

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7677635号
(P7677635)

(45)発行日 令和7年5月15日(2025.5.15)

(24)登録日 令和7年5月7日(2025.5.7)

(51)国際特許分類	F I
A 2 3 L 33/10 (2016.01)	A 2 3 L 33/10
A 2 3 L 33/105(2016.01)	A 2 3 L 33/105
A 6 1 K 36/8998(2006.01)	A 6 1 K 36/8998
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08

請求項の数 2 (全12頁)

(21)出願番号	特願2022-146654(P2022-146654)	(73)特許権者	398028503
(22)出願日	令和4年9月15日(2022.9.15)		株式会社東洋新薬
(62)分割の表示	特願2021-100854(P2021-100854)の分割		福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目19 番27号
原出願日	平成28年9月29日(2016.9.29)	(74)代理人	230116816
(65)公開番号	特開2022-173294(P2022-173294 A)		弁護士 成川 弘樹
(43)公開日	令和4年11月18日(2022.11.18)	(74)代理人	100174850
審査請求日	令和4年9月27日(2022.9.27)		弁理士 大崎 絵美
審判番号	不服2024-15627(P2024-15627/J 1)	(72)発明者	中島 千絵
審判請求日	令和6年9月30日(2024.9.30)		佐賀県鳥栖市弥生が丘七丁目28番地
早期審理対象出願		(72)発明者	株式会社東洋新薬内
			北村 整一
		(72)発明者	佐賀県鳥栖市弥生が丘七丁目28番地
			株式会社東洋新薬内
		(72)発明者	高垣 欣也

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗アレルギー剤、腸管免疫増強剤、乳酸菌の腸管接着性向上剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

大麦の茎及び／又は葉を有効成分とする腸内における乳酸菌の維持用経口剤。

【請求項2】

食品であることを特徴とする、請求項1に記載の経口剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗アレルギー剤、腸管免疫増強剤及び乳酸菌の腸管接着性向上剤に関する。

【背景技術】

【0002】

人の免疫システムは複数種のT細胞が司令塔の役割を果たしている。T細胞としては、主としてIgA抗体産生を促し細胞性免疫を活性化させるTh1細胞と、I型アレルギーを引き起こすIgE抗体産生を促進させて液性免疫を活性化させるTh2細胞とが知られている。このTh1細胞とTh2細胞とはお互いに抑制しあい、Th1細胞よりTh2細胞が優位に働くとアレルギー症状が起こりやすい。

【0003】

腸管には体内の免疫細胞の7割が集中して存在しているとされ、体の免疫システムの主要な役割を果たしている。近年、乳酸菌が腸管免疫において重要な働きをすることが解明されてきている。例えば乳酸菌の菌体成分は、腸管においてマクロファージや樹状細胞の

サイトカイン分泌を促進し、これによりT h 1細胞の働きを活発化することや、I g A抗体産生を促すことが知られている。これによりT h 2細胞の働きが抑制されてI g E抗体産生が抑制され、アレルギーが改善され则认为られている。

【 0 0 0 4 】

乳酸菌（及びその菌体成分）の腸管への接着は、このような腸管免疫刺激作用やそれに伴う抗アレルギー作用を高めるために非常に重要と考えられている。乳酸菌の腸管接着性を向上させる経口剤を用い、乳酸菌の腸管接着を促すことができればアレルギーの予防や改善が期待できる。そのような経口剤には安全性が高いことや安価に入手できることが求められるが、その開発は進んでおらず、患者・消費者の多様なニーズに十分に答えられていない。

10

【 0 0 0 5 】

一方青汁は、植物の茎及び／又は葉を乾燥粉末や搾汁粉末等の加工物を利用した製品であり、簡易に野菜成分を摂取できる健康食品として利用されている。青汁の素材として用いられる植物の茎及び／又は葉は安全に摂取でき安価な食品素材として知られており、これまで種々の作用が検討されているが（例えば特許文献1）、腸管免疫における乳酸菌の役割に着目した抗アレルギー作用の検討はなされてこなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 6 】

【文献】特開 2 0 0 3 - 2 6 7 8 8 0 号公報

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

従って、本発明の課題は、新たな乳酸菌の腸管接着性向上剤、腸管免疫増強剤及び抗アレルギー剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

本発明者らは、乳酸菌の腸管接着性を高めることができる物質について鋭意検討した。その結果、安価且つ安全に入手可能な素材として、青汁素材である植物の茎及び／又は葉を用いることで乳酸菌の腸管接着性を高めることができることを見出した。

30

【 0 0 0 9 】

本発明は前記知見に基づくものであり、青汁素材である植物の茎及び／又は葉を含有する抗アレルギー剤（但しインターロイキン4産生抑制による抗アレルギー剤を除く）を提供するものである。

