2%の卵リン脂質、2.5%のグリセリン、および0.03%のオレイン酸ナトリウムであった。

【0228】

すべてのエマルジョンを、USP 401 規格に従う小滴平均サイズおよびPFAT5の試験(Micro Measurements, Deerfield, IL)に供した。

【0229】

エマルジョン中のフィトステロールレベルおよび -トコフェロールレベルの測定:フィトステロールレベルを測定するために、2mol/Lのエタノール性KOH溶液で試料をけん化し、n-ヘプタンを用いてステロールを抽出した。キャピラリーガスクロマトグラフィーカラムを用いて、抽出物を蒸発させ、分離した。検出は、フレームイオン化検出器を用いて行った。定量は、エピコプロスタノールを内部対照として用いて行った。

【0230】

-トコフェロールレベルを、説明されているようにして測定した(39)。ただし、内部較正を用いる代わりに外部較正を使用した。

【0231】

PNによって誘発される肝損傷のマウスモデル。動物実験はすべて、ボストン小児病院の施設内動物管理使用委員会によって承認された。6週齢のC57BL/6マウス(Jackson Labs, Bar Harbor, ME)に、標準的な固体飼料食、またはボストン小児病院で患者に投与されるPNから構成される液体食(20%デキストロース、2%アミノ酸、30mEq/Lナトリウム、20mEq/Lカリウム、15mEq/Lカルシウム、10mEq/Lマグネシウム、10mMol/Lホスファ

10

20

30

40

50

ート、36.67mEq/Lクロリド、19.4mEq/Lアセタート、小児用マルチビタミン、小児用微量元素)のいずれかを投与した。PN給餌マウスに、静脈内(IV)生理食塩水、IV FO、IV FO+P、IV SO、またはIV SO+ATを投与した(尾静脈注射により、2.4g/kg/日)。19日後、二酸化炭素窒息によって動物を安樂死させた。血清採取のために血液を抜き取った。さらに解析するために、肝臓、脾臓、および右の腎臓を採取した。この実験を2回、異なるエマルジョンバッヂを各実験に対して用いて、行った。1回目の実験では、処置群当たり5匹のマウスを使用し、2回目の実験では、処置群当たり10匹のマウスを使用した。

#### 【0232】

臓器の処理および組織学的検査。脾臓、腎臓、および各肝臓の1つの部分を10%ホルマリン中に入れ、4度で24時間保存し、次いで、70%エタノールに移した。検体をパラフィンに包埋し、肝臓の構造を評価するためのヘマトキシリン・エオシン(H&E)染色のために薄片に切った。各肝臓の2つ目の部分を最適切断温度(OCT)培地(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)に入れ、液体窒素中で凍結した。検体を凍結切片化し、オイルレッドO染色に供して、肝臓の脂肪蓄積を評価した。可視化には、Zeiss Axiophot(商標)顕微鏡(Oberkochen, Germany)を用いた。スライドは、処置群に関して盲検化された委員会認定の病理学者によって解析された。各肝臓の3つ目の部分を液体窒素中で急速冷凍し、遺伝子およびタンパク質の発現解析のために-80度で保存した。

10

#### 【0233】

血清脂肪酸のプロファイリング。以前に説明されているようにして、血清脂肪酸の抽出を実施した(2)。簡単に説明すると、内部標準として添加されたトリコサン酸を含む血清試料(試料1つにつき30μL)を、2:1の比のクロロホルムとメタノールを用いる抽出に供して、脂質画分を単離した。0.5Nメタノール性水酸化ナトリウム溶液を用いて試料をけん化した。100度で30分間、14%BF<sub>3</sub>/メタノール中で試料をインキュベートした。工程は窒素ガス霧囲気下で実施して、酸化を最小限にした。ガス液体クロマトグラフィー(Hewlett Packard 6890)を用いて解析を行い、フレームイオン化検出器を用いて検出を行った。外部標準の脂肪酸メチルエステル(NuCheck(商標) Prep, Elysian, MN)を用いて、試料の脂肪酸のピークを同定した。

20

#### 【0234】

遺伝子発現解析。肝臓を切断して試料1つにつき25mgにし、製造業者の取扱い説明書に従ってQiagen AllPrep(商標)DNA/RNA/タンパク質キット(Gaithersburg, MD)を用いてRNAを抽出した。各反応について、200ng RNAと共に、Taqman(商標)のプライマー(Invitrogen, Carlsbad, CA)および試薬(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)を製造業者の取扱い説明書に従って用いた。ABI One Step Plusサイクラーで、2段階サイクリングのRT-PCRプロトコールを用いた。50度で30分および95度で10分の最初の逆転写段階の後に、95度で15秒および60度で1分からなる增幅段階を行い、40回繰り返した。標的遺伝子発現をGAPDH遺伝子に対して標準化し、2<sup>-Ct</sup>法を用いて、固形飼料を給餌された対照群と比較した(40)。

30

#### 【0235】

タンパク質解析。肝臓を切断して試料1つにつき25mgにし、Bullet Blender中でステンレス鋼ビーズを用いて、プロテアーゼ阻害剤およびホスファターゼ阻害剤を含む放射性免疫沈降アッセイ法(RIPA)緩衝液中でホモジナイズした。Bradfordアッセイ法(Bio-Rad, Hercules, CA)を用いてタンパク質濃度を測定した。4~12%のビス-トリスポリアクリルアミドゲル(Invitrogen, Carlsbad, CA)を用いて、試料1つにつき10mgのタンパク質を分離した後に、ニトロセルロースメンプランに移した。メンプランを5%脱脂乳中で1時間ブロッキングした。メンプランを1次抗体中で一晩、および二次抗体中で1時間、インキュベートした。ACC抗体およびPPAR抗体は、Cell Signaling technologies(Danvers, MA)製であった。-アクチン抗体は、Santa Cruz Biotechnologies(Paso Robles, CA)製であった。

