(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年4月29日(29.04.2021)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2021/079869 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 35/747 (2015.01)
A23L 33/135 (2016.01)
A61K 35/74 (2015.01)
A61K 35/745 (2015.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2020/039359

(22) 国際出願日： 2020年10月20日(20.10.2020)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2019-191754 2019年10月21日(21.10.2019) JP

(71) 出願人: ビオフェルミン製薬株式会社 (**BIOFERMIN PHARMACEUTICAL CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒6500021 兵庫県神戸市中央区三宮町一丁目１番２号 Hyogo (JP). 国立大学法人東北大学(**TOHOKU UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目１番１号 Miyagi (JP).

(72) 発明者: 前田 彩子(**MAEDA Ayako**); 〒6512242 兵庫県神戸市西区井吹台東町七丁目３番４ ビオフェルミン製薬株式会社 研究開発本部内 Hyogo (JP). 田中 良紀(**TANAKA Yoshiki**); 〒6512242 兵庫県神戸市西区井吹台東町七丁目３番４ ビオフェルミン製薬株式会社 研究開発本部内 Hyogo (JP). 中島 淳二(**NAKAJIMA Shunji**); 〒6512242 兵庫県神戸市西区井吹台東町七丁目３番４ ビオフェルミン製薬株式会社 研究開発本部内 Hyogo (JP). 阿部 高明(**ABE Takaaki**); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目１番１号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP).

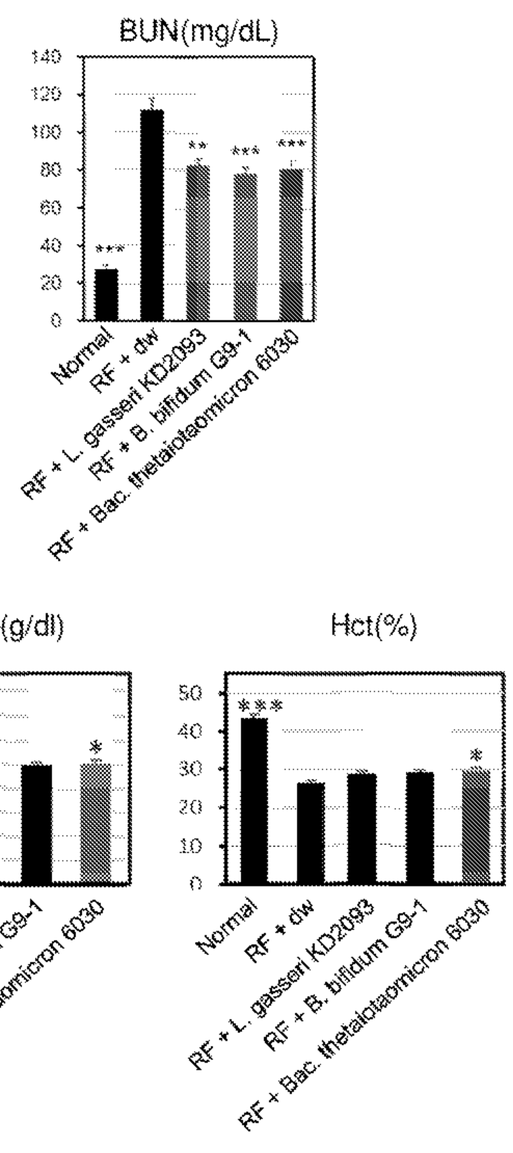
(74) 代理人: 岩谷 龍(**IWATANI Ryo**); 〒5300003 大阪府大阪市北区堂島２丁目１番３１号 京阪堂島ビル６階 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,

(54) **Title:** UREMIC TOXIN REDUCING AGENT

(54) 発明の名称： 尿毒素軽減剤

［図3］



(57) **Abstract:** The present invention addresses the problem of providing a uremic toxin reducing agent, a total cholesterol reducing agent and a neutral fat reducing agent. The abovementioned problem is solved by a uremic toxin reducing agent, a total cholesterol reducing agent and a neutral fat reducing agent each of which contains Lactobacillus bacteria, Bifidobacterium bacteria or Bacteroides bacteria.

(57) 要約: 本発明は、尿毒素軽減剤、総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤の提供を課題とする。 ラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌、ビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌又はバクテロイデス（Bacteroides）属の菌を含有する尿毒素軽減剤、総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤により上記課題を解決する。

［続葉有］

HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))

— 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示(規則13の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii))

明　細　書

発明の名称 ： 尿毒素軽減剤

技術分野

[0001] 本発明は、（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌、（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌、又は（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属の菌を含有することを特徴とする、尿毒素軽減剤、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤に関する。

背景技術

[0002] 特許文献１には、ラクトバチルス　プランタルム、ラクトバチルス　パラカゼイ又はストレプトコッカス　サーモフィルスを含む組成物を使用して尿毒素を除去することが記載されている。しかしながら、これら以外のラクトバチルス属の菌や、ビフィドバクテリウム属の菌及びバクテロイデス属の菌が尿毒素軽減作用、腎機能が低下している対象における総コレステロール量の低減作用及び／又は中性脂肪量の低減作用を有することについては、これまでに知られていない。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２０１４－１３３７３１号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明は、特定の菌、すなわち、ラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌、ビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌又はバクテロイデス（Bacteroides）属の菌を含有することを特徴とする尿毒素軽減剤の提供、さらには、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤の提供を課題とする。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明者らは、上記課題の解決について鋭意研究を重ねた結果、（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌、（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌、又は（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属の菌を含有する剤によって、尿毒素を軽減出来ること、さらには、腎機能が低下している対象における総コレステロール量及び／又は中性脂肪量も低減できることを見出した。本発明者らは、このような知見に基づいてさらに研究を進め、本発明を完成するに至った。

[0006] 即ち、本発明は、上記課題を解決するために、以下の各発明を包含する。

［１］　下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、尿毒素軽減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は
（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

［２］　ラクトバチルス属の菌が、ラクトバチルス　ガセリ　ＫＤ２０９３（Lactobacillus gasseri KD2093）、受託番号：ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９１３）であることを特徴とする、前記［１］に記載の尿毒素軽減剤。

［３］　ビフィドバクテリウム属の菌が、ビフィドバクテリウム　ビフィダム　Ｇ９－１（Bifidobacterium bifidum G9-1、受託番号：ＮＩＴＥ　ＢＰ－８１７）であることを特徴とする、前記［１］に記載の尿毒素軽減剤。

［４］　バクテロイデス属の菌が、バクテロイデス　シータイオタオミクロン(Bacteroides thetaiotaomicron)であることを特徴とする、前記［１］に記載の尿毒素軽減剤。

［５］　軽減される尿毒素が、血中尿素窒素（ＢＵＮ）、１－メチルアデノシン（ｍ１Ａ）、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド（ＴＭＡＯ）、フェニル硫酸（ＰＳ）、インドキシル硫酸（ＩＳ）及び４－エチルフェニルスルフェート（４－エチルフェニル硫酸（4-EPS））からなる群から選択される１種以上であることを特徴とする、前記［１］～［４］のいずれかに記載の尿毒素軽減剤。

［６］　さらに、クレアチニン値が低減されていることを特徴とする、前記［１］～［５］のいずれかに記載の尿毒素軽減剤。

［７］　さらに、ヘマトクリット値が増大されていること、及び／又はヘモグロビン値が増大されていることを特徴とする、前記［１］～［６］のいずれかに記載の尿毒素軽減剤。

［８］　前記［１］に記載のいずれかの菌を培養し、培養成績体を採取することを特徴とする、前記［１］～［７］のいずれかに記載の尿毒素軽減剤の

製造方法。

［９］　前記［１］に記載のいずれかの菌の、尿毒素軽減剤を製造するための使用。

［１０］　下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は

（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

［１１］　下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、腎機能が低下している対象における中性脂肪の低減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は

（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

発明の効果

[0007] 本発明は、（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌、（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌、又は（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属の菌を含有することを特徴とする、尿毒素軽減剤、あるいは、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤を提供する。本発明の剤を工業的発酵に用いること、又はヒト又は哺乳動物等の生体に経口投与することにより、効率よく、工業的有利に、あるいは活性の高い状態の尿毒素軽減剤、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤を得ることが出来る。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図１は、噴霧乾燥装置の概略を示す図である。

[図2]図２は、マウスへの給餌スケジュールを示す図である。なお、図中の「ＲＦ」はRenal Failure（腎不全)を表し、「ｄｗ」はdistilled water（蒸留水)を表す。以下の図においても同じである。

[図3]図３は、本発明の菌による、アデニン誘発腎不全による血中尿毒素（血中尿素窒素（ＢＵＮ）の抑制、及びヘモグロビン（Ｈｂ）とヘマトクリット（Ｈｃｔ）の増大を示す。

[図4]図４は、ラクトバチルス　ガセリ　ＫＤ２０９３（Lactobacillus gasseri KD2093）による、クレアチニン（Ｃｒｅａｔｉｎｉｎｅ）、１－メチルアデノシン（ｍ１Ａ）、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド（ＴＭＡＯ）、フェニル硫酸（ＰＳ）及びインドキシル硫酸（ＩＳ）の抑制を示す。

[図5]図５は、ビフィドバクテリウム　ビフィダム　Ｇ９－１（Bifidobacter

ium bifidum G9-1）による、クレアチニン、１－メチルアデノシン、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド、フェニル硫酸及びインドキシル硫酸の抑制を示す。

[図6]図６は、バクテロイデス　シータイオタオミクロン　６０３０(Bacteroides thetaiotaomicron 6030)による、クレアチニン、１－メチルアデノシン、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド、フェニル硫酸及びインドキシル硫酸の抑制を示す。

[図7]図７は、ラクトバチルス　ガセリ　ＫＤ２０９３（Lactobacillus gasseri KD2093）死菌体による、腎不全モデルに対する、Ｔ－Ｃｈｏ（ＴＣ、総コレステロール）及びＴＧ（トリグリセライド）の抑制を示す。

発明を実施するための形態

[0009] 〔（ａ）ラクトバチルス（Lactobacillus）属の菌〕

本発明の剤において用いられる（ａ）ラクトバチルス属の菌は、好ましくは、ラクトバチルス　アシドフィルス（Lactobacillus acidophilus）、ラクトバチルス　ガセリ（L. gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（L. johnsonii）、ラクトバチルス　パラカゼイ　サブスピーシーズ　パラカゼイ（L. paracasei subsp. paracasei）、ラクトバチルス　ロイテリ（L. reuteri）、ラクトバチルス　ラムノサス（L. rhamnosus）、ラクトバチルス　サリバリウス（L. salivarius）、又はラクトバチルス　ブレビス（L. brevis）、ラクトバチラス　クリスパタス（L. crispatus）、ラクトバシラス　デルブレッキー（L. delbrueckii subsp. delbrueckii）、ラクトバシラス　ブルガリカス（L. delbrueckii subsp. bulgaricus）、ラクトバシラス　ラクティス（L. delbrueckii subsp. lactis）、ラクトバシラス　ファーメンタム（L. fermentum）、及びラクトバチルス　カゼイ（L. casei）等からなる群から選択される１種以上の菌である。これらのうち、ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上が用いられることが好ましく、より好ましく

は、ラクトバチルス　アシドフィルス（Lactobacillus acidophilus）又はラクトバチルス　ガセリ（L. gasseri）であり、特に好ましくは、ラクトバチルス　ガセリ（L. gasseri）、特に好ましくは、ラクトバチルス　ガセリＫＤ２０９３（L. gasseri KD2093、受託番号：ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９１３）である。

[0010]　なお、本発明の剤において、ラクトバチルス属の菌が含まれる割合は、例えば、剤が液体である場合は、例えば、約10^4～10^{10}ｃｆｕ／ｍＬ、好ましくは、約10^6～10^9ｃｆｕ／ｍＬ等であってよく、剤が固体である場合は、例えば、剤全体に対して、ラクトバチルス属の菌が10^5～10^{10}ｃｆｕ／ｇ質量%、好ましくは、剤全体に対して、10^6～10^9ｃｆｕ／ｇ質量%等含まれてよいが、これらに限定されない。

[0011]〔（ｂ）ビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属の菌〕

本発明の剤において用いられる（ｂ）ビフィドバクテリウム属の菌は、ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）、ビフィドバクテリウム　アニマリス（Bifidobacterium animalis subsp. animalis）、ビフィドバクテリウム　ラクティス（Bifidobacterium animalis subsp. lactis）等からなる群から選択される１種以上である。より好ましくは、ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）又はビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）であり、特に好ましくは、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、最も好ましくは、ビフィドバクテリウム　ビフィダム　Ｇ９－１（Bifidobacterium bifidum G9-1）である。

