



공개특허 10-2022-0025912



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0025912  
(43) 공개일자 2022년03월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 35/74* (2015.01) *A23L 33/125* (2016.01)  
*A23L 33/135* (2016.01) *A61K 31/739* (2006.01)  
*A61P 25/28* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 35/74* (2013.01)  
*A23L 33/125* (2020.05)
- (21) 출원번호 10-2022-7004771(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월04일  
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2019-7038343  
원출원일자(국제) 2017년12월04일  
심사청구일자 2019년12월26일
- (85) 번역문제출일자 2022년02월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/JP2017/043429
- (87) 국제공개번호 WO 2018/220886  
국제공개일자 2018년12월06일
- (30) 우선권주장  
JP-P-2017-105133 2017년05월28일 일본(JP)

- (71) 출원인  
시젠펜에키오요기켄 가부시키가이샤  
일본 가가와켄 다카마츠시 하야시쵸 2217반치 6  
시젠펜에키세이교기주츠켄큐쿠미아이  
일본 가가와켄 다카마츠시 다하시모마치 1560반치 14  
(뒷면에 계속)
- (72) 발명자  
소마 겐-이치로  
일본 1580084 도쿄도 세타가야구 히가시타마가와  
1-10-21  
이나가와 히로유키  
일본 7618062 카가와켄 다카마츠시 무로신마치  
973-5이스트테라스 1211고  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인와이에스장

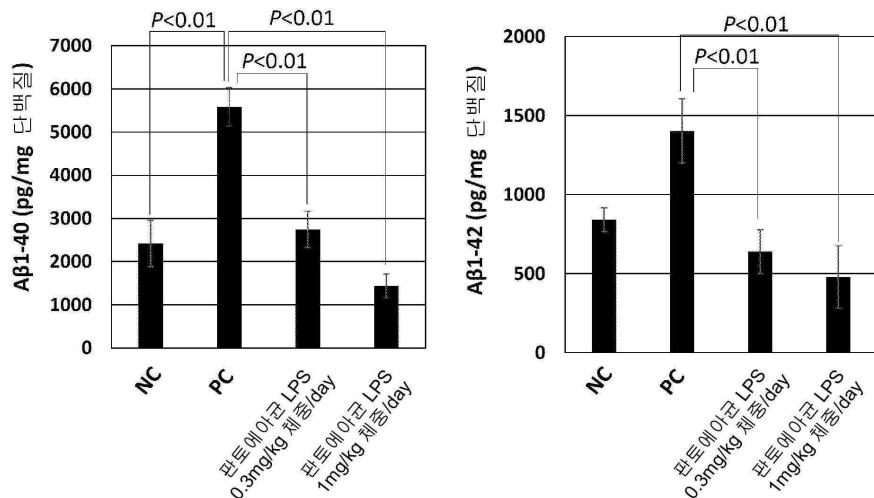
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 리포 다팡을 사용한 뇌기능 개선제, 식품 및 의약품

### (57) 요 약

관도에아균 LPS를 알츠하이머병 모델 마우스에 대하여 경구 투여하고, 그 영향을 조사한 결과, 관도에아균 LPS의 경구 투여에 의해, 뇌내의 A $\beta$  웨티드 축적량이 유의하게 감소하는 것, 학습 기능이 개선되는 것을 발견함으로써, 용이하게 입수 가능한, A $\beta$  뇌내 침착의 억제 효과 또는 학습기능의 개선 효과를 갖는 뇌기능 개선제 또는 식품 조성물을 제공한다.

대 표 도 - 도4



(52) CPC특허분류

*A23L 33/135* (2016.08)

*A61K 31/739* (2013.01)

*A61P 25/28* (2018.01)

*A23V 2002/00* (2013.01)

*A23V 2200/322* (2013.01)

(71) 출원인

**바이오메디칼 리서치 그룹 인코포레이티드**

일본 도쿄도 세타가야구 히가시타마가와 1쵸메  
10-21

**고쿠리츠다이가쿠호우징 카가와다이가쿠**

760-8521, 일본국 카가와켄 다카마츠시 사이와이쵸  
우 1-1

---

(72) 발명자

**코오치 치에**

일본 7618075 카가와켄 다카마츠시 다하시모마치  
1560-14-904

**고바야시 유타로**

일본 7610793 카가와켄 키타군 미키쵸 이케노베  
1750-1고쿠리츠다이가쿠호우징 카가와다이가쿠 이  
가쿠부 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

판토에아균 LPS로 이루어지는 리포 다당을 유효성분으로 하는 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

개선되는 뇌기능이 가령 또는 가령에 따른 뇌질환에 기인하여 저하된 인지 기능인 것을 특징으로 하는 식품 또는 의약품.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

판토에아균 LPS를 유효량 함유하는 것을 특징으로 하는 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

알츠하이머병을 예방하기 위한 것을 특징으로 하는 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

판토에아균 LPS를 1일 투여 단위당 0.1~1mg/kg 체중의 비율로 함유하는 것을 특징으로 하는 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001]

