

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7523905号  
(P7523905)

(45)発行日 令和6年7月29日(2024.7.29)

(24)登録日 令和6年7月19日(2024.7.19)

| (51)国際特許分類               | F I             |
|--------------------------|-----------------|
| A 6 1 K 31/202 (2006.01) | A 6 1 K 31/202  |
| A 2 3 L 33/12 (2016.01)  | A 2 3 L 33/12   |
| A 2 3 L 33/175 (2016.01) | A 2 3 L 33/175  |
| A 6 1 K 31/197 (2006.01) | A 6 1 K 31/197  |
| A 6 1 K 31/4188(2006.01) | A 6 1 K 31/4188 |

請求項の数 7 (全18頁) 最終頁に続く

|                   |                               |
|-------------------|-------------------------------|
| (21)出願番号          | 特願2019-512889(P2019-512889)   |
| (86)(22)出願日       | 平成29年9月29日(2017.9.29)         |
| (65)公表番号          | 特表2019-534853(P2019-534853 A) |
| (43)公表日           | 令和1年12月5日(2019.12.5)          |
| (86)国際出願番号        | PCT/EP2017/074729             |
| (87)国際公開番号        | WO2018/060395                 |
| (87)国際公開日         | 平成30年4月5日(2018.4.5)           |
| 審査請求日             | 令和2年9月16日(2020.9.16)          |
| 審判番号              | 不服2022-10262(P2022-10262/J 1) |
| 審判請求日             | 令和4年7月1日(2022.7.1)            |
| (31)優先権主張番号       | 62/401,443                    |
| (32)優先日           | 平成28年9月29日(2016.9.29)         |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 |                               |

最終頁に続く

|          |  |
|----------|--|
| (73)特許権者 | 590002013<br>ソシエテ・デ・プロデュイ・ネスレ・エ<br>ス・アー<br>スイス, 1800 ヴヴェイ, アヴェ<br>ニュー ネスレ 55 |
| (74)代理人  | 100088155<br>弁理士 長谷川 芳樹  |
| (74)代理人  | 100107456<br>弁理士 池田 成人   |
| (74)代理人  | 100162352<br>弁理士 酒巻 順一郎  |
| (74)代理人  | 100140453<br>弁理士 戸津 洋介   |
| (74)代理人  | 100167597<br>弁理士 福山 尚志   |

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 認知症でない患者における神経保護薬としての、 3脂肪酸、一酸化窒素放出化合物及び  
ビタミンB12

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB6と、ビタミンB9と、ビタミンB12との組み合わせを含み、認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるための組成物であって、前記組成物の一日用量が、1日当たり0.1mg~1.5mgのビタミンB12を提供し、前記一酸化窒素放出化合物が、シトルリンを含み、前記3脂肪酸が、ドコサヘキサエン酸及びエイコサペンタエン酸を含む、組成物。

【請求項2】

前記組成物が、前記組成物に対して1~50重量%の量の3脂肪酸と、前記組成物に対して1~20重量%の量の一酸化窒素放出化合物と、1日当たり0.1mg~1.5mgのビタミンB12と、を含む請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記組成物が、タンパク質、炭水化物、脂肪、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される成分を含む食品製品である、請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】

前記組成物が製薬上許容できる担体、希釈剤及び賦形剤からなる群から選択される成分を含む医薬組成物である、請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項5】

認知的加齢の低減又は予防を必要とするか、あるいは認知的加齢のリスクがある認知症ではない個体において、認知的加齢を低減又は予防するために用いられる、請求項1~4

のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるための食品組成物を製造する方法であって、タンパク質、炭水化物及び脂肪からなる群から選択される少なくとも1つの成分に、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB6と、ビタミンB9と、ビタミンB12との組み合わせを添加するステップを含み、前記食品組成物が、1日当たり0.1mg~1.5mgのビタミンB12を提供し、前記一酸化窒素放出化合物が、シトルリンを含み、前記3脂肪酸が、ドコサヘキサエン酸及びエイコサペンタエン酸を含む、方法。

【請求項 7】

認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるための医薬組成物を製造する方法であって、製薬上許容できる担体、希釈剤及び賦形剤からなる群から選択される少なくとも1つの成分に、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB6と、ビタミンB9と、ビタミンB12との組み合わせを添加するステップを含み、前記医薬組成物が、1日当たり0.1mg~1.5mgのビタミンB12を提供し、前記一酸化窒素放出化合物が、シトルリンを含み、前記3脂肪酸が、ドコサヘキサエン酸及びエイコサペンタエン酸を含む、方法。

10

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

[0001]本開示は、全体的に、認知症でない個体における認知的加齢を低減させる組成物及び方法に関する。より具体的には、本開示は、3脂肪酸と、窒素酸化物放出化合物と、多量のビタミンB12との組み合わせを含む組成物を投与することによる、認知的加齢の低減に関する。

20

【0002】

[0002]人口の高齢化は、顕著な人口統計的事象である。寿命の長期化により、高齢者人口の増加が総人口の増加を上回るにつれて、高齢者人口の残り人口に対する割合は、出生率の低下もあって大幅に増加している。例えば、1950年代には60歳以上の高齢者は12人に1人であったのが、2000年代の終わりには60歳以上の高齢者は10人に1人となっていた。2050年代の終わりまでには、世界的に5人に1人が60歳以上の高齢者となると予測されている。

30

【0003】

[0003]高齢者や老化している個体は、しばしば加齢に伴う認知機能の低下などといった認知障害をある程度有しており、また加齢に伴う脳の形態的及び脳血管機能的な変化が一般的に観察される。認知機能低下は、処理スピード、注意、エピソード記憶、空間能力及び実行機能などを含む、認知ドメインの範囲全体の老化を伴うものとしてこれまで報告されている。脳の画像解析により、これらの通常に加齢に関連する認知機能の低下は、脳の灰白質及び白質の両方の体積減少と関連しており、加齢に伴い前頭線条体系が最も重く損傷を受けることが判明している。皮質体積のこのような減少は、例えば、時間経過に伴い酸化損傷をもたらすフリーラジカルによる損傷の蓄積、慢性的な軽度の炎症、ホモシステインの蓄積（ホモシステイン量が多くなると、認知障害及び認知症に対するリスク因子となる）、及びミトコンドリア機能の低下などの、通常老化による多くの有害な細胞プロセスに起因し得る。直接的な細胞の損傷に加え、脳は、微小血管構造の傷害からも間接的な損傷を受ける。老化、更には認知症の病理が、これらの因子間の複雑な相互作用を内包することは明らかであり、また各作用は相関するものである。例えば、ミトコンドリアの機能不全は結果として酸化ストレスを増加させ、酸化ストレスは炎症及び血管損傷のトリガーとなり得る。

40

【0004】

[0004]更に、認知機能の低下はアルツハイマー病理の初期の予測因子であり、認知症の発症前に始まる。この場合、認知についての総合得点が、認知症前の認知機能の低下を評価するための信頼性の高い手段となる。多くのエビデンスから、脳の健康を維持し、加齢

50

による認知機能低下を予防することで、アルツハイマー病及び他の加齢関連の神経病理による認知症の進行を予防又は遅延させることができることが示唆されている。

#### 【0005】

[0005]加齢による認知機能の低下を予防し得る介入方法として、近年、栄養摂取、学習、運動及び認知エクササイズが注目されている。認知症リスク及び加齢関連の神経変性を低減させる個々の栄養因子の存在を裏付ける臨床的、疫学的及び個別的なエビデンスは数多くある。しかしながら、栄養学的な介入に関する正式な試験では、結果が錯綜している (Schmitt et al., Nutrition Reviews 68: S2~S5 (2010))。

#### 【0006】

[0006]いくつかの長期試験が行われたが、B6と、B12と葉酸塩との組み合わせを使用した介入では、認知機能に対するいかなる利益も観察できなかった。McMahon et al. (2006) N Engl J Med, 354(26), 2764~2772によると、65歳以上の成人に、葉酸塩(1000µg)と、ビタミンB12(500µg)と、ビタミンB6(10mg)とを含有するサプリメントを2年間摂取させた後であっても、認知機能への効果が確認できなかった。同様に、Hankey et al. (2013) (Stroke, 44(8), 2232~2239)によると、脳卒中又は一過性脳虚血発作を起こしたことがあるものの認知機能が損なわれていない患者に対し、葉酸(2000µg)と、ビタミンB6(25mg)と、ビタミンB12(500µg)とを毎日摂取させた場合、2.8年間(中央値)にわたりMMSEにより測定されたとおり、平均tHcyは低下したが、認知障害又は認知機能低下の発生率に対する効果はなかった。

#### 【0007】

[0007]いくつかの短期試験においてもまた、認知機能を改善するために、B6と、B12と、葉酸塩とを組み合わせる効果が示すことができなかった。Lewerin et al. (2005) Am J Clin Nutr, 81(5), 1155~1162によると、葉酸(800µg)と、ビタミンB12(500µg)と、ビタミンB6(3mg)とを4ヶ月間補給しても、高齢成体(年齢中央値76歳)の認知機能に効果はなかった。

#### 【発明の概要】

#### 【0008】

[0008]理論に拘束されるものではないが、本発明らは、認知症リスク及び加齢関連の神経変性の低減を試みる従来の栄養的介入は、栄養分を単独で投与することに目を向けており、それらを賢く(INTELLIGENTLY)組み合わせ、栄養素の相互作用により効果の程度を増強させるものではなかったものとする。更に、認知機能に対する混合成分の効果を試験した研究では、全て同じ機序を標的とする成分の混合物を使用しており(例えば、Hcy濃度を標的とする葉酸塩、B12、B6混合物の混合物、又は酸化損傷を標的とするビタミンC及びEの混合物)、この点が、このエビデンスが単一成分による研究と同様の矛盾を示す理由である可能性がある。したがって、本開示は、広義には、各栄養的介入が、認知機能低下に関連する異なるリスク因子を標的とする複数の介入アプローチに関する。

#### 【0009】

[0009]したがって、広義の実施態様において、本開示は、認知的加齢の低減、治療又は予防を必要とするか、あるいは認知的加齢のリスクがある認知症ではない個体において、認知的加齢を低減、治療又は予防する方法を提供する。この方法は、-3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12とを含む組成物を治療的に有効な量で個体に投与するステップを含む。本組成物は、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する一日用量で投与される。

#### 【0010】

[0010]より好ましい実施形態では、一日用量は、1日当たりに推奨所要量(RDA)の約200倍、例えば1日当たりにRDAの100~300倍、又は好ましくは150~2

10

20

30

40

50

50倍のビタミンB12を提供する。

【0011】

【0011】一実施形態では、個体は例えば老齡のヒトなどの高齡成体である。

【0012】

【0012】一実施形態では、個体はベースラインにおいて低DHA状態を有する。一実施形態では、個体はベースラインにおいて0.5の臨床的認知症尺度(CDR)を有する。一実施形態では、個体はベースラインにおいて少なくとも12 $\mu\text{mol/L}$ の血漿ホモシステイン濃度を有する。一実施形態では、個体はベースラインにおいて10~15の心臓血管リスク因子、老化及び認知症(Cardiovascular Risk Factors, Aging and Dementia(CAIDE))リスクスコアを有する。一実施形態では、個体はベースラインにおけるアミロイドPETスキャンでアミロイド陽性である。一実施形態では、個体は認知機能低下のリスクを示す遺伝子型を有する。

10

【0013】

【0013】一実施形態では、組成物は、個体に少なくとも1ヶ月間、毎日経口投与される。

【0014】

【0014】一実施形態では、一酸化窒素放出化合物は、シトルリンを含む。

【0015】

【0015】一実施形態では、3脂肪酸は、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸及びそれらの混合物からなる群から選択される脂肪酸を含む。

【0016】

【0016】一実施形態では、組成物は、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB5、ビタミンB6、ビタミンB7及びビタミンB9からなる群から選択される1種以上の追加のビタミンB類を含み、好ましくは少なくともビタミンB6及び/又はビタミンB9を、より好ましくはビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB5、ビタミンB6、ビタミンB7及びビタミンB9の全てを含む。

20

【0017】

【0017】一実施形態では、組成物は、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、セレン及びコリンからなる群から選択される1つ以上の抗酸化剤、好ましくはコリン重酒石酸塩を含む。

【0018】

【0018】別の実施形態では、本開示は、認知的加齡の低減、治療又は予防の必要があるか、あるいは認知的加齡のリスクがある認知症ではない個体の認知的加齡を低減、治療又は予防する方法を提供し、当該方法は、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12とを含む組成物を治療的に有効な量でかかる個体に投与するステップを含み、組成物は、1日当たり約0.4mg~約1.0mgのビタミンB12を提供する一日用量で投与される。

30

【0019】

【0019】別の実施形態では、本開示は、脳萎縮の低減、シナプス数の増加又は維持、アミロイド-食作用の増加又は維持、並びに神経炎症の減少からなる群から選択される利益のうち1つ以上を、かかる利益を必要とする認知症ではない個体において得る方法を提供する。本開示はまた、神経細胞の細胞膜流動性の改善、神経可塑性及び活性の刺激、抗炎症性の改善、活性酸素種(ROS)及び/又は標的一酸化窒素放出の低減からなる群から選択される利益のうち1つ以上を得る方法を提供する。本開示はまた、認知パフォーマンスの支持又は維持、脳パフォーマンスの支持又は維持、脳の加齡の緩徐化、活性化された意識及び脳の適応性の維持、健康な脳の支持又は維持、記憶の強化、実行機能の強化、注意の強化、認知健康の維持、脳細胞の健康維持などから選択される利益のうち1つ以上を得る方法を提供する。そのような利益のいずれも、本明細書で定義される方法、好ましくは低減、治療又は予防を必要とするか、あるいは認知的加齡のリスクがある認知症ではない認知的加齡を低減、治療又は予防する方法によって達成することができる。当該方法は、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12とを含む組成物を治療

40

50

的に有効な量で個体に投与するステップを含み、ビタミンB12は好ましくは本明細書に記載の量で含まれる。本組成物は典型的には、本明細書で定義されるとおり、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する一日用量で投与される。一日用量は、1日当たりに推奨所要量(RDA)の約200倍、例えば1日当たりにRDAの100~300倍、又は好ましくは150~250倍のビタミンB12を提供することができる。一酸化窒素放出化合物は、シトルリンを含むことができ、3脂肪酸は、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸及びそれらの混合物からなる群から選択される脂肪酸を含むことができる。

#### 【0020】

[0020]別の実施形態では、本開示は、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12との組み合わせを含む組成物を提供する。組成物の一日用量は、本明細書で定義されるとおり、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する。組成物は、認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるのに有効な量での組み合わせを含む。組成物は、タンパク質、炭水化物、脂肪、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される成分を含む食品製品であり得る。組成物は、製薬上許容できる担体、希釈剤及び賦形剤からなる群から選択される成分を含む医薬組成物であり得る。

10

#### 【0021】

[0021]別の実施形態では、本開示は、認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるための食品組成物の製造方法を提供する。方法は、タンパク質、炭水化物及び脂肪からなる群から選択される少なくとも1つの成分に、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12との組み合わせを有効量で添加するステップを含む。食品組成物の一日用量は、本明細書で定義されるとおり、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する。

20

#### 【0022】

[0022]別の実施形態では、本開示は、認知症ではない個体の認知的加齢を低減させるための医薬組成物を製造する方法を提供し、当該方法は、製薬上許容できる担体、希釈剤、及び賦形剤からなる群から選択される少なくとも1つの成分に、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12との組み合わせを有効量で添加するステップを含む。医薬組成物の一日用量は、本明細書で定義されるとおり、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する。

30

#### 【0023】

[0023]別の実施形態では、本開示は、認知症のリスクを有する個体における認知症の予防方法を提供する。方法は、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12とを含む組成物を治療的に有効な量で個体に投与するステップを含む。組成物は、本明細書で定義されるとおり、1日当たりに推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する一日用量で投与される。一日用量は、1日当たりに推奨所要量(RDA)の約200倍、例えば1日当たりにRDAの100~300倍、又は好ましくは150~250倍のビタミンB12を提供することができる。予防される認知症は、アルツハイマー病、血管性認知症、レヴィー小体認知症、前頭側頭型認知症及びそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

40

#### 【0024】

[0024]別の実施形態では、本開示は、認知症ではない個体(例えば改善を必要とする個体)の認知能力を改善する方法を提供し、当該方法は、当該個体に、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、ビタミンB12とを含む組成物を治療的に有効な量で投与するステップを含み、組成物は、好ましくは本願明細書において定義される1日当たりの推奨所要量(RDA)の50~500倍のビタミンB12を提供する一日用量で投与される。

#### 【0025】

[0025]本開示により提供される1つ以上の実施形態による利益は、認知症ではない個体(例えば老齢のヒト)の認知的加齢を低減させることである。

#### 【0026】

50

[0026]本開示によって提供される1つ以上の実施形態による他の利益は、例えばドコサヘキサエン酸(DHA)及びエイコサペンタエン酸(EPA)などの3脂肪酸を使用し、神経細胞の細胞膜流動性を調整し、神経可塑性を刺激し、抗神経炎症性効果を提供し、及び/又は酸化ストレスを減少させ、ビタミンB(例えばB12)との組み合わせにより、血漿中のホモシステイン濃度を低下させ、並びに例えばアルギニン又はシトルリンなどの一酸化窒素放出化合物との組み合わせによりシグナル伝達経路を保護することである。

【0027】

[0027]本開示により提供される1つ以上の実施形態による更に他の利益は、認知的加齢のための公知の栄養学的介入と比較して、より大量のビタミンB12を使用することである。

10

【0028】

[0028]本開示により提供される1つ以上の実施形態による更に他の利益は、認知症ではない個体において、脳萎縮及び神経炎症を低減させること、及びアミロイド-β作用及びシナプス数を増加させ又は維持すること、である。これに関連して、本発明により得られる利益のうちの一つ以上は、神経細胞の細胞膜流動性の改善、神経可塑性及び活性の刺激、抗炎症性の改善、活性酸素種(ROS)及び/又は標的一酸化窒素放出の低減からなる群、又は本明細書において開示される他の利益から選択される。

【0029】

[0029]更なる特徴及び利益が本明細書において記述されており、以下の図面、及び発明を実施するための形態から明らかとなるであろう。

20

[0030]

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】実施例3の細胞膜流動性試験の結果を示すグラフである。図1から見て取れるように、DHA+EPAを、高濃度のB12及びシトルリン(T6high)と組み合わせると、細胞膜の流動性が顕著に高められる。

【発明を実施するための形態】

【0031】

[0031]定義

[0032]以下、いくつかの定義を示す。しかしながら定義が以下の「実施形態」の項にある場合もあり、上記の見出し「定義」は、「実施形態」の項におけるそのような開示が定義ではないことを意味するものではない。

30

【0032】

[0033]本明細書に記載するすべてのパーセンテージは、別途記載のない限り組成物の総重量によるものである。本明細書で使用するとき、「約」、「およそ」、及び「実質的に」は、数値範囲内、例えば、参照数字の-10%から+10%の範囲、好ましくは-5%から+5%の範囲内、より好ましくは、参照数字の-1%から+1%の範囲内、最も好ましくは参照数字の-0.1%から+0.1%の範囲内の数を指すものと理解される。本明細書における全ての数値範囲は、その範囲内の全ての整数又は分数を含むと理解されるべきである。更に、これらの数値範囲は、この範囲内の任意の数又は数の部分集合を対象とする請求項を支持するために与えられていると解釈すべきである。例えば、1~10という開示は、1~8、3~7、1~9、3.6~4.6、3.5~9.9などの範囲を支持するものと解釈すべきである。

40

【0033】

[0034]本開示及び添付の特許請求の範囲において使用するとき、単数形「1つの」(「a」、「an」及び「the」)には、別段の指示がない限り、複数の参照物も含まれる。したがって、例えば、「1つの構成成分(a component)」又は「その構成成分(the component)」についての言及は、2つ以上の構成成分を含む。

【0034】

[0035]「含む(comprise)」、「含む(comprises)」、及び「含ん

50

でいる (comprising)」という用語は、排他的にではなく包含的に解釈されるべきである。同様に、用語「含む (include)」、「含む (including)」及び「又は (or)」は全て、このような解釈が文脈から明確に妨げられない限りは包括的なものであると解釈される。しかしながら、本明細書に開示されている組成物は、本明細書において具体的に開示されていない要素を含まない場合がある。したがって、「を含む (comprising)」という用語を用いた実施形態の開示は、特定されている構成成分「から本質的になる (consisting essentially of)」及び「からなる (consisting of)」実施形態の開示を含む。「本質的になる」組成物とは、参照された成分を少なくとも 50 重量%、好ましくは参照された成分を少なくとも 75 重量%、より好ましくは参照された成分を少なくとも 85 重量%、最も好ましくは参照された成分を少なくとも 95 重量%含むことをいう。

10

## 【0035】

[0036]「X 及び / 又は Y」の文脈で使用される用語「及び / 又は」は、「X」又は「Y」、「又は X 及び Y」として解釈すべきである。本明細書において使用する場合、「例」及び「例えば ~ など」という用語は、その後用語の列挙が続くときは特に、単に例示的かつ説明的なものにすぎず、排他的又は網羅的なものとみなされるべきではない。

## 【0036】

[0037]用語「食品」、「食品製品」、及び「食品組成物」は、ヒトなどの個体による摂取、並びにかかるとする個体に対する少なくとも 1 種の栄養分の提供が意図された、製品又は組成物を意味する。本開示の組成物は、本願明細書に記載されている多くの実施形態を含み、本願明細書に開示される要素、並びに本願明細書に記載されるか又はその他の食餌療法において有用である何らかの追加の若しくは任意的な配合物、成分又は要素を含むか、それらからなるか、又はそれらから本質的になることができる。

20

## 【0037】

[0038]「予防」は、状態又は疾患のリスク及び / 又は重症度を低減させることを含む。用語「治療」、「治療する」、「低減する」及び「緩和する」には、予防若しくは予防的治療 (標的とする病態若しくは障害の発現を防止する及び / 又は遅らせる) と、治癒的、治療的若しくは疾患改善的な治療の両方が含まれ、例えば、診断された病態又は障害の治癒、遅延、症状の軽減、及び / 又は進行の停止のための治療的手段、並びに、疾患のリスクがある患者又は疾患に罹患する疑いのある患者、並びに体調不良の患者又は疾患若しくは医学的症状に罹患していると診断された患者の治療が含まれる。この用語は、対象が完治するまで処置されることを必ずしも意味するものではない。これらの用語はまた、疾患を患っていないが、不健康な状態を起こしやすい個体の健康維持及び / 又は増進も意味する。これらの用語はまた、1 つ以上の主たる予防的又は治療的手段の相乗作用あるいは強化を含むことを意図するものである。用語「治療」、「治療する」、「低減する」及び「緩和する」は更に、疾患若しくは症状に対する食事療法、又は疾患若しくは症状の予防 (prophylaxis) 若しくは予防 (prevention) のための食事療法を含むことを意図するものである。処置は患者に関連するものであってもよく、又は医師に関連するものであってもよい。

30

## 【0038】

[0039]用語「個体」は、認知的加齢を生じる可能性を有し、ゆえに、本願明細書に開示される 1 つ以上の方法から利益を得ることができる、ヒトを含む任意の動物を意味する。一般には、個体は、ヒト、又はトリ、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、ヤギ、オオカミ、ネズミ、ヒツジ、又はブタの動物である。「コンパニオン動物」は、任意の飼いなされた動物であり、限定されないが、ネコ、イヌ、ウサギ、モルモット、フェレット、ハムスター、マウス、アレチネズミ、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ロバ、ブタなどが挙げられる。好ましくは、個体はイヌやネコ等のコンパニオン動物又はヒトであり、最も好ましくはヒトである。

40

## 【0039】

[0040]ヒトの文脈における用語「老齢」(elderly) は、少なくとも 60 歳、好

50

ましくは63歳以上、より好ましくは65歳以上、最も好ましくは70歳以上の年齢を意味する。ヒトの文脈における用語「高齢成体」(older adult)は、少なくとも45歳、好ましくは50歳以上、より好ましくは55歳以上の年齢を意味し、老齢の個体を含む。

【0040】

[0041]他の動物の場合、「高齢成体」とは、その個々の種及び/又は種内の系統において、平均寿命の50%を超えた動物をいう。動物は、平均期待寿命の66%を超えた場合、好ましくは平均期待寿命の75%を超えた場合、より好ましくは平均期待寿命の80%を超えた場合に、「老齢」と考えられる。老齢のネコ又はイヌは、少なくとも約7歳齢である。

10

【0041】

[0042]「認知的加齢」とは、例えば老齢になるなど、年齢を重ねるにつれ進行する認知能力の低下であり、脳の形態及び/又は脳血管の機能における加齢に伴う変化を含み得る。認知的加齢には、例えば頭部外傷又は鬱などの、老化以外の基礎症状により生じる認知能力の低下は含まれない。

【0042】

[0043]「認知能力」は、個体が観念を意識、知覚、又は理解するようになる知的プロセスとして定義される。認知能力は、認知することの質を包含し、これには知覚、認識、構想、感知、思考、推論、記憶及び想像の全ての態様を含む。認知能力の低下とは、新たな情報又は状況への対処又は反応が困難なことをいう。認知障害は多くの形で顕在化し、特に、例えば、短期記憶の低下、学習能力の低下、学習速度の低下、注意力低下、運動能力の低下、及び/又は認知症の形で表れる可能性がある。加齢と共に低下する能力を含む具体的な認知領域の非限定的な例には、(i)注意：処理速度、並びに選択的及び分割的注意；(ii)学習及び記憶：遅延自由再生、情報源記憶、展望的記憶、及びエピソード記憶；(iii)言語：発話流暢性、視覚性呼称、及び喚語；(iv)視覚空間能力：視覚構築技能；並びに(v)実行機能：計画、意思決定、推論、及び精神的柔軟性がある。

20

【0043】

[0044]本明細書で使用するとき、「有効量」とは、欠乏を予防する、個体の疾患若しくは医学的状态を処置する、又はより一般的には、症状を減少させる、疾患の進行を管理する、若しくは個体に対して栄養学的、生理学的若しくは医学的利益を提供する、量である。本願明細書に開示される組成物の効果に関連する「改善された」、「増加した」、「高められた」等の相対的用語は、1つ以上の成分を欠く、及び/又は1つ以上の成分の量が異なるが、その他の成分については同一である組成物と比較した場合に用いられる。

30

【0044】

[0045]実施形態

[0046]本開示の一態様において、組成物は、3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、大量のビタミンB12を提供するビタミンB群と、の組み合わせを含み、好ましくは、組成物は、認知症ではない個体において認知的加齢を低減させ、及び/又は認知能力を改善するのに効果的な量の組み合わせを含む。かかる組成物は、好ましくは上記したような高ビタミンB12濃度を有する。別の態様においては、認知症ではない個体の認知的加齢を低減させ及び/又は認知能力を改善するための方法は、該個体に有効量の組成物を(例えば経口的に)投与するステップを含む。組成物は、好ましくは本願明細書に定義されるものである。

40

【0045】

[0047]組成物は、加齢の過程でもたらされる認知機能の低下を生じやすいか、又はそれに罹患する認知症ではない個体において、認知機能を増加させることができる。組成物は、加齢の過程でもたらされる認知機能の低下を生じやすいか、又はそれに罹患する認知症ではない個体において、認知機能の低下を予防、低減又は遅延させることができる。幾つかの実施形態では、方法は、投与の前に、認知的加齢を有するか、又は認知的加齢のリスクを有する個体を識別するステップを含む。例えば、方法は、投与の前に、認知能力の改

50

善を必要とする個体を識別するステップを含み得る。組成物は、脳萎縮及び神経炎症を低減させることができ、かつシナプシス数及びアミロイド- $\beta$ の食作用を増加させることができる。

【0046】

[0048]例えば、本開示は、治療を必要とする（例えば認知的加齢を有する）認知症ではない個体の認知的加齢を治療する方法を提供し、該方法は、 $\omega$ -3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、大量のビタミンB12とを含む組成物を、治療的に有効な量で個体に投与するステップを含む。別の例として、本開示は、認知的加齢のリスクがある認知症ではない個体（例えば、未だ認知的加齢を有していない高齢成体又は老齢の個体）における、認知的加齢の予防方法を提供し、該方法は、本明細書で定義される、 $\omega$ -3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、大量のビタミンB12とを含む組成物を、治療的に有効な量で該個体に投与するステップを含む。更に別の例として、本開示は、認知症ではない個体（例えば、改善を必要とする個体）の認知能力を改善する方法を提供し、当該方法は、 $\omega$ -3脂肪酸と、一酸化窒素放出化合物と、大量のビタミンB12とを含む組成物を、治療的に有効な量で、該個体に投与するステップを含む。かかる組成物は、好ましくは本明細書に記載のものであり、好ましくは上記のように高ビタミンB12濃度を有する。

10

【0047】

[0049]「認知症ではない」個体は、最高0.5の臨床的認知症尺度を有する。CDRは、認知症の重症度を測定するものであり、半構造化された被験者及び情報提供者の問診により評価される、0~3（0、0.5、1、2及び3）の範囲で認知症をスコアリングする、世界的に用いられている評価方法である。Hughes et al., Br. J. Psychiatry 140:566~72（1982）を参照。臨床医は、記憶、見当識、判断及び問題解決、共同体における活動、家庭内での活動及び趣味、並びに身の回りのケアを含む、6つのドメインに基づき、認知及び実効機能を総合評価する。この尺度は、評価者間でよく一致する。

20

【0048】

[0050]認知症ではない個体は、アルツハイマー病、血管性認知症、レビー小体認知症又は前頭側頭型認知症のいずれも有さない。いくつかの実施形態では、認知症ではない個体は、健常な高齢の個体である。他の実施態様では、認知症ではない個体は、加齢関連の認知障害に関連する表現型を有する。例えば、認知症ではない個体は、かかる表現型を有しない対照個体と比較したときに、思い出す能力の低下、短期記憶の喪失、学習速度の低下、学習能力の低下、問題解決能力の低下、注意持続時間の減少、運動能力の低下、又は混乱増加、のうちの1つ以上を含む表現型を有し得る。

30

【0049】

[0051]認知的加齢のリスクがある認知症ではない個体の非限定的な例は、自然発症した記憶障害を有するが、ミニメンタルステート検査（MMSE）スコアが少なくとも24であり、かつ日常生活動作（ADL）スコアが少なくとも4であることにより示されるような基本的な日常の活動においては独立しているヒトである。本発明の課題解決のためのMMSEスコアは、例えば24~30であってもよく、より好ましくは26~30であってもよい。

40

【0050】

[0052]MMSEは、非常に信頼性が高く、有効な手段であることが証明されており、神経変性疾患に関連する認知障害の進行を検出し、追跡するための、非常に簡便な、容易に制御/実施できる精神機能評価方法である。MMSEは、以下の7つのカテゴリーに分類される、30点からなる完全に構造化された尺度である：場所に対する見当識（州、郡、町、病院及びフロア）、時間に対する見当識（年、季節、月、曜日及び日付）、再生（3つの単語を即座に反復する）、注意力及び集中力（100から連続的に7を減算するか、又は単語worldのバックスペリング）、復唱（前に反復した3つの単語を思い出す）、言語（2つの物品の名称を応える、フレーズを復唱する、音読して文章を理解する、文章を書く、3段階命令に従うこと）、及び、視覚情報の構築（図形の模写）。Folst

50

ein et al., J. Psychiat. Res. 12:189~198 (1975)を参照。

【0051】

[0053]MMSEでは、正しく回答できた項目の数がスコア化され、スコアが低いほど、パフォーマンスが悪く、認知障害が大きいことを示す。合計スコアは0~30の範囲となる。

【0052】

[0054]ADLは、ADを有するか又は有さない人の日常生活動作を評価するための、情報提供者ベースの日常生活動作スケールとして広く用いられている手段である。この手段は、広範囲にわたる能力を評価する。ADLは、非障害性のコントロールと比較した、中程度に障害を有する個体における変化に対する感度を示し、機能的な変化を捕捉することができる。Galasko et al., Alzheimer Dis. Assoc. Disord. 11 Suppl. 2: S33~9 (1997)を参照。

10

【0053】

[0055]本願明細書で前述したように、脳の健康を維持し、加齢による認知機能低下を予防することにより、認知症の発症を予防又は遅延させることができることを、多くのエビデンスが示唆している。したがって、本明細書に開示される、認知的加齢を治療又は予防する方法は、アルツハイマー病などの認知症を特異的に予防することもできる。したがって、本開示の別の態様は、認知症のリスクがある個体における認知症を予防する方法である。本発明は、本明細書に開示される組成物を治療的に有効な量で個体に投与するステップを含む方法に関する。予防される認知症は、アルツハイマー病、血管性認知症、レヴィー小体認知症、前頭側頭型認知症及びそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。本発明の方法は、好ましくは本明細書に記載の組成物を投与するステップを含む。

20

【0054】

[0056]一実施形態では、個体はベースラインにおいて低DHA状態を有する(赤血球中の3指数が4.8%未満)。一実施形態では、個体はベースラインにおいて0.5の臨床的認知症尺度(CDR)を有する。一実施形態では、個体はベースラインにおいて高血漿ホモシステイン濃度を有する。本明細書で用いる、「高」血漿ホモシステイン濃度とは、血漿中のホモシステインが少なくとも $12\mu\text{mol/L}$ であることをいう。別の実施形態では、個体は、ベースラインにおいてCAIDE(心臓血管リスク因子、老化及び認知症)リスクスコアが10~15である。別の実施形態では、個体は、ベースラインにおいて、PETアミロイドスキャンでアミロイド陽性である。別の実施形態では、個体は、認知機能低下のリスクを示す遺伝子型(例えばアポリポタンパク質E(APOE)遺伝子型)を有する。

30

【0055】

[0057]組成物の一日用量は、推奨所要量(RDA)の0.1~600倍、例えば0.1~500倍、0.1~40倍、0.1~50倍又は50~600倍のビタミンB12を提供することができる。かかる投与量は、好ましくはRDAの100~500倍のビタミンB12、より好ましくは、RDAの150~300倍のビタミンB12、更により好ましくは、RDAの150~250倍のビタミンB12、最も好ましくはRDAの約200倍のビタミンB12を含むことができる。更にこの点に関して、米国におけるビタミンB12のRDAは、14歳以上の年齢のヒトの場合、1日 $2.4\mu\text{g}$ であり、かかる個体では、1日当たり0.1mg~1.5mgのビタミンB12、好ましくは1日当たり0.2mg~1.2mgのビタミンB12、より好ましくは1日当たり0.4mg~1.0mgのビタミンB12、最も好ましくは1日当たり約0.5mgのビタミンB12を提供する、組成物の一日用量を投与され得る。

40

【0056】

[0058]様々な実施形態において、3脂肪酸は、組成物の1~50重量%、好ましくは組成物の1~30重量%、最も好ましくは組成物の1~15重量%である。好ましくは、3脂肪酸はエイコサペンタエン酸(EPA)又はドコサヘキサエン酸(DHA)のうち

50

の少なくとも1種を含み、より好ましくはEPA及びDHAの両方を含み、それらは各々が抗炎症性を有する。組成物の一日用量は、好ましくは1日当たり0.5g~1.0gのDHA及び/又は1日当たり0.5g~1.0gのEPA、より好ましくは1日当たり0.7g~1.0gのDHA及び/又は1日当たり0.6mg~0.75gのEPA、最も好ましくは1日当たり約770mgのDHA及び/又は1日当たり約700mgのEPAを提供する。

【0057】

[0059] 3脂肪酸は、1つ以上の3脂肪酸資源の混合物を含んでもよく、該1つ以上の3脂肪酸資源の各々は、天然由来(例えば魚油)又は合成物(すなわち、天然由来のものとは対照的に、人工的に処理される化学的プロセスで形成されたもの)であつてもよい。用語「魚油」は、3脂肪酸が豊富に含まれ、海産物個体、好ましくは、例えばサケ、マグロ、サバ、ニシン、スズキ、シマスズキ、オヒョウ、ナマズ及びイワシなどの冷水魚、並びにサメ、エビ及び二枚貝、又はそれらのいずれかの組み合わせから得られる、粗製の、又は精製された脂質又は油性抽出物を意味する。

10

【0058】

[0060] 「一酸化窒素放出化合物」という用語は、個体において一酸化窒素の放出を引き起こすか、又はもたらし得る任意の化合物(1種又は複数)を意味する。一酸化窒素放出化合物は、好ましくはアルギニン、シトルリン、オルニチンの1つ以上を含み、又はこれらのアミノ酸、好ましくはアルギニン及び/若しくはシトルリンの少なくとも1つ、より更に好ましくはシトルリンを含むペプチド又はタンパク質を含み、かかる分子は特に血流、内皮機能及び血圧を改善することから心血管系に対する有益な効果を提供する。種々の実施形態では、一酸化窒素放出化合物は、組成物の1~20重量%、好ましくは組成物の1~15重量%、より好ましくは組成物の1~10重量%である。一実施形態では、組成物の一日用量は、1日当たり0.5g~10.0g、好ましくは1日当たり1.0g~5.0g、より好ましくは1日当たり2.0g~4.0g、最も好ましくは1日当たり約3.0gの一酸化窒素放出化合物(例えばシトルリン)を提供する。

20

【0059】

[0061] ビタミンB類は、ビタミンB12に加え、例えばビタミンB1(チアミン)、ビタミンB2(リボフラビン)、ビタミンB3(ナイアシン)、ビタミンB5(パントテン酸)、ビタミンB6(ピリドキシン)、ビタミンB7(ビオチン)及びビタミンB9(葉酸)、又はビタミンB活性を有するそれらの塩、コンジュゲート若しくは誘導体のうちの1つ以上などの他のビタミンBを更に含んでもよい。組成物は、これらの1つ以上の追加のビタミンB類を、RDAの0.1~40倍、好ましくはRDAの1~20倍、より好ましくはRDAの1~10倍含むことができる。

30

【0060】

[0062] 一実施形態では、ビタミンB類は、ビタミンB12に加え、少なくともビタミンB6を更に含む。一実施形態では、ビタミンB類は、ビタミンB12に加え、少なくともビタミンB9を更に含む。好ましい実施形態では、ビタミンB類は、ビタミンB12に加え、少なくともビタミンB6及びビタミンB9の両方を更に含む。最も好ましい実施形態では、ビタミンB類は、ビタミンB12に加え、ビタミンB1(チアミン)、ビタミンB2(リボフラビン)、ビタミンB3(ナイアシン)、ビタミンB5(パントテン酸)、ビタミンB6(ピリドキシン)、ビタミンB7(ビオチン)及びビタミンB9(葉酸)の全てを更に含む。

40

【0061】

[0063] 組成物は、RDAの0.1~40倍、好ましくはRDAの1~20倍、より好ましくはRDAの1~10倍のビタミンB6及び/又はビタミンB9を含むことができる。例えば、組成物の一日用量は、1日当たり15mg~25mgのビタミンB6、好ましくは1日当たり15mg~20mgのビタミンB6、最も好ましくは1日当たり約18mgのビタミンB6を提供することができる。例えば、組成物の一日用量は、1日当たり0.1mg~1.0mgのビタミンB9、好ましくは1日当たり0.3mg~0.8mgのビ

50

タミン B 9、最も好ましくは 1 日当たり約 0.4 mg のビタミン B 9 を提供することができる。ビタミン B 6、B 9、及び B 12 の各々は、血漿中のホモシステイン濃度を低下させる能力を有する。

【0062】

[0064]いくつかの実施形態では、組成物は、酸化的損傷及び炎症により誘導される損傷から保護するための 1 つ以上の抗酸化剤を更に含むことができる。好適な抗酸化剤の非限定的な例としては、ビタミン C、ビタミン D、ビタミン E、セレン及びコリン、好ましくはコリン重酒石酸塩、並びにそれらの組み合わせが挙げられる。組成物は、抗酸化剤を含有する場合には、0.0001 重量% ~ 25 重量%、好ましくは 0.0001 重量% ~ 約 15 重量%、より好ましくは 0.001 重量% ~ 5 重量%、最も好ましくは 0.001 重量% ~ 2 重量% で抗酸化剤を含むことができる。

10

【0063】

[0065]コリンは、塩化コリン、コリン重酒石酸塩、シチコリン (CDP - コリン)、L - グリセロホスホコリン (GPC)、レシチン、ホスファチジルコリン及びそれらの混合物からなる群から選択される成分により提供することができる。更に、組成物は、5.5 mg / 日 ~ 5,500 mg / 日のコリンを提供する一日用量で個体に投与することができる。本文脈において、組成物は、推奨所要量 (RDA) の 0.01 ~ 10.0 倍、例えば RDA の 0.15 ~ 6.0 倍のコリンを提供する一日用量で個体に投与することができる。この点に関し、コリンの RDA は 550 mg / 日であり、ゆえに、組成物は、5.5 mg / 日 ~ 5,500 mg / 日のコリン、例えば 85 mg / 日 ~ 3,500 mg / 日のコリンを提供する一日用量で投与することができる。しかし、本開示は、コリンの特定の日用量に限定されない。

20

【0064】

[0066]いくつかの実施形態では、組成物は、ヒト及び / 又はペット (例えばコンパニオン個体) 用の食品組成物である。食品組成物は、例えばミネラル、他のビタミン、塩分、又は、例えば調味料、着色剤、乳化剤などの機能性添加剤、又は抗菌化合物、又は他の防腐剤など、1 つ以上の追加の物質を含んでもよい。好適なミネラルの非限定的な例としては、カルシウム、リン、カリウム、ナトリウム、鉄、塩化物、ホウ素、銅、亜鉛、マグネシウム、マンガン及びヨウ素が挙げられる。好適な追加ビタミン類の非限定的な例としては、ビタミン A、D、E 及び K などの脂溶性ビタミンが挙げられる。

30

【0065】

[0067]別の実施形態では、組成物は、1 つ以上の製薬上許容できる担体、希釈剤又は賦形剤を含む医薬組成物である。一般的に、医薬品組成物は、3 脂肪酸、一酸化窒素放出化合物及びビタミン B 12 を、賦形剤、緩衝剤、結合剤、可塑剤、着色剤、希釈剤、圧縮剤、滑沢剤、風味剤又は湿潤剤の 1 つ以上と混合することにより調製される。

【0066】

[0068]組成物は、1 ヶ月未満で確認できる急性の効果を奏し得る。追加的に又は代替的に、組成物は、長期の効果を奏することもでき、種々の実施形態では、該組成物が、(例えば経口投与により) 少なくとも 1 カ月の期間、好ましくは少なくとも 2 カ月、より好ましくは少なくとも 3、4、5 又は 6 カ月、最も好ましくは少なくとも 1 年の期間にわたって個体に投与される。この期間中に、組成物は、少なくとも 1 週間に 1 日、好ましくは 1 週間に少なくとも 2 日、より好ましくは 1 週間に少なくとも 3、4、5 又は 6 日、最も好ましくは、1 週間に 7 日、個体に投与できる。組成物は、1 日 1 回投与することも、1 日に複数の個別用量で投与することもできる。

40

【0067】

[0069]本明細書で定義される実施形態のいずれも、特に記載される組成物の成分のいずれも、特に明記しない限り、各々を組み合わせてもよい。このことはまた、かかる組成物を用いた、本明細書に定められる方法及び治療の特徴及び利益に関しても当てはまる。

【0070】

【実施例】

50

## 【 0 0 6 8 】

## [0071]実施例 1

[0072]以下の非限定的な実施例は、認知症ではない個体において認知的加齢を低減させるための、本開示により提供される実施態様における組成物を例示する。

## 【 0 0 6 9 】

## 【表 1】

| 成分             | 投与量/日   |
|----------------|---------|
| DHA            | 770mg   |
| EPA            | 700mg   |
| ビタミンB1(チアミン)   | 50mg    |
| ビタミンB2(リボフラビン) | 15mg    |
| ビタミンB3(ナイアシン)  | 25mg    |
| ビタミンB5(パントテン酸) | 23mg    |
| ビタミンB6(ピリドキシン) | 18mg    |
| ビタミンB7(ビオチン)   | 0.15mg  |
| ビタミンB9(葉酸無水物)  | 0.4mg   |
| ビタミンB12(コバラミン) | 0.5mg   |
| ビタミンC          | 500mg   |
| ビタミンD          | 0.015mg |
| ビタミンE          | 82.6mg  |
| セレン            | 0.08mg  |
| シトルリン          | 3000mg  |
| コリン重酒石酸塩       | 85mg    |

10

20

## 【 0 0 7 0 】

## [0073]実施例 2

[0074]試験実施の主な目的を、神経心理学的評価の合成得点によって測定される認知機能低下を予防するための、実施例 1 に記載される組成物による 4 年間の介入の有効性を示すこととする。全試験集団は、70 歳以上の主観的に記憶力に関する懸念を有する認知症ではない成人から構成し、そのうち、ベースラインにおいて低 DHA 状態（赤血球の 3 指数 < 4.8%）により定義される試験集団のサブグループと、ベースラインにおいて 0.5 の臨床的認知症尺度（CDR）を有する試験集団の他のサブグループを設ける。

## 【 0 0 7 1 】

[0075]試験デザインは、プラセボ対照、二重盲検、無作為、多施設、2 つの平行群による試験とする。被験者を、2 つの投与群（プラセボ及び B P B）のうちの 1 つにランダムに割り付ける。

30

40

## 【 0 0 7 2 】

[0076]被験者を、治験製品、すなわち実施例 1 の代表的な組成物か、又はプラセボ製品のいずれか 1 つにランダムに割り当てる。活性及びプラセボの治験製品は、冷水で再構成される粉末状の飲料混合物を含む 1 つのサシェと、2 つのソフトゲルカプセルと、から構成される。

## 【 0 0 7 3 】

[0077]実施例 1 の代表的組成物において、ソフトゲルカプセルは DHA 及び EPA を提供する。粉末状飲料は、補助成分（スクロース、風味剤及び甘味料）と共に残りの活性成分を含む。

50

## 【0074】

[0078]プラセボ製品において、ソフトゲルカプセルは、DHA及びEPAフリーの植物油の混合物を含むが、活性カプセルに類似する脂肪酸のプロファイルを有する。粉末飲料にはいずれの活性成分も含めず、炭水化物含有量を活性粉末添加飲料のものと一致させる。活性粉末飲料の味覚、テクスチャー及び外観にできるだけ近くなるよう、スクロース/デンプン、ポリデキストロース、タンパク質、風味剤、天然着色剤及び甘味料が構成される。

## 【0075】

[0079]治験製品を、1日1回摂取させ、すなわちその日の同時期に1杯の粉末飲料及び2つのカプセルを摂取させる。

10

## 【0076】

[0080]試験の間、参加者にはビタミンB類：チアミン(B1)、リボフラビン(B2)、ナイアシン(B3)、パントテン酸(B5)、ピリドキシン(B6)、ビオチン(B7)、葉酸(B9)、コバラミン(B12)、DHA、EPAを含有する追加の栄養補助食品の摂取をさせない。

## 【0077】

[0081]主要エンドポイントは、4年後における認知能力評価の合成得点の変化である。合成得点は、以下の神経心理学的試験スコアを合計したものである：学習試験、見当識スコア、数字符号置換(Digit Symbol Substitution)試験、カテゴリー語想起試験(Category Naming Test)。主要な結果を、3つの群(全試験群、低DHA状態群、ベースラインCDR=0.5群)で観察する。

20

## 【0078】

[0082]主要目的をサポートする二次エンドポイントもまた試験する。具体的には：

(i) BPP介入に関連する血漿栄養分濃度及びバイオマーカー(例えばホモシステイン、赤血球細胞(RBC)のDHA状態)に対する治療効果；

(ii) 合成得点において使用される試験結果の個別的な分析により測定される治療効果、並びに追加神経心理学的試験のスコア(MMSE総スコア)；

(iii) トレイルメイキングテスト、ロジカルメモリテスト、文字流暢性(Letter Fluency)、ストループ(Stroop)試験及び数唱(Digit Span)；

30

(iv) CDR-SOB(Clinical Dementia Rating-Sum of Boxes)スコアの変化により測定される治療効果、及び軽症認知障害(MCI)及び認知症への変換率；

(v) 参加者の結果報告に基づく、機能及び生活の質に対する治療効果：認知機能インスツルメント(Cognitive Function Instrument)；EQ-5D-5L、及び応用認知-能力インスツルメント(Applied Cognition-Abilities instruments)；

(vi) 以下の被験者の特徴により定義されるサブグループにおける治療効果：

ベースラインにおける高血漿ホモシステイン濃度(血漿ホモシステイン  $12 \mu\text{mol/L}$ )、ベースラインにおけるCAIDE(心臓血管リスク因子、老化及び認知症)リスクスコア、ベースラインにおけるアミロイドPETスキャンによるアミロイド陽性、及び遺伝子型。

40

## 【0079】

[0083]更にこの点に関し、具体的に以下のバイオマーカーを測定した：

(i) MRIに基づく全脳及び海馬の萎縮、並びに総白質の超強度の蓄積、動脈スピララベリング(Arterial Spin Labeling)によるイメージング、試験集団(アーム当たり最大500人の被験者)の代表的サブセットにおける安静時fMRI(Resting State fMRI)；(ii) 試験集団(アーム当たり最大500人の被験者)の代表的サブセットにおけるアミロイド/タウPET；(iii) 血漿マーカー、すなわち血漿BDNF、血漿A<sub>40-42</sub>及びタウタンパク質、非対称ジメチル

50

アルギニン、ホモシステイン、血漿炎症マーカー（sCAMs、E-セレクチン、TNF、IL1、IL6、IL10、CRP）、並びに酸化ストレスの血漿マーカー（酸化型低比重リポタンパク質（oxLDL）、F2-イソプロスタン）。

【0080】

[0084]二次試験的エンドポイントには、物理的機能（SPPB）、フレイル（Fried）、不安及び鬱状態（Geriatric Depression Scale（GDS）、Neuropsychiatric inventory questionnaire（NPI-Q））、将来の研究のための血液及びデオキシリボ核酸（DNA）の回収及び保存、並びに遺伝子（一塩基変異多型（例えばApoE-4、MTHFR、CBS、FAD1/2、新規な科学的発見によって同定される他の特定の遺伝子））又は医学的状態（疾患状態（例えば糖尿病、心血管疾患、高血圧））により生じる効果の変化を含める。

10

【0081】

[0085]実施例3 - 膜流動性の増加

[0086]以下の非限定的な実施例は、培養したヒト誘導多能性幹細胞由来の神経細胞における細胞膜流動性を増加させるための、本明細書で定義される組成物の使用を支持する、実験例である。

【0082】

[0087]神経細胞及び分子試薬

[0088]ヒト誘導多能性幹細胞由来の神経細胞、及び付属の増殖培地は、Cellular Dynamics International社から購入した。製造業者（Cellular Dynamics International社）のプロトコルに従い神経細胞を培養した。製造元のプロトコルに従い、PLO/ラミニンでコーティングした培養容器（96ウエルプレート、 $\mu$ -clear、Greiner社）に、100,000~150,000個/cm<sup>2</sup>の密度で神経細胞をプレーティングし、インキュベーター（37、5%のCO<sub>2</sub>）にて維持した。維持培地の50%を週に2回交換した。

20

【0083】

[0089]2週間後に、プレーティングした細胞を以下により24時間処理した：DHA + EPA（各15  $\mu$ M）、B6 + B9（200  $\mu$ M及び100  $\mu$ M）、B12（0.05  $\mu$ M）、シトルリン（150  $\mu$ M）、コリン（300  $\mu$ M）、DHA + EPA + B6 + B9 + B12を含有するT4（15  $\mu$ M、15  $\mu$ M、200  $\mu$ M、100  $\mu$ M、0.05  $\mu$ M）、DHA + EPA + B6 + B9 + B12（低濃度）+シトルリンを含有するT6 low（15  $\mu$ M、15  $\mu$ M、200  $\mu$ M、100  $\mu$ M、0.0005  $\mu$ M、150  $\mu$ M）、及びT6 high（DHA + EPA + B6 + B9 + B12（高濃度）+シトルリン）（15  $\mu$ M、15  $\mu$ M、200  $\mu$ M、100  $\mu$ M、0.05  $\mu$ M、150  $\mu$ M）、及びコントロール処理（DMSO 1%、H<sub>2</sub>O 1%又は培地のみ）。

30

【0084】

[0090]24時間後に、製造元のプロトコル（Abcam；ab189819）に従い細胞膜流動性アッセイを実施した。簡単に説明すると、細胞を、蛍光脂質試薬と共に37で20分間インキュベートした。20分間の培養後、培地を除去し、200  $\mu$ Lの培地で2回洗浄し、その直後に蛍光を測定した（FlexStation Microplate Reader、Molecular Devices社）。その後、細胞を37で5分間、4%のPFAで固定し、PBSで洗浄した。次に、DNAと結合し細胞核の視覚化を可能にする蛍光染色剤である4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール（DAPI、1:50,000希釈、Sigma Aldrich社）を含む溶液中でそれらをインキュベートした。ImageXpress（Molecular Devices社）プラットフォームを使用してイメージを取得した。MetaXpressソフトウェアを使用して全細胞数の定量を実施した。全細胞数を用いて、細胞膜流動性アッセイの読み出し情報を標準化した。

40

【0085】

[0091]データ分析

50

[0092]データを、ボックスプロット（最低 - 最高）として図 1 に示す。一方向 A N O V A 及び T u k e y の多重比較試験を用いて統計的有意性を算出した。P = 0 . 0 5 未満を有意とみなした。図 1 からわかるように、D H A + E P A と高濃度の B 1 2 及びシトルリンとの組み合わせ（T 6 h i g h）は、細胞膜流動性を顕著に高める。

【 0 0 8 6 】

[0093]本明細書に記載されている、本発明の好ましい実施形態に対する様々な変更及び修正が、当業者には明らかであることを理解されたい。このような変更及び修正は、本発明の主題の趣旨及び範囲から逸脱することなく、かつ意図される利益を損なうことなく、行うことができる。したがって、このような変更及び修正は、添付の特許請求の範囲に包含されることが意図される。

10

20

30

40

50

【図面】  
【図 1】

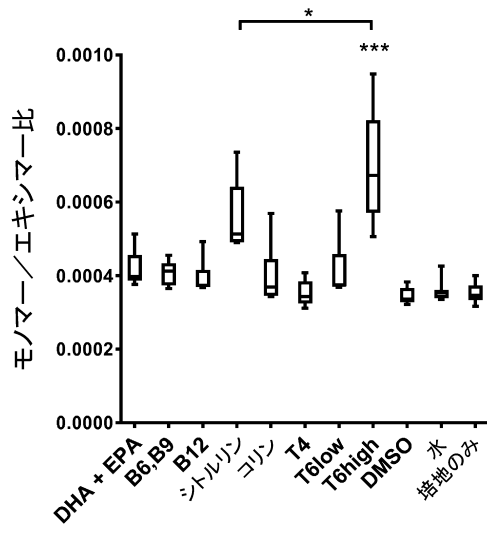


FIG. 1

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 | 31/4406(2006.01) | A 6 1 K | 31/4406 |
| A 6 1 K | 31/4415(2006.01) | A 6 1 K | 31/4415 |
| A 6 1 K | 31/519(2006.01)  | A 6 1 K | 31/519  |
| A 6 1 K | 31/714(2006.01)  | A 6 1 K | 31/714  |
| A 6 1 P | 25/28 (2006.01)  | A 6 1 P | 25/28   |

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/484,119

(32)優先日 平成29年4月11日(2017.4.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/484,156

(32)優先日 平成29年4月11日(2017.4.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(72)発明者 シルバー, イヴォンヌ ベアータ

スイス, 1078 エセルト, シュマン デ フォベット 2

(72)発明者 シュミット, イェルン アントニウス ヨハンネス

スイス, 1510 ムードン, シュマン ドゥ ジェネラル ヴォル 13

(72)発明者 ボシャット, コリーナ

スイス, 1000 ローザンヌ, ルート ドゥ ジョラ 112

(72)発明者 ハドリー-ラベ, ジュリー, ロール

スイス, 1066 エバランジュ, シュマン ド ラ カボルターズ 11

(72)発明者 ライカー, クラウス

スイス, 1025 サン-シュルピス, ルー ドゥ サントル 158

合議体

審判長 藤原 浩子

審判官 井上 千弥子

審判官 淵野 留香

(56)参考文献 米国特許出願公開第2014/0271844(US, A1)

米国特許出願公開第2002/0182196(US, A1)

特表2011-508773(JP, A)

Neurochem Int., 2011年, Vol. 58, No. 3, p. 321-329

厚生労働省, 日本人の食事摂取基準(2010年版), 2009, p. 159~161,

[2024年1月30日検索] URL: <https://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/05/dl/s0529-4t.pdf>

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K31/00-33/44

A61K47/00-47/69

A61K9/00-9/72

C12N 5/00-5/28

A61L27/00-27/60

A61K35/12-35/55

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

Cinii

Google Scholar