【 0 0 1 0 】

また本発明は、青汁素材である植物の茎及び／又は葉を含有する腸管免疫増強剤及び乳酸菌の腸管接着性向上剤を提供するものである。

【発明の効果】

【 0 0 1 1 】

本発明によれば、安全に摂取でき、安価に入手でき、且つ乳酸菌の腸管接着性向上作用に優れた抗アレルギー剤、腸管免疫増強剤及び乳酸菌の腸管接着性向上剤が提供される。

40

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 2 】

【図1】図1は、実施例及び比較例の剤による腸管接着作用を評価した結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 3 】

以下、本発明をその好ましい実施形態に基づき説明する。本発明の剤は、青汁素材である植物の茎及び／又は葉（以下、単に「茎葉」とも記載する）を含有するものである。以下の説明は特に断らない限り、本発明の抗アレルギー剤、腸管免疫増強剤及び乳酸菌の腸

50

管接着性向上剤のいずれにも当てはまる。茎葉は茎のみであってもよく葉のみであってもよく、その混合物であってもよいが、葉のみ、又は茎及び葉の混合物であることが好ましい。また本発明の剤は、青汁素材である植物として、茎葉に加えて、花や根などを含有していてもよく、茎葉以外の部位を非含有であってもよい。

【0014】

青汁素材である植物としては、(1)大麦、(2)甘藷、(3)ケール、(4)桑及び(5)ボタンボウフウが好ましく挙げられる。以下これらについて説明する。

【0015】

(1)大麦(学名 *Hordeum vulgare*)としては、二条大麦、六条大麦、裸大麦などが挙げられ、これらは1種又は2種以上を組み合わせる用いることができる。大麦の茎葉は、成熟期前、すなわち、分けつ開始期から出穂開始前期に収穫されたものであることが好ましい。具体的には、品種の違いによっても異なるが、一般に、背丈が10cm以上、好ましくは10~90cm程度、特に好ましくは20~80cm程度、とりわけ30~70cm程度である大麦から、茎葉を収穫することが好ましいが、これらに限定されるものではない。本発明に用いられる大麦茎葉は、通常入手可能なものであれば特に限定されず、後述する加工方法により得られるものや、市販品を利用することができる。

【0016】

(2)甘藷(学名 *Ipomoea batatas*)としては、すいおう、ジョイホワイ、コガネセンガン、シロユタカ、サツマスターチ、アヤムラサキなどが挙げられ、これらは1種又は2種以上を組み合わせる用いることができる。甘藷の中では、ポリフェノール含有量が高いすいおうが好ましい。すいおうは、一度茎葉を収穫した後であっても、同じ茎の先端から甘藷の若茎葉が再生するという特徴があるため、生産性の点からも好適に用いられる。甘藷茎葉としては、甘藷の栽培時に、地面から外に出ている茎及びノ又は葉を用いることが好ましい。好ましくは、地上から外へ、5cm以上、より好ましくは10cm以上、更に好ましくは20cm以上出て成長した甘藷茎葉が好ましい。また、甘藷の茎が地面から外に出ている位置から甘藷茎葉の先端までの長さは、好ましくは300cm以下、より好ましくは200cm以下、更に好ましくは150cm以下である。甘藷茎葉としては、甘藷茎葉の先端部分(「甘藷の若茎葉」)が好ましく、他の茎葉に比べて、黄味がかった緑色を保持している状態の甘藷の若茎葉が更に好ましい。甘藷の若茎葉としては、甘藷茎葉の先端から100cm以内の部位の茎葉が好ましく用いられる。甘藷の若茎葉は、植物体自身がやわらかいため、加工が容易である。更に、甘藷の若茎葉は、乾燥粉末とした場合、舌触りがよく、様々な食品に利用しやすくなる。本発明に用いられる甘藷茎葉は、通常入手可能なものであれば特に限定されず、後述する加工方法により得られるものや、市販品を利用することができる。

【0017】

(3)ケールは *Brassica oleracea* L. (アブラナ属の作物)である。ケールの具体例としては、キッチンケール、ツリーケール、ブッシュケール、マローケール、コラード、緑葉カンラン、ドリングリーフ、ポルトガルケール、中国ケール、サウザンド・ヘッデッド・ケール、ジャージー・ケール等が挙げられ、これらは1種又は2種以上を組み合わせる用いることができる。本発明に用いられるケール茎葉は、通常入手可能なものであれば特に限定されず、後述する加工方法により得られるものや、市販品を利用することができる。

【0018】

(4)桑はクワ科クワ属(学名 *Morus*)の総称である。桑としては、カラヤマグワ、ヤマグワ、ログワ、シマグワ、チョウセンクワやこれらの交配種や交雑種などが挙げられる。これらは1種又は2種以上を組み合わせる用いることができる。本発明に用いられる桑の茎葉は、通常入手可能なものであれば特に限定されず、後述する加工方法により得られるものや、市販品を利用することができる。