본 발명은 리포 다당을 함유하는 뇌기능 개선제, 식품 및 의약품에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002]

최근, 일본에서는 총 인구가 감소하는 한편, 65세 이상의 고령자 인구는 해마다 증가 경향에 있다. 후생 노동부에 의하면, 고령자 인구(2015년)는 3300만명을 넘어, 고령화율은 26.7%에 달하고 있다고 하고 있다. 고령 질환의 하나인 인지증에 있어서는, 일본 내의 환자수는 현재 460만명을 넘었고, 2025년에는 700만명, 고령자의 5명에 1명이 될 것으로 예상되고 있다. 인지증 환자의 약 60%는 알츠하이머병, 약 20%가 혈관성 인지증이며, 나머지는 레비 소체형 인지증 등의 여러 인지증 질환이 포함되어 있다. 알츠하이머병의 임상 증상은 기억 장애나 언어 장애 등의 인지기능 장애, 정신증상, 행동장애 등이다. 알츠하이머병의 병리학적 특징으로서 아밀로이드반이라도고 불리는 노인성반과 신경원섬유 변화 등의 이상 구조물이 대뇌 피질·해마의 광범위에 침착하는 것이 있다. 아밀로이드반의 주 구성성분은 아밀로이드  $\beta$  단백질(이하, 단지 「A $\beta$ 」라고도 함)이며, 특히, 42 잔기로 이루어지는 A $\beta$  펩티드(이하, 단지 「A $\beta$  1-42」라고도 함)는 응집성이 높아, 아밀로이드 침착에 중핵적인 역할을 수행하는 것이 알려져 있다. 후자는 과잉으로 인산화된 타우 단백질이다. 현재, 알츠하이머병의 병리 캐스케이드로서 아밀로이드 가설이 일반적으로 지지받고 있다. A $\beta$ 의 과잉 축적에 의한 아밀로이드반의 형성, 타우 단백질의 축적(신경원섬유 변화), 이어서 신경변성·신경세포사에 이른다고 하는 시계열이다(비특허문헌 1). 정상인의 뇌 내에서도 가령과 함께 A $\beta$ 는 출현하지만, A $\beta$  생산에 관계되는 효소의 유전자 변이 또는 A $\beta$  분해계의 활성 저하에 의해, A $\beta$  축적이 촉진된다고 여겨지고 있다. 알츠하이머병의 치료약으로서는 신경전달 물질이나 그 수용체를 표적으로 한 치료약(아세틸콜린에스테라제 저해약이나 N-메틸-D-아스파르트산 수용체 길항약)이 개발되어 왔지만, A $\beta$ 의 축적이나 타우 단백질의 응집 등의 병리 변화를 치료하는 치료약이 아니기 때

문에, 알츠하이머병의 진행을 저지할 수 있는 근본적인 치료약이 아니다.

[0003] 한편, 뇌조직의 대식세포인 마이크로글리아는 손상을 받은 조직의 수복, 뇌 내에서의 노폐물의 탐식 제거 등, 뇌 내의 항상성(homeostasis) 유지에 중요한 역할을 담당하는 것이 명확하다고 되어 있다. 마이크로글리아는 A $\beta$  수용체를 발하고 있어, 탐식 반응에 의해 A $\beta$ 의 섭취·분해를 행하는 점에서, 마이크로글리아의 A $\beta$  탐식 능력 활성화를 활성화시킴으로써 A $\beta$ 의 과잉 축적을 기인으로 하는 알츠하이머병의 예방을 기대할 수 있다. 최근, 마이크로글리아의 A $\beta$  탐식 능력을 활성화할 수 있는 작용을 갖는 화합물의 탐색이 진척되고 있으며, 올레산 아미드(비특허문헌 2)나 펩티드(특허문헌 1) 등의 식품 성분이 *in vitro* 실험계에서 효과가 보고되고 있다.