[0012]　本発明の剤において、上記（ｂ）で記載した以外のビフィドバクテリウム属の菌、例えば、ビフィドバクテリウム　アドレセンティス（Bifidobacterium adolescentis）、ビフィドバクテリウム　シュードロンガム（Bifidobact

erium pseudolongum）、及びビフィドバクテリウム　サーモフィルム（Bifidobacterium thermophilum）等が併用されてもよく、特に、ビフィドバクテリウム　シュードロンガム（Bifidobacterium pseudolongum）又はビフィドバクテリウム　サーモフィルム（Bifidobacterium thermophilum）等が併用されることが好ましいが、これらに限定されない。

[0013]　なお、本発明の剤において、ビフィドバクテリウム属の菌が含まれる割合は、例えば、剤が液体である場合は、例えば、約１０^{4}～１０^{10}ｃｆｕ／ｍＬ、好ましくは、約１０^{6}～１０^{9}ｃｆｕ／ｍＬ等であってよく、剤が固体である場合は、例えば、剤全体に対して、ビフィドバクテリウム　ロンガム菌が１０^{5}～１０^{10}ｃｆｕ／ｇ質量％、好ましくは、剤全体に対して、１０^{6}～１０^{9}ｃｆｕ／ｇ質量％等含まれてよいが、これらに限定されない。

[0014]〔（ｃ）バクテロイデス（Bacteroides）属の菌〕

本発明の剤において用いられる（ｃ）バクテロイデス属の菌は、好ましくは、バクテロイデス　シータイオタオミクロン（Bacteroides thetaiotaomicron）、バクテロイデス フラジリス（Bacteroides fragilis）、バクテロイデス　ディスタソニス（Bacteroides distasonis）、バクテロイデス　オバツス（Bacteroides ovatus）、バクテロイデス　ユニフォルミス（Bacteroides uniformis）、バクテロイデス　ブルガータス（Bacteroides vulgatus）、バクテロイデス　オレイシプレヌス（Bacteroides oleiciplenus）、バクテロイデス　クラルス（Bacteroides clarus）、バクテロイデス　フラクサス（Bacteroides fluxus）、バクテロイデス　ドレイ（Bacteroides dorei）、バクテロイデス　フィーシス（Bacteroides faecis）、バクテロイデス　インテスチナリス（Bacteroides intestinalis）、バクテロイデス　マッシリエンシス（Bacteroides massiliensis）、バクテロイデス　マーダエ（Bacteroides merdae）等からなる群から選択される１種以上の菌である。より好ましくは、バクテロイデス　シータイオタオミクロン（Bacteroides thetaiotaomicron）、バクテロイデス　ユニフォルミス（Bacteroides uniformis）又はバクテロイデス　ブルガータス（Bacteroides vulgatus）、特に好まし

くは、バクテロイデス　シータイオタオミクロン（Bacteroides thetaiotaomicron）、最も好ましくは、バクテロイデス　シータイオタオミクロン　６０３０（Bacteroides thetaiotaomicron 6030）である。

[0015] なお、本発明の剤において、バクテロイデス属の菌が含まれる割合は、例えば、剤が液体である場合は、例えば、約１０^{4}～１０^{10}ｃｆｕ／ｍＬ、好ましくは、約１０^{6}～１０^{9}ｃｆｕ／ｍＬ等であってよく、剤が固体である場合は、例えば、剤全体に対して、バクテロイデスの菌が１０^{5}～１０^{10}ｃｆｕ／ｇ質量%、好ましくは、剤全体に対して、１０^{6}～１０^{9}ｃｆｕ／ｇ質量%等含まれてよいが、これらに限定されない。

[0016] なお、（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の菌は単独で用いてもよく、複数を混合して用いてもよい。本発明において、好ましくは、尿毒素軽減剤、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤に、（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の菌が１～５種含まれる。より好ましくは、１～３種含まれる。特に好ましくは、１種又は２種含まれる。

[0017] 本発明の剤は、上記した（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の菌以外に、例えば、Leuconostoc mesenteroides等のリューコノストック属、Streptococcus (Enterococcus) faecalis、Streptococcus (Enterococcus) faecium、Streptococcus (Enterococcus) hirae、Streptococcus thermophilus等のストレプトコッカス（Streptococcus）属（現在の分類学上、エンテロコッカス（Enterococcus)属に分類される）、Lactococcus lactis、L. cremoris等のラクトコッカス（Lactococcus）属、Tetragenococcus halophilus等のテトラジェノコッカス（Tetragenococcus）属、Lactococcus lactis、L. cremoris、Tetragenococcus halophilus、Pediococcus acidilactici、P. pentosaceus等のペディオコッカス（Pediococcus）属、Oenococcus oeni等のオエノコッカス（Oenococcus）属等の乳酸球菌等を好ましく用いることが出来るが、これらに限定されない。

なお、本明細書中においては、現在の分類学に従い菌の分類をしているが、過去の分類に従い、ストレプトコッカス（Streptococcus）属は、ストレプ

トコッカス（Streptococcus）属及びエンテロコッカス(Enterococcus)属を包含することもある。

[0018] また、本発明の剤は、上記した（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の菌以外に、例えば、枯草菌、糖化菌、酪酸菌等の公知の有用菌を含んでもよい。例えば、バチルス　サブティリス（Bacillus subtilis、枯草菌）、バチルス　メセンテリカス（Bacillus mesentericus）、バチルス　ポリファーメンチカス（Bacillus polyfermenticus）等の糖化菌；バチルス　コアグランス（Bacillus coagulans）等の有胞子性乳酸菌；バチルス　トヨイ（Bacillus　toyoi）、バチルス　リケニフォルミス（Bacillus licheniformis）、クロストリジウム　ブチリカム（Clostridium　butyricum）等の酪酸菌；その他の有用菌であってもよい。なお、これらの有用菌は、通常、非病原性である。

[0019] 本発明は、尿毒素軽減剤、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤に関する。本発明において、尿毒素軽減剤は、例えば、腎疾患の予防または治療に有用である。本発明において、腎疾患の「予防」とは、例えば、腎疾患の発症を阻止することをいい、腎疾患の「治療」とは、例えば、腎疾患による症状の緩解、又は完治させることをいう。

また、本発明において、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤は、例えば、脂肪関連疾患の予防または治療に有用である。本発明において、脂肪関連疾患の「予防」とは、例えば、脂肪関連疾患の発症を阻止することをいい、脂肪関連疾患の「治療」とは、例えば、脂肪関連疾患による症状の緩解、又は完治させることをいう。

[0020] 本発明の剤の適用疾患としては、腎疾患に関しては、例えば、慢性腎臓病、腎不全、慢性腎盂腎炎、急性腎盂腎炎、慢性糸球体腎炎、急性進行型腎炎症候群、ネフローゼ症候群、腎硬化症、間質性腎炎、糖尿病性腎症、巣状糸球体硬化症、膜性腎症、多発性のう胞性腎症候群、腎血管性高血圧、及び高血圧症候群、並びに前記の原疾患に伴う続発性腎疾患等を挙げることができるがこれらに限定されない。また、慢性腎臓病に付随する高リン血症、高カ

リウム血症、高尿酸血症、低ナトリウム性腎障害及び高ナトリウム血症等も広義の腎疾患として挙げられる。

[0021] 本発明の剤の適用疾患としては、脂肪関連疾患に関しては、例えば、メタボリックシンドローム、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）（非アルコール性脂肪肝炎（ＮＡＳＨ）を含む）、高脂血症、高尿酸血症、糖尿病、高血圧、脳梗塞、痛風、睡眠時無呼吸症候群、肥満低換気症候群、月経異常、妊娠合併症等が挙げられるが、これらに限定されない。メタボリックシンドロームは、複数の病気や異常が重なっている状態を表し、このような複数の病気や異常の例としては、例えば、肥満症（例えば、脂質代謝異常、脂肪肝等）、糖代謝異常、インスリン抵抗性異常、狭心症や心筋梗塞などの心疾患や動脈硬化性疾患（例えば、脳梗塞、閉塞性動脈硬化症等）等を挙げることができるが、これらに限定されない。また、脂肪が関連する疾患に付随して発症等する疾患としては、例えば、肝硬変、肝臓がん等が挙げられる。

[0022] 本発明において、ヒトを含む動物に対する菌の投与量は、約１×１０^{3}～１×１０^{11}個／大人／回が好ましく、約１×１０^{6}～１×１０^{11}個／大人／回がより好ましく、約１×１０^{8}～１×１０^{11}個／大人／回がさらに好ましい。

[0023] 本発明において、ヒトを含む動物に対する菌処理物の投与量は、菌約１×１０^{3}～１×１０^{14}個の処理物／大人／回が好ましく、菌約１×１０^{6}～１×１０^{14}個の処理物／大人／回がより好ましく、菌約１×１０^{8}～１×１０^{14}個の処理物／大人／回がさらに好ましい。

[0024] 本発明の剤の使用間隔は、例えば、ラット等の投与対象、経口投与等の投与経路、液剤等の形態等にもよるが、例えば、本発明の剤を１日に１～５回使用してもよいし、１週間に１～５回使用してもよいし、１ヶ月に１～５回使用等してもよい。

[0025] 本発明の剤の使用期間は、例えば、ラット等の投与対象、経口投与等の投与経路、液剤等の形態、使用間隔等にもよるが、例えば、１日～６日であってもよいし、１週間～４週間であってもよいし、１ヶ月～１２ヶ月であってもよい。また、例えば、組成物を継続的に使用し続ける等であってもよい。

[0026] 本発明において、剤の投与対象は、例えば、動物（例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サル等）に対して投与することができる。

本発明において、腎疾患の予防または治療剤の投与対象は、イヌ及びネコが除かれる動物（例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル等）であることが好ましい。

[0027] 〔菌体の取得方法〕

上記したラクトバチルス属の菌、ビフィドバクテリウム属の菌、バクテロイデスの菌、その他の有用菌等の菌体は、例えばＡＴＣＣ（登録商標）又はＩＦＯ等の機関や財団法人　日本ビフィズス菌センター、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター等などから容易に入手することができる。また、市販されているものを適宜使用することもできる。

例えば、ビフィドバクテリウム　ビフィダムＧ９－１（Ｂｉｆｉｄｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｂｉｆｉｄｕｍ　Ｇ９－１）は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（ＮＰＭＤ）（住所：郵便番号２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に、２００９年９月３０日（原寄託日：２００９年９月１７日）付で、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－８１７として、国際受託されている。

また、例えば、ラクトバチルス　ガセリ　ＫＤ２０９３（Lactobacillus gasseri KD2093）は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（ＮＰＭＤ）（住所：郵便番号２９２－０８１８　日本国千葉県木更津市かずさ鎌足２－５－８　１２２号室）に、２０２０年９月１０日（国内寄託日：２０１９年３月１２日）付で、受託番号ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９１３として、国際受託されている。

なお、これらの培養前の菌体は凍結状態保存されたものであってもよい。

[0028] 〔菌の培養〕

通常、ラクトバチルス属の菌、ビフィドバクテリウム属の菌、バクテロイデスの菌、その他の有用菌を培地に接種し培養する。これらの菌を培養する

ために用いる培地の基本組成は、例えば、栄養性の高い汎用増殖培地である、ＭＲＳ培地、ＬＢＳ培地、ロガサ培地等の公知の乳酸菌培養用培地を参考にしてよい。

また、嫌気性菌用の培地も好ましく用いることが出来る。例えば、ＧＡＭブイヨンや変法ＧＡＭブイヨン等のＧＡＭ液体培地等を好ましく用いることが出来るが、これらに限定されない。

[0029] 本発明の培地は、炭素源、窒素源、アミノ酸、ビタミン、ミネラル、動植物タンパク質又はそのエキス並びに分解物、無機塩類、緩衝剤、界面活性剤、抗生物質、安定化剤、水又はそれらの任意の組み合わせ等を含有していてもよいが、これらに限定されない。培地中の各成分については、市販品を入手して適宜使用することができる。