40

#### 【0236】

参照文献

50

1. Alwayn, I. P., Gura, K., Nose, V., Zausche, B., Javid, P., Garza, J., Verbesey, J., Voss, S., Ollero, M., Andersson, C., Bistrian, B., Folkman, J., and Puder, M. (2005) Omega-3 fatty acid supplementation prevents hepatic steatosis in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res.* **57**, 445–452
2. Meisel, J. A., Le, H. D., de Meijer, V. E., Nose, V., Gura, K. M., Mulkern, R. V, Akhavan Sharif, M. R., and Puder, M. (2011) Comparison of 5 intravenous lipid emulsions and their effects on hepatic steatosis in a murine model. *J. Pediatr. Surg.* **46**, 666–73
3. Diamond, I. R., Sterescu, A., Pencharz, P. B., Kim, J. H., and Wales, P. W. (2009) Changing the paradigm: omegaven for the treatment of liver failure in pediatric short bowel syndrome. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **48**, 209–15
4. Puder, M., Valim, C., Meisel, J. a, Le, H. D., de Meijer, V. E., Robinson, E. M., Zhou, J., Duggan, C., and Gura, K. M. (2009) Parenteral fish oil improves outcomes in patients with parenteral nutrition-associated liver injury. *Ann. Surg.* **250**, 395–402
5. Gura, K. M., Duggan, C. P., Collier, S. B., Jennings, R. W., Folkman, J., Bistrian, B. R., and Puder, M. (2006) Reversal of parenteral nutrition-associated liver disease in two infants with short bowel syndrome using parenteral fish oil: implications for future management. *Pediatrics.* **118**, e197-201
6. Calkins, K. L., Dunn, J. C. Y., Shew, S. B., Reyen, L., Farmer, D. G., Devaskar, S. U., and Venick, R. S. (2013) Pediatric Intestinal Failure-Associated Liver Disease Is Reversed With 6 Months of Intravenous Fish Oil. *JPEN. J. Parenter. Enteral Nutr.* **38**, 682–692
7. de Meijer, V. E., Gura, K. M., Le, H. D., Meisel, J. a, and Puder, M. (2009) Fish oil-based lipid emulsions prevent and reverse parenteral nutrition-associated liver disease: the Boston experience. *JPEN. J. Parenter. Enteral Nutr.* **33**, 541–7
8. Sorrell, M., Moreira, A., Green, K., Jacobs, R., Tragus, R., Keller, L., Quinn, A., McCurnin, D., Gong, A., El Sakka, A., Mittal, N., and Blanco, C. (2016) Favorable Outcomes of Preterm Infants with PNALD Treated with IV Fish Oil-Based Lipid Emulsion. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 10.1097/MPG.0000000000001397
9. Lam, H. S., Tam, Y. H., Poon, T. C. W., Cheung, H. M., Yu, X., Chan, B. P. L., Lee, K. H., Lee, B. S. C., and Ng, P. C. (2014) A Double-Blind Randomised Controlled Trial of Fish Oil-Based versus Soy-Based Lipid Preparations in the Treatment of Infants with Parenteral Nutrition-Associated Cholestasis. *Neonatology.* **105**, 290–296
10. Jeppesen, P. B., Høy, C. E., and Mortensen, P. B. (1998) Essential fatty acid deficiency in patients receiving home parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 126–33
11. Mascioli, E. A., Lopes, S. M., Champagne, C., and Driscoll, D. F. (1996) Essential fatty acid deficiency and home total parenteral nutrition patients. *Nutrition.* **12**, 245–9
12. HOLMAN, R. T. (1960) The ratio of trienoic: tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J. Nutr.* **70**, 405–10
13. Driscoll, D. F. (2007) Globule-size distribution in injectable 20% lipid emulsions: Compliance

10

20

30

40

50

- with USP requirements. *Am. J. Heal. Pharm.* **64**, 2032–2036
14. Pharmacopoeia, T. U. S. (2012) Chapter 729: Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsions. in *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 36 - NF 31)*, pp. 321–323
15. Teng, J., Arnell, H., Bohlin, K., Nemeth, A., and Fischler, B. (2015) Impact of parenteral fat composition on cholestasis in preterm infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **60**, 702–7
16. Xu, Z., Harvey, K. A., Pavlina, T., Dutot, G., Hise, M., Zaloga, G. P., and Siddiqui, R. A. (2012) Steroidal compounds in commercial parenteral lipid emulsions. *Nutrients*. **4**, 904–21
17. Carter, B. A., Taylor, O. A., Prendergast, D. R., Zimmerman, T. L., Von Furstenberg, R., Moore, D. D., and Karpen, S. J. (2007) Stigmasterol, a soy lipid-derived phytosterol, is an antagonist of the bile acid nuclear receptor FXR. *Pediatr. Res.* **62**, 301–6
18. El Kasmi, K. C., Anderson, A. L., Devereaux, M. W., Vue, P. M., Zhang, W., Setchell, K. D. R., Karpen, S. J., and Sokol, R. J. (2013) Phytosterols promote liver injury and Kupffer cell activation in parenteral nutrition-associated liver disease. *Sci. Transl. Med.* **5**, 206ra137
19. Saboori, S., Shab-Bidar, S., Speakman, J. R., Yousefi Rad, E., and Djafarian, K. (2015) Effect of vitamin E supplementation on serum C-reactive protein level: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Clin. Nutr.* 10.1038/ejcn.2014.296
20. Shing, C. M., Fassett, R. G., Peake, J. M., and Coombes, J. S. (2014) Effect of tocopherol on atherosclerosis, vascular function, and inflammation in apolipoprotein E knockout mice with subtotal nephrectomy. *Cardiovasc. Ther.* **32**, 270–5
21. Ng, K., Stoll, B., Chacko, S., Saenz de Pipaon, M., Lauridsen, C., Gray, M., Squires, E. J., Marini, J., Zamora, I. J., Olutoye, O. O., and Burrin, D. G. (2015) Vitamin E in New-Generation Lipid Emulsions Protects Against Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease in Parenteral Nutrition-Fed Preterm Pigs. *JPEN. J. Parenter. Enter. Nutr.* 10.1177/0148607114567900
22. Fell, G. L., Cho, B. S., Pan, A., Nose, V., Anez-Bustillos, L., Dao, D. T., Baker, M. A., Nandivada, P., Gura, K. M., and Puder, M. (2017) A Comparison of Fish Oil Sources for Parenteral Lipid Emulsions in a Murine Model. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **41**, 181–187
23. Driscoll, D. F. (2006) Lipid injectable emulsions: Pharmacopeial and safety issues. *Pharm. Res.* **23**, 1959–69
24. Hukkanen, M., Mutanen, A., Nissinen, M., Merras-Salmio, L., Gylling, H., and Pakarinen, M. P. (2016) Parenteral Plant Sterols Accumulate in the Liver Reflecting Their Increased Serum Levels and Portal Inflammation in Children With Intestinal Failure. *J. Parenter. Enter. Nutr.* 10.1177/0148607116637855
25. Kurvinen, A., Nissinen, M. J., Andersson, S., Korhonen, P., Ruuska, T., Taimisto, M., Kalliomäki, M., Lehtonen, L., Sankilampi, U., Arikoski, P., Saarela, T., Miettinen, T. A.,
- 30
- 40
- 50