【0019】

(5)ボタンボウフウ(学名 *Peucedanum japonicum*)は、セリ科

10

20

30

40

50

カワラボウフウ属の多年草である。別名として長命草とも呼ばれ、主に九州南部から沖縄に自生する。本発明に用いられるボタンボウフウの茎葉は、通常入手可能なものであれば特に限定されず、後述する加工方法により得られるものや、市販品を利用することができる。

【0020】

本発明では、青汁素材である植物の茎葉として、該茎葉から得られる各種の加工物を用いることができる。そのような加工物としては、例えば、茎葉を乾燥及び粉碎して得られる乾燥粉末（粉碎末と呼ばれる場合もある）、茎葉の細片化物及びその乾燥粉末、茎葉を搾汁して得られる搾汁液及びその乾燥粉末、茎葉を水、有機溶媒又はそれらの混合物で抽出することにより得られる抽出液、及びその乾燥粉末等が挙げられる。これらは、茎葉を発酵する過程を経て得られたもの（発酵物）であってもよく、発酵過程を経ずに得られたもの（非発酵物）であってもよい。

10

【0021】

例えば、茎葉を乾燥粉末化する（粉碎末とする）には従来公知の方法を用いることができる。そのような方法としては、茎葉に対して、乾燥処理及び粉碎処理を組み合わせた方法を用いることができる。乾燥処理及び粉碎処理はいずれを先に行ってもよいが、乾燥処理を先に行うことが好ましい。乾燥粉末化は、この方法に、更に必要に応じブランチング処理、殺菌処理などの処理から選ばれる1種又は2種以上の処理を組み合わせてもよい。また、粉碎処理を行う回数は1回でも、2回以上の処理を組み合わせてもよいが、粗粉碎処理を行った後に、より細かく粉碎する微粉碎処理を組み合わせることが好ましい。

20

【0022】

ブランチング処理とは、茎葉に由来する緑色を鮮やかに保つための処理であり、ブランチング処理の方法としては、熱水処理や蒸煮処理などが挙げられる。ブランチング処理における加熱温度は、好ましくは80より高い温度、より好ましくは85以上、更に好ましくは90以上の温度とすることが好ましい。加熱温度は100以下が好ましい。加熱処理における加熱時間は、好ましくは10分以下、より好ましくは5分以下、更に好ましくは3分以下、特に好ましくは10秒～1分とする。また、ブランチング処理として熱水処理を行う場合、熱水中に炭酸マグネシウムなどの炭酸塩や炭酸水素ナトリウムなどの炭酸水素塩を溶解させておくことで、茎葉の緑色をより鮮やかにすることができるため、好ましい。この場合の熱水のpHとしては好ましくは5.4以上、より好ましくは5.6以上8.4以下、更に好ましくは5.6以上8.0以下である。また、蒸煮処理としては、常圧又は加圧下において、茎葉を水蒸気により蒸煮する処理と冷却する処理とを繰り返す間歇的蒸煮処理が好ましい。間歇的蒸煮処理において、水蒸気により蒸煮する処理は、好ましくは20～40秒間、より好ましくは30秒間行われる。蒸煮処理後の冷却処理は、直ちに行われることが好ましく、その方法は、特に制限しないが、冷水への浸漬、冷蔵、冷風による冷却、温風による気化冷却、温風と冷風を組み合わせた気化冷却などが用いられる。このうち温風と冷風を組み合わせた気化冷却が好ましい。このような冷却処理は、茎葉の品温が、好ましくは60以下、より好ましくは50以下、最も好ましくは40以下となるように行われる。また、ビタミン、ミネラル類、葉緑素などの栄養成分に富んだ茎葉の粉末を製造するためには、間歇的蒸煮処理を2～5回繰り返すことが好ましい。

30

40

【0023】

また、殺菌処理とは、通常、温度・圧力・電磁波・薬剤等を用いて物理的・化学的に微生物細胞を殺滅させる処理である。これらの方法の中でも、加熱殺菌処理は、茎葉の香味を良好にすることができるため好ましい処理方法である。加熱処理の温度は、110以上で行うことが好ましく、具体的な機器としては、高圧殺菌機、加熱殺菌機、加圧蒸気殺菌機などを用いることができる。例えば、加圧蒸気殺菌による加熱処理の場合、粗粉碎された甘藷茎葉は、例えば、0.5 kg/cm²以上10 kg/cm²以下の加圧下、110以上200以下の飽和水蒸気により、2秒以上10秒以下の間、加熱殺菌処理されることが好ましい。これらの殺菌処理の後で、必要に応じて、飽和水蒸気による加熱時に