[0030] 窒素源としては、例えば、動物性又は植物性のペプトンや硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、酢酸アンモニウム等のアンモニウム塩及びこれらの水和物、アンモニア等が挙げられる。ペプトンは、例えば、大豆ペプトンやプロテオーゼペプトン、カゼインペプトン、心筋ペプトン、獣肉ペプトン等を好ましく用いることが出来るがこれらに限定されない。培地中の窒素源の含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．１～１質量％であってもよく、０．１～０．５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0031] 炭素源としては、例えば、単糖類、二糖類、三糖類、四糖類、オリゴ糖、又は多糖等が挙げられる。単糖類としては、グルコース、キシロース、アラビノース、マンノース、ガラクトース又はそれらの任意の組み合わせが例示される。また、二糖類としては、マルトース、セロビオース、トレハロース、スクロース、ラクツロース、ラクトース又はそれらの任意の組み合わせが例示される。培地中の炭素源の含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．１～１質量％であってもよく、０．１～０．５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0032] 本発明の培地においては、生育因子として、アミノ酸やビタミン等の成分

を含むことが好ましい。アミノ酸としては、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、リシン、ロイシン、メチオニン、アスパラギン、ピロリシン、プロリン、グルタミン、アルギニン、セリン、トレオニン、セレノシステイン、バリン、トリプトファン、チロシン又はこれらの任意の組み合わせ又はこれらの塩等が例示されるが、これらに限定されない。これらのアミノ酸は、通常はＬ型である。培地中のアミノ酸の含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．０１～０．１質量％であってよく、０．０１～０．０５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0033] ビタミンとしては、ビタミンＡ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｋ等のビタミン類又はそれらの誘導体、若しくはそれらの塩類、ビオチン、リボフラビン、チアミン又はこれらの任意の組み合わせが好ましく用いられるが、これらに限定されない。培地中のビタミンの含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．０１～０．１質量％であってもよく、０．０１～０．０５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0034] また、ミネラルとしては、マグネシウム、カリウム、カルシウム、リン、亜鉛、鉄等を好ましく用いることが出来るが、これらに限定されない。培地中のミネラルの含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．０１～０．１質量％であってもよく、０．０１～０．０５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0035] 動植物タンパク質又はそのエキス並びにその分解物として、例えば、植物エキス、肉エキス、肝臓エキス又は酵母エキスを好ましく用いることが出来る。培地中のこのようなエキス又はその分解物の含有割合は、培地全体に対して、例えば、０．１～１質量％であってもよく、０．１～０．５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0036] 無機塩類は、例えば、リン酸塩や、塩化ナトリウム、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、硫酸マンガン水和物、硫酸マグネシウム水和物等が挙げられるが、これらに限定されない。培地中の無機塩類の含有割合は、培地全体に対

して、例えば、０．０１～０．１質量％であってもよく、０．０１～０．０５質量％であってもよいが、これらに限定されない。

[0037] 緩衝剤は、例えば、ＰＢＳ、ＨＢＳＳ、ＨＥＰＥＳ、ＨＡＮＫＳ等が挙げられるが、これらに限定されない。界面活性剤としては、例えば、ポリソルベート20、ポリソルベート60、ポリソルベート65、ポリソルベート80等のポリソルベート類や、マクロゴール、ラウリル硫酸ナトリウム等を好ましく用いることが出来るが、これらに限定されない。抗生物質としては、例えば、ペニシリンや、ストレプトマイシン、カナマイシン等のマイシン系抗生物質等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0038] その他の培地成分又は添加剤としては、炭酸塩、炭酸水素塩、アルブミン、インスリン、トランスフェリン、セレニウム、ホルモン、サイトカイン、Ｌ－システイン塩酸塩、チオグリコール酸ナトリウム、ヘミン、溶性デンプン、消化血清末、ビタミン類、短鎖脂肪酸類等を含んでもよいが、これらに限定されない。

上記例示した各成分を混合して、高圧蒸気滅菌器を用いて加熱滅菌して、培地を調製することができる。

[0039] 培地の液性は中性（例えば、ｐＨ６～８、ｐＨ７～８）であることが好ましく、中性にするために、公知のｐＨ調整剤や上記した緩衝剤を使用してもよい。

[0040] ラクトバチルス属の菌、ビフィドバクテリウム属の菌、バクテロイデスの菌、その他の有用菌を培地や動物体内に接種する際の、培地に対するビフィドバクテリウム属の菌の割合は、例えば、10^{1}～10^{8}ｃｆｕ／ｍＬであってもよく、10^{5}～10^{8}ｃｆｕ／ｍＬであってもよいが、これらに限定されない。なお、接種用（種培養用）培地と増殖用（本培養用）培地は同じでもよく、異なっていてもよい。

[0041] 上記培養の温度は、例えば、２５～４５℃であることが好ましく、３６～３８℃であることがより好ましい。また、上記培養の時間は、例えば、４～７２時間であることが好ましく、１２～２４時間であることがより好ましい

。これら培養の温度又は培養の時間の範囲内であれば、ビフィドバクテリウム属の菌が増殖しやすくなる。

なお、嫌気下でビフィドバクテリウム属の菌を培養するために、嫌気ボックス又は嫌気チャンバーを使用してもよい。嫌気ボックス又は嫌気チャンバーは、市販されているものを用いてよい。

[0042] 本発明において使用される菌体の形態は、特に制限されず、生菌体、湿菌体、乾燥菌等、任意の形態のものを用いることができる。

また、生菌体、湿菌体、乾燥菌等をさらに処理した菌の処理物を用いてもよい。菌の処理物とは、乳酸菌に何らかの処理を加えたものをいい、その処理は特に限定されない。該処理物として具体的には、該菌体の超音波などによる破砕液、該菌体の培養液又は培養上清、それらを濾過又は遠心分離など固液分離手段によって分離した固体残渣などが挙げられる。また、細胞壁を酵素又は機械的手段により除去した処理液、トリクロロ酢酸処理又は塩析処理などして得られるタンパク質複合体（タンパク質、リポタンパク質、糖タンパク質など）又はペプチド複合体（ペプチド、糖ペプチド等）なども該処理物として挙げられる。さらに、これらの濃縮物、これらの希釈物又はこれらの乾燥物なども該処理物に含まれる。培養液から菌体を摂取して、菌体からどのようにして非処理物を得るのかは、本技術分野において、従来充分に確立されているので、本発明において、それらに従ってよい。また、該菌体の超音波などによる破砕液、該細胞の培養液又は培養上清などに対し、例えば各種クロマトグラフィーによる分離などの処理をさらに加えたものも、本発明における処理物に含まれる。

なお、死菌体も本発明における菌の処理物に含まれる。死菌体は、例えば、酵素処理、加熱処理、抗生物質などの薬物による処理、ホルマリンなどの化学物質による処理、γ線などの放射線による処理などにより、得ることができる。これらの技術は従来充分に確立されていて、本発明において、そのような技術に従ってよい。

[0043] さらに、乾燥菌や湿菌体の好ましい製造方法について説明する。上記菌体

を溶媒に分散して菌体液とする。菌体を分散して菌体液とする溶媒は、当分野で用いられる公知の溶媒を用いてよいが、水やＰＢＳ等の緩衝液が好ましい。また、所望により、エタノールなどを加えてもよい。さらに、菌体液は、懸濁液であってもよく、溶媒は上記で示したものと同じでよい。また、懸濁させる際、懸濁剤、例えばアルギン酸ナトリウム等を使用してもよい。

また、上記菌体液には、公知技術に従ってさらに賦形剤、結合剤、崩壊剤、静電気防止剤など当業界で一般に用いられている添加剤を通常の配合割合で添加してもよい。

賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、Ｄ－マンニトール、トウモロコシデンプン、粉末セルロース、リン酸水素カルシウム、炭酸カルシウム等が挙げられる。結合剤としては、例えばヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、キサンタンガム等が挙げられる。崩壊剤としては、例えば、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロースカルシウム、部分アルファー化デンプン、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、カルボキシメチルスターチ等が挙げられる。静電気防止剤としては、例えば微粉又は非微粉タルク、コロイド状シリカ、加工シリカ、沈降シリカ等が挙げられる。

[0044] さらに、滅菌されてもよく、滅菌は、例えば、フィルター濾過により行うことが好ましいが、その他の公知の滅菌方法、例えば、湿熱滅菌法、乾熱滅菌法、高周波滅菌法等の加熱法、酸化エチレンガス滅菌法、過酸化水素による滅菌法等のガス法、ガンマ線照射滅菌法、電子線照射滅菌法等の放射線法等により滅菌を行ってもよい。

[0045] 上記菌体液を、菌体乾燥物を製造するために噴霧乾燥装置による乾燥操作に付することにより、乾燥菌を得ることが出来る。噴霧乾燥装置は、シングルミクロンの噴霧液滴を形成できる微粒化装置を備えた噴霧乾燥装置が好ましい。非常に粒径の小さな噴霧液滴にすると、噴霧液滴の単位質量あたりの表面積が大きくなり、乾燥温風との接触が効率よく行われるため、生産性が向上する。

ここでシングルミクロンの液滴とは、好ましくは噴霧液滴の粒径が小数第１位を四捨五入して１～１０μｍであるものをいう。

[0046] 噴霧乾燥装置には、微粒化装置が、例えばロータリーアトマイザー（回転円盤）、加圧ノズル、又は圧縮気体の力を利用した２流体ノズルや４流体ノズルである噴霧乾燥装置が挙げられる。

噴霧乾燥装置は、シングルミクロンの噴霧液滴を形成できるものであれば、上記形式のいずれの噴霧乾燥装置であってもよいが、４流体ノズルを有する噴霧乾燥装置を使用するのが好ましい。

[0047] ４流体ノズルを有する噴霧乾燥装置では、例えば４流体ノズルの構造としては、好ましくは気体流路と液体流路とを１系統として、これを２系統ノズルエッジにおいて対称に設けたもので、ノズルエッジに流体流動面となる斜面を構成している。

また、ノズルエッジの先端の衝突焦点に向かって、両サイドから圧縮気体と液体を一点に集合させる外部混合方式の装置がよい。この方式であれば、ノズル詰まりがなく長時間噴霧することが可能となる。

[0048] ４流路ノズルを有する噴霧乾燥装置について図１を用いてさらに詳しく説明する。４流路ノズルのノズルエッジにおいて、液体流路３又は４から湧き出るように出た菌体液が、気体流路１又は２から出た高速気体流により流体流動面５で薄く引き伸ばされ、引き伸ばされた液体はノズルエッジ先端の衝突焦点６で発生する衝撃波で微粒化させることにより、シングルミクロンの噴霧液滴７を形成する。

[0049] 圧縮気体としては、例えば、空気、炭酸ガス、窒素ガス又はアルゴンガス等の不活性ガス等を用いることができる。とくに、酸化されやすいもの等を噴霧乾燥させる場合は、炭酸ガス、窒素ガス又はアルゴンガス等の不活性ガスを用いるのが好ましい。

圧縮気体の圧力としては、通常約１～１５ｋｇ重／ｃｍ^2、好ましくは約３～８ｋｇ重／ｃｍ^{2}である。ノズルにおける気体量は、ノズルエッジ１ｍｍあたり、通常約１～１００Ｌ／分、好ましくは約１０～２０Ｌ／分である。

[0050] 通常、その後、乾燥室において、その噴霧液滴に乾燥温風を接触させることで水分を蒸発させ菌体乾燥物を得る。

乾燥室の入り口温度は、通常約２～４００℃、好ましくは約５～２５０℃、より好ましくは約５～１５０℃である。入り口温度が約２００～４００℃の高温であっても、水分の蒸発による気化熱により乾燥室内の温度はそれほど高くならず、また、乾燥室内の滞留時間を短くすることにより、生菌の死滅や損傷をある程度抑えることができる。

出口温度は、通常約０～１２０℃、好ましくは約５～９０℃、より好ましくは約５～７０℃である。

[0051] 上記のように菌体乾燥物の粒径を小さくすることにより、生菌率が上がり、生菌率の多い製剤を提供できるという利点がある。すなわち、シングルミクロンの菌体乾燥物を得るためにはシングルミクロンの噴霧液滴を噴霧するのが好ましい。噴霧液滴の粒径を小さくすると、噴霧液滴の単位質量あたりの表面積が大きくなるので、乾燥温風との接触が効率よく行われ、乾燥温風の熱による菌体の死滅又は損傷を極力抑えることができる。その結果として、生菌率が上がり生菌数の多い菌体乾燥物が得られる。

[0052] 湿菌体は、培養液から遠心処理により菌体を採取し、リン酸緩衝液等により洗浄し、再度遠心処理により得られた菌体を凍結保存する方法等、当分野で公知の方法により、得ることができる。