[0004] 그런데, 리포 다당은 그람음성균의 세포벽의 외막 성분의 하나이다. 콜레라균 유래 독성 물질에 대하여 엔도톡신이라고 하는 명칭이 1892년에 주어졌고, 엔도톡신의 본체가 리포 다당인 것이 1954년에 보고되었다(비특허문헌 3). 그러나, 최근, 알츠하이머병 모델 마우스에 대한 리포 다당의 두개내 주사는 마이크로글리아의 활성화를 유도하여, A $\beta$ 의 뇌 내 침착을 억제하는 것이 보고되었다(비특허문헌 4). 마찬가지로, 리포 다당의 구성성분인 리피드 A의 유도체이며, 아쥬반트(면역부활제)로서 인가되어 있는 MPL(Monophosphoryl lipid A)의 복강내 주사는 A $\beta$  뇌내 침착 억제 작용 및 학습기능 개선 작용을 보이는 것이 보고되었다(비특허문헌 5). 한편, 리포 다당의 경구 또는 경피에 의한 섭취에서는, 명확한 독성이 확인되지 않고, 고지혈증이나 알레르기 등의 질환에 대한 개선 효과를 보인다는 보고가 있다(비특허문헌 6). 소마 등은 이 리포 다당의 하나가 소맥공생세균 판토에아·아글로메란스(Pantoea agglomerans)에 유래하는 리포 다당(이하, 「판토에아균 LPS」라고도 함)인 것을 발견하고, 화장품, 식품, 기능성 식품 등에 첨가해도 안전한 리포 다당을 얻기 위한 발효 및 배양 방법을 보고했다(특허문헌 2). 후카사카 등은 설하 투여된 판토에아균 LPS는 아쥬반트로서 작용하여, 점막의 면역 활성을 높이는 것을 동물 실험에서 보고했다(비특허문헌 7). 또한, 코바야시 등은 마우스 뇌 유래 마이크로글리아의 초대 세포를 사용한 검토에 의해, 판토에아균 LPS가 A $\beta$  1-42에 대한 탐식 능력을 향상시키는 것을 보고했다(비특허문헌 8). 그런데 경구 투여한 리포 다당은 소화관으로부터는 거의 흡수되지 않는다. 이것이, 예를 들면, 전분이면, 인간은 전분(글루코오스의  $\alpha$  1-4 결합하고 있는 고분자 다당)을 소화하는 효소(아밀라아제, 말타아제)를 가지고 있기(위키피디아, 전분) 때문에 소화되지만, LPS의 다당은 3-5종류의 6탄당이나 5탄당으로 이루어지는 구조로(위키피디아, 리포 다당), 인간은 LPS의 다당 구조에 대하여 분해할 수 있는 소화 효소를 가지고 있지 않기 때문에, 소화되지 않는다. 또 뇌내 이행에 관해서는 뇌혈액관문이 있는 것 등에 의해, 가령 경구 투여에 의해 리포 다당이 혈액 중에 흡수되었다고 해도 뇌내 이행은 또한 효율이 저하되게 되므로, 경구 투여한 리포 다당은 뇌내까지 도달하지는 않는다고 생각된다. 말할 것도 없이 리포 다당의 경구 투여에 의한 A $\beta$  뇌내 침착 억제 효과 또는 학습기능 개선 효과는 지금까지 보고되어 있지 않으며, 어느 문헌에도 기재되어 있지 않다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 일본 특개 2016-193865호 공보

(특허문헌 0002) 일본 특개 2011-193877호 공보

### 비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) J. Hardy et al., *Science*, 297, 353-356, 2002

(비특허문헌 0002) Y. Ano et al., *PLOS ONE*, 10, e0118512, 2015

(비특허문헌 0003) O. Westpal et al., *Angewandte Chemie*, 66, 407-417, 1954

(비특허문헌 0004) D. L. Herber et al., *Journal of NeuroImmune Pharmacology*, 2, 222-231, 2007

(비특허문헌 0005) J. P. Michaud et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 1941-1946, 2013

(비특허문헌 0006) C. Kohchi et al., *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102, 485-496, 2006

- (비)특허문현 0007) M. Fukasaka et al., PLOS ONE, 10, e0126849, 2015
- (비)특허문현 0008) Y. Kobayashi et al., Anticancer Research, 36, 3693-3698, 2016
- (비)특허문현 0009) J. E. Morley et al., Biochimica et Biophysica Acta, 1822, 650-656, 2012
- (비)특허문현 0010) J. Mehla et al., Journal of Alzheimer's Disease, 39, 145-162, 2014
- (비)특허문현 0011) K. Nakata et al., Nutrition Research and Practice, 5, 435-442, 2011

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 뇌내 A $\beta$  침착의 억제 효과 또는 학습기능의 개선 효과는 인지증, 특히 알츠하이머병의 예방에 유용하다고 여겨지고 있다. 본 발명은 이상과 같은 배경을 감안하여 이루어진 것으로서, 상기의 발효배양법(특허문현 2)에 의해 비교적 용이하게 입수 가능한 리포 다팡에 의한 A $\beta$  뇌내 침착의 억제 효과 또는 학습기능의 개선 효과를 갖는 뇌기능 개선제, 식품 및 의약품을 제공하는 것을 과제로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 본 발명자들은 상기 과제를 해결하기 위해 예의 검토했다. 판토에아균 LPS를 알츠하이머병 모델 마우스에 대하여 경구 투여하고, 그 영향을 조사했다. 그 결과, 판토에아균 LPS의 경구 투여에 의해, 뇌내의 A $\beta$  웨터드 축적량이 유의하게 감소하는 것, 학습기능이 개선되는 것을 발견하고, 본 발명을 완성했다. 본 발명의 뇌기능 개선제는 판토에아균 LPS를 유효 성분으로서 함유하는 것을 특징으로 하는, 알츠하이머병에 대한 것이다.