- Gylling, H., and Pakarinen, M. P. (2012) Parenteral Plant Sterols and Intestinal Failure-associated Liver Disease in Neonates. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **54**, 803–811
26. Muto, M., Lim, D., Soukvilay, A., Field, C., Wizzard, P. R., Goruk, S., Ball, R. O., Pencharz, P. B., Mi, S., Curtis, J., Wales, P. W., and Turner, J. M. (2015) Supplemental Parenteral Vitamin E Into Conventional Soybean Lipid Emulsion Does Not Prevent Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease in Full-Term Neonatal Piglets. *J. Parenter. Enter. Nutr.* 10 10.1177/0148607115612030
27. Tahan, V., Eren, F., Avsar, E., Yavuz, D., Yuksel, M., Emekli, E., Imeryuz, N., Celikel, C., Uzun, H., Haklar, G., and Tozun, N. (2007) Rosiglitazone attenuates liver inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Dig. Dis. Sci.* **52**, 3465–72
28. Gupte, A. A., Liu, J. Z., Ren, Y., Minze, L. J., Wiles, J. R., Collins, A. R., Lyon, C. J., Pratico, D., Finegold, M. J., Wong, S. T., Webb, P., Baxter, J. D., Moore, D. D., and Hsueh, W. A. (2010) Rosiglitazone attenuates age- and diet-associated nonalcoholic steatohepatitis in male low-density lipoprotein receptor knockout mice. *Hepatology* **52**, 2001–11 20
29. Bedoucha, M., Atzpodien, E., and Boelsterli, U. A. (2001) Diabetic KKAY mice exhibit increased hepatic PPAR $\gamma$  gene expression and develop hepatic steatosis upon chronic treatment with antidiabetic thiazolidinediones. *J. Hepatol.* **35**, 17–23
30. Yu, S., Matsusue, K., Kashireddy, P., Cao, W.-Q., Yeldandi, V., Yeldandi, A. V., Rao, M. S., Gonzalez, F. J., and Reddy, J. K. (2003) Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1 (PPAR $\gamma$ ) overexpression. *J. Biol. Chem.* **278**, 498–505
31. Jia, Y., Wu, C., Kim, J., Kim, B., and Lee, S.-J. (2016) Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and inhibition of PPAR gamma and Akt. *J. Nutr. Biochem.* **28**, 9–18
32. Hosui, A., Tatsumi, T., Hikita, H., Saito, Y., Hiramatsu, N., Tsujii, M., Hennighausen, L., and Takehara, T. (2016) Signal transducer and activator of transcription 5 plays a crucial role in hepatic lipid metabolism through regulation of CD36 expression. *Hepatol. Res.* 30 10.1111/hepr.12816
33. Maruyama, H., Kiyono, S., Kondo, T., Sekimoto, T., and Yokosuka, O. (2016) Palmitate-induced Regulation of PPAR $\gamma$  via PGC1 $\alpha$ : a Mechanism for Lipid Accumulation in the Liver in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int. J. Med. Sci.* **13**, 169–178
34. Moustafa, E. M., and Thabet, N. M. (2017) Beta-sitosterol upregulated paraoxonase-1 via peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  in irradiated rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 10.1139/cjpp-2016-0397
35. Zheng, J., Peng, C., Ai, Y., Wang, H., Xiao, X., and Li, J. (2016) Docosahexaenoic Acid 40

- Ameliorates Fructose-Induced Hepatic Steatosis Involving ER Stress Response in Primary Mouse Hepatocytes. *Nutrients*. **8**, 55
36. Kalish, B. T., Le, H. D., Fitzgerald, J. M., Wang, S., Seamon, K., Gura, K. M., Gronert, K., and Puder, M. (2013) Intravenous fish oil lipid emulsion promotes a shift toward anti-inflammatory proresolving lipid mediators. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **305**, G818-28
37. Bagga, D., Wang, L., Farias-Eisner, R., Glaspy, J. a, and Reddy, S. T. (2003) Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 1751-6 10
38. Le, H. D., Meisel, J. A., de Meijer, V. E., Fallon, E. M., Gura, K. M., Nose, V., Bistrian, B. R., and Puder, M. (2012) Docosahexaenoic Acid and Arachidonic Acid Prevent Essential Fatty Acid Deficiency and Hepatic Steatosis. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **36**, 431-441
39. Xu, Z., Harvey, K. A., Pavlina, T. M., Zaloga, G. P., and Siddiqui, R. A. (2015) Tocopherol and tocotrienol homologs in parenteral lipid emulsions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **117**, 15-22
40. Schmittgen, T. D., and Livak, K. J. (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* **3**, 1101-1108 20