[0053] 本発明の剤は、通常、ラクトバチルス属の菌、ビフィドバクテリウム属の菌、バクテロイデスの菌、及び／又はその他の有用菌と、その他の成分を混合することにより容易に製造され得る。他の成分は、本発明の効果を奏する限り特に限定されない。本発明の剤は、医薬品、医薬部外品、飲食品、食品添加剤、サプリメント、飼料等の形態として用いることができる。このような、本発明の剤を含む医薬品も、本発明の好ましい実施態様の１つである。

飲食品には、健康食品、機能性食品、特定保健用食品、病者用食品が含まれる。このような飲食品の形態は特に限定されないが、例えば、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料、茶飲料等の飲料、飴、キャンデ

ィー、グミ、ガム、チョコレート、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子、パン等の菓子及びパン類、そば、うどん、中華麺、即席麺等の麺類、ハム、ソーセージ、かまぼこ等の水産・畜産加工食品、加工乳、発酵乳等の乳製品、サラダ油、天ぷら油、バター、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ドレッシング、ホイップクリーム等の油脂及び油脂加工食品、ソース、ケチャップ等の調味料、カレー、シチュー、丼、雑炊等のレトルトパウチ食品、アイスクリーム、シャーベット、かき氷等の冷菓などを挙げることができる。また、本発明の飲食品は、尿毒素軽減、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減及び／又は中性脂肪低減をコンセプトとする旨が表示されている特定保健用食品、サプリメント、栄養補助食品、機能性食品等を含む。なお、健康食品とは、保健、健康維持・増進等の目的とした食品組成物を意味し、認可された特定機能性食品や、特定機能性食品の認可のない、いわゆる健康食品も含むことがある。

[0054] なお、本発明の剤を含有した組成物を提供することも可能である。そのような組成物には当分野で通常用いられる公知の添加剤を用いることができ、例えば、水、溶剤、ｐＨ調整剤、保湿剤、着香剤、甘味剤、増粘剤、矯味剤、ゲル化剤、溶解剤、着色剤、防腐剤、界面活性剤、懸濁化剤、乳化剤及び安定化剤等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0055] なお、ラクトバチルス属の菌、ビフィドバクテリウム属の菌、バクテロイデスの菌、その他の有用菌は、一般に嫌気性で乾燥状態では空気又は酸素に対して弱く、また、高温と湿気に弱いため、組成物の製剤化に際しては出来るだけ、不活性ガスの存在下又は真空、低温下で、処理することが好ましい。

[0056] 本発明の剤は、ヒト又は非ヒト動物に投与されてもよい。本発明の投与形態は特に限定されないが、経口投与、非経口投与（静脈内投与、経皮投与、眼局所投与等）などが挙げられる。本発明の投与剤型としては、経口剤の場合、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等が挙げられ、非経口剤としては、挿入剤等が挙げられる。投与量は、剤型、患者の症状、年齢、体重等に応じて

適宜選択できる。例えば、経口投与の場合、体重１ｋｇ当たりかつ１日当たり０．０５～５０００ｍｇ、好ましくは０．１～２０００ｍｇ、特に好ましくは１～１０００ｍｇを１日１回～数回に分けて投与することができるが、これらに限定されない。

[0057] 〔尿毒素軽減剤〕

本発明における、「尿毒素」とは、例えば、血中尿素窒素（ＢＵＮ）、１－メチルアデノシン（ｍ１Ａ）、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド（ＴＭＡＯ）、フェニル硫酸（ＰＳ）、インドキシル硫酸（ＩＳ）、クレアチニン等であるが、これらに限定されない。この他、例えば、トリメチルアミン、インドール、インドール酢酸、グアニジノ酢酸、パラクレゾール、馬尿酸、フランジカルボン酸、及びホモシステイン等、並びにこれらの前駆体等が本発明における尿毒素に含まれていてもよい。

なお、本発明の尿毒素軽減剤が投与された場合に、尿毒素と同時に、ヘマトクリット値及び／又は貧血が改善されてもよい。

[0058] 本発明において、尿毒素が軽減されたことを判断する方法は、特に限定されるものでなく、公知の方法等により判断してもよい。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、後述の実施例で述べるような、血清中ＢＵＮ（尿素窒素）等を測定する方法が挙げられる。血清中ＢＵＮを測定する方法を用いる場合には、例えば、菌又は菌処理物、もしくは剤の投与により、それらを投与する前よりもＢＵＮの値が下がった際に、尿毒素軽減効果があると判断してもよい。また、以下で述べるＢＵＮ以外の指標により判断してもよい。

[0059] １－メチルアデノシン（ｍ１Ａ）は、尿毒素の１種であって、ｔＲＮＡ内に特異的な構成成分であるが、近年、酸化ストレスによる組織のダメージを示す指標の１つであることが明らかになっている。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、ｍ１Ａ量に関して、本発明に

おける菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、ｍ１Ａ量が低いことにより確認することができる。

[0060] トリメチルアミン－Ｎ－オキシド（ＴＭＡＯ）は、尿毒素の１種であり、動脈硬化を促進することが知られている他、急性心筋梗塞や血栓症、心不全、腎不全など、さまざまな疾患の原因になることも最近明らかになっている。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、ＴＭＡＯ量に関して、本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、ＴＭＡＯ量が低いことにより確認することができる。

[0061] フェニル硫酸（ＰＳ）は、代表的な尿毒素であり、腸内細菌で蛋白質を原料として作られ、腎機能低下時に体内に蓄積し、その血中濃度が糖尿病性腎症の発症率、腎死や生存率と相関することが知られている。また、インドキシル硫酸（ＩＳ）についても、代表的な尿毒素である。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、ＰＳ量及び／又はＩＳ量に関して、本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、ＰＳ量及び／又はＩＳ量が低いことにより確認することができる。

[0062] クレアチニンは、腎臓が正常に働いている場合、尿として体外に排泄される尿毒素であるため、血液中のクレアチニンが多い場合、腎機能が障害されていると考えられる。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、クレアチニン値に関して、本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、クレアチニン値が低減されていることにより確認することができる。

[0063] また、ヘマトクリット及びヘモグロビンが多いほど、血液が濃いことを示す。ヘマトクリット及びヘモグロビンが基準値よりも低い場合は、いわゆる

血が薄い状態であり、貧血が起こりやすい。本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を投与したことにより、尿毒素が軽減されたことを判断するための方法としては、例えば、ヘマトクリット及びヘモグロビン値に関して、本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、ヘマトクリット及びヘモグロビン値が増大していることにより確認することができる。

[0064] 本発明は、本発明の効果を奏する限り、本発明の技術的範囲内において、上記の構成を種々組み合わせた態様を含む。

[0065] ［自閉症治療剤又は予防剤］

上記した尿毒素のうち、フェニル硫酸（ＰＳ）の１種である、４－エチルフェニルスルフェート（４－エチルフェニル硫酸）等のフェノール誘導体については、自閉症スペクトラム障害（ＡＳＤ）関連代謝産物であることが知られている（例えば、特表2015-529668号）。そのため、本発明における菌又はその処理物、もしくは本発明の剤を添加した群が、非添加群と比較して、ＰＳ量が低い場合には、自閉症の治療及び／又は予防にも有効である。

[0066] 〔腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤〕

コレステロールは脂質の一種であり、総コレステロール（量）は、血液中のコレステロールの総量を指す。総コレステロールは、血管を塞ぎ、心疾患のリスクを高める悪玉コレステロールとも呼ばれる低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）及び心臓病から守るのに役立つ善玉コレステロールである、高密度リポタンパク質（ＨＤＬ）を含み、このうち、ＨＤＬの割合が高いほど好ましく、また、総コレステロール量が少ないほど好ましいとされる。

中性脂肪も、脂質の一種であり、これが血中に高値で含まれる場合は、動脈硬化、脂肪肝、高脂血症や糖尿病等のリスクがあるとされる。

本発明の剤（特に、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤）は、腎機能が低下している対象における総コレステロール量及び／又は中性脂肪を低減することが出来る。腎機能が

低下している対象における総コレステロール量及び／又は中性脂肪を低減することは、例えば、脂肪関連疾患の予防又は治療に有用であると考えられる。また、本発明の剤は、善玉コレステロール（ＨＤＬ）量の増加及び／又は悪玉コレステロール（ＬＤＬ）量の低減にも有効である。

本明細書において、「腎機能が低下している」とは、具体的には、対象の腎機能が低下している状態を指し、好ましくは、対象が、例えば、腎不全、慢性腎臓病、慢性腎盂腎炎、急性腎盂腎炎、慢性糸球体腎炎、急性進行型腎炎症候群、ネフローゼ症候群、腎硬化症、間質性腎炎、糖尿病性腎症、巣状糸球体硬化症、膜性腎症、多発性のう胞性腎症候群、腎血管性高血圧、及び高血圧症候群、並びに前記の原疾患に伴う続発性腎疾患等のいずれかであることを指し、より好ましくは、対象が腎不全である状態である。

本発明の腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤及び／又は中性脂肪低減剤の好ましい対象は、例えば、動物（例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サル等）に対して投与することができるが、これらに限定されない。

また、本発明の剤の脂肪関連疾患の予防又は治療効果は、公知又は自体公知の方法により確認することができる。例えば、体重の測定若しくは肝臓の脂肪量又は精巣上体周囲の脂肪量等をＣＴスキャン等で解析し、体重又は脂肪量が少ない又は減少する場合に、肥満を予防又は改善する効果を奏することを確認できる。また、例えば、肝臓組織の一部を病理解析し、脂肪滴、線維化の状態を確認し、脂肪滴、線維化の状態が少ない又は減少する場合に、脂肪肝及び／又は肝臓の線維化の予防又は治療効果を奏することを確認できる。また、例えば、肝細胞の線維化に関与する遺伝子発現を定量性リアルタイムＰＣＲ等を用いて解析することにより、該遺伝子発現が低い又は減少する場合に、肝臓の線維化の予防又は治療効果を奏することを確認できる。また、例えば、血漿に含まれる総コレステロール量、ＡＬＴ（アラニンアミノトランスフェラーゼ）値、ＡＳＴ（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）値を測定し、それらの量又は値が少ない又は減少する場合に、肝機能の

維持又は改善効果を奏することを確認できる。

実施例

[0067] 以下、参考例及び実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されない。なお以下の参考例及び実施例では特定の菌株について言及しているが、本発明の適用範囲をこれに限定する趣旨ではない。

[0068] ［実施例１．菌体の作成］

凍結保存された各菌株（Lactobacillus gasseri KD2093、Bifidobacterium bifidium G9-1及びBacteroides Thetaiotaomicron 6030）の保存液０．２ｍＬを、０．７％グルコース（富士フイルム和光純薬株式会社）及び０．１％ポリソルベート８０（純正化学株式会社）添加ＧＡＭ液体培地（ＧＡＭブイヨン、日水製薬株式会社）１０ｍＬに添加し、３７℃、２４時間培養した。その後、各培養液１０ｍＬを、０．７％グルコースおよび０．１％ポリソルベート８０添加ＧＡＭ液体培地１０００ｍＬに接種し、さらに、３７℃で１６時間培養した。培養終了後、遠心分離（３，０００ｘｇ、４℃，１０分間）し、上清を取り除いてＰＢＳ（－）にて１回洗浄後、得られた菌体、さらにLactobacillus gasseri KD2093の菌体においては、１００℃、３０分処理し、得られた死菌体を以下の試験に供した。

[0069] ［実施例２．アデニン誘発腎不全マウスへの菌体投与実験］

（１）C57BL/6N Jcl（日本クレア株式会社）の７週齢雄マウスに０．２％アデニン含有ＣＥ－２食（日本クレア株式会社）を６週間給餌し、アデニン誘発腎不全マウス（以下、「ＲＦマウス」とも呼ぶ）を作成した（ＲＦ：Renal Failure）。なお、比較のため、同じ７週齢のC57BL/6N Jclの雄マウスに通常のＣＥ－２食（アデニン非含有）を６週間給餌し、腎不全でない通常のマウスも作成した。

（２）上記（１）で得られたＲＦマウスに、上記実施例１で調製した菌体（Lactobacillus gasseri KD2093、Lactobacillus gasseri KD2093死菌体、Bifidobacterium bifidium G9-1又はBacteroides thetaiotaomicron 6030）、又はコントロールとして蒸留水（ｄｗ：distilled water）を、１日１回、それ