50

含んだ水分を更に乾燥することもできる。

【 0 0 2 4 】

また、乾燥処理としては、乾燥後の茎葉の水分含量が 1 0 % 以下、特に 5 % 以下となるように乾燥する処理であることが、風味が良く、色鮮やかな茎葉の乾燥粉末を得られるため、好ましい。この乾燥処理は、例えば、熱風乾燥、高圧蒸気乾燥、電磁波乾燥、凍結乾燥などの当業者に公知の任意の方法により行われ得る。加熱による乾燥は、加温により茎葉が変色しない温度及び時間で行われ得る。風味が良く、色鮮やかな茎葉の乾燥粉末を得られる点において、6 0 以上 1 5 0 以下、好ましくは 7 0 以上 1 0 0 以下で乾燥処理を行うことが好ましい。茎葉をそのまま乾燥する場合は、2 段階で乾燥を行うことが好ましい。2 段階乾燥は、例えば、熱風乾燥機などを用いて行うことができる。2 段階乾燥は、まず、水分含有量が 2 5 質量 % 以下となるまで、6 0 以上 8 0 以下の温度で一次乾燥する。次いで、一次乾燥した茎葉の水分含有量が 5 質量 % 以下となるまで、一次乾燥よりも高い温度、好ましくは 7 0 以上 9 0 以下で二次乾燥する。

10

【 0 0 2 5 】

また、粉碎処理としては、クラッシャー、ミル、ブレンダー、石臼などを用いて当業者が通常使用する任意の方法により粉碎する処理が挙げられる。粉碎された茎葉は必要に応じて篩にかけられる。

【 0 0 2 6 】

乾燥処理及び粉碎処理に追加してブランチング処理を行う場合、ブランチング処理は乾燥処理の前に行われることが好ましい。また乾燥処理及び粉碎処理に追加して殺菌処理を行う場合、殺菌処理は、乾燥処理の後か、粉碎処理の前又は後に行われることが好ましい。

20

【 0 0 2 7 】

具体的な乾燥粉末化の方法としては、例えば、茎葉を切断した後、ブランチング処理を行い、次いで水分含量が 1 0 質量 % 以下、好ましくは 5 質量 % 以下となるように乾燥し、その後粉碎する方法が挙げられる（特開 2 0 0 4 - 0 0 0 2 1 0 号公報を参照）。また例えば、茎葉を切断した後、ブランチング処理を行い、次いで揉捻し、その後、乾燥し、粉碎する方法（特開 2 0 0 2 - 0 6 5 2 0 4 号公報を参照）も挙げられる。また例えば、茎葉を乾燥し、粗粉碎した後、1 1 0 以上で加熱し、更に微粉碎する方法（特開 2 0 0 3 - 0 3 3 1 5 1 号公報を参照）も挙げられる。粉末の粒径としては、5 0 質量 % 以上、特に 7 0 質量 % 以上が 2 0 0 メッシュを通過することが好ましい。

30

【 0 0 2 8 】

茎葉を細片化する方法としては、スライス、破碎、細断等、当業者が植物体を細片化する際に通常使用する方法を用いることができる。細片化の一例として、スラリー化してもよい。スラリー化は、茎葉をミキサー、ジューサー、ブレンダー、マスコロイダーなどにかき、茎葉をどろどろした粥状（液体と固体の懸濁液）にすることにより行う。このようにスラリー化することにより、茎葉は、細片の 8 0 質量 % 以上が好ましくは平均径 1 mm 以下、より好ましくは 0 . 5 mm 以下、一層好ましくは 0 . 1 mm 以下、最も好ましくは 0 . 0 5 mm 以下となるように細片化され、流動性を有するようになる。

【 0 0 2 9 】

茎葉を搾汁する方法としては、茎葉又はその細片化物を圧搾するか、又は、茎葉の細片化物を遠心又はろ過する方法を挙げることができる。代表的な例としては、ミキサー、ジューサー等の機械的破碎手段によって搾汁し、必要に応じて、篩別、濾過等の手段によって粗固形分を除去することにより搾汁液を得る方法が挙げられ、具体的には、特開平 0 8 - 2 4 5 4 0 8 号公報や特開平 0 9 - 0 4 7 2 5 2 号公報に記載の方法が挙げられる。

40

また、茎葉の抽出物を得る方法としては、茎葉又はその細片化物に、エタノール、水、含水エタノールなどの当業者が通常用いる抽出溶媒を加え、必要に応じて加温して抽出する方法を挙げることができる。抽出物は、必要に応じて濃縮してもよい。

【 0 0 3 0 】

茎葉の加工物のうち、特に、茎葉の粉碎物（粉碎末等）、又は、搾汁（搾汁末等）を用いることが、本発明の剤をより一層色が鮮やかで風味が良好なものとできる点や、食物繊

50

維の豊富なものとできる点等から好ましい。加工物としては市販されているものを使用できる。例えば大麦であれば、市販の大麦茎葉の粉碎末（商品名「大麦若葉末」等）や搾汁粉末（商品名「大麦若葉エキス」等）を使用でき、甘藷であれば例えば市販の甘藷茎葉の粉碎末（商品名「すいおう」等）を使用することができる。