【0237】

## 実施例4

実施例1～3において、油エマルジョン組成物の混合物を次のように調製した:Panda Plus GEA Niro Soavi(商標)を用いて、所望の濃度の水中油型エマルジョンを作った。高性能のSilverson高せん断ミキサーを用いて、摂氏100℃まで前もって加熱した、油の重量の約3倍に等しい量の注射用水に、凍結したままのリン脂質を分散させた。次いで、オレイン酸ナトリウムを添加し、微粉碎され粘性流体を形成するまで、混合して溶解させた。次いで、分散系にグリセリンを添加し、均一になるまで速度3000rpmで10分間、Silverson高せん断ミキサーを用いて混合した。次いで、この溶液を500psi(第2段階)および4500psi(第1段階)に設定したPanda Plus GEA Niro Soavi(商標)ホモジナイザーに、分散系のこの体積がホモジナイザーを10回完全に通過するのに等しい時間、再循環ベースで、全圧5000psi(+400psiまたは-400psi)の間、通した。分散系の温度は、この工程の間ずっと、摂氏40℃前後で維持した。その後、pHを記録し、0.5規定濃度の水酸化ナトリウム溶液を用いて、40℃(摂氏38～42℃の範囲)において10.2～10.8に調整した。油を窒素雰囲気下で摂氏約40℃まで加熱し、(摂氏100℃まで加熱した)注射用水約200mLを含むpH調整済みの分散系に細く流し入れて添加し、Silverson高せん断ミキサーを用い、3000rpmで合計10分間、次いで4000rpmで合計5分間、混合した。次いで、(摂氏100℃まで加熱した)注射用水を、最終エマルジョンの体積の100%になるまで、未精製のエマルジョン濃縮物に添加した。次いで、希釈したエマルジョンをPanda Plus GEA Niro Soavi(商標)ホッパーに添加し、9回連続して完全に通過するのに必要な長さ以上の時間、900psi(第2段階)および8100psi(第1段階)、合計圧力9000psiで(第1段階に対する第2段階の圧力比は1:10である)、ホモジナイザーを通過させた。ホッパー中のエマルジョンは、パワー1およびスピード8に設定したHeidolph RZR 2020(商標)ミキサーを用いて、絶え間なく循環されていた。エマルジョンの温度は、摂氏38℃に設定したThermo Cube(商標)水冷器を用いて、約40℃で一定に保った。9回目の通過後、エマルジョンを清潔なガラス容器に移した。pHを摂氏40℃(摂氏38～40℃の範囲)で記録し、0.1規定濃度の水酸化ナトリウム溶液を用いて9(8.8～9.2の範囲)に調整した。製造時、このエマルジョンの構成成分はすべて、すべてのベッセルの上部の空間を窒素ガス雰囲気として維持した。ベッセルは、31 30 40

6 グレードのステンレス鋼容器でできていた。pH調整後、エマルジョンを保存用の洗浄済み無菌バイアルに移し、15分間オートクレーブし、摂氏30°を超えないように冷蔵庫で保存した。

#### 【 0 2 3 8 】

MCT、FO、および/またはSOの組合せを利用した態様において、指定した油のエマルジョンを、前出のパラグラフの場合のように、水中20% w/vの濃度で調製した。次いで、これらのエマルジョンを、異なる比を生じるように、一緒にブレンドした。例えば、50mLの20% MCTエマルジョンおよび50mLの20% FOエマルジョンをブレンドすることにより、100mLの50:50 MCT:FOエマルジョン組成物を調製した。こうして、最終的なエマルジョン組成物は、脂肪総量が20体積%であった。