ぞれ、連続して２週間経口投与した。

食餌の投与スケジュールおよび各試験群の構成は図２で示す通りであり、各群はｎ＝６である。なお、ＲＦマウスに、菌体投与を開始した後１週間までは、０．２％アデニン含有ＣＥ－２食を投与し、菌体投与を開始して１週間経過後から２週間までの間は、０．２％アデニン含有ＣＥ－２食を通常のＣＥ－２食（アデニン非含有）に切り替えて投与したが、これは、投与した菌体が食餌中アデニンの吸収を阻害したために腎機能が改善する可能性を否定するためである。菌体の投与開始から２週間経過した日の翌日、マウスを解剖し、各マウスから血液サンプルを採取した。

[0070] ［実施例３．尿毒素の測定］

実施例２の通常マウスおよびＲＦマウス（「RF + dw」、「RF + L. gasseri KD2093」、「RF + B. bifidum G9-1」及び「RF + Bac. Thetaiotaomicron 6030」）において採取した血液サンプルについて、尿毒素濃度を測定した結果を図３～６に示した。なお、ＢＵＮ以外の尿毒素、すなわち、クレアチニン、ｍ１Ａ（１－メチルアデノシン）、ＴＭＡＯ（トリメチルアミン－Ｎ－オキシド）、ＰＳ（フェニル硫酸）及びＩＳ（インドキシル硫酸）は、LC-MSを用いて測定した。また、ＢＵＮ、ヘマトクリット値とヘモグロビンはiSTATカートリッジ（アボット社）を用いて測定した。

[0071] ［尿毒素の測定結果のまとめ］

図３に記載の結果から、本発明の菌体が投与されたＲＦマウス（「RF + L. gasseri KD2093」、「RF + B. bifidum G9-1」及び「RF + Bac. Thetaiotaomicron 6030」）は、コントロールである蒸留水が投与されたＲＦマウス（「RF + dw」）と比較して、約３０％近くもＢＵＮ（血中尿素窒素）を軽減出来たことがわかる。ヘマトクリット値及びヘモグロビン値についても、Bac. Thetaiotaomicron 6030において、有意に改善し、L. gasseri KD2093及びB. bifidum G9-1においても、数値に改善が見られた。

図４に記載の結果から、本発明のL. gasseri KD2093が投与されたＲＦマウスは、クレアチニン、ｍ１Ａ（１－メチルアデノシン）、ＴＭＡＯ（トリメ

チルアミン－Ｎ－オキシド）、ＰＳ（フェニル硫酸）及びＩＳ（インドキシル硫酸）のいずれの尿毒素についても、コントロールと比べて軽減出来たことがわかる。なお、L. gasseri KD2093は、このうち、特に、ＴＭＡＯ及びＰＳの軽減効果に優れていた。

図５に記載の結果から、本発明のB. bifidum G9-1が投与されたＲＦマウスは、クレアチニン、ｍ１Ａ、ＴＭＡＯ、ＰＳ及びＩＳのいずれの尿毒素についても、コントロールと比べて軽減出来たことがわかる。なお、B. bifidum G9-1は、このうち、特に、クレアチニン及びＩＳの軽減効果に優れていた。

図６に記載の結果から、本発明のBac. Thetaiotaomicron 6030が投与されたＲＦマウスは、クレアチニン、ｍ１Ａ、ＴＭＡＯ、ＰＳ及びＩＳのいずれの尿毒素についても、コントロールと比べて軽減出来たことがわかる。なお、Bac. Thetaiotaomicron 6030は、このうち、特に、クレアチニン、ＴＭＡＯ及びＩＳの軽減効果に優れていた。

[0072] ［総コレステロール（T-Cho(TC)）、中性脂肪（TG）の測定］

実施例２のＲＦマウス（「RF + dw」及び「RF + L. gasseri KD2093死菌体」、すなわち、腎機能が低下しているマウスの一種）において採取した血液サンプルについて、TCおよびTGを測定した結果を図７に示した。なお、TC及びTGは、血漿サンプル各10μLを用いてFUJIドライケム7000Vにて測定した。

[0073] ［TG、TCの測定結果のまとめ］

図７に記載の結果から、本発明の菌体が投与されたＲＦマウス（「RF + L. gasseri KD2093死菌体」は、コントロールである蒸留水が投与されたＲＦマウス（「RF + dw」）と比較して、T-Cho(TC)およびTGを低減出来たことがわかる。なお、L. gasseri KD2093死菌体は特に、T-Cho(TC)の低減効果に優れていた。

産業上の利用可能性

[0074] 本発明の方法は、効率よく、工業的有利に尿毒素軽減剤、総コレステロール低減剤及び中性脂肪低減剤を得ることが出来るため、有用である。

請求の範囲

[請求項1] 下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、尿毒素軽減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は

（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

[請求項2] ラクトバチルス属の菌が、ラクトバチルス　ガセリ　ＫＤ２０９３（Lactobacillus gasseri KD2093）、受託番号：ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９１３）であることを特徴とする、請求項１に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項3] ビフィドバクテリウム属の菌が、ビフィドバクテリウム　ビフィダム　Ｇ９－１（Bifidobacterium bifidum G9-1、受託番号：ＮＩＴＥ　ＢＰ－８１７）であることを特徴とする、請求項１に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項4] バクテロイデス属の菌が、バクテロイデス　シータイオタオミクロン（Bacteroides thetaiotaomicron）であることを特徴とする、請求項１に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項5] 軽減される尿毒素が、血中尿素窒素（ＢＵＮ）、１－メチルアデノシン（ｍ１Ａ）、トリメチルアミン－Ｎ－オキシド（ＴＭＡＯ）、フェニル硫酸（ＰＳ）、インドキシル硫酸（ＩＳ）及び４－エチルフェ

ニルスルフェート（４－エチルフェニル硫酸（4-EPS））からなる群から選択される１種以上であることを特徴とする、請求項１～４のいずれか１項に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項6] さらに、クレアチニン値が低減されていることを特徴とする、請求項１～５のいずれか１項に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項7] さらに、ヘマトクリット値が増大されていること、及び／又はヘモグロビン値が増大されていることを特徴とする、請求項１～６のいずれか１項に記載の尿毒素軽減剤。

[請求項8] 請求項１に記載のいずれかの菌を培養し、培養成績体を採取することを特徴とする、請求項１～７のいずれか１項に記載の尿毒素軽減剤の製造方法。

[請求項9] 請求項１に記載のいずれかの菌の、尿毒素軽減剤を製造するための使用。

[請求項10] 下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、腎機能が低下している対象における総コレステロール低減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は

（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

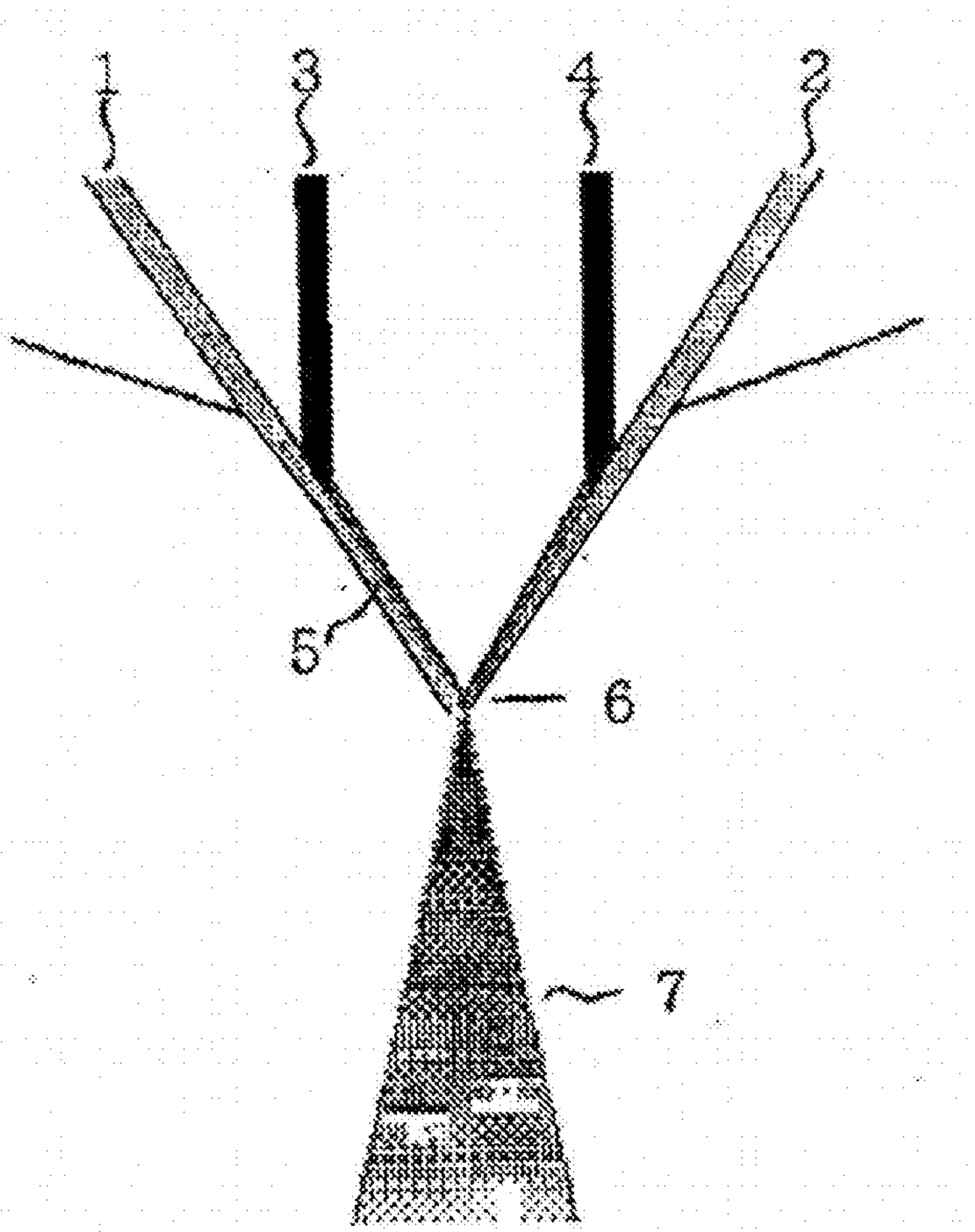
[請求項11] 下記（ａ）～（ｃ）のいずれかの菌を含有することを特徴とする、腎機能が低下している対象における中性脂肪低減剤。

（ａ）ラクトバチルス　ガセリ（Lactobacillus gasseri）、ラクトバチルス　ジョンソニイ（Lactobacillus johnsonii）及びラクトバチルス　カゼイ（Lactobacillus casei）からなる群から選択される１種以上のラクトバチルス（Lactobacillus）属に属する菌、

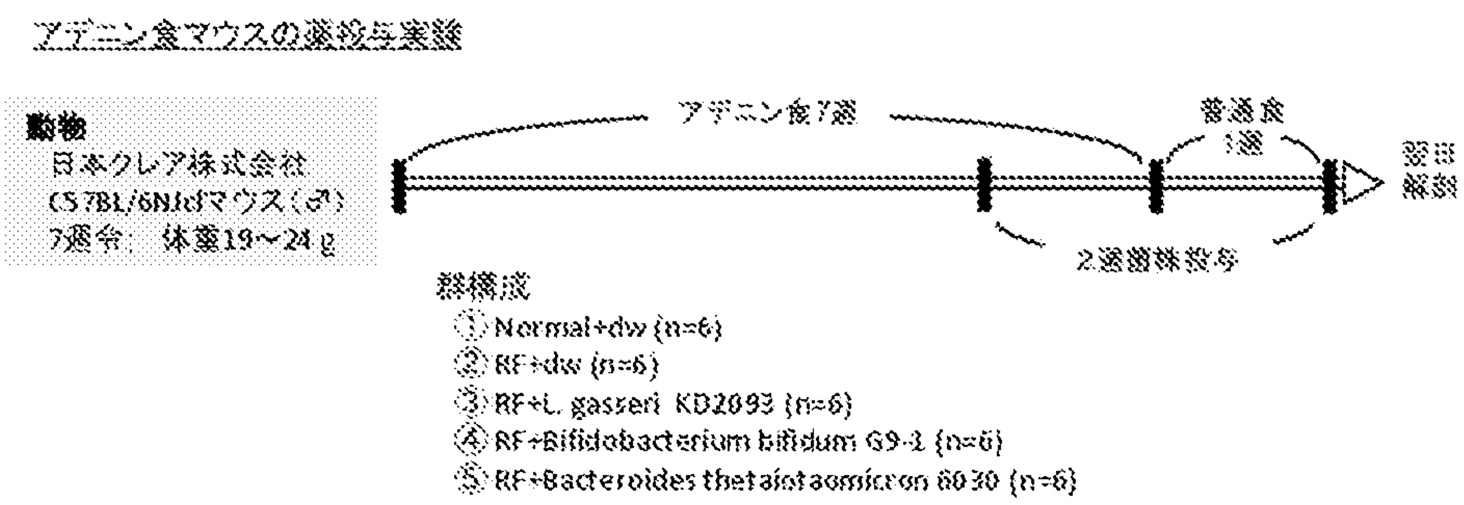
（ｂ）ビフィドバクテリウム　ロンガム（Bifidobacterium longum）、ビフィドバクテリウム　ビフィダム（Bifidobacterium bifidum）、ビフィドバクテリウム　ブレベ（Bifidobacterium breve）及びビフィドバクテリウム　インファンティス（Bifidobacterium infantis）からなる群から選択される１種以上のビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）属に属する菌、又は