[0009] 즉 본 발명은 하기의 구성을 갖는 것이다.

[0010] (1) 판토에아균 LPS로 이루어지는 리포 다팡을 유효 성분으로 하여 경구 투여, 경피 투여 또는 구강 투여하는, 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

[0011] (2) 개선되는 뇌기능이 가령 또는 가령에 따른 뇌질환에 기인하여 저하된 인지기능인 것을 특징으로 하는 청구항 1의 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

[0012] (3) 판토에아균 LPS를 유효량 함유하는, 청구항 1에 기재된 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

[0013] (4) 알츠하이머병을 예방하기 위한, 청구항 1에 기재된 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

[0014] (5) 판토에아균 LPS를 1일 투여 단위당 0.1~1mg/kg 체중의 비율로 함유하는 청구항 1에 기재된 뇌기능 개선제, 식품 또는 의약품.

### 발명의 효과

[0015] 본 발명에 의하면, 판토에아균 LPS에 의해, 알츠하이머병의 예방 효과, 특히, A $\beta$  뇌내 침착의 억제 효과 및 학습기능 개선 효과를 갖는 약제, 식품 등의 조성물을 제공할 수 있다. 판토에아균 LPS는 식품용, 화장품용, 사료용 등의 형태에 따른 경구 또는 경피 투여에 있어서의 안전성이 확인되었으므로, 부작용의 위험이 작은 예방 효과를 기대할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 수중 미로 시험에 있어서의 트레이닝 시험의 결과를 나타내는 것이다. 연속된 5일간의 트레이닝에 의해, 플랫폼 도달에 요하는 시간은 모든 군에서 단축된 것을 나타내는 그래프이다. 또한, 군 사이에서의 차는 확인되지 않았다.

도 2는 수중 미로 시험에 있어서의 프로브 시험에서의 대표적인 수영 케적을 나타낸 것이다. 점선의 원은 플랫폼이 설치되어 있었던 위치를 나타내고 있다.

도 3은 수중 미로 시험의 프로브 시험에 있어서, 플랫폼이 설치되어 있었던 4분원 영역에 마우스가 체류하고 있었던 시간의 결과를 나타낸 것이다. 고지방 사료를 섭취한 PC군에서는 체류 시간의 감소가 확인되고 있는 것에

반해, 판토에아균 LPS 섭취는 체류 시간을 연장시키는 것을 나타내는 결과이다.

도 4는 18주간 사육 후의 마우스로부터 적출한 뇌에서의 A $\beta$  (A $\beta$  1-40 및 A $\beta$  1-42)의 축적량을 나타낸다. 고지방 사료를 섭취한 PC군에서는, NC군과 비교하여, A $\beta$  1-40량의 유의한 상승이 확인되고 있어, 판토에아균 LPS 섭취는 PC군과 비교하여, A $\beta$  1-40 및 A $\beta$  1-42량을 유의하게 저하시키는 것을 나타내는 결과이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017]

(발명을 실시하기 위한 형태)

[0018]

본 발명의 뇌기능 개선제 및 식품 조성물은 판토에아균 LPS를 함유한다.

[0019]

여기에서, 「판토에아균 LPS」는 특별히 기재한 경우를 제외하고, 특허문헌 2에 기재된 수순에 따라, 소맥에 공생하는 그람음성균의 판토에아·아글로메란스(*Pantoea agglomerans*)를 소맥분에서 배양하고, 균체로부터 리포다당을 열수 추출하고, 고형분을 제거한 리포다당을 가리킨다.

[0020]

본 발명의 뇌기능 개선제 및 식품은 가령 또는 가령에 수반되는 뇌질환에 기인하는 뇌기능 장애, 특히 인지 기능 장애를 개선할 수 있다. 인지 기능 장애를 수반하는 뇌질환으로서는, 예를 들면, 알츠하이머병 등을 명시할 수 있다.

[0021]

본 발명의 판토에아균 LPS는 인간, 인간 이외의 포유류(돼지, 소, 양, 말, 개, 고양이 등의 가축), 조류(닭, 칠면조, 집오리 등의 가금) 등에 적용할 수 있다.

[0022]

본 발명의 의약 조성물의 투여 경로, 제형은 목적, 증상, 대상자의 연령, 체중 등에 따라 적당히 설계할 수 있다. 투여 경로의 예로서는 경구 투여, 경피 투여, 구강 투여, 피하 주사, 피내 주사, 복강내 주사, 근육내 투여 등이 있다. 바람직하게는, 경구 투여, 경피 투여, 구강 투여이다. 제형의 형으로서는 산제, 과립제, 액제, 캡슐, 세립제, 환제, 시럽제, 유제 등을 들 수 있다. 이 의약 조성물은 경구 투여가 가능하며, 또한 유효하다. 이들 제제는 판토에아균 LPS에 더하여, 의약품으로서 허용 가능한 여러 첨가물, 예를 들면, 안정화제, 총전제, 유화제, 증량제, 부형제, 결합제, 보습제, 붕괴제, 계면활성제, 혼탁제, 코팅제, 착색제, 향료, 풍미제, 감미제, 보존제, 산화방지제를 함유시킬 수 있다.

[0023]

본 발명의 식품 조성물은 판토에아균 LPS를 그대로 사용하고, 또는 다른 식품 또는 식품 성분과 혼합하는 등, 식품 조성물에 있어서의 상법에 따라 사용할 수 있다. 또한, 그 형태에 대해서도, 특별히 제한되지 않고, 통상 사용되는 식품의 상태, 예를 들면, 고체상(분말, 과립상 등), 페이스트상, 액상 또는 혼탁상의 어떤 것이어도 된다. 본 발명의 식품 조성물은 영양기능 식품, 특정 보건용 식품, 기능성 표시 식품, 건강 식품, 영양 보조 식품, 드링크제, 청량 음료, 알코올 음료, 서플리먼트, 사료, 사료 첨가물 등으로 할 수 있다.

[0024]

본 발명의 뇌기능 개선제 또는 식품 조성물은, 경구 섭취의 경우, 판토에아균 LPS를, 성인 1일당 0.1~1mg/kg 체중의 범위에서 함유하도록 배합되는 것이 바람직하고, 1~수 회로 나누어서 투여할 수 있다. 바람직하게는 0.3~1mg/kg 체중, 보다 바람직하게는 0.5~1mg/kg 체중이다. 이러한 용량은 대상자의 연령, 체중, 건강 상태, 투여 방법 및 다른 제제(또는 식품 성분)와의 조합 등의 여러 인자에 따라 적당히 조정할 수 있다. 장기간에 걸쳐 예방의 목적으로 섭취하는 경우에는, 상기 범위보다 소량이어도 된다.

[0025]

### 실시예

[0026]

이하, 실시예에 따라 본 발명을 보다 상세하게 설명하지만, 본 발명은 이하의 실시예에 제한되는 것은 아니다.

[0027]

[실시예 1] 알츠하이머병 모델 마우스에 대한 판토에아균 LPS의 경구 투여 시험 방법

[0028]

판토에아균 LPS는 소마 등이 개발한 리포다당의 발효 배양법(특허문헌 2)에 따라, 조제·정제된 것 (*Lipopolysaccharide, Pantoea agglomerans* <LPS>, 자연면역 응용 기술 연구소사)을 사용했다. 실험에는, 알츠하이머병 모델 마우스로서 12-14주령의 수컷 SAMP8 마우스(*Senescence accelerated mouse-prone 8/Ta S1c*, 낫폰 SLC사)를 사용하여, 1주간 예비 사육 후, 체중에 따라 4군으로 나누었다. 35% 지방을 포함하는 사료(리서치 다이어트)를 주고, 0.3 또는 1mg/kg 체중/day의 판토에아균 LPS를 포함하는 물을 자유 음수에 의한 경구 투여로 주었다. 또한, 컨트롤군에는, 35% 지방을 포함하는 사료 또는 4% 지방을 포함하는 사료(리서치 다이어트)를 주고, 동일한 방법으로 물을 주었다. 마우스의 사육은 온도 습도 관리된 동물 시설에서, 자유 섭식, 자유 음수, 12시간 광 조사/12시간 암흑하의 환경 조건에서 행했다. 17주간 사육 후, 이하에 나타내는 수중 미로 시험을 1주간 행하고, 학습기능을 평가했다. 수중 미로 시험 종료의 다음날, 심장으로부터 채혈을 했다. 뇌, 간장, 정소 상체 주위 백색 지방세포를 적출했다. 본 동물 실험은 카가와 대학 동물 실험 위원회에 의해 승인

되었다.

[0029] 이 실시예에서는, 알츠하이머병 모델 마우스로서 수컷 SAMP8 마우스를 사용했다. 본 마우스는 가령에 따라, 뇌 내 A $\beta$  침착량의 증가나 학습기능의 저하 등, 알츠하이머병 유사 증상을 보이므로, 노화 촉진 모델 마우스로서 사용되었다(비특허문헌 9). 또한 고지방식의 섭취는 2형 당뇨병 유사의 증상, 예를 들면, 공복일 때 혈당값의 증가, HbA1c값의 증가 등을 유도함으로써 알츠하이머병의 진전을 가속화 하는 것이 보고되었다(비특허문헌 10).

[0030] 본 실시예에서는, 마우스를 이하의 4군으로 나누었다.

(1) NC군: 4% 지방을 포함하는 사료(저지방 사료) 및 물을 자유 섭취하게 했다.

(2) PC군: 35% 지방을 포함하는 사료(고지방 사료) 및 물을 자유 섭취하게 했다.

(3) 판토에아군 LPS 0.3mg/kg 체중/day군: 고지방 사료 및 판토에아군 LPS(0.3mg/kg 체중/day)를 포함하는 물을 자유 섭취하게 했다.

(4) 판토에아군 LPS 1mg/kg 체중/day군: 고지방 사료 및 판토에아군 LPS(1mg/kg 체중/day)를 포함하는 물을 자유 섭취하게 했다.

[수중 미로 시험]

(1) 장치

[0037] 원통형 풀(직경 100cm, 깊이 40cm)에 물(23±1°C)을 넣고, 투명한 플랫폼(직경 10cm)이 수면 아래 1cm에 가라앉도록 설치했다. 시판의 흑색 잉크를 풀의 물에 넣어, 수영 중의 마우스가 플랫폼을 시인할 수 없도록 했다. 풀 수면의 바로 위에 시판의 디지털 카메라를 설치하고, 마우스의 수영을 동화상으로 기록했다. 수영 궤적의 해석은 화상 해석 소프트웨어 Aminal Tracker를 사용하여, 「Neuroinformatics, 14, 479-481, 2016」 기재의 방법에 따라 행했다.

(2) 수순

[0039] 시험 전날에, 마우스가 풀에 친숙하게 하기 위해, 각각 1회 헤엄치게 했다. 수순은 수면 위 1cm에 고정한 플랫폼에 마우스를 20초간 정지한 뒤, 30초간 자유롭게 헤엄치게 했다. 그 후, 실험자의 손으로 마우스를 플랫폼 위로 유도하고, 20초간 정지했다. 또한 풀에 넣을 때는 마우스를 풀의 벽 방향으로 입수시키고, 실험자는 신속하게 마우스로부터 보이지 않는 위치로 이동했다. 1~5일째는 마우스에 플랫폼의 위치를 기억시키는 트레이닝을 실시했다. 트레이닝은 1일에 4회 연속하여 행했다. 트레이닝의 수순은 마우스를 임의의 위치에서 풀에 넣고, 60초간 헤엄치게 하고, 수면 아래 1cm에 설치한 플랫폼을 탐색시켰다. 플랫폼 도달에 요하는 시간을 기록하고, 60초에 도달할 수 없는 경우에는 60초로 기록했다. 또한 시간 내에 플랫폼에 도달하지 못한 마우스는 실험자의 손으로 플랫폼으로 유도했다. 플랫폼에 도달 후, 20초간 정지하고, 마우스를 풀로부터 꺼냈다. 6일째에 프로브 시험을 행했다. 프로브 시험은 풀로부터 플랫폼을 제거하고, 마우스를 60초간 헤엄치게 하고, 풀의 각 4분원 영역 내에서의 체류 시간을 측정했다. 또한, 프로브 시험은 각 마우스에 대해 1회 행했다.

[0040] 혈액의 혈당값은 혈당값 측정 장치(Roche diagnostics), HbA1c는 효소법 측정 키트(세키스이 메디컬)를 사용하여 측정했다. 혈장 중의 트리글리세리드, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤은 효소법 측정 키트(와코준야쿠고교)를 사용하여 측정했다. 혈장 중의 산화 LDL은 ELISA 키트(Kamiya Biomedical Company)를 사용하여 측정했다. 뇌내 A $\beta$  웨პ티드 측정량은 ELISA 키트(와코준야쿠고교사)를 사용하여 측정했다. 취급 설명서의 프로토콜에 따라, 적출한 마우스 대뇌 샘플로부터 A $\beta$  획분을 조제하고, A $\beta$  1-42 및 40 잔기로 이루어지는 A $\beta$  웨პ티드(A $\beta$  1-40)를 각각 정량했다. 결과는 평균값 및 평균값의 표준 오차(SEM)로 나타냈다. 또한 Tukey-Kramer의 다중 비교에 따라 1원 배치 분산 분석을 행했다. 상이한 부호는 P<0.05에서 유의차가 있는 것을 나타낸다.

[결과]

[0042] 18주간의 사육 후, 체중은 NC군과 PC군에서 유의한 차가 확인되었지만, 판토에아군 LPS 투여군과의 차는 확인되지 않았다. 공복일 때 혈당값은 NC군과 비교하여 PC군에서 명확한 증가, 및 PC군과 비교하여 판토에아군 LPS 투여군에서 유의하게 저하되었다. 마찬가지로, HbA1c는 NC군과 비교하여 PC군에서 명확한 증가, 및 PC군과 비교하여 판토에아군 LPS 1mg/kg 체중/day군에서 유의하게 저하되었다. 또한 간장 중량 및 정소 상체 주위 백색 지방 중량은 NC군과 비교하여 PC군에서 명확한 증가, 및 PC군과 비교하여 판토에아군 LPS 투여군에서의 유의한 저하가 확인되었다(표 1). 이것으로부터, 고지방 사료를 섭취한 마우스에서는, 2형 당뇨병 유사의 증상(혈당값

이나 HbA1c값의 상승 등)을 발증하고 있고, 판토에아균 LPS의 투여에 의해, 당대사기능이 개선되는 것을 알 수 있다.

[0043]

혈중 지방질을 해석한 결과, 판토에아균 LPS 투여군에 있어서, 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤의 명확한 저하가 확인되었다. HDL 콜레스테롤은, PC군과 비교하여, 판토에아균 LPS1mg/kg 체중/day군에서는 명확한 상승이 확인되었다. 또한 혈장의 산화 LDL은 판토에아균 LPS 0.3mg/kg 체중/day보다도 판토에아균 LPS1.0mg/kg 체중/day쪽이 PC군과 비교하여 낮은 값이 되었다(표 1). 이것으로부터, 고지방 사료를 섭취한 SAMP8 마우스에 있어서, 판토에아균 LPS의 경구 투여는 당 대사 및 지방질 대사를 개선하는 것을 알 수 있다. 지금까지, 나카다 등은 당뇨병 모델 마우스(KK-Ay)에 대한 판토에아균 LPS 배합(0.02%W/W) 차음료의 경구 투여 시험에 있어서, 물을 준 컨트롤군과 비교하여, 공복일 때 혈당값이 유의하게 저하된 것, 또한, 동 판토에아균 LPS 배합 차음료의 임상 시험(이중 맹검 무작위화 비교 시험)에 있어서, 당해 음료의 섭취에 의한 LDL 콜레스테롤의 저하 및 HDL 콜레스테롤의 증가를 보고했다(비특허문현 10).

## 표 1

	NC	PC	판토에아균 LPS 0.3mg/kg 체중/day	판토에아균 LPS 1mg/kg 체중/day
초기 체중 (g)	<b>30.4±1.6<sup>a</sup></b>	<b>30.0±0.9<sup>a</sup></b>	<b>28.1±1.2<sup>a</sup></b>	<b>28.5±1.5<sup>a</sup></b>
최종 체중 (g)	<b>37.7±1.5<sup>a</sup></b>	<b>44.7±0.8<sup>b</sup></b>	<b>41.9±1.5<sup>a,b</sup></b>	<b>43.6±1.8<sup>a,b</sup></b>
음식 섭취 (g/day)	<b>3.6±0.1<sup>a</sup></b>	<b>4.0±0.2<sup>a</sup></b>	<b>4.1±0.2<sup>a</sup></b>	<b>3.9±0.2<sup>a</sup></b>
공복 혈당 (mg/dL)	<b>119.0±6.6<sup>a</sup></b>	<b>220.5±6.5<sup>b</sup></b>	<b>189.9±6.6<sup>c</sup></b>	<b>193.9±5.4<sup>c</sup></b>
HbA1c (%)	<b>3.4±0.1<sup>a</sup></b>	<b>4.4±0.2<sup>b</sup></b>	<b>4.0±0.1<sup>a,b</sup></b>	<b>3.8±0.1<sup>a</sup></b>
간장 (g)	<b>1.7±0.1<sup>a</sup></b>	<b>2.4±0.1<sup>b</sup></b>	<b>1.8±0.1<sup>a</sup></b>	<b>1.9±0.1<sup>a</sup></b>
정소 상체 지방 (g)	<b>1.0±0.1<sup>a</sup></b>	<b>1.3±0.1<sup>b</sup></b>	<b>1.0±0.1<sup>a</sup></b>	<b>1.1±0.1<sup>a</sup></b>
혈장 지질 (mg/dL)				
총 콜레스테롤	<b>49.5±9.3<sup>a</sup></b>	<b>143.8±5.2<sup>b</sup></b>	<b>88.6±9.9<sup>c</sup></b>	<b>68.1±7.5<sup>a,c</sup></b>
LDL 콜레스테롤	<b>3.9±1.3<sup>a</sup></b>	<b>16.8±4.6<sup>b</sup></b>	<b>8.0±2.0<sup>a,b</sup></b>	<b>5.2±0.7<sup>a</sup></b>
HDL 콜레스테롤	<b>44.3±5.5<sup>a,b</sup></b>	<b>39.0±4.3<sup>b,c</sup></b>	<b>39.0±2.7<sup>b,c</sup></b>	<b>54.0±3.8<sup>a</sup></b>
혈장 산화된 LDL (ng/mL)	<b>186.7±16.7<sup>a</sup></b>	<b>407.2±38.1<sup>b</sup></b>	<b>342.7±47.6<sup>b,c</sup></b>	<b>256.7±14.1<sup>a,c</sup></b>

[0044]

수중 미로 시험의 트레이닝 시험을 행한 결과, 5일간의 트레이닝에 의해, 어느 군에서도 플랫폼 도달에 요하는 시간의 단축이 확인되었지만, 군 사이에 차는 확인되지 않았다(도 1). 트레이닝 시험의 다음날에 프로브 테스트를 행했다. 마우스의 수영 궤적은 각 군에 있어서 대표적인 데이터를 도 2에 나타냈다. 플랫폼이 설치되어 있던 4분원 영역의 체류 시간에 있어서, NC군과 비교하여, PC군에서 명확한 감소가 확인되었다. 또한 판토에아균 LPS 0.3mg/kg 체중/day보다도 판토에아균 LPS 1.0mg/kg 체중/day쪽이 PC군과 비교하여 긴 시간이 되었다(도 3). 수중 미로 시험에 근거한 학습 기능 평가의 결과로부터, 판토에아균 LPS의 경구 투여에 의해, 알츠하이머 병 발증(노화 촉진) 모델 마우스의 학습기능에 관한 뇌기능이 개선되는 것을 알 수 있다.