10

20

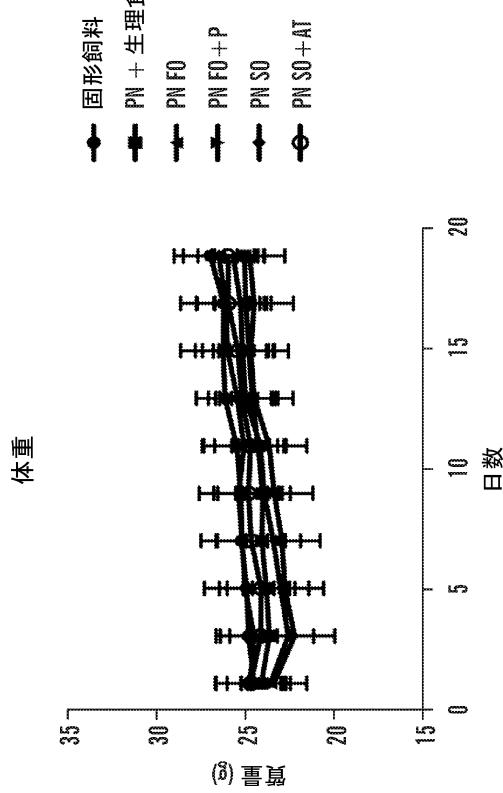
30

40

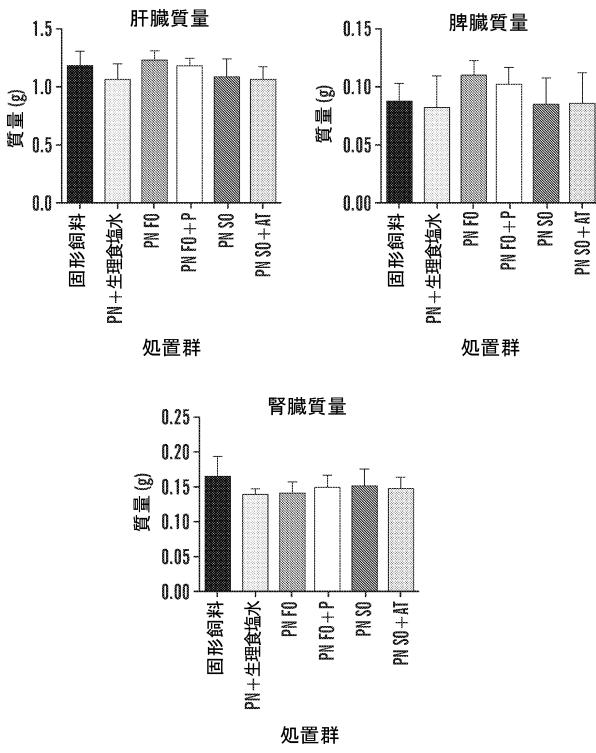
50

【図面】

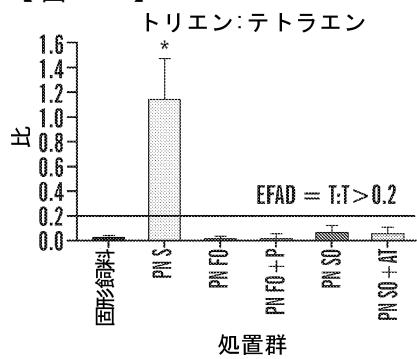
【図 1 A】



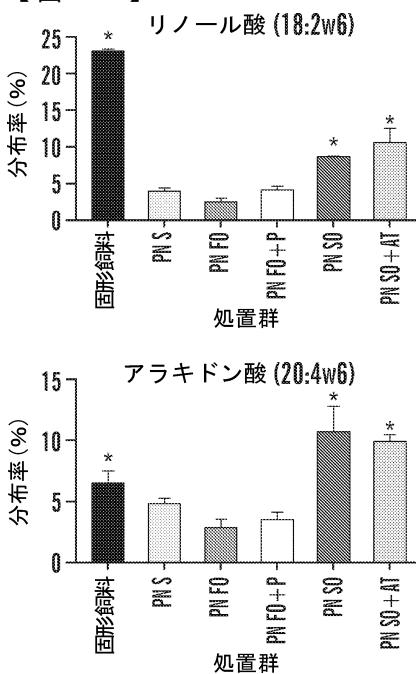
【図 1 B】



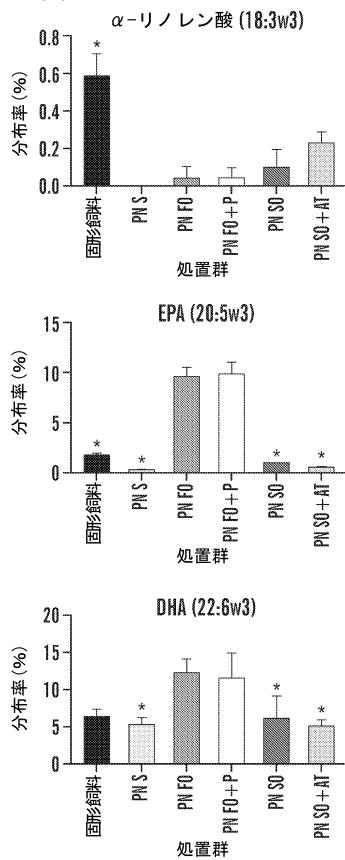
【図 2 A】



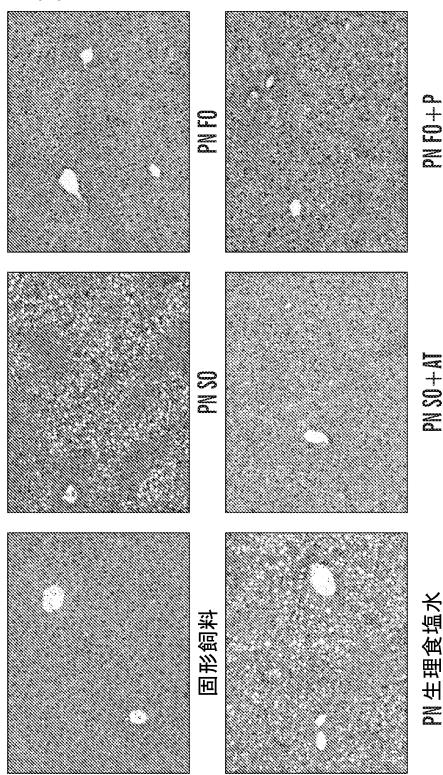
【図 2 B】



【図 2 C】



【図 3 A】



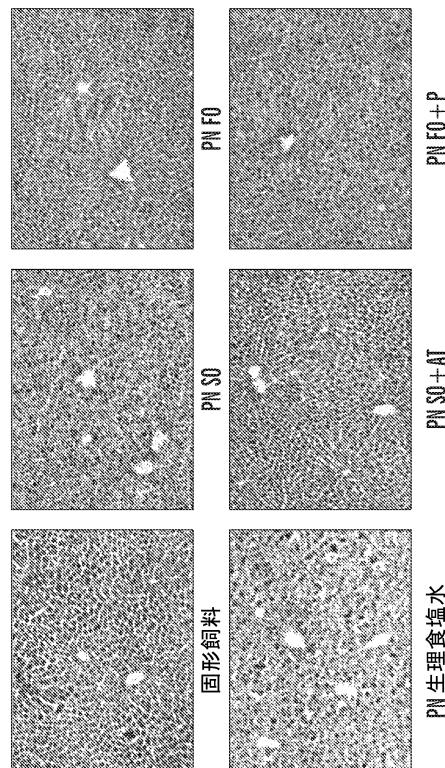
10

20

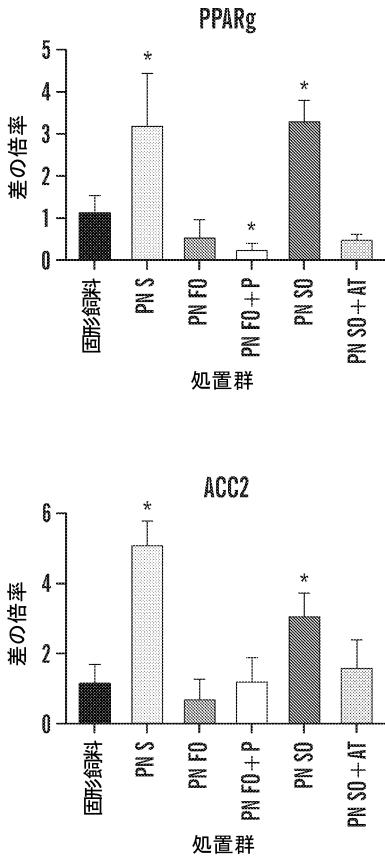