【0031】

本発明の剤は、乳酸菌の腸管接着作用が高まる点から、青汁素材である植物が、前記（１）大麦、（２）甘藷、（３）ケール、（４）桑及び（５）ボタンボウフウのうち、２種以上を含むことが更に好ましい。とりわけ青汁素材である植物が、（１）大麦と、（２）甘藷、（３）ケール、（４）桑及び（５）ボタンボウフウから選ばれる少なくとも１種とを含むことが好ましい。より好ましくは（１）大麦と、（２）甘藷、（３）ケール、（４）桑及び（５）ボタンボウフウから選ばれる２種以上とを含むことが好ましい。（１）と、（２）～（５）から選ばれる２種以上とを含有する場合は特に（１）大麦と、（３）ケールと、（５）ボタンボウフウとを含むことが好ましい。最も好ましいのは、（１）大麦、（２）甘藷、（３）ケール、（４）桑及び（５）ボタンボウフウを全て含有することである。

10

【0032】

本発明の剤における青汁素材である植物の茎葉の合計量は、本発明の剤中、乾燥質量で０．０１質量％以上９０質量％以下であることが好ましく、０．０５質量％以上８０質量％以下であることがより好ましく、０．１質量％以上７０質量％以下であることが特に好ましい。ここでいう合計量とは、本発明の剤が青汁素材である植物として１種のみしか含有していない場合はその含有量である。本発明の剤が前記（１）～（５）のいずれかの植物の茎葉を含有する場合、本発明の剤における（１）～（５）の植物の茎葉の合計量の好ましい範囲は、前記青汁素材である植物の茎葉の合計量と同様である。

20

【0033】

特に、本発明の剤による乳酸菌の腸管接着効果を高める点から、前記（１）～（５）のいずれかの植物の茎葉を含有する場合、（１）～（５）の各植物の茎葉は、本発明の剤中、乾燥質量で０．０１質量％以上８０質量％以下含まれることが好ましく、０．０５質量％以上７０質量％以下含まれることがより好ましく、０．１質量％以上５０質量％以下含まれることが特に好ましい。

【0034】

本発明の剤が、前記（１）と、（２）～（５）のいずれか１種以上とを含有する場合は、（１）の乾燥質量１００質量部に対して（２）～（５）の合計乾燥質量が０．１質量部以上１０００質量部以下であることが好ましく、０．５質量部以上８００質量部以下であることがより好ましく、１質量部以上５００質量部以下であることが特に好ましい。

30

【0035】

本発明の剤は、植物由来成分として、実質的に（１）～（５）のみからなるものであってもよく、その他の植物由来成分を有していてもよい。例えば、本発明の剤における（１）～（５）以外の植物由来成分は、例えば本発明の剤中、７０質量％以下であることが好ましく、５０質量％以下であることがより好ましい。

【0036】

本発明の剤は、乳酸菌を非含有であってもよいが、乳酸菌を含有していることが、乳酸菌の腸管接着効果をより高める点から好ましい。乳酸菌は生菌であっても死菌であってもよい。生菌である場合は、腸内環境改善の点から好ましいが、死菌であってもよい。これは生菌のみならず死菌の菌体成分も、腸管免疫を刺激するものとされていることに基づく。本発明で使用される乳酸菌としては、代謝産物として乳酸を産生するものであれば特に限定されず、ヒトなどの動物において従来経口摂取されているものが挙げられ、例えば、*Bifidobacterium*属、*Lactobacillus*属、*Enterococcus*属、*Leuconostoc*属、*Pediococcus*属、*Staphylococcus*属、*Tetragenococcus*属、*Bacillus*属のものが挙げられる。

40

50

*Bifidobacterium*属としては、*Bifidobacterium bifidum*、*Bifidobacterium breve*、*Bifidobacterium infantis*、*Bifidobacterium lactis*、*Bifidobacterium longum*、*Bifidobacterium adolescentis*、*Bifidobacterium mongoliense*が挙げられる。

*Lactobacillus*属としては、*Lactobacillus brevis*、*Lactobacillus gasseri*、*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus buchneri*、*Lactobacillus bulgaricus*、*Lactobacillus delburvecki*、*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus crispatus*、*Lactobacillus curvatus*、*Lactobacillus hali*
vaticus、*Lactobacillus pentosus*、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus paracasei*、*Lactobacillus rhamnosus*、*Lactobacillus salivarius*、*Lactobacillus sporogenes*、*Lactobacillus sakei*、*Lactobacillus fructivorans*、*Lactobacillus hilgardii*、*Lactobacillus reuteri*、*Lactobacillus fermentum*が挙げられる。

*Enterococcus*としては、*Enterococcus faecalis* (*Streptococcus faecalis* と称されることもある)、*Enterococcus faesium* (*Streptococcus faesium* と称されることもある)、*Streptococcus thermophilus*、*Lactococcus lactis* (*Streptococcus lactis* と称されることもある) が挙げられる。

*Leuconostoc*属としては、*Leuconostoc mesenteroides*、*Leuconostoc oenos* が挙げられる。

*Pediococcus*属としては、*Pediococcus acidilactici*、*Pediococcus pentosaceus*が挙げられる。

*Staphylococcus*属としては、*Staphylococcus carnosus*、*Staphylococcus xylosus*が挙げられる。

*Tetragenococcus*属としては、*Tetragenococcus halophilus*が挙げられる。*Bacillus*属としては、*Bacillus coagulans*、及び*Bacillus mesentericus*などが挙げられる。

とりわけ、*Bacillus coagulans*、*Enterococcus faecalis*、*Bifidobacterium bifidum*、*Enterococcus faesium*、*Lactobacillus acidophilus*が好ましい。これらは、1種を単独で使用してもよいし、2種以上を併用してもよい。

【0037】

本発明の剤が乳酸菌を含有する場合、乳酸菌の含有量は特に限定されないが、例えば菌体数として、本発明の剤中、 1×10^3 個以上、好ましくは 1×10^5 個以上 1×10^{20} 個以下、更に好ましくは 1×10^7 個以上 1×10^{15} 個以下とすることが、製剤の容易性及び乳酸菌の腸管付着効果を高める点から好ましい。

【0038】

本発明の剤は乳酸菌を含有する場合、乳酸菌と前記植物の茎葉とが同一剤に含まれていてもよく別々の剤に含まれていてもよい。別々の剤に含まれている場合は、本発明の剤は2剤以上の多剤型となる。同一剤に含まれている場合、本発明の剤は、1剤型であっても多剤型であってもよいが1剤型であることが摂取の簡便性等の点で好ましい。本発明の剤の剤形は、1剤型及び多剤型のいずれに関わらず、固体状、液状、ペースト状、ゲル状などが挙げられる。例えば、固体状としては、粉末状、粒状、顆粒状、錠状、棒状、板状、ブロック状、固形状、ハードカプセルやソフトカプセルのようなカプセル状、カプレット

状、タブレット状、チュアブル状、スティック状等の各形態が挙げられる。液状としては例えば流動状、シロップ状等が挙げられる。これらは薬学的に許容される基材や担体を添加して、公知の製剤方法によって、各種の剤形に製剤可能である。

【 0 0 3 9 】

例えば、乳酸菌を含有する本発明の剤の好ましい剤型としては、乳酸菌と前記植物の茎葉とを含み、粉末状、細粒状、顆粒状、錠状、ソフトカプセルやハードカプセル等のカプセル状、液状のいずれかである第1剤型の形態や、前記植物の茎葉を含み、粉末状、細粒状、顆粒状、錠状、ソフトカプセルやハードカプセル等のカプセル状、液状である第1剤と、乳酸菌を含み、粉末状、細粒状、顆粒状、錠状、ソフトカプセルやハードカプセル等のカプセル状、液状のいずれかである第2剤とを有する2剤型の形態などが挙げられる。なお、本発明においては前記植物の茎葉を含む第1剤を単独で使用するにより、腸内に存在する乳酸菌やビフィズス菌の腸管接着性を向上させることもできる。

10

【 0 0 4 0 】

本発明の剤の経口摂取方法は限定されず、そのまま摂取するのであってもよく、また剤を水やお湯、牛乳、ヨーグルトなどに分散又は溶解させたものを摂取するのであってもよい。また本発明の剤が多剤型である場合は、複数剤を同時に摂取してもよく、別のタイミングで摂取してもよい。別のタイミングで摂取する場合は、例えば乳酸菌含有剤と植物茎葉含有剤とでいずれを先に摂取してもよいが、両者の摂取の時間差としては24時間以内が好ましく、18時間以内がより好ましく、15時間以内が特に好ましい。また2剤の摂取方法は、同じであっても異なってもよく、異なる場合は例えば、乳酸菌含有剤はそのまま摂取し、植物茎葉含有剤は水やお湯、牛乳、ヨーグルトなどに分散して摂取する、という例があげられ、これは逆であってもよい。

20

【 0 0 4 1 】

本発明の剤は前記植物の茎葉及び乳酸菌以外に、通常使用される他の成分を、本発明の効果を損なわない範囲で含有してもよい。このような成分としては、種々の賦形剤、結合剤、光沢剤、滑沢剤、安定剤、希釈剤、増量剤、増粘剤、乳化剤、酸化防止剤、pH調整剤、着色料、香料、添加剤などを挙げることができる。その他の成分の含有量は、本発明の剤の形態等に応じて適宜選択することができる。また本発明の剤が多剤型である場合、いずれの剤にいずれの他の成分を含有するかについても、その剤の形態に応じて適宜選択される。

30

【 0 0 4 2 】

本発明の剤の1日の経口投与量は前記植物の茎葉の乾燥質量として10mg以上であることが好ましい。本発明の剤は、連続的に、例えば毎日でも投与でき、長期的、例えば1ヶ月以上の間投与を継続して差し支えない。

【 0 0 4 3 】

本発明の剤が乳酸菌を含有する場合もしない場合も、前記植物の茎葉の経口投与量を前提として、乳酸菌の1日の経口投与量は 1×10^3 個以上、特に 1×10^5 個以上 1×10^{20} 個以下であることが好ましい。

【 0 0 4 4 】

本発明の剤は、後述する実施例の記載から明らかな通り、前記植物の茎葉の作用により乳酸菌の腸管接着性を高めることができる。ここでいう腸管接着性とは、好ましくは腸管上皮（腸管上皮細胞）への接着性をいう。

40

このため、本発明の剤はこれを経口摂取することで、腸管における乳酸菌の作用を高めることができ、例えば腸管免疫増強剤として用いることができるほか、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症、湿疹、蕁麻疹等の発疹、下痢や嘔吐等のアレルギー症状の予防や改善を図ることができる。前記の腸管免疫増強剤の作用は、Th1細胞の働きを活性化したり、IgA抗体産生を促すことを含む。本発明の剤は、ヒトに対して好適に適用されるものであるが、それぞれの作用効果が奏される限り、ヒト以外の動物（例えば、マウス、ラット、ハムスター、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、サル等）に対して適用することもできる。本発明のアレルギー剤からは、インターロイキン4産生を抑制することにより抗

50

アレルギー作用を発揮するものを除くものとする。

【0045】

本発明の剤により腸管接着（付着）性を高める対象となる乳酸菌としては、本発明の剤に含有されていてもよい乳酸菌として前記で上げたものと同様のものを挙げることができる。本発明は、本発明の剤を含有する食品又は医薬品、医薬部外品などを提供する。本発明は乳酸菌とともに本発明の剤を摂取して腸管における乳酸菌接着を促す方法（但し医療行為を除く）を提供する。

【実施例】

【0046】

以下、実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明する。しかし本発明の範囲はかかる実施例に限定されない。以下、特に断らない場合「%」は質量%、「部」は質量部を表す。

【0047】

大麦茎葉として、出穂前に刈り取った茎及び葉を乾燥及び粉碎処理して得られた粉碎末（株式会社東洋新薬製）を用いた。甘藷茎葉として、茎葉の先端から30～80cmの長さで刈り取った甘藷の茎及び葉を乾燥及び粉碎処理して得られた粉碎末（同社製）を用いた。ケールとして、ケールの茎及び葉を乾燥及び粉碎処理して得られた粉碎末（同社製）を用いた。桑として、桑の茎及び葉を乾燥及び粉碎処理して得られた粉碎末（同社製）を用いた。ボタンボウフウとして、ボタンボウフウの茎及び葉を乾燥及び粉碎処理して得られた粉碎末（同社製）を用いた。これらの粉碎末は、いずれも200メッシュ区分を90質量%以上が通過するものであり、また水分量は5質量%以下であった。これらの粉碎末を被験物質として以下の接着能試験に供した。

【0048】

（接着能試験）

（1）96well plateを用いたmonolayer作製

37℃、5体積%CO₂インキュベーター内で、75cm²フラスコを用いて、通常培地にて腸管上皮細胞株Caco-2細胞を培養した。この通常培地は、44.5 mL DMEM（1%ペニシリン-ストレプトマイシン含有）へ5 mL FBS（Japan Bio Serum社）及び0.5 mL NEAA（Non-Essential Amino Acids、SIGMA社）を加えて調製した。トリプシン処理により浮遊させた細胞を、75 cm²フラスコから96well clear plateに4.0×10⁴ cells/wellの細胞密度で播種した。37℃、5体積%CO₂インキュベーター内で72時間培養し、monolayerを作製した。

【0049】

（2）B coagulansの蛍光標識 - 80℃でグリセロールストックされたBacillus coagulansを室温（25℃）にもどし、37℃に温めたMRS液体培地に播種した。37℃で24時間培養したものを試験に用いた。

前培養したB. coagulansを採取し、室温・1000gで3分間遠心した。上清を除いて得たペレットを1 mLのリン酸緩衝生理食塩液（PBS）へ懸濁し、室温・1000gで3分間遠心した。同様の懸濁及び遠心をもう1度繰り返し、上清を取り除いてペレットを1 mLのPBSへ懸濁し、carboxyfluorescein diacetate（CFDA、同仁化学研究所社製）を15 µL添加した。遮光し室温で30分間インキュベートした後、室温・1000gで3分間遠心した。上清を除き1 mLのPBSへ懸濁し、室温・1000gで3分間遠心する操作を2回繰り返した。その後、上清を除き試験培地へ懸濁した。なおblankとしてCFDAを添加しない以外は同様の操作を行ったものを用意した。試験培地としては45 mL RPMI 1640培地（1%ペニシリン-ストレプトマイシン含有）へ5 mLのFBS（Japan Bio Serum社）を加えたものを用いた。前記懸濁液をBlack plateへ100 µL移し蛍光強度を測定した。励起波長は495 nm、蛍光波長515 nmとした。測定した蛍光強度からblankの値を差し引き、蛍光強度が200になるよう試験培地を用いて希釈しこれをB. coagulansサンプルとした。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 0 】

(3) 蛍光強度測定による B . c o a g u l a n s 接着能評価

(1) で作製した C a c o - 2 細胞の m o n o l a y e r の培地を通常培地から前記試験培地へ置換した。培地を除き、被験物質を試験培地に分散させた分散液、及び (2) で調製した B . c o a g u l a n s サンプルを 1 0 0 μ L ずつ 9 6 w e l l p l a t e へ添加した (B . c o a g u l a n s 最終蛍光強度 1 0 0) 。 3 7 ℃ の 5 体積 % C O ₂ インキュベーター内で 2 時間培養後、各 w e l l にホルマリン 1 5 0 μ l 添加し、遮光して 4 時間で 3 0 分間固定した。 P B S で 3 回洗浄し、 P B S を 1 0 0 μ l 添加したのち v a r i o s k a n で蛍光強度を測定した (励起波長 4 9 5 n m 、 蛍光波長 5 1 5 n m) 。測定値に基づき、乳酸菌のみを添加したサンプル蛍光強度に対する相対値 (%) を算出し、これを乳酸菌の腸管細胞 m o n o l a y e r への接着率とした。結果を図 1 に示す。なお、被験物質のインキュベート時の C a c o - 2 細胞培養液中の濃度は、下記表 1 に記載の通りである (表 1 の数値の単位は μ g / m L) 。

【 0 0 5 1 】

【表 1】

	比較例	実施例										
No.	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
大麦		400					300	300	300	300	300	328.6
甘藷			400				100					17.9
ケール				400				100			50	17.9
桑					400				100			17.9
ボタン ボウフウ						400				100	50	17.9

【 0 0 5 2 】

図 1 の結果から、青汁素材である植物の茎葉は、乳酸菌の腸管接着率を高めることが判る。更に、大麦茎葉を含む 2 種以上の植物の茎葉を用いると、更に乳酸菌の腸管接着率が高くなることが判る。

10

20

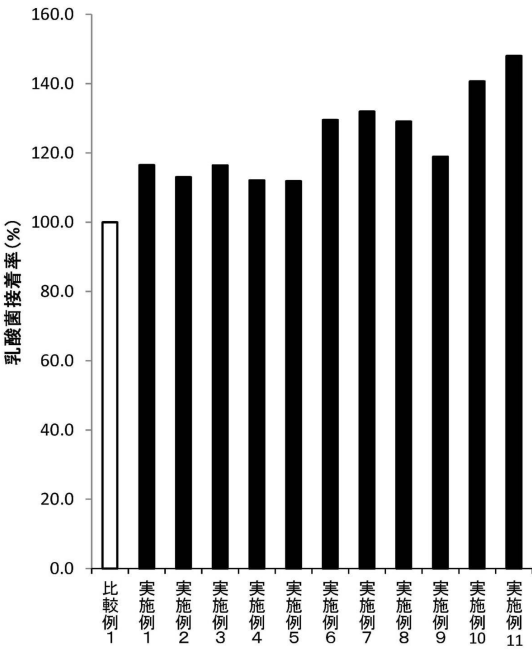
30

40

50

【図面】

【図 1】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

佐賀県鳥栖市弥生が丘七丁目 2 8 番地 株式会社東洋新薬内

合議体

審判長 植前 充司

審判官 浅野 美奈

審判官 宮久保 博幸

(56)参考文献 特許第 5 5 5 6 9 4 5 (J P , B 1)

特開 2 0 1 6 - 1 6 9 2 0 2 号公報 (J P , A)

大麦若葉の効能と効果, 大麦若葉が、ガン予防、成人病予防に！環境ホルモンから身を守る！, [online], 20081207, [令和6年4月11日検索], インターネット<URL: https://web.archive.org/web/20081207044236/https://www.rakuten.ne.jp/gold/kaisotonya/ohmugi_ex.html>

森川 琢海, 友澤 寛, 北村 整一, 鐔田 仁人, 山口 和也, 大麦若葉末の粒度の違いが整腸, 腸管免疫機能および腸内細菌叢に及ぼす影響について, ニューフードインダストリー, 第57巻

青塚 康幸, 大麦若葉エキスのストレスおよび免疫機能に及ぼす影響について, ニューフードインダストリー, 平井 朋美, 第57巻

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A61K

A61P

A23L

Google