[0046]

뇌내의 A $\beta$  축적량을 ELISA에 의해 측정한 결과, A $\beta$  1-40은 NC군과 비교하여 PC군에서 명확한 증가, 및 PC군과 비교하여 판토에아균 LPS 투여군에서 유의하게 저하되는 것이 확인되었다. 또한 A $\beta$  1-42에 대해서는, NC군 및 PC군 사이에서는 유의한 차가 확인되지 않았지만, PC군과 비교하여 판토에아균 LPS 투여군에서 유의한 저하가 확인되었다(도 4). 이것으로부터, 판토에아균 LPS는 A $\beta$ 의 뇌내 축적을 억제함으로써 알츠하이머 병의 발증(학습기능 저하 등)을 억제하는 것을 알 수 있다.

[0047]

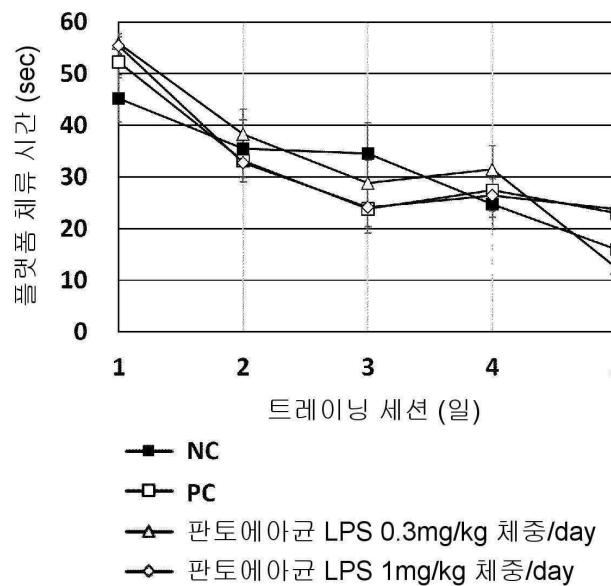
본 명세서에서 인용한 모든 간행물, 특히 및 특허출원은 그대로 참고로서, 여기에 포함되는 것으로 한다.

[0048]

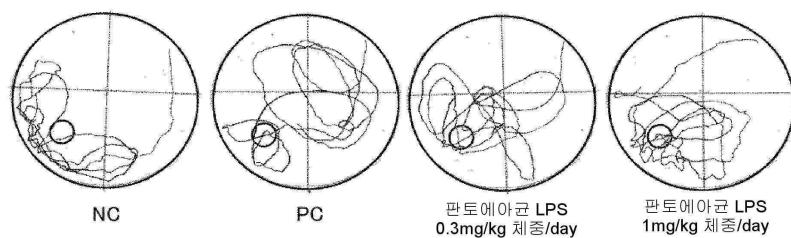
또한, 명세서, 특허청구범위 및 도면을 포함한 2017년 5월 28일에 출원한 일본 특허출원 2017-105133의 개시는 그대로 참고로서, 여기에 포함되는 것으로 한다.

## 도면

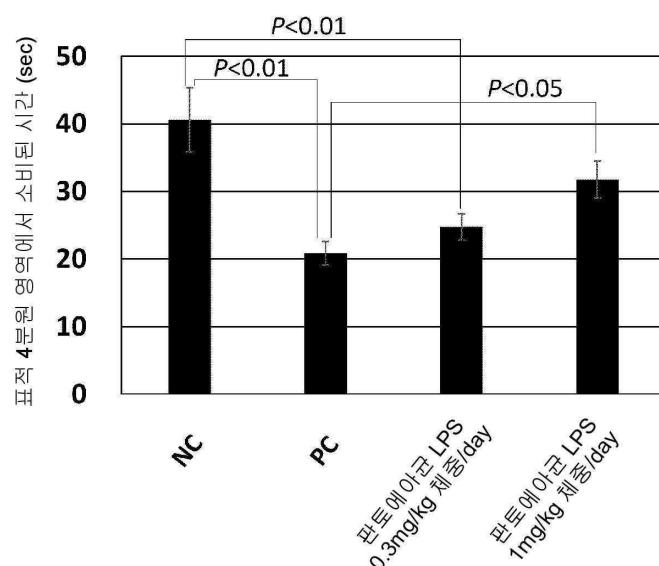
## 도면1



## 도면2



## 도면3



## 도면4