30

40

【図 3 B】

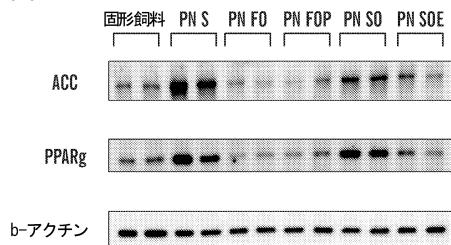


【図 4】

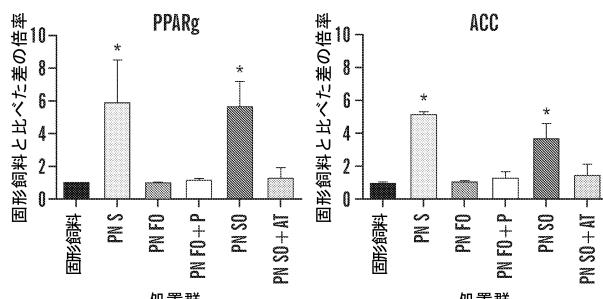


50

【図5】

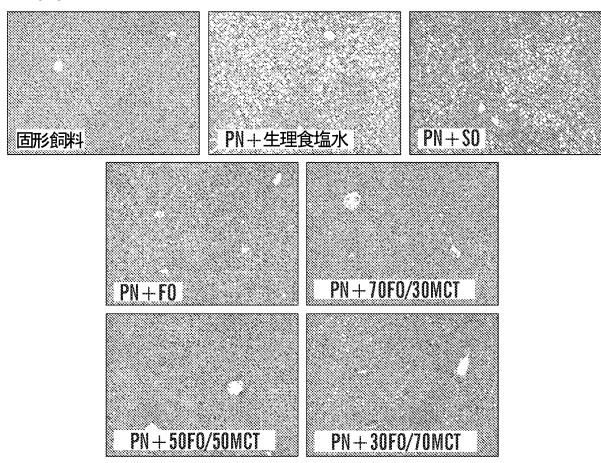


A



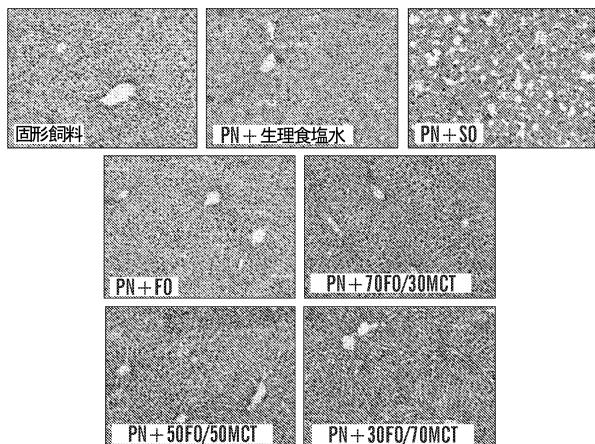
B

【図6 A】



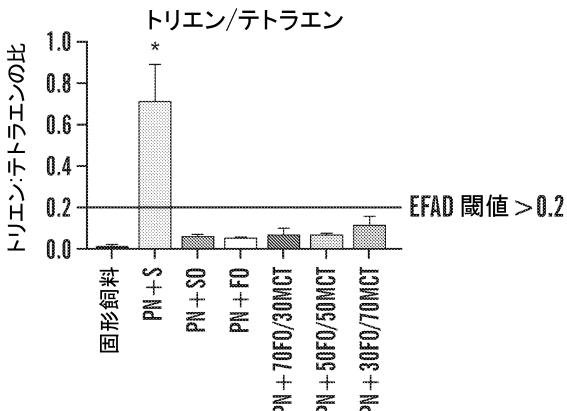
10

【図6 B】



20

【図7】



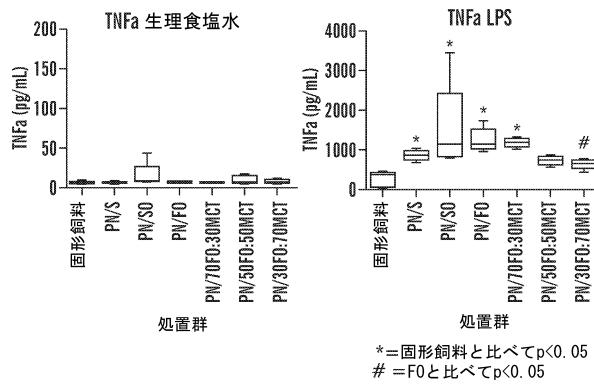
30

\* = p &lt; 0.0001

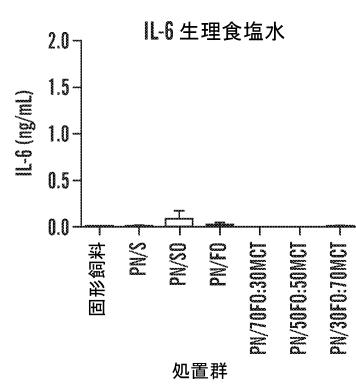
40

50

【図 8 A】