（ｃ）１種以上のバクテロイデス（Bacteroides）属に属する菌。

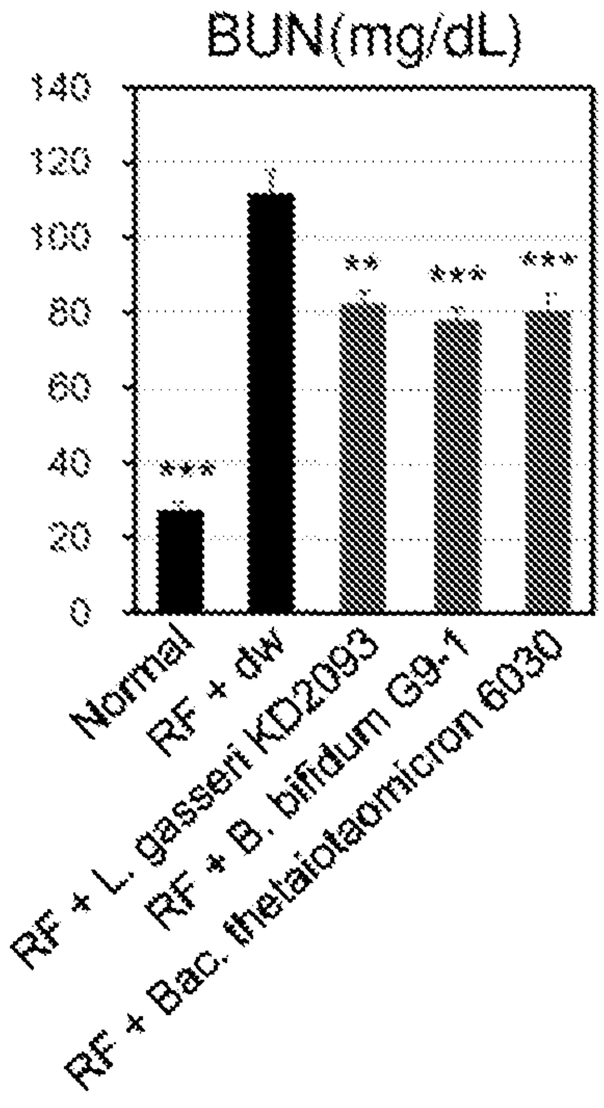
[図1]


1
3
4
2
5
6
7

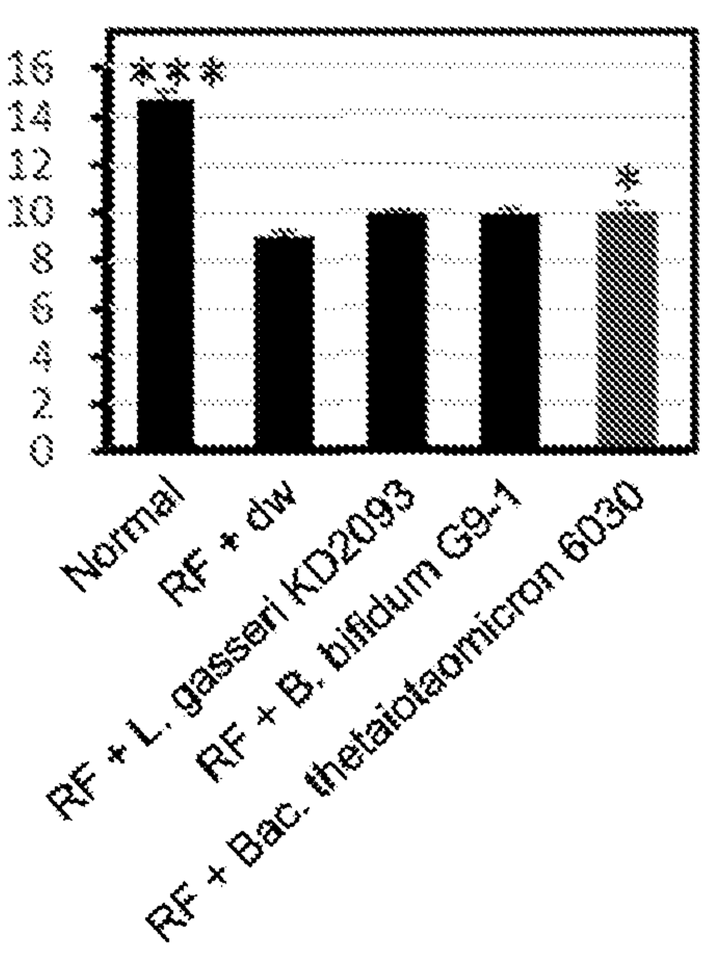
[図2]


アデニン食マウスの感染与実験
動物
日本クレア株式会社
C57BL/6NJclマウス(♂)
7週令; 体重19～24 g
アデニン食7週
普通食
1週
2週間株投与
群構成
① Normal+dw (n=6)
② RF+dw (n=6)
③ RF+L. gasseri KD2093 (n=6)
④ RF+Bifidobacterium bifidum G9-1 (n=6)
⑤ RF+Bacteroides thetaiotaomicron 6030 (n=6)

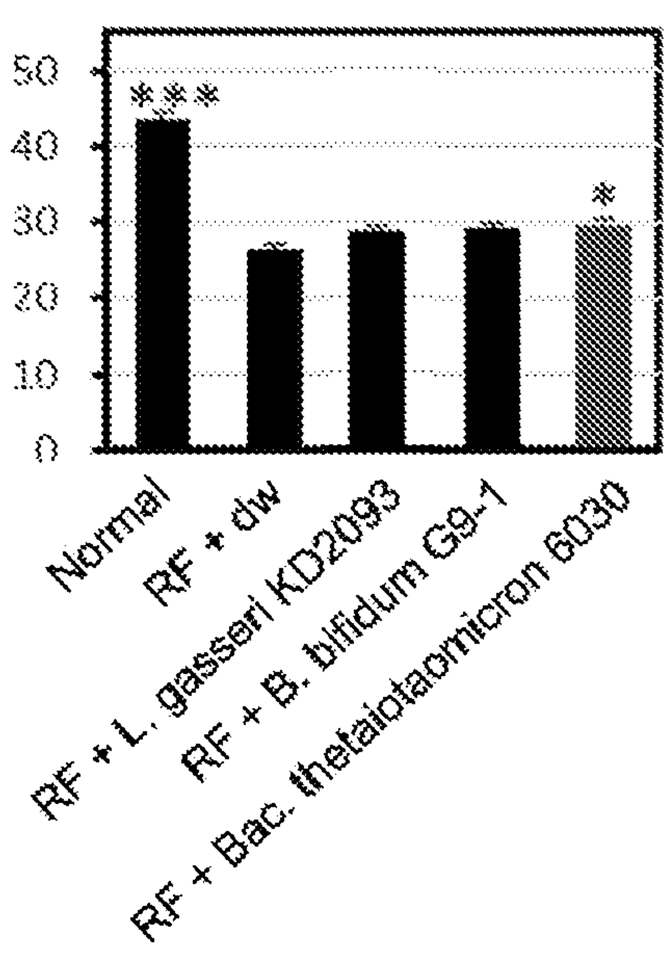
[図3]


BUN(mg/dL)
140
120
100
80
60
40
20
0
***
**
***
***
Normal
RF + dw
RF + L. gasseri KD2093
RF + B. bifidum G9-1
RF + Bac. thetaiotaomicron 6030

Hb(g/dl)

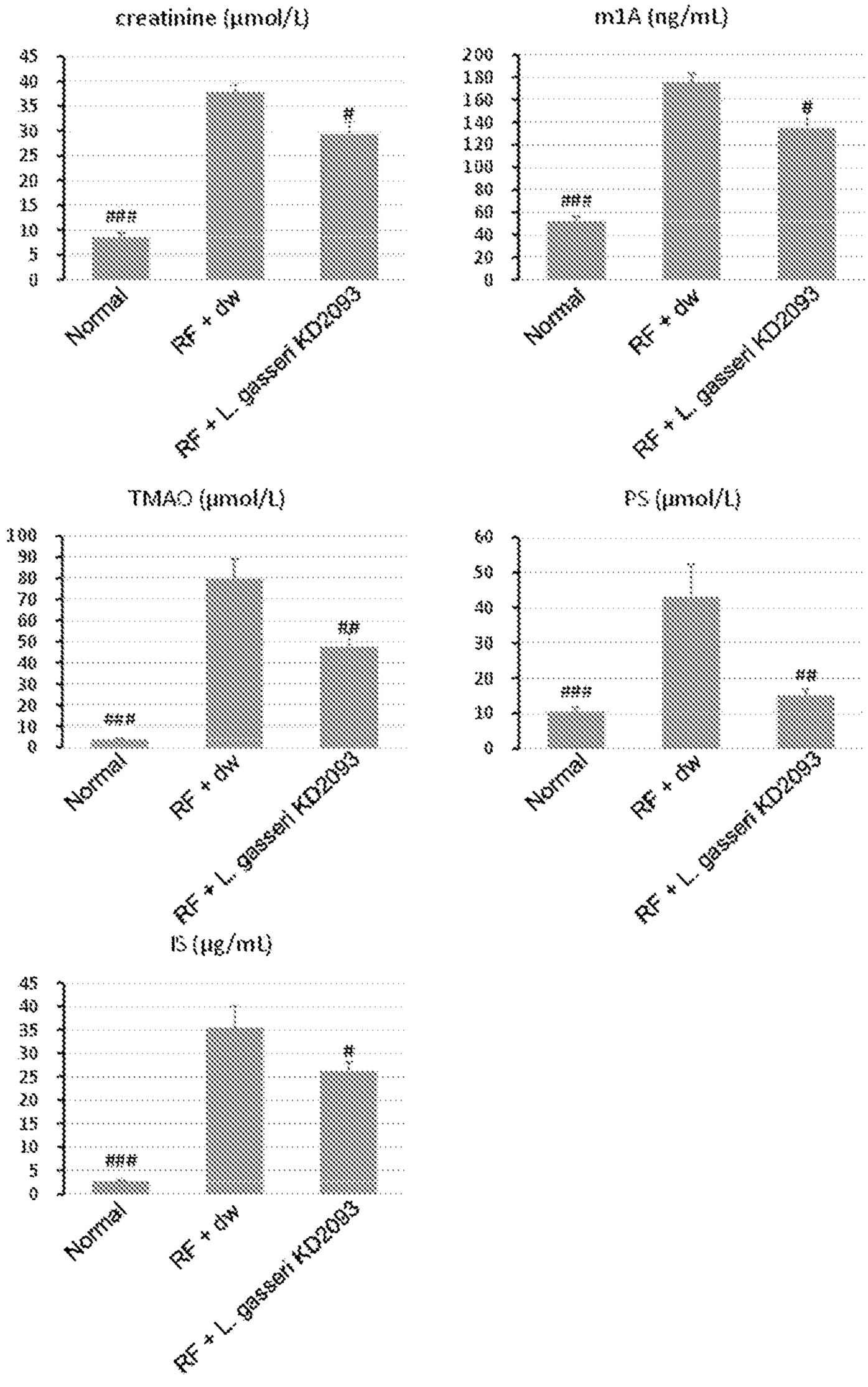

16
14
12
10
8
6
4
2
0
***
*
Normal
RF + dw
RF + L. gasseri KD2093
RF + B. bifidum G9-1
RF + Bac. thetaiotaomicron 6030

Hct(%)


50
40
30
20
10
0
***
*
Normal
RF + dw
RF + L. gasseri KD2093
RF + B. bifidum G9-1
RF + Bac. thetaiotaomicron 6030

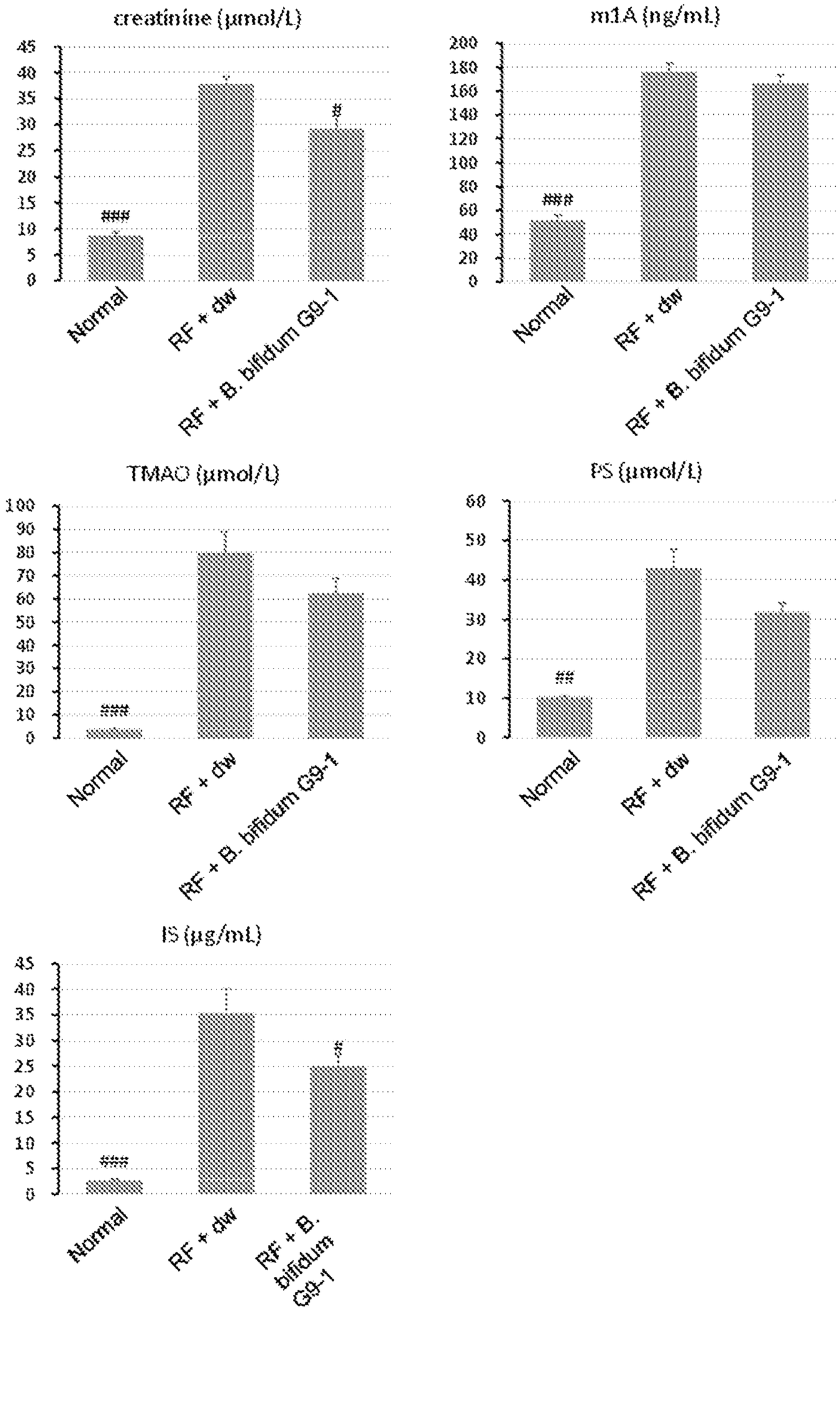
[図4]

L.gasseri KD2093



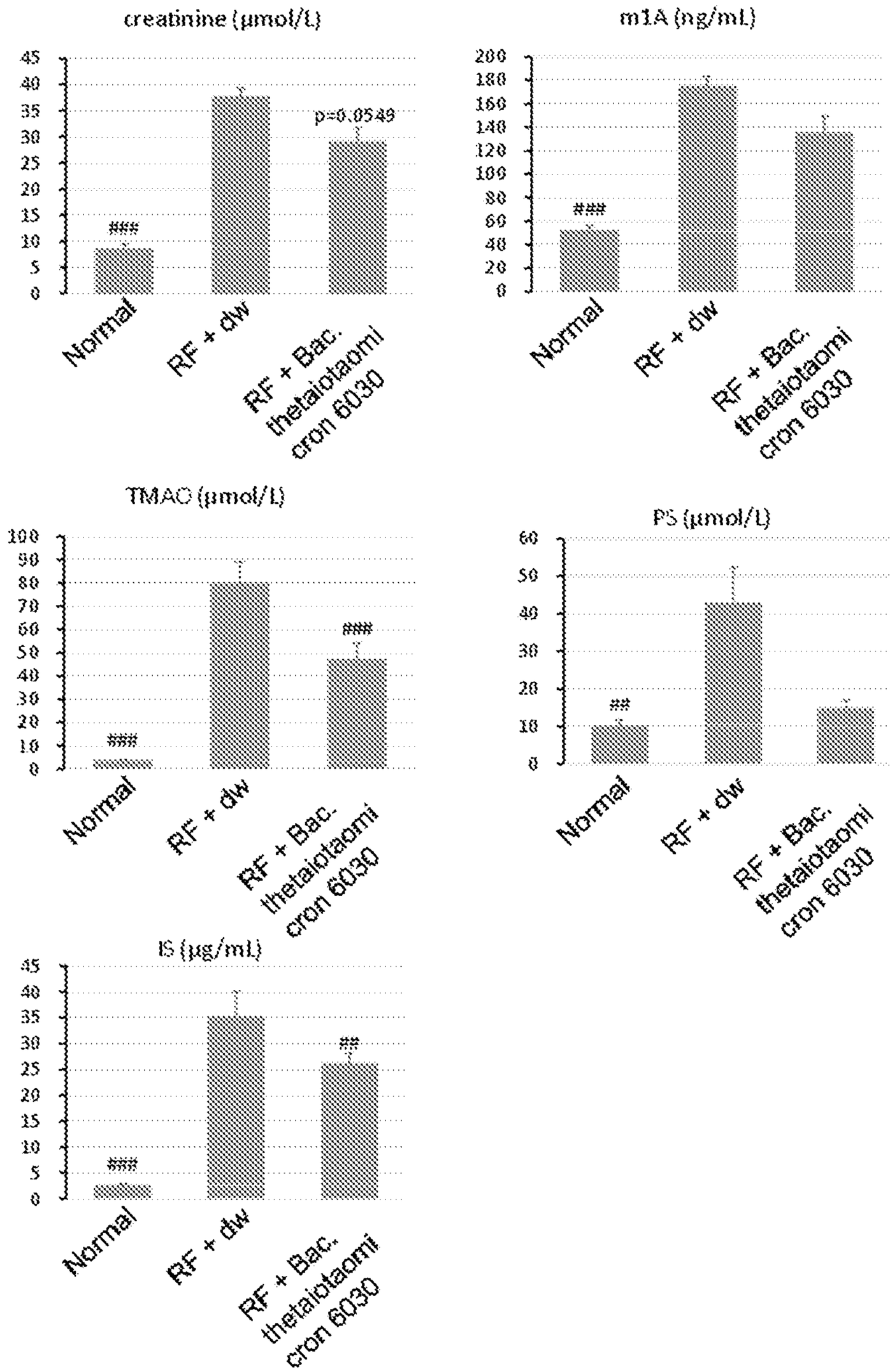
[図5]

Bifidum G9-1

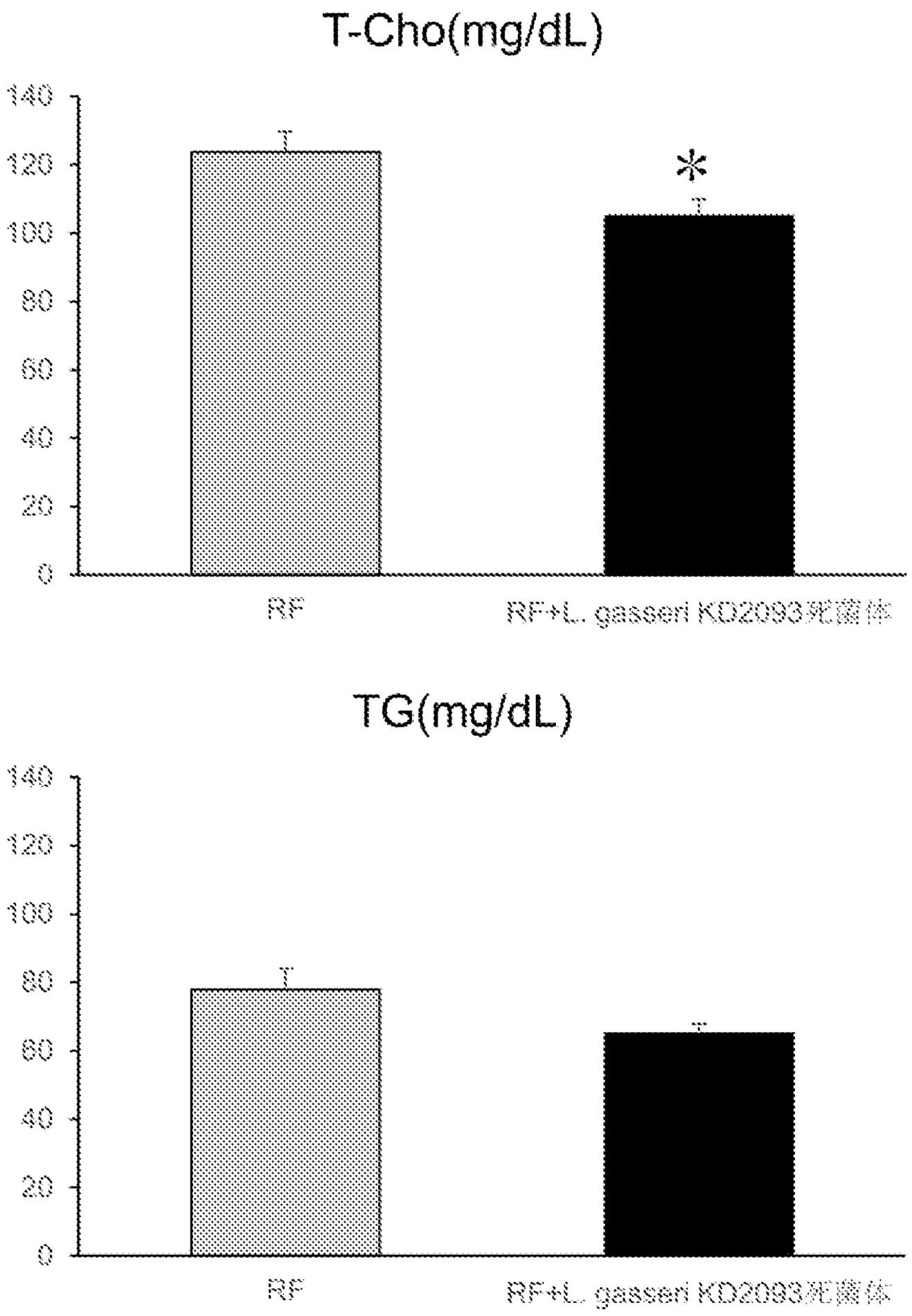


[図6]

B.thetaiotaomicron 6030



[図7]


T-Cho(mg/dL)
140
120
100
80
60
40
20
0
*
RF
RF+L. gasseri KD2093死菌体
TG(mg/dL)
140
120
100
80
60
40
20
0
RF
RF+L. gasseri KD2093死菌体

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/039359

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K 35/747(2015.01)i; A23L 33/135(2016.01)i; A61K 35/74(2015.01)i; A61K 35/745(2015.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i
FI: A61K35/747; A23L33/135; A61K35/74 A; A61K35/745; A61P3/06; A61P13/12; C12N1/20 A; C12N1/20 E

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K35/747; A23L33/135; A61K35/74; A61K35/745; A61P3/06; A61P13/12; C12N1/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2020
Registered utility model specifications of Japan 1996-2020
Published registered utility model applications of Japan 1994-2020

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BJOSIS (STN); PubMed; 医中誌 WEB (Ichushi WEB)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2004-277296 A (MORISHITA JINTAN CO., LTD.) 07 October 2004 (2004-10-07) paragraphs [0004]-[0005], examples 1, 2	1-2,4-5,8-9,11
Y	paragraphs [0004]-[0005], examples 1, 2	7-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 November 2020 (19.11.2020)	08 December 2020 (08.12.2020)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/039359

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TAKI, K. et al., "Beneficial effects of Bifidobacteria in a gastroresistant seamless capsule on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients", Journal of Renal Nutrition, 2005, vol. 15, no. 1, pp. 77-80, doi:10.1053/j_jrn.2004.09.028, ISSN 1051-2276, in particular, p. 77, abstract, p. 79, right column, paragraph [0002] to p. 80, left column, paragraph [0002]	1-2,4-5,8-9,11
Y	in particular, p. 77, abstract, p. 79, right column, paragraph [0002] to p. 80, left column, paragraph [0002]	7-9
X	TOHYAMA, K. et al., "Effect of lactobacilli on urinary indican excretion in gnotobiotic rats and in man", Microbiology and Immunology, 1981, vol. 25, no. 2, pp. 101-112, doi:10.1111/j.1348-0421.1981.tb00014.x, ISSN 0385-5600, in particular, p. 101 "abstract", p. 107 "Effect of Feeding L. casei", fig. 3, 4	1,3-5,8-9
X	IWASHITA, Y. et al., "Dietary Changes Involving Bifidobacterium longum and Other Nutrients Delays Chronic Kidney Disease Progression", American Journal of Nephrology, 2018, vol. 47, no. 5, pp. 325-332, doi:10.1159/000488947, ISSN 0250-8095, in particular, p. 325, "abstract", p. 327, right column "relationship between indoxyl sulfate and cre", "effects on kidney function", fig. 2, 3	1-2,4-6,8-9
Y	in particular, p. 325, "abstract", p. 327, right column "relationship between indoxyl sulfate and cre", "effects on kidney function", fig. 2, 3	7-9
X	WO 2018/074514 A1 (BIOFUERUMIN SEIYAKU KK) 26 April 2018 (2018-04-26) example 2, fig. 4	1-2,4-5,8-9
Y	example 2, fig. 4	7-9
X	WO 2012/005240 A1 (MEIJI CO., LTD.) 12 January 2012 (2012-01-12) example 2, fig. 1	1-2,4-5,8-9
Y	example 2, fig. 1	7-9
X	JP 9-110707 A (WAKAMOTO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 28 April 1997 (1997-04-28) paragraphs [0028], [0043], fig. 3	1-2,4-5,8-9
X	JP 2003-252772 A (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.) 10 September 2003 (2003-09-10) claims 1-3, paragraphs [0006], [0046]-[0047], fig. 5, 6	1,3-4,8-9
Y	claims 1-3, paragraphs [0006], [0046]-[0047], fig. 5, 6	7-9
Y	WO 2011/114916 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 22 September 2011 (2011-09-22) test examples 1-3, fig. 2-3, 6	7-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/039359

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2018/003899 A1 (ASAHI GROUP HOLDINGS, LTD.) 04 January 2018 (2018-01-04) examples 2, 4, fig. 1, 3	7-9
Y	HOSONO, A. et al., "Impact of fermented milk on human health: Cholesterol - lowering and immunomodulatory properties of fermented milk", Animal Science Journal, 2002, vol. 73, pp. 241-256, doi:10.1046/j.1344-3941.2002.00034.x, ISSN 1344-3941, in particular, p. 246, "daily effective dose of lactobacillus gasseri SBT0270", table 4	10-11
Y	AL-SHERAJI, S. H. et al., "Hypocholesterolaemic effect of yoghurt containing Bifidobacterium pseudocatenulatum G4 or Bifidobacterium longum BB536", Food Chemistry, 2012, vol. 135, no. 2, pp. 356-361, doi:10.1016/j.foodchem.2012.04.120, ISSN 0308-8146, in particular, p. 358, right column, "3.2.2. Total cholesterol", table 2	10
Y	in particular, p. 359, left column, "3.2.5. Triglycerides", fig. 2	11
X	JP 61-271223 A (BIOFUERUMIN SEIYAKU KK) 01 December 1986 (1986-12-01) example 2	10
Y	KONDO, S. et al., "Antiobesity effects of Bifidobacterium breve strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity", Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2010, vol. 74, no. 8, pp. 1656-1661, doi:10.1271/bbb.100267, ISSN 0916-8451, in particular, p. 1658, left column "serological analysis", table 2	10
Y	斉藤 喬雄，腎障害における高脂血症と心血管系障害，分子心血管病，2007, vol. 8, no. 5, pp. 475-479, ISSN 1345-2355, in particular, p. 475 "summary", p. 477 "II. Hyperlipidemia with nephrotic syndrome also causes cardiovascular disorders", pp. 477-478 "III. Beware of Hypertriglyceridemia in CKD", non-official translation (SAITO, Takao, "Hyperlipidemia and cardiovascular disorders in renal disorders", Molecular Cardiovascular Medicine)	10-11
Y	石橋俊，知っておきたい脂質異常症のさまざまな病態，薬事，2017, vol. 59, no. 16, pp. 3259-3265, ISSN 0016-5980, in particular, table 5, non-official translation (ISHIBASHI, Shun, "Various disease states of dyslipidemia that you should know", The Pharmaceuticals monthly)	10-11
Y	JP 6-56681 A (BIOFUERUMIN SEIYAKU KK) 01 March 1994 (1994-03-01) examples 2, 3	11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2020/039359

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2004-277296 A	07 Oct. 2004	(Family: none)	
WO 2018/074514 A1	26 Apr. 2018	US 2019/0262408 A1 example 2, fig. 4 CN 110267670 A	
WO 2012/005240 A1	12 Jan. 2012	CN 102959075 A	
JP 9-110707 A	28 Apr. 1997	(Family: none)	
JP 2003-252772 A	10 Sep. 2003	(Family: none)	
WO 2011/114916 A1	22 Sep. 2011	JP 2014-196339 A	
WO 2018/003899 A1	04 Jan. 2018	EP 3479837 A1 examples 2, 4, fig. 1, 3	
JP 61-271223 A	01 Dec. 1986	JP 6-056681 A	
JP 6-56681 A	01 Mar. 1994	JP 61-271223 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/039359

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 35/747(2015.01)i; A23L 33/135(2016.01)i; A61K 35/74(2015.01)i; A61K 35/745(2015.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i
FI: A61K35/747; A23L33/135; A61K35/74 A; A61K35/745; A61P3/06; A61P13/12; C12N1/20 A; C12N1/20 E

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K35/747; A23L33/135; A61K35/74; A61K35/745; A61P3/06; A61P13/12; C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２０年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２０年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２０年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); PubMed; 医中誌WEB (Ichushi WEB)

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 2004-277296 A (森下仁丹株式会社) 07.10.2004 (2004-10-07) 段落[0004]-[0005], 実施例1,2	1-2,4-5,8-9,11
Y	段落[0004]-[0005], 実施例1,2	7-9
X	TAKI, K. et al., Beneficial effects of Bifidobacteria in a gastroresistant seamless capsule on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients, Journal of Renal Nutrition, 2005, Vol.15, No.1, p.77-80, doi: 10.1053/j.jrn.2004.09.028, ISSN 1051-2276 特に, p.77 要約, p.79 右欄第2段落-p.80 左欄第2段落	1-2,4-5,8-9,11
Y	特に, p.77 要約, p.79 右欄第2段落-p.80 左欄第2段落	7-9
X	TOHYAMA, K. et al., Effect of lactobacilli on urinary indican excretion in gnotobiotic rats and in man, Microbiology and Immunology, 1981, Vol.25, No.2, p.101-112, doi: 10.1111/j.1348-0421.1981.tb00014.x, ISSN 0385-5600 特に, p.101「Abstract」, p.107「Effect of Feeding L. casei」, Fig. 3,4	1,3-5,8-9

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

*　引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
19.11.2020	08.12.2020

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
春田　由香 4U 4147
電話番号 03-3581-1101 内線 3439

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/039359

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	IWASHITA, Y. et al., Dietary Changes Involving Bifidobacterium longum and Other Nutrients Delays Chronic Kidney Disease Progression, American Journal of Nephrology, 2018, Vol.47, No.5, p.325-332, doi: 10.1159/000488947, ISSN 0250-8095 特に, p.325「Abstract」, p.327 右欄「Relationship between Indoxyl Sulfate and Cre」,「Effects on Kidney Function」, Fig. 2,3	1-2,4-6,8-9
Y	特に, p.325「Abstract」, p.327 右欄「Relationship between Indoxyl Sulfate and Cre」,「Effects on Kidney Function」, Fig. 2,3	7-9
X	WO 2018/074514 A1 (ビオフェルミン製薬株式会社) 26.04.2018 (2018-04-26) 実施例2, 図4	1-2,4-5,8-9
Y	実施例2, 図4	7-9
X	WO 2012/005240 A1 (株式会社明治) 12.01.2012 (2012-01-12) 実施例2, 図1	1-2,4-5,8-9
Y	実施例2, 図1	7-9
X	JP 9-110707 A (わかもと製薬株式会社) 28.04.1997 (1997-04-28) 段落[0028],[0043], 図3	1-2,4-5,8-9
X	JP 2003-252772 A (雪印乳業株式会社) 10.09.2003 (2003-09-10) 請求項1-3, 段落[0006],[0046]-[0047], 図5,6	1,3-4,8-9
Y	請求項1-3, 段落[0006],[0046]-[0047], 図5,6	7-9
Y	WO 2011/114916 A1 (森永乳業株式会社) 22.09.2011 (2011-09-22) 試験例1-3, 図2-3,6	7-9
Y	WO 2018/003899 A1 (アサヒグループホールディングス株式会社) 04.01.2018 (2018-01-04) 実施例2,4 図1,3	7-9
Y	HOSONO, A. et al., Impact of fermented milk on human health: Cholesterol-lowering and immunomodulatory properties of fermented milk, Animal Science Journal, 2002, Vol.73, p.241-256, doi: 10.1046/j.1344-3941.2002.00034.x, ISSN 1344-3941 特に, p.246「Daily effective dose of Lactobacillus gasseri SBT0270」, Table 4	10-11
Y	AL-SHERAJI, S.H. et al., Hypocholesterolaemic effect of yoghurt containing Bifidobacterium pseudocatenulatum G4 or Bifidobacterium longum BB536, Food Chemistry, 2012, Vol.135, No.2, p.356-361, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.120, ISSN 0308-8146 特に, p.358 右欄「3.2.2. Total cholesterol」, Table 2	10
Y	特に, p.359 左欄「3.2.5. Triglycerides」, Fig. 2	11
Y	JP 61-271223 A (ビオフェルミン製薬株式会社) 01.12.1986 (1986-12-01) 実施例2	10
Y	KONDO, S. et al., Antiobesity effects of Bifidobacterium breve strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2010, Vol.74, No.8, p.1656-1661, doi: 10.1271/bbb.100267, ISSN 0916-8451 特に, p.1658 左欄「Serological analyssis」, Table 2	10
Y	斉藤 喬雄, 腎障害における高脂血症と心血管系障害, 分子心血管病, 2007, 第8巻, 第5号, p.475-479, ISSN 1345-2355 特に, p.475「SUMMARY」, p.477「II. ネフローゼ症候群の高脂血症も心血管系障害を引き起こす」, p. 477-478「III. CKDでは高トリグリセリド血症に注意する」	10-11
Y	石橋 俊, 知っておきたい脂質異常症のさまざまな病態, 薬事, 2017, 第59巻, 第16号, p.3259-3265, ISSN 0016-5980 特に, 表5	10-11

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/039359

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 6-56681 A（ビオフェルミン製薬株式会社）01.03.1994（1994-03-01） 実施例2,3	11

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2020/039359

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2004-277296 A	07.10.2004	（ファミリーなし）	
WO 2018/074514 A1	26.04.2018	US 2019/0262408 A1 実施例2，図4 CN 110267670 A	
WO 2012/005240 A1	12.01.2012	CN 102959075 A	
JP 9-110707 A	28.04.1997	（ファミリーなし）	
JP 2003-252772 A	10.09.2003	（ファミリーなし）	
WO 2011/114916 A1	22.09.2011	JP 2014-196339 A	
WO 2018/003899 A1	04.01.2018	EP 3479837 A1 実施例2,4 図1,3	
JP 61-271223 A	01.12.1986	JP 6-056681 A	
JP 6-56681 A	01.03.1994	JP 61-271223 A	