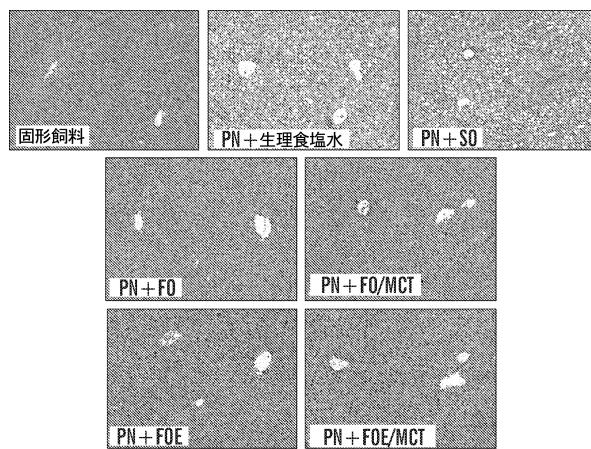


【図 8 B】

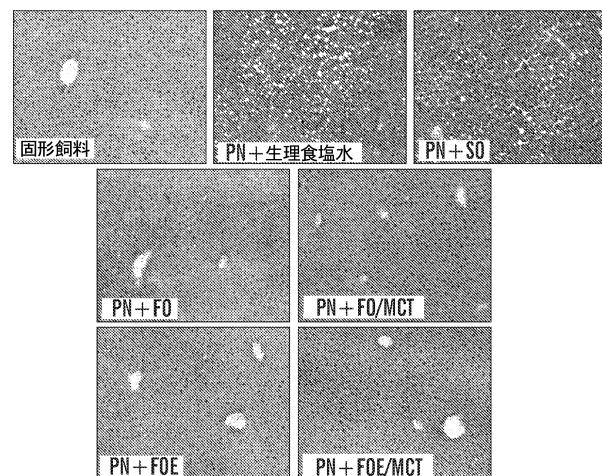


10

【図 9 A】



【図 9 B】

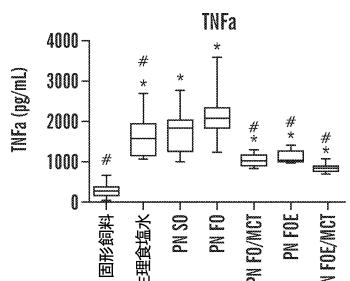


30

40

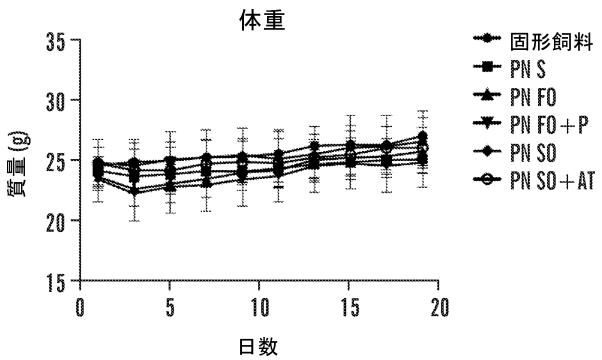
50

【図 1 0】

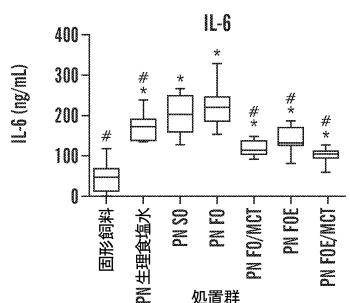


A

【図 1 1 A】



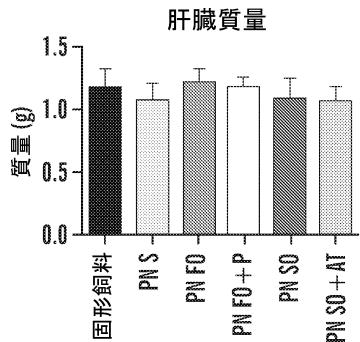
10



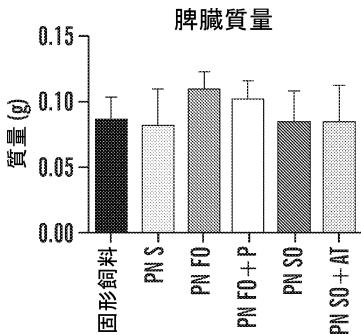
\* 固形飼料と比べて  $p < 0.003$   
# FOと比べて  $p < 0.006$

B

【図 1 1 B】



【図 1 1 C】



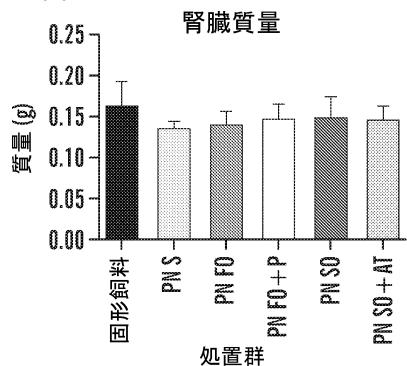
20

30

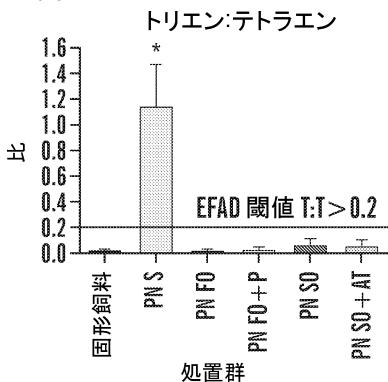
40

50

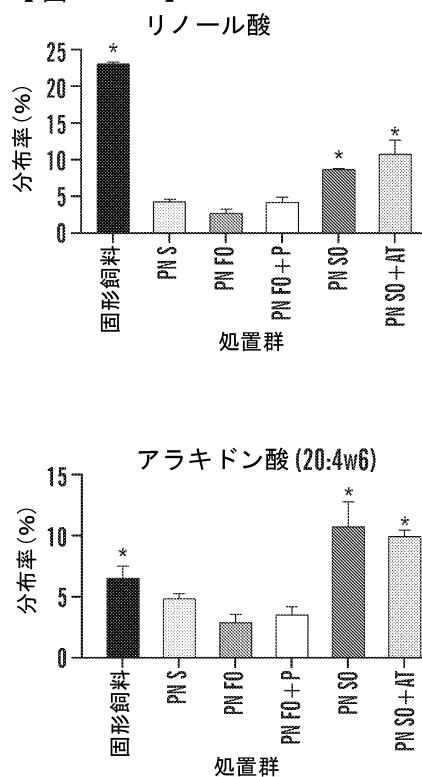
【図 1 1 D】



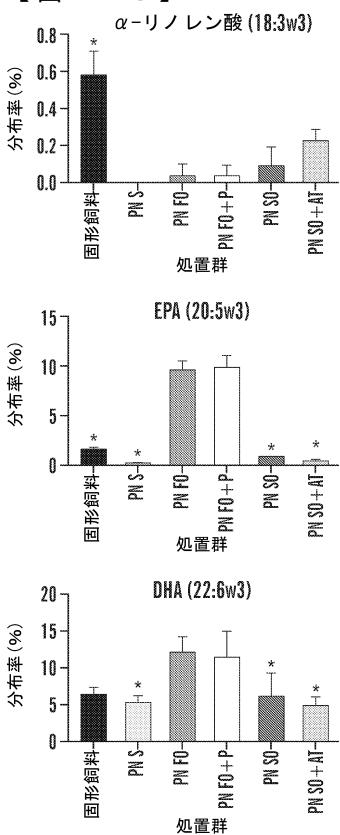
【図 1 2 A】

\*固体飼料と比べて  $p < 0.05$ 

【図 1 2 B】

\*PN F0と比べて  $p < 0.05$ 

【図 1 2 C】

\*PN F0と比べて  $p < 0.05$ 

10

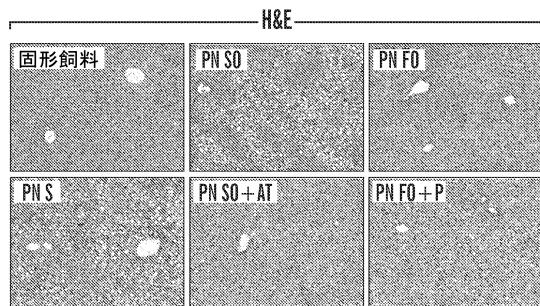
20

30

40

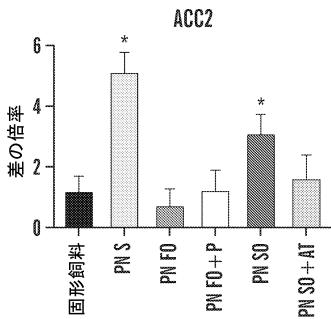
50

【図 1 3】

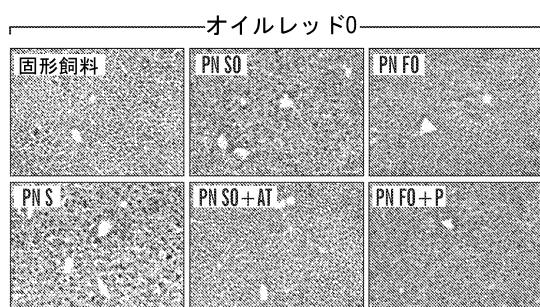


A

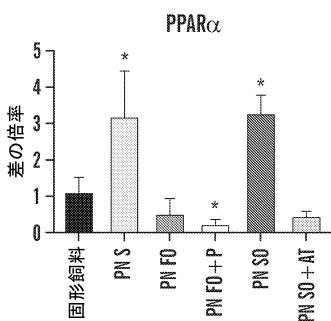
【図 1 4】



A

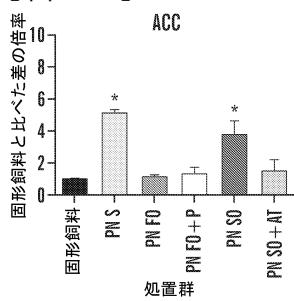


B

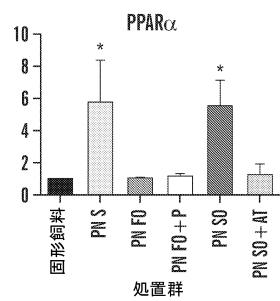


B

【図 1 5】



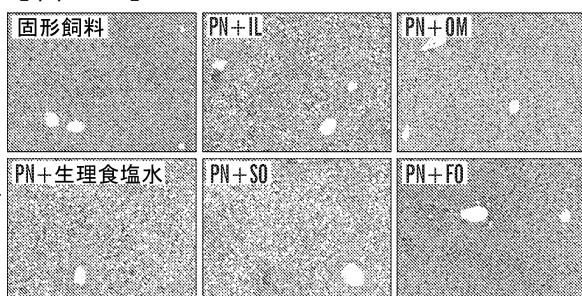
A



B

\* 固形飼料と比べて  $p < 0.05$ 

【図 1 6】



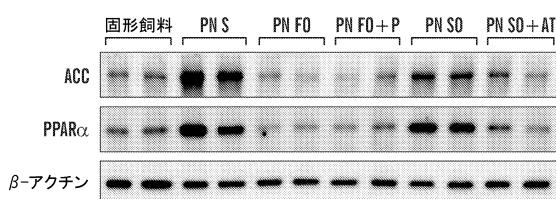
10

20

30

40

50



C

【図17】

エマルジョン中のフィステロールおよび $\alpha$ -トコフェロールのレベル

エマルジョン	フィステロール (mg/L)	$\alpha$ -トコフェロール (mg/L)
OM	10	193
IL	570	12
F0	46	133
F0+P	424	129
S0	461	7
S0+AT	446	164

【図18】

エマルジョンのUSP&lt;729&gt;粒径解析

エマルジョン	小滴平均サイズ (nm)	PFAT5 (%)
F0	238.7	0.032
F0+P	242.3	0.015
S0	252.8	0.009
S0+AT	252.8	0.013

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F	I	
A 6 1 K	31/355 (2006.01)	A 6 1 K	31/355
A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/10 (2017.01)	A 6 1 K	47/10
A 6 1 K	47/12 (2006.01)	A 6 1 K	47/12
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	47/02
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	7/06 (2006.01)	A 6 1 P	7/06
A 6 1 P	1/18 (2006.01)	A 6 1 P	1/18
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02
A 6 1 P	13/02 (2006.01)	A 6 1 P	13/02
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	25/08 (2006.01)	A 6 1 P	25/08
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	17/02 (2006.01)	A 6 1 P	17/02
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	37/08

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 プダー マーク

アメリカ合衆国 02052 マサチューセッツ州 メドフィールド ボイデン ロード 22

(72)発明者 グラ カスリーン

アメリカ合衆国 02056 マサチューセッツ州 ノーフォーク バーンズテーブル ロード 5

審査官 柴原 直司

(56)参考文献 国際公開第2016/040570 (WO, A2)

特表2012-520296 (JP, A)

特表2014-517028 (JP, A)

国際公開第2016/156528 (WO, A1)

J. Parenter. Enter. Nutr., (2017.02), 41, [2], p.181-187

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 35/00 - 35/768

A 6 1 K 36/06 - 36/068

A 6 1 K 31/00 - 31/327

A 6 1 K 9/00 - 9/72

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9  
A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4  
A 2 3 D 7 / 0 0 - 9 / 0 6  
A 2 3 L 5 / 4 0 - 5 / 4 9  
A 2 3 L 3 1 / 0 0 - 3 3 / 2 9  
B 0 1 J 1 3 / 0 0 - 1 3 / 0 0  
A 6 1 K 8 / 0 0 - 8 / 9 9  
A 6 1 Q 1 / 0 0 - 9 0 / 0 0  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )  
R E G I S T R Y / C A S R E A C T / M A R P A T / K O S M E T / G S T A / R D  
I S C L O S U R E / R e a x y s F i l e / C H E M C A T S / A G R I C O L A / B  
I O T E H N O / C A B A / S C I S E A R C H / T O X C E N T E R ( S T N )  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )