(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号

特表2021-529736

(P2021-529736A)

(43)公表日　令和3年11月4日(2021.11.4)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/198	(2006.01)	A61K	31/198	4B018
A61P 29/00	(2006.01)	A61P	29/00	4B050
A61P 1/04	(2006.01)	A61P	1/04	4C084
A61P 11/00	(2006.01)	A61P	11/00	4C206
A61P 17/00	(2006.01)	A61P	17/00	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 129 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-570685 (P2020-570685)
(86)(22)出願日　令和1年6月19日 (2019.6.19)
(85)翻訳文提出日　令和3年2月17日 (2021.2.17)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/038055
(87)国際公開番号　WO2019/246310
(87)国際公開日　令和1年12月26日 (2019.12.26)
(31)優先権主張番号　62/794,165
(32)優先日　平成31年1月18日 (2019.1.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/687,724
(32)優先日　平成30年6月20日 (2018.6.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　516077688
アクセラ・ヘルス・インコーポレイテッド
Ａｘｃｅｌｌａ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国，マサチューセッツ州　０２１３９，ケンブリッジ，３階，８４０　メモリアル　ドライブ
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100093676
弁理士　小林　純子
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100153693
弁理士　岩田　耕一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】炎症の軽減又は治療のための組成物及び方法

(57)【要約】
本開示は、例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象における、炎症を軽減又は治療するための組成物及び方法を提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
対象における炎症を軽減するための方法であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）Ｎ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）実体
を含む組成物を有効量で、それを必要とする前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記炎症を軽減することを含み；
ただし：
前記炎症は肝炎でない、方法。
【請求項２】
必要とする対象における炎症状態又は炎症性疾患を治療する方法であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）ＮＡＣ実体
を含む組成物を有効量で、前記対象に投与し、それによって、前記炎症状態又は炎症性疾患を治療することを含み；
ただし：
前記炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患でない、方法。
【請求項３】
対象における炎症を軽減するのに使用するための組成物であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）Ｎ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）実体
を含む組成物を有効量で含み；
ただし：
前記炎症は肝炎でない、組成物。
【請求項４】
必要とする対象における炎症状態又は炎症性疾患を治療するのに使用するための組成物であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）ＮＡＣ実体
を含む組成物を有効量で含み；
ただし：
前記炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患でない、組成物。
【請求項５】
前記炎症状態又は炎症性疾患が、消化管の炎症状態若しくは炎症性疾患、肺の炎症状態若しくは炎症性疾患、皮膚の炎症状態若しくは炎症性疾患、心血管系の炎症状態若しくは炎症性疾患、神経系の炎症状態若しくは炎症性疾患、腎臓の炎症状態若しくは炎症性疾患、膵臓の炎症状態若しくは炎症性疾患、関節の炎症状態若しくは炎症性疾患、眼の炎症状態若しくは炎症性疾患、内分泌系の炎症状態若しくは炎症性疾患、又はそれらの組合せから選択される、請求項１又は２に記載の方法、又は請求項３又は４に記載の使用のための組成物。
【請求項６】
前記炎症状態又は炎症性疾患が、感染症、自己免疫疾患、血管疾患、組織若しくは臓器

移植、虚血、敗血症、創傷治癒、アミロイド症、サルコイドーシス、又はそれらの組合せから選択される、請求項１、２、又は５のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～５のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項７】

前記方法が、以下：（ａ）Ｃ－反応性タンパク；（ｂ）ＩＬ－１β；（ｃ）ＩＬ－２；（ｄ）ＩＬ－１０；（ｅ）ＭＣＰ－１；（ｆ）ＭＩＰ－１；（ｇ）ＮＦ－ｋＢ；（ｈ）ＴＮＦα；（ｉ）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）；又は（ｊ）アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを決定することをさらに含む、請求項１、２、５、又は６のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～６のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項８】

（ａ）～（ｄ）の総重量％が、前記組成物（例えば、乾燥形態で）中の他のアミノ酸実体成分、非アミノ酸実体タンパク質成分（例えば、ホエータンパク）、又は非タンパク質成分の１つ、２つ、又は３つの総重量％を超える、請求項１、２、又は５～７のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～７のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項９】

前記組成物が、１８以下のアミノ酸実体の組合せを含む、請求項１、２、又は５～８のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～８のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１０】

前記組成物が、２０を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、ホエータンパク）を含まないか、又は２０を超えるアミノ酸残基長のペプチドが存在する場合、前記ペプチドは、前記組成物（例えば、乾燥形態で）の非アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の１０重量（ｗｔ．）％未満で存在する、請求項１、２、又は５～９のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～９のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１１】

メチオニン（Ｍ）、トリプトファン（Ｗ）、バリン（Ｖ）、又はシステイン（Ｃ）の少なくとも１つ、２つ、３つ、又は４つ（例えば、全て）が存在しないか、又は存在する場合、前記組成物（例えば、乾燥形態で）の１０重量％未満で存在する、請求項１、２、又は５～１０のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１０のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１２】

（ａ）～（ｄ）の少なくとも１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、表１から選択される、請求項１、２、又は５～１１のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１１のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１３】

前記組成物が、（ｅ）イソロイシンアミノ酸実体又は（ｆ）バリンアミノ酸実体の一方又は両方をさらに含む、請求項１、２、又は５～１２のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１２のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１４】

前記ロイシンアミノ酸実体、前記アルギニンアミノ酸実体、前記グルタミンアミノ酸実体、及び前記ＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比が、１＋／－２０％：１．５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％である、請求項１、２、又は５～１３のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１３のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項１５】

前記ロイシンアミノ酸実体、前記イソロイシンアミノ酸実体、前記バリンアミノ酸実体、前記アルギニンアミノ酸実体、前記グルタミンアミノ酸実体、及び前記ＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比が、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：１．５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％である、請求項１３又は１４に記

載の方法、又は請求項１３又は１４に記載の使用のための組成物。
【請求項１６】
前記組成物が、以下を含み、
ａ）以下から選択されるロイシンアミノ酸実体：
ｉ）Ｌ－ロイシン若しくはその塩、
ｉｉ）Ｌ－ロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、又は
ｉｉｉ）β－ヒドロキシ－β－メチルブチレート（ＨＭＢ）若しくはその塩；
ｂ）以下から選択されるアルギニンアミノ酸実体：
ｉ）Ｌ－アルギニン若しくはその塩、
ｉｉ）Ｌ－アルギニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、
ｉｉｉ）クレアチン若しくはその塩、又は
ｉｖ）クレアチンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；
ｃ）前記グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン若しくはその塩又はＬ－グルタミンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩であり；及び
ｄ）前記ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ若しくはその塩又はＮＡＣを含むジペプチド若しくはその塩である、請求項１、２、又は５～１５のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１５のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項１７】
前記組成物が、
ｅ）Ｌ－イソロイシン若しくはその塩又はＬ－イソロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又は
ｆ）Ｌ－バリン若しくはその塩又はＬ－バリンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩
のうちの一方又は両方をさらに含む、請求項１、２、又は５～１６のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１６のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項１８】
前記組成物が、以下を含み、
ａ）前記ロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－ロイシン又はその塩であり；
ｂ）前記アルギニンアミノ酸実体は、Ｌ－アルギニン又はその塩であり；
ｃ）前記グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン又はその塩であり；及び
ｄ）前記ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ又はその塩である、請求項１、２、又は５～１７のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１７のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項１９】
前記組成物が、以下を含み、
ａ）前記ロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－ロイシン又はその塩であり；
ｂ）前記アルギニンアミノ酸実体は、Ｌ－アルギニン又はその塩であり；
ｃ）前記グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン又はその塩であり；
ｄ）前記ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ又はその塩であり；
ｅ）前記イソロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－イソロイシン又はその塩であり；及び
ｆ）前記バリンアミノ酸実体は、Ｌ－バリン又はその塩である、請求項１、２、又は５～１８のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１８のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項２０】
前記組成物が、薬学的に許容できる担体とともに製剤化される、請求項１、２、又は５～１９のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～１９のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項２１】
前記組成物が、食品組成物として製剤化される、請求項１、２、又は５～２０のいずれか一項に記載の方法、又は請求項３～２０のいずれか一項に記載の使用のための組成物。
【請求項２２】
前記食品組成物が、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される、請求項２１に記載の方法、又は請求項２１に記載の使用のための組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、２０１８年６月２０日に出願された米国仮特許出願第６２／６８７，７２４号、及び２０１８年１１月９日に出願された米国仮特許出願第６２／７５８，２４９号、及び２０１９年１月１８日に出願された米国仮特許出願第６２／７９４，１６５号の優先権を主張するものであり、これらの内容は、全体が参照により本明細書に援用される。
【背景技術】
【０００２】
侵害刺激に応答して、炎症は、修復過程を開始させるために、生理学的及び免疫学的機構のカスケードを必要とする。炎症性疾患は、ヒトにおける疾病率及び死亡率の重要な原因である。副腎抑制、骨の弱化、筋肉消耗、消化性潰瘍、低カリウム血症、及び免疫系抑制などの、炎症のための現在利用可能な治療に関連する様々な副作用がある。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００３】
広範な発生及び利用可能な治療の副作用を考えると、抗炎症薬、例えば、対象における炎症を軽減する食品組成物（ｄｉｅｔａｒｙ　ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ）及び治療薬が依然として必要とされている。
【課題を解決するための手段】
【０００４】
対象、例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象における炎症を改善又は軽減するのに有用なアミノ酸実体を含む組成物（例えば、活性部分（Ａｃｔｉｖｅ　Ｍｏｉｅｔｙ））が、本明細書において提供される。組成物は、それを必要とする対象（例えば、ヒト）における炎症を軽減及び／又は治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）方法に使用され得る。本方法は、アミノ酸実体を含む組成物の投与の後、炎症の１つ又は複数の症状の改善について対象を監視することをさらに含み得る。
【０００５】
一態様において、本発明は、対象における炎症を軽減するための方法であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）Ｎ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）実体
を含む組成物（例えば、活性部分）を有効量で、それを必要とする対象に投与し；
それによって、対象における炎症を軽減することを含む方法を特徴とする。
【０００６】
ある実施形態において、炎症は肝炎でない。
【０００７】
別の態様において、本発明は、必要とする対象における炎症状態又は炎症性疾患を治療する方法であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び

ｄ）ＮＡＣ実体
を含む組成物（例えば、活性部分）を有効量で、対象に投与し；
それによって、炎症状態又は炎症性疾患を治療することを含む方法を特徴とする。
【０００８】
ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患でない。
【０００９】
別の態様において、本発明は、対象における炎症を軽減するのに使用するための組成物であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）Ｎ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）実体
を含む組成物を有効量で含み；
ただし：
炎症は肝炎でない、組成物を特徴とする。
【００１０】
別の態様において、本発明は、必要とする対象における炎症状態又は炎症性疾患を治療するのに使用するための組成物であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）ＮＡＣ実体
を含む組成物を有効量で含み；
ただし：
炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患でない、組成物を特徴とする。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、消化管の炎症状態若しくは炎症性疾患、肺の炎症状態若しくは炎症性疾患、皮膚の炎症状態若しくは炎症性疾患、心血管系の炎症状態若しくは炎症性疾患、神経系の炎症状態若しくは炎症性疾患、腎臓の炎症状態若しくは炎症性疾患、膵臓の炎症状態若しくは炎症性疾患、関節の炎症状態若しくは炎症性疾患、眼の炎症状態若しくは炎症性疾患、内分泌系の炎症状態若しくは炎症性疾患、又はそれらの組合せから選択される。
【００１１】
ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、感染症、自己免疫疾患、血管疾患、組織若しくは臓器移植、虚血、敗血症、創傷治癒、外科手術、アミロイド症、サルコイドーシス、又はそれらの組合せから選択される。
【００１２】
ある実施形態において、本方法は、以下：（ａ）Ｃ－反応性タンパク；（ｂ）ＩＬ－１β；（ｃ）ＩＬ－２；（ｄ）ＩＬ－１０；（ｅ）ＭＣＰ－１；（ｆ）ＭＩＰ－１；（ｇ）ＮＦ－ｋＢ；（ｈ）ＴＮＦα；（ｉ）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）；又は（ｊ）アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを決定することをさらに含む。
【００１３】
別の態様において、本発明は、対象におけるＭ１表現型の阻害又はＭ２表現型の促進の一方又は両方の方法であって、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）ＮＡＣ実体

を含む組成物（例えば、活性部分）を有効量で、対象に投与し；
それによって、対象におけるＭ１表現型を阻害するか又はＭ２表現型を促進することを含む方法を特徴とする。
【００１４】
ある実施形態において、方法は、対象における抗炎症性ケモカイン（例えば、ＣＣＬ１８）のレベルを決定することをさらに含む。ある実施形態において、組成物の投与は、対象における抗炎症性ケモカイン（例えば、ＣＣＬ１８）のレベル又は活性を増加させる。
【００１５】
ある実施形態において、組成物の投与は、粘膜修復、消化管恒常性、髄膜のリモデリング、血管修復、中枢神経系（ＣＮＳ）再ミエリン化、ＣＮＳ自己免疫の調節、又はグルコース恒常性のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、又はそれ以上（例えば、全て）の改善をもたらす。
【００１６】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、（ｅ）イソロイシンアミノ酸実体又は（ｆ）バリンアミノ酸実体の一方又は両方をさらに含む。
【００１７】
ある実施形態において、（ａ）～（ｄ）又は（ａ）～（ｆ）の総重量％は、組成物（例えば、乾燥形態で）中の他のアミノ酸実体成分、非アミノ酸実体タンパク質成分（例えば、ホエータンパク）、又は非タンパク質成分（又は両方）の１つ、２つ、又は３つの総重量％より多く、例えば、（ａ）～（ｄ）又は（ａ）～（ｆ）は、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の一方又は両方の総重量の少なくとも：５０重量％、７５重量％、又は９０重量％である。
【００１８】
ある実施形態において、組成物は、１８以下、１５以下、又は１０以下のアミノ酸実体の組合せ、例えば、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：４２重量％、７５重量％、又は９０重量％を含む組合せを含む。
【００１９】
ある実施形態において、組成物は、２０を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、ホエータンパク）を含まないか、又は２０を超えるアミノ酸残基長のペプチドが存在する場合、ペプチドは、組成物（例えば、乾燥形態で）の非アミノ酸実体タンパク質成分又は全成分の総重量の１０重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。
【００２０】
ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの少なくとも１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（例えば、乾燥形態で）中の全成分の総重量の１０重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、存在する場合、遊離形態で存在する。ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、存在する場合、塩形態で存在する。
【００２１】
ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインは、存在する場合、オリゴペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質中で存在してもよく、ただし、タンパク質は、無傷のタンパク質として存在するか又はタンパク質加水分解物として存在するかにかかわらず、ホエー、カゼイン、ラクトアルブミン、又は栄養補給食品、医療食、若しくは同様の製品として使用される任意の他のタンパク質でない。
【００２２】
ある実施形態において、（ａ）～（ｆ）の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、

又はそれ以上（例えば、全て）が、表１から選択される。
【００２３】
ある実施形態において、ロイシンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比は、１＋／－２０％：１．５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％である。ある実施形態において、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：１．５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％である。
【００２４】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含み、
ａ）以下から選択されるロイシンアミノ酸実体：ｉ）Ｌ－ロイシン若しくはその塩、ｉｉ）Ｌ－ロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、又はｉｉｉ）β－ヒドロキシ－β－メチルブチレート（ＨＭＢ）若しくはその塩；
ｂ）以下から選択されるアルギニンアミノ酸実体：ｉ）Ｌ－アルギニン若しくはその塩、ｉｉ）Ｌ－アルギニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、ｉｉｉ）クレアチン若しくはその塩、又はｉｖ）クレアチンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；
ｃ）グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン若しくはその塩又はＬ－グルタミンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩であり；
ｄ）ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ若しくはその塩又はＮＡＣを含むジペプチド若しくはその塩である。
【００２５】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、ｅ）Ｌ－イソロイシン若しくはその塩又はＬ－イソロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又はｆ）Ｌ－バリン若しくはその塩又はＬ－バリンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩のうちの一方又は両方をさらに含む。
【００２６】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含み、ａ）ロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－ロイシン又はその塩であり；ｂ）アルギニンアミノ酸実体は、Ｌ－アルギニン又はその塩であり；ｃ）グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン又はその塩であり；及びｄ）ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ又はその塩である。
【００２７】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含み、ａ）ロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－ロイシン又はその塩であり；ｂ）アルギニンアミノ酸実体は、Ｌ－アルギニン又はその塩であり；ｃ）グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン又はその塩であり；ｄ）ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ又はその塩であり；ｅ）イソロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－イソロイシン又はその塩であり；及びｆ）バリンアミノ酸実体は、Ｌ－バリン又はその塩である。
【００２８】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、薬学的に許容できる担体とともに製剤化される。
【００２９】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、食品組成物として製剤化される。
【図面の簡単な説明】
【００３０】
【図１Ａ】図１：ＳＴＡＭマウスモデル（図１Ａ）及びＦＡＴＺＯマウスモデル（図１Ｂ）において、ＮＡＦＬＤ活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び炎症に対するアミノ酸組成物（アミノ酸組成物Ａ－１）による処理の効果を示すグラフである。

【図１Ｂ】（上記の通り。）
【図２】ＳＴＡＭ及びＦＡＴＺＯマウスへのアミノ酸組成物の投与のための処理計画を示す概略図である。
【図３Ａ】図３：組織学を用いて決定される際の、ＮＡＦＬＤ活動性スコア（ＮＡＳ）、脂肪症、炎症、及び肝炎症に対する、アミノ酸組成物によるＳＴＡＭ及びＦＡＴＺＯマウスの処理の効果を示す一連のグラフ及び画像である。
【図３Ｂ】（上記の通り。）
【図３Ｃ】（上記の通り。）
【図３Ｄ】（上記の通り。）
【図３Ｅ】（上記の通り。）
【図４】ＡＣＯＸ１の活性化を示すＳＴＡＭマウスにおけるアミノ酸組成物による処理の後の肝臓遺伝子発現パターンの遺伝子地図の画像である。
【図５Ａ】図５：抗炎症性ＩＬ－１０の上流のレギュレータ活性化（図５Ａ）；炎症性ＮＦ－ｋＢの阻害（図５Ｂ）、インターフェロン、ＩＬ－１ｂ、及びＩＬ－２（図５Ｃ）；並びに線維形成性ＴＧＦ－ｂシグナル伝達経路の抑制（図５Ｄ）を示すＳＴＡＭマウスにおけるアミノ酸組成物による処理の後の肝臓遺伝子発現パターンの遺伝子地図の画像である。
【図５Ｂ】（上記の通り。）
【図５Ｃ】（上記の通り。）
【図５Ｄ】（上記の通り。）
【図６】アミノ酸組成物による処理の後の、Ｃ－Ｃケモカイン受容体２型（ＣＣＲ２）及び５型（ＣＣＲ５）のリガンドであるＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１タンパク質レベルを示す一連のグラフである。
【図７】示されるアミノ酸組成物の投与後のＦＡＴＺＯマウスからの肝組織像（コラーゲン沈着のためのＨ＆Ｅ染色又はシリウスレッド染色）を示す一連の顕微鏡画像である。
【図８】示されるアミノ酸組成物の投与後のＦＡＴＺＯマウスからの肝組織像を示す一連の顕微鏡画像である。
【図９】示されるアミノ酸組成物の投与後のＦＡＴＺＯマウスからの固定した肝組織において観察される、ＮＡＦＬＤ活動性スコア（左上のパネル）、シリウスレッド染色（右上のパネル）、脂肪症レベル（左下のパネル）、及び肝細胞風船様腫大（右下のパネル）を示す一連のグラフである。
【図１０Ａ】図１０：サイトケラチン１８（ＣＫ－１８）Ｍ６５（図１０Ｂ）のレベルに加えてアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）及びＣ－反応性タンパク（ＣＲＰ）（図１０Ａ）のレベルに対する、アミノ酸組成物でヒト対象を処理する効果を示す一連のグラフである。
【図１０Ｂ】（上記の通り。）
【発明を実施するための形態】
【００３１】
１つには、アミノ酸実体を含む組成物（例えば、活性部分）及び有効量の組成物を投与することによって炎症を軽減する方法が、本明細書に記載される。組成物は、それを必要とする対象における炎症状態又は炎症性疾患を治療又は予防するために投与され得る。組成物中のアミノ酸実体及びアミノ酸実体の相対量は、例えば、多くの生物学的、細胞、及び分子過程の調整を必要とする対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）における炎症を軽減するために、注意深く選択されてきた。組成物は、炎症反応に関与するシグナル伝達経路の調節、炎症に関与するサイトカインの発現、及び炎症性エフェクター細胞の活性化を最適化するために、組織生理学に対する多経路の有益な効果を可能にする。特に、組成物は、炎症性サイトカイン産生を減少させ、抗炎症性サイトカイン産生を増加させ、炎症経路シグナル伝達を減少させるように特異的に調整されてきた。
【００３２】
以下に詳細に記載される例において、本発明の組成物は、ＮＦｋＢシグナル伝達の減少

、炎症遺伝子及びタンパク質発現（例えばＩＬ－６、ＩＬ－１β、ＭＣＰ－１、ＭＩＰ－１及びＴＮＦα）の減少、抗炎症性遺伝子及びタンパク質発現（例えばＩＬ－１０及びＩＬ－２）の増加、並びに炎症エフェクター細胞（例えば肝星細胞）の活性化の低減によって炎症を改善した。

【００３３】

以下に詳細に記載される別の例において、本発明の組成物は、Ｍ２マクロファージにおけるＩＬ－４曝露の後、抗炎症性ケモカインＣＣＬ１８分泌を増加させることによって炎症を改善した。

【００３４】

定義

特許請求の範囲及び本明細書において使用される用語は、特に規定されない限り、以下に記載されるとおりに定義される。

【００３５】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される際、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」及び「その（ｔｈｅ）」は、文脈上特に明記されない限り、複数の指示対象を含むことに留意されなければならない。

【００３６】

本明細書において使用される際、「アミノ酸実体」という用語は、遊離形態若しくは塩形態（又は両方）の左旋性（Ｌ）－アミノ酸、２０未満のアミノ酸残基のペプチド（例えば、オリゴペプチド、例えば、ジペプチド若しくはトリペプチド）のＬ－アミノ酸残基、アミノ酸の誘導体、アミノ酸の前駆体、又はアミノ酸の代謝産物を指す（例えば、表１を参照）。アミノ酸実体は、遊離Ｌ－アミノ酸の生物学的機能性をもたらすことが可能な、アミノ酸の誘導体、アミノ酸の前駆体、アミノ酸の代謝産物、又はアミノ酸の塩形態を含む。アミノ酸実体は、完全な（ｗｈｏｌｅ）又は修飾された形態、例えば、加水分解された形態のいずれかの、２０を超えるアミノ酸残基の天然ポリペプチド又はタンパク質を含まない。

【００３７】

アミノ酸の塩は、任意の摂取可能な塩を含む。医薬組成物については、組成物（例えば、活性部分）中に存在するアミノ酸の塩形態は、薬学的に許容できる塩であるべきである。特定の例において、塩形態は、アミノ酸の塩酸塩（ＨＣｌ）形態である。

【００３８】

ある実施形態において、アミノ酸実体の誘導体は、アミノ酸エステル（例えば、アミノ酸実体のアルキルエステル、例えば、エチルエステル若しくはメチルエステル）又はケト酸を含む。

【００３９】

【表１】

表 1. アミノ酸実体は、本明細書に記載される組成物のアミノ酸、前駆体、代謝産物、及び誘導体を含む。

	例示的なアミノ酸	前駆体	代謝産物	誘導体
ロイシン	L-ロイシン	オキソ-ロイシン	HMB (β-ヒドロキシ-β-メチルブチレート); オキソ-ロイシン; イソバレリル-CoA	N-アセチル-ロイシン
イソロイシン	L-イソロイシン	2-オキソ-3-メチル-吉草酸	2-オキソ-3-メチル-吉草酸; メチルブチリル-CoA	N-アセチル-イソロイシン
バリン	L-バリン	2-オキソ-吉草酸	イソブチリル-CoA	N-アセチル-バリン
アルギニン	L-アルギニン	アルギニノコハク酸; アスパルテート; グルタメート	アグマチン; クレアチン	N-アセチル-アルギニン
グルタミン	L-グルタミン	グルタメート	カルバモイル-P; グルタメート	N-アセチル-グルタミン;
NAC	N-アセチルシステイン	アセチルセリン; シスタチオニン	グルタチオン; シスタチオニン; ホモシステイン; メチオニン	システイン; システアミン
セリン	L-セリン	ホスホセリン、P-ヒドロキシピルビン酸、L-グリシン	グリシン、トリプトファン アセチルセリン、 シスタチオニン、 ホスファチジルセリン	

【００４０】

「約」及び「およそ」は、一般に、測定の性質又は精度を所与として、測定される量に対する誤差の許容される程度を意味するものである。例示的な誤差の程度は、所与の値又は値の範囲の１５パーセント（％）以内、典型的に、１０％以内、より典型的に、５％以内である。

【００４１】

「アミノ酸」は、アミノ基（－ＮＨ$_2$）、カルボン酸基（－Ｃ（＝Ｏ）ＯＨ）、及び中心の炭素原子を介して結合された側鎖を有する有機化合物を指し、必須及び非必須アミノ酸、並びに天然、非タンパク及び非天然アミノ酸を含む。

【００４２】

本明細書において使用される際、「活性部分」という用語は、全体として、本明細書に記載される生理学的効果、例えば、抗炎症性効果を有する能力を有する４つ以上のアミノ

酸実体の組合せを意味する。例えば、活性部分は、疾患又は障害に罹患した対象における代謝機能不全のバランスを調節し直すことができる。本発明の活性部分が、他の生物学的に有効な成分を含有し得る。ある例において、活性部分は、以下に詳細に記載される、４つ以上のアミノ酸実体の定義された組合せを含む。他の実施形態において、活性部分は、以下に詳細に記載される、アミノ酸実体の定義された組合せからなる。

【００４３】

個々のアミノ酸実体が、重量基準の量（例えば、グラムで）、アミノ酸実体の互いの重量比、モル基準の量、組成物の重量パーセント基準の量、組成物のモルパーセント基準の量、カロリー量、組成物へのカロリー寄与率パーセントなどとして示され得る様々な量又は比率で、組成物、例えば、活性部分中に存在する。一般に、本開示は、剤形におけるアミノ酸実体のグラム、組成物の重量に対するアミノ酸実体の重量パーセント、すなわち、組成物中に存在する全てのアミノ酸実体及び任意の他の生物学的に有効な成分の重量を、又は比率で提供する。ある実施形態において、組成物、例えば、活性部分は、薬学的に許容できる製剤（例えば、医薬品）として提供される。

【００４４】

本明細書において使用される際の「有効量」という用語は、治療される症状を軽減及び／又は病態を改善する（例えば、所望の臨床反応をもたらす）のに十分な、本発明の組成物、特に、本発明の医薬組成物における、本発明の有効成分の量を意味する。組成物において使用するための有効成分の有効量は、担当医の知識及び専門知識により、治療される具体的な病態、病態の重症度、治療期間、併用療法の性質、用いられる具体的な有効成分、用いられる具体的な薬学的に許容できる賦形剤及び／又は担体、及び類似の要因により変化するであろう。

【００４５】

本明細書に記載される「医薬組成物」は、少なくとも１つの「活性部分」及び薬学的に許容できる担体又は賦形剤を含む。ある実施形態において、医薬組成物は、治療薬として使用される。医薬品規格（ＧＭＰ；医薬品グレード成分）を満たす必要のない他の組成物が、栄養補給食品、医療食、又は栄養補助食品として使用され得、これらは、「消費者健康（ｃｏｎｓｕｍｅｒ　ｈｅａｌｔｈ）組成物」と呼ばれる。

【００４６】

本明細書において使用される際の「薬学的に許容できる」という用語は、妥当な医学的判断の範囲内で、妥当なリスク・ベネフィット比に見合って、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、ヒト及び動物の組織と接触した状態で使用するのに好適なアミノ酸、材料、賦形剤、組成物、及び／又は剤形を指す。特定の実施形態において、「薬学的に許容できる」は、検出可能な内毒素を含まないか、又は内毒素レベルが、医薬品中で許容できるレベル未満であることを意味する。

【００４７】

特定の実施形態において、「薬学的に許容できる」は、１つ又は複数の製品品質パラメータが、薬剤、医薬組成物、治療、又は他の治療薬のために許容できる範囲内であることを確実にするために、製薬業界又は製薬業界を規制する機関若しくは事業体（例えば、政府若しくは商業機関若しくは事業体）によって使用される規格を意味する。製品品質パラメータは、組成物；組成物の均一性；投与量；投与量の均一性；存在、非存在、及び／又は汚染物質若しくは不純物のレベル；及び無菌のレベル（例えば、微生物の存在、非存在及び／又はレベル）を含むがこれらに限定されない、製薬業界又は機関若しくは事業体、例えば、政府若しくは商業機関若しくは事業体によって規制される任意のパラメータであり得る。例示的な政府の規制機関としては、アメリカ食品医薬品局（Ｆｅｄｅｒａｌ　Ｄｒｕｇ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ）（ＦＤＡ）、欧州医薬品庁（Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅｓ　Ａｇｅｎｃｙ）（ＥＭＡ）、スイスメディック（ＳｗｉｓｓＭｅｄｉｃ）、中華人民共和国国家食品薬品監督管理局（Ｃｈｉｎａ　Ｆｏｏｄ　ａｎｄ　Ｄｒｕｇ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ）（ＣＦＤＡ）、又は医薬品医療機器総合機構（Ｊａｐａｎｅｓｅ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　ａｎｄ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｄｅｖ

ｉｃｅｓ　Ａｇｅｎｃｙ）（ＰＭＤＡ）が挙げられる。

【００４８】

「薬学的に許容できる賦形剤」という用語は、生理学的に適合する、有効成分以外の、医薬製剤の成分を指す。薬学的に許容できる賦形剤としては、限定はされないが、緩衝剤、甘味料、分散促進剤、香味料、苦味マスキング剤、天然着色料、人工着色料、安定剤、溶媒、又は防腐剤が挙げられる。特定の実施形態において、薬学的に許容できる賦形剤は、クエン酸又はレシチンの一方又は両方を含む。

【００４９】

本明細書において使用される際の「非アミノ酸実体タンパク質成分」という用語は、ペプチド（例えば、ポリペプチド又はオリゴペプチド）、その断片、又は分解されたペプチドを指す。例示的な非アミノ酸実体タンパク質成分としては、限定はされないが、ホエータンパク、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タンパク質、エンドウ豆タンパク質、玄米タンパク質、又はそれらの断片若しく分解されたペプチドのうちの１つ又は複数が挙げられる。

【００５０】

本明細書において使用される際の「非タンパク質成分」という用語は、タンパク質成分以外の組成物の任意の成分を指す。例示的な非タンパク質成分としては、限定はされないが、糖（例えば、単糖（例えば、デキストロース、グルコース、若しくはフルクトース）、二糖、オリゴ糖、若しくは多糖）；脂質（例えば、硫黄含有脂質（例えば、α－リポ酸）、長鎖トリグリセリド、ω３脂肪酸（例えば、ＥＰＡ、ＤＨＡ、ＳＴＡ、ＤＰＡ、若しくはＡＬＡ）、ω６脂肪酸（ＧＬＡ、ＤＧＬＡ、若しくはＬＡ）、中鎖トリグリセリド、若しくは中鎖脂肪酸）；ビタミン（例えば、ビタミンＡ、ビタミンＥ、ビタミンＣ、ビタミンＤ、ビタミンＢ６、ビタミンＢ１２、ビオチン、若しくはパントテン酸）；ミネラル（亜鉛、セレン、鉄、銅、葉酸、リン、カリウム、マンガン、クロム、カルシウム、若しくはマグネシウム）；又はステロール（例えば、コレステロール）が挙げられる。

【００５１】

組成物、製剤又は生成物は、それが所望の臨床効果を提供する場合「治療薬」である。所望の臨床効果は、疾患の進行を低下させ、及び／又は疾患の１つ又は複数の症状を軽減することによって示され得る。

【００５２】

「単位用量」又は「単位投与量」は、特定の構造（例えば、カプセル殻など）中で、及び特定の用量に分配されて（例えば、複数のスティックパック中で）、有効成分及び非有効成分（賦形剤）の特定の混合物を含む、使用のために市販される形態における１つ又は複数の製剤を含む。

【００５３】

本明細書において使用される際、炎症（例えば炎症状態又は炎症性疾患）の「治療する（ｔｒｅａｔ）」、「治療すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」、又は「治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」という用語は、炎症を改善すること（例えば、炎症又はその臨床症状の少なくとも１つの発生を遅らせるか、停止させるか、又は軽減すること）；患者によって識別できないものを含む少なくとも１つの物理的パラメータを軽減又は改善すること；及び／又は炎症の開始又は発生又は進行を予防するか又は遅らせることを指す。

【００５４】

アミノ酸実体（例えば、活性部分）を含む組成物

本明細書に記載される本発明の組成物、例えば、活性部分は、アミノ酸実体、例えば、表１に示されるアミノ酸実体を含む。

【００５５】

特定の実施形態において、ロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－ロイシン、β－ヒドロキシ－β－メチルブチレート（ＨＭＢ）、オキソ－ロイシン（α－ケトイソカプロン酸（ＫＩＣ））、イソバレリル－ＣｏＡ、ｎ－アセチル－ロイシン、又はそれらの組合せから選択される。

【００５６】
特定の実施形態において、アルギニンアミノ酸実体は、Ｌ－アルギニン、クレアチン、アルギニノコハク酸、アスパルテート、グルタメート、アグマチン、Ｎ－アセチル－アルギニン、又はそれらの組合せから選択される。
【００５７】
特定の実施形態において、グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン、グルタメート、カルバモイル－Ｐ、グルタメート、ｎ－アセチルグルタミン、又はそれらの組合せから選択される。特定の実施形態において、グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン、グルタメート、カルバモイル－Ｐ、グルタメート、ｎ－アセチルグルタミン、α－ケトグルタル酸、又はそれらの組合せから選択される。特定の実施形態において、グルタミンアミノ酸実体は、α－ケトグルタル酸である。
【００５８】
特定の実施形態において、ＮＡＣ－アミノ酸実体は、ＮＡＣ、アセチルセリン、シスタチオニン、シスタチオニン、ホモシステイン、グルタチオン、又はそれらの組合せから選択される。
【００５９】
特定の実施形態において、イソロイシンアミノ酸実体は、Ｌ－イソロイシン、２－オキソ－３－メチル－吉草酸（α－ケト－β－メチル吉草酸（ＫＭＶ））、メチルブチリル－ＣｏＡ、Ｎ－アセチル－イソロイシン、又はそれらの組合せから選択される。
【００６０】
特定の実施形態において、バリンアミノ酸実体は、Ｌ－バリン、２－オキソ－吉草酸（α－ケトイソ吉草酸（ＫＩＶ））、イソブチリル－ＣｏＡ、Ｎ－アセチル－バリン、又はそれらの組合せから選択される。
【００６１】
特定の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、Ｌ－セリン、ホスホセリン、ｐ－ヒドロキシピルビン酸、グリシン、アセチルセリン、シスタチオニン、ホスファチジルセリン、又はそれらの組合せから選択される。ある実施形態において、セリンアミノ酸実体は、Ｌ－セリン又はＬ－グリシンから選択される。一実施形態において、セリンアミノ酸実体は、Ｌ－セリンである。別の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、Ｌ－グリシンである。別の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、Ｌ－グリシン及びＬ－セリンである（例えば、１：１の重量比におけるＬ－グリシン及びＬ－セリン）。
【００６２】
本明細書に記載される組成物は、Ｌ－セリン、Ｌ－グリシン、クレアチン、又はグルタチオンのうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）をさらに含み得る。
【００６３】
ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、Ｌ－グルタミン又はその塩）、ＮＡＣ実体、及びＬ－セリンを含む。
【００６４】
ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、Ｌ－グルタミン又はその塩）、ＮＡＣ実体、及びＬ－グリシンを含む。
【００６５】
ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、Ｌ－グルタミン又はその塩）、ＮＡＣ実体、Ｌ－グリシン、及びＬ－セリンを含む。
【００６６】
ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、Ｌ

－グルタミン又はその塩）、及びＮＡＣ実体を含む。
【００６７】
ある実施形態において、（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、組成物中で遊離アミノ酸形態であり、例えば、アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：４２重量％、７５重量％、９０重量％、又はそれ以上が、組成物（例えば、乾燥形態で）中で遊離アミノ酸形態の（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）である。
【００６８】
ある実施形態において、（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、組成物中で塩形態であり、例えば、アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：０．０１重量％、０．１重量％、０．５重量％、１重量％、５重量％、若しくは１０重量％、又はそれ以上が、組成物中で塩形態の（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）である。
【００６９】
ある実施形態において、（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、例えば、組成物のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：０．０１重量％、０．１重量％、０．５重量％、１重量％、５重量％、若しくは１０重量％、又はそれ以上の量で、ジペプチド又はトリペプチドの一部として提供される。
【００７０】
ある実施形態において、組成物は、
ａ）ロイシンアミノ酸実体、
ｂ）アルギニンアミノ酸実体、
ｃ）グルタミンアミノ酸実体；及び
ｄ）Ｎ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）実体
を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる。
【００７１】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなり、
ａ）以下から選択されるロイシンアミノ酸実体：ｉ）Ｌ－ロイシン若しくはその塩、ｉｉ）Ｌ－ロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、又はｉｉｉ）β－ヒドロキシ－β－メチルブチレート（ＨＭＢ）若しくはその塩；
ｂ）以下から選択されるアルギニンアミノ酸実体：ｉ）Ｌ－アルギニン若しくはその塩、ｉｉ）Ｌ－アルギニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、ｉｉｉ）クレアチン若しくはその塩、又はｉｖ）クレアチンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；
ｃ）グルタミンアミノ酸実体は、Ｌ－グルタミン若しくはその塩又はＬ－グルタミンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩であり；
ｄ）ＮＡＣ実体は、ＮＡＣ若しくはその塩又はＮＡＣを含むジペプチド若しくはその塩である。
【００７２】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、ｅ）Ｌ－イソロイシン若しくはその塩又はＬ－イソロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又はｆ）Ｌ－バリン若しくはその塩又はＬ－バリンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩のうちの一方又は両方をさらに含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる。
【００７３】
ある実施形態において、組成物は、ａ）Ｌ－ロイシン又はその塩；ｂ）Ｌ－アルギニン又はその塩；ｃ）Ｌ－グルタミン又はその塩；及びｄ）ＮＡＣ又はその塩を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる。
【００７４】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリンを含むアミノ酸組成物；Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＮＡＣを含むアミノ酸組成物；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、及びＬ－グルタミンを含むアミノ酸組成物；又はＮＡＣ）と比べて、実施例３において記載されるように、ＨｅｐＧ２細胞、例えば、ＨｅｐＧ２細胞内のレポーターアッセイにおけるＮＦ－ｋＢの低下した活性、例えば、低下したＴＮＦα誘導性活性を用いて検出される際、少なくとも２０％、３５％、又は５０％だけ炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００７５】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリンを含むアミノ酸組成物；Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＮＡＣを含むアミノ酸組成物；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、及びＬ－グルタミンを含むアミノ酸組成物；バリン；グルタミン；アルギニン；イソロイシン；ロイシン；又はＮＡＣ）と比べて、例えば、実施例３又は６において記載されるように、例えば、初代肝細胞内のＭＣＰ１／ＣＣＬ２のアッセイを用いて、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも５％、１０％、又は２０％だけ炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００７６】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリンを含むアミノ酸組成物；Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＮＡＣを含むアミノ酸組成物；Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、及びＬ－グルタミンを含むアミノ酸組成物；バリン；グルタミン；アルギニン；イソロイシン；ロイシン；又はＮＡＣ）と比べて、例えば、実施例６において記載されるように、例えば、初代肝星細胞内のＩＬ－６のアッセイを用いて、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも１０％、２５％、又は５０％だけ炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００７７】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照）と比べて、例えば、実施例１において記載されるように、アラニントランスアミナーゼ（ＡＬＴ）のアッセイ、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも１０％、２０％、又は３０％だけ炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００７８】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照）と比べて、例えば、実施例１において記載されるように、アスパラギン酸トランスアミナーゼ（ＡＳＴ）のアッセイ、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも５％、２０％、又は３０％だけ炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００７９】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、単一のアミノ酸実体（例えば、バリン、アルギニン、グルタミン、イソロイシン、ロイシン、又はＮＡＣ）；イソロイシン、ロイシン、及びバリン；又はイソロイシン、ロイシン、バリン、アルギニン、及びグルタミン）と比べて、例えば、実施例１０において記載されるように、例えば、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＣＣＬ１８のアッセイを用いて、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、又はそれ以上、抗炎症性ケモカイン分泌を増加させることが可能であるか、又は増加させる。

【００８０】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、単一のアミノ酸実体（例えば、バリン、アルギニン、グルタミン、イソロイシン、ロイシン、又はＮＡＣ）；イソロイシン、ロイシン、及びバリン；又はイソロイシン、ロイシン、バリン、アルギニン、及びグルタミン）と比べて、例えば、実施例１０において記載されるように、例えば、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＣＣＬ１８のアッセイを用いて、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて検出される際、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、又はそれ以上、Ｍ１の促進又はＭ２の阻害の一方又は両方を行うことが可能である。

【００８１】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、より低い濃度の組成物、ビヒクル対照、単一のアミノ酸実体、又はアミノ酸実体の組合せ）と比べて、例えば、実施例１１において記載されるように、例えば、抗体に基づく検出アッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡを用いて評価される際、例えば、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、３０％、４０％、又は５０％だけ、例えば、炎症マーカー、例えば、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＭＣＰ－１、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）、ＩＬ－８、又はＹＫＬ４０）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルの変化（例えば、低下）によって検出される際、１つ又は複数の肝細胞型（例えば、肝細胞、肝星細胞、及びマクロファージの三種共培養（ｔｒｉｃｕｌｔｕｒｅ）における、例えば、肝細胞、肝星細胞、又はマクロファージの１つ、２つ、又は３つ）における炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。特定の実施形態において、組成物は、

（ｉ）ＩＬ－６のレベル（例えば、少なくとも５０％、６０％、７０％、又は８０％のＩＬ－６のレベルの低下）；

（ｉｉ）ＩＰ－１０のレベル（例えば、少なくとも３５％、４０％、４５％、又は５０％のＩＰ－１０のレベルの低下）；

（ｉｉｉ）ＭＣＰ－１のレベル（例えば、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％のＭＣＰ－１のレベルの低下）；

（ｉｖ）ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）のレベル（例えば、少なくとも１５％、２０％、２５％、又は３０％のＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）のレベルの低下）；

（ｖ）ＩＬ－８のレベル（例えば、少なくとも５％、１０％、１５％、又は２０％のＩＬ－８のレベルの低下）；又は

（ｖｉ）ＹＫＬ４０のレベル（例えば、少なくとも７０％、８０％、９０％、又は９５％のＹＫＬ４０のレベルの低下）

のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）の低下をもたらす。

【００８２】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）の活性は、１つ又は複数の肝細胞型（例えば、肝細胞、肝星細胞、又はマクロファージの１つ、２つ、又は３つ）、例えば、培養物中で膜（例えば、透過性膜、例えば、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ）によって隔てられる肝細胞型（例えば、肝星細胞又はマクロファージの一方又は両方と膜によって隔てられる肝細胞）を、実施例１１において記載される条件下で、組成物と接触させることによって評価される。

【００８３】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、ビヒクル対照（ＰＢＳ）、単一のアミノ酸実体、又はアミノ酸実体の組合せ）と比べて、例えば、実施例１２において記載されるように、例えば、ＡＴＰ産生速度アッセイ（ＡＴＰ ｒａｔｅ ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｓｓａｙ）、例えば、酸素消費又は細胞外酸性化の一方又は両方のアッセイを用いて評価される際、マクロファージにおけるＡＴＰ産生、例えば、解糖系ＡＴＰ産生のレベルによって、例えば、解糖系ＡＴＰ産生のレベルの少なくとも５０％、６０％、７０％、又は８０％の低下によって検出される際、炎症を軽減することが可能であるか、又は軽減する。

【００８４】
ｉ．量
組成物（例えば、活性部分）は、０．５ｇ＋／－２０％～１０ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、１ｇ＋／－２０％～１５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％～２０ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１ｇ＋／－２０％～５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含み得る。
【００８５】
例示的な組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、１．５ｇ又は１．８１ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇのＮＡＣ実体（例えば、表２に示されるｇ／パケット）を含み得る。
【００８６】
【表２】

表2. 形態L-アルギニン(R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g /パケット (R)	g /パケット (R HCl)	g 用量 #1 (R)	g 用量 #1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量 #2 (R HCl)
ロイシン	1	1	17.70	16.78	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	8.85	8.39	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.5	0.5	8.85	8.39	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
アルギニン	1.5	1.81	26.55	30.37	1.5 g	1.81 g	3	3.62 g	6	7.24 g
グルタミン	2	2	35.4	33.56	2.00 g	2.00 g	4	4 g	8	8 g
NAC	0.15	0.15	2.65	2.52	0.15 g	0.15 g	0.3	0.3 g	0.6	0.6 g
総アミノ酸					5.65 g	5.96 g	11.3 g	約12 g	22.6 g	約24 g

【００８７】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－１０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、１．５ｇ又は１．８１ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇのＮＡＣ実体を含む。
【００８８】
ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシン

アミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－１０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、１．５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、１．５ｇ又は１．８１ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇのＮＡＣ実体を含む。

【００８９】

例示的な組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇのＮＡＣ実体（例えば、表３に示されるｇ／パケット）を含み得る。

【００９０】

【表３】

表3. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニンHCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g /パケット (R)	g /パケット (R HCl)	g 用量 #1 (R)	g 用量 #1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量 #2 (R HCl)
ロイシン	1	1	20.41	19.78	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	10.20	9.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.5	0.5	10.20	9.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
アルギニン	0.75	0.905	15.31	17.90	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	2	2	40.82	39.56	2.00 g	2.00 g	4	4 g	8	8 g
NAC	0.15	0.15	3.06	2.97	0.15 g	0.15 g	0.3	0.3 g	0.6	0.6 g
総アミノ酸					4.9 g	5.06 g	9.8 g	約10 g	19.6 g	約20 g

【００９１】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、

組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－１０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇ＋／－５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．１５ｇのＮＡＣ実体を含む。

【００９２】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－１０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、２ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇ＋／－５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、２ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．３ｇのＮＡＣ実体を含む。

【００９３】

例示的な組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、１ｇのグルタミンアミノ酸実体、及び０．２２５ｇのＮＡＣ実体（例えば、表４に示されるｇ／パケット）を含み得る。

【００９４】

【表４】

表4. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パケット (R)	g / パケット (R HCl)	g 用量 #1 (R)	g 用量 #1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量 #2 (R HCl)
ロイシン	1	1	26.85	25.77	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	13.42	12.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	6.71	6.44	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	20.13	23.32	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	26.85	25.77	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	6.04	5.80	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
総アミノ酸					3.725 g	3.88 g	7.45 g	7.76 g	14.9 g	15.52 g

【００９５】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．２２５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．２２５ｇ＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．２２５ｇ＋／－１０％のＮＡＣ実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、及び０．２２５ｇ＋／－５％のＮＡＣ実体を含む。例示的な組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、１ｇのグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇのＮＡＣ実体、及び１．５ｇのセリンアミノ酸実体（例えば、表５に示されるｇ／パケット）を含み得る。

【００９６】

【表５】

表5. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パケット (R)	g / パケット (R HCl)	g 用量 #1 (R)	g 用量 #1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量 #2 (R HCl)
ロイシン	1	1	19.14	18.59	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	9.57	9.29	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	4.78	4.65	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	14.35	16.82	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	19.14	18.59	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	4.31	4.18	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
セリン	1.5	1.5	28.71	27.88	1.5	1.5	3	3	6	6
総アミノ酸					5.225	5.38 g	10.45	10.76 g	20.9	21.52 g

【００９７】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．５ｇ＋／－２０％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－１５％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．５ｇ＋／－１５％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－１０％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．５ｇ＋／－１０％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－５％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．５ｇ＋／－５％のセリンアミノ酸実体を含む。

【００９８】

例示的な組成物は、１ｇのロイシンアミノ酸実体、０．５ｇのイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇのバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ又は０．９０５ｇのアルギニンアミノ酸実体、１ｇのグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇのＮＡＣ実体、及び１．６６７ｇのセリンアミノ酸実体（例えば、表６に示されるｇ／パケット）を含み得る。

【００９９】

【表６】

表6. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パケット (R)	g / パケット (R HCl)	g 用量 #1 (R)	g 用量 #1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量 #2 (R HCl)
ロイシン	1	1	18.54	18.02	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	9.27	9.01	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	4.64	4.50	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	13.91	16.31	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	18.54	18.02	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	4.17	4.05	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
セリン	1.667	1.667	30.92	30.09	1.67 g	1.67 g	3.33 g	3.33 g	6.67 g	6.67 g
総アミノ酸					5.395 g	5.55 g	10.78 g	11.09 g	21.57 g	22.19 g

【０１００】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、１ｇ＋／－２０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－２０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－２０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－２０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－２０％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－２０％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．６６７ｇ＋／－２０％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－１５％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．６６７ｇ＋／－１５％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－１０％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－１０％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－１０％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－１０％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－１０％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－１０％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．６６７ｇ＋／－１０％のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１ｇ＋／－５％のロイシンアミノ酸実体、０．５ｇ＋／－５％のイソロイシンアミノ酸実体、０．２５ｇ＋／－５％のバリンアミノ酸実体、０．７５ｇ＋／－５％のアルギニンアミノ酸実体、１ｇ＋／－５％のグルタミンアミノ酸実体、０．２２５ｇ＋／－５％のＮＡＣ－アミノ酸実体、及び１．６６７ｇ＋／－５％のセリンアミノ酸実体を含む。

【０１０１】

ｉｉ．比率

例示的な組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：１．５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．１５＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：１．８１＋／－１５％：２＋／－１５％：０．１５＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：１．５＋／－１０％：２＋／－１０％：０．１５＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：１．８１＋／－１０％：２＋／－１０％：０．１５＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイ

シンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：１．５＋／－５％：２＋／－５％：０．１５＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：１．８１＋／－５％：２＋／－５％：０．１５＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．５：１．５：２：０．１５又は１：０．５：０．５：１．８１：２：０．１５の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０２】

例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：１．５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．３＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：１．８１＋／－２０％：２＋／－２０％：０．３＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：１．５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．３＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：１．８１＋／－１５％：２＋／－１５％：０．３＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：１．５＋／－１０％：２＋／－１０％：０．３＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：１．８１＋／－１０％：２＋／－１０％：０．３＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：１．５＋／－５％：２＋／－５％：０．３＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：１．８１＋／－５％：２＋／－５％：０．３＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．５：１．５：２：０．３又は１：０．５：０．５：１．８１：２：０．３の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０３】

例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．７５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．９０５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．１５＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．７５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．１５＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．９０５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．１５＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．７５＋／－１０

％：２＋／－１０％：０．１５＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．９０５＋／－１０％：２＋／－１０％：０．１５＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：０．７５＋／－５％：２＋／－５％：０．１５＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：０．９０５＋／－５％：２＋／－５％：０．１５＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．５：０．７５：２：０．１５又は１：０．５：０．５：０．９０５：２：０．１５の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０４】

例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．７５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．３＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．９０５＋／－２０％：２＋／－２０％：０．３＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．７５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．３＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．９０５＋／－１５％：２＋／－１５％：０．３＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．７５＋／－１０％：２＋／－１０％：０．３＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．９０５＋／－１０％：２＋／－１０％：０．３＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：０．７５＋／－５％：２＋／－５％：０．３＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．５＋／－５％：０．９０５＋／－５％：２＋／－５％：０．３＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．５：０．７５：２：０．３又は１：０．５：０．５：０．９０５：２：０．３の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０５】

例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．７５＋／－２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．９０５＋／－２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．７５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．９０５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸

実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．７５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．９０５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．７５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．９０５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．２５：０．７５：１：０．２２５又は１：０．５：０．２５：０．９０５：１：０．２２５の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ－アミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０６】

アミノ酸実体を含む例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．７５＋／－２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％：１．５＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．９０５＋／－２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％：１．５＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．７５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％：１．５＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．９０５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％：１．５＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．７５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％：１．５＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．９０５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％：１．５＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．７５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％：１．５＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．９０５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％：１．５＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．２５：０．７５：１：０．２２５：１．５又は１：０．５：０．２５：０．９０５：１：０．２２５：１．５の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０７】

例示的な組成物は、１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．７５＋／－２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％：１．６６７＋／－２０％又は１＋／－２０％：０．５＋／－２０％：０．２５＋／－２０％：０．９０５＋／－

２０％：１＋／－２０％：０．２２５＋／－２０％：１．６６７＋／－２０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量（ｗｔ．）比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．７５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％：１．６６７＋／－１５％又は１＋／－１５％：０．５＋／－１５％：０．２５＋／－１５％：０．９０５＋／－１５％：１＋／－１５％：０．２２５＋／－１５％：１．６６７＋／－１５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．７５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％：１．６６７＋／－１０％又は１＋／－１０％：０．５＋／－１０％：０．２５＋／－１０％：０．９０５＋／－１０％：１＋／－１０％：０．２２５＋／－１０％：１．６６７＋／－１０％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．７５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％：１．６６７＋／－５％又は１＋／－５％：０．５＋／－５％：０．２５＋／－５％：０．９０５＋／－５％：１＋／－５％：０．２２５＋／－５％：１．６６７＋／－５％の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、１：０．５：０．２５：０．７５：１：０．２２５：１．６６７又は１：０．５：０．２５：０．９０５：１：０．２２５：１．６６７の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、ＮＡＣ－アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。

【０１０８】

ある実施形態において、組成物は、１０重量％＋／－１５％～３０重量％＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、５重量％＋／－１５％～１５重量％＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、５重量％＋／－１５％～１５重量％＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、１５重量％＋／－１５％～４０重量％＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、２０重量％＋／－１５％～５０重量％＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び１重量％＋／－１５％～８重量％＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。

【０１０９】

ある実施形態において、組成物は、１０重量％＋／－１５％～３０重量％＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、５重量％＋／－１５％～１５重量％＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、５重量％＋／－１５％～１５重量％＋／－１５％のバリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１５重量％＋／－１５％～４０重量％＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、２０重量％＋／－１５％～５０重量％＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１重量％＋／－１５％～８重量％＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。

【０１１０】

ある実施形態において、組成物は、１６重量％＋／－１５％～１８重量％＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、７重量％＋／－１５％～９重量％＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、７重量％＋／－１５％～９重量％＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、２８重量％＋／－１５％～３２重量％＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、３１重量％＋／－１５％～３４重量％＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び１重量％＋／－１５％～５重量％＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。

【０１１１】

ある実施形態において、組成物は、１６重量％＋／－１５％～１８重量％＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、７重量％＋／－１５％～９重量％＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、７重量％＋／－１５％～９重量％＋／－１５％のバリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、２８重量％＋／－１５％～３２重量％＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、３１重量％＋／－１５％～３４重量％＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、１重量％＋／－１５％～５重量％＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。

【０１１２】

ある実施形態において、組成物は、１６．８重量％＋／－１５％のロイシンアミノ酸実体、８．４重量％＋／－１５％のイソロイシンアミノ酸実体、８．４重量％＋／－１５％のバリンアミノ酸実体、３０．４重量％＋／－１５％のアルギニンアミノ酸実体、３３．６重量％＋／－１５％のグルタミンアミノ酸実体、及び２．５重量％＋／－１５％のＮＡＣ実体を含む。

【０１１３】

ｉｉｉ．アミノ酸実体の関係

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下の特性の１つ又は複数を有し、

ａ）組成物中のＱ－アミノ酸実体の重量％が、Ｒ－アミノ酸実体の重量％より多く；

ｂ）組成物中のＱ－アミノ酸実体の重量％が、Ｌ－アミノ酸実体の重量％より多く；

ｃ）組成物中のＲ－アミノ酸実体の重量％が、Ｌ－アミノ酸実体の重量％より多く；又は

ｄ）（ａ）～（ｃ）のうちの２つ又は３つの組合せである。

【０１１４】

ある実施形態において、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より少なくとも５％多く、例えば、グルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１０％又は２５％多い。

【０１１５】

ある実施形態において、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２０％多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５％か５０％多い。

【０１１６】

ある実施形態において、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１０％多く、例えば、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１５％又は３０％多い。

【０１１７】

ある実施形態において、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のイソロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のイソロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５重量％多い。

【０１１８】

ある実施形態において、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のバリンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のバリンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５重量％多い。

【０１１９】

ある実施形態において、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ又はその塩の重量％は、組成物中のアミノ酸実体の少なくとも：５０重量％又は７０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体の９０重量％以下である。

【０１２０】

ある実施形態において、ＮＡＣ実体の重量％は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：１重量％又は２重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の１０重量％以下である。

【０１２１】

ある実施形態において、組み合わせたイソロイシンアミノ酸実体、及びバリンアミノ酸実体は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：１５重量％、又は２０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の５０重量％以下である。

【０１２２】

ある実施形態において、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ実体は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：４０重量％又は５０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の９０重量％以下である。

【０１２３】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、セリンアミノ酸実体をさらに含み、例えば、セリンアミノ酸実体は、組成物中の任意の他のアミノ酸実体成分より多い量で存在する。ある実施形態において、セリンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のアミノ酸実体又は全成分の少なくとも２０重量％又はそれ以上である。

【０１２４】

ｉｖ．組成物から除外又は制限するアミノ酸分子

ある実施形態において、組成物は、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タンパク質、エンドウ豆タンパク質、又は玄米タンパク質の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）から選択されるか又はそれらに由来する２０を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、タンパク質補充剤）を含まず、又はペプチドが存在する場合、ペプチドは、組成物（例えば、乾燥形態で）中の非アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の１０重量（ｗｔ．）５重量％、１重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％未満で存在する。

【０１２５】

ある実施形態において、組成物は、３～１９、３～１５、又は３～１０の異なるアミノ酸実体の組合せを含み、例えば、組合せは、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量％の少なくとも：４２重量％、７５重量％、又は９０重量％を含む。

【０１２６】

ある実施形態において、ジペプチド若しくはその塩又はトリペプチド若しくはその塩は、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量の１０重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１２７】

ある実施形態において、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分の全グラムの少なくとも５０％、６０％、７０％、又はそれ以上は、（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）からのものである。

【０１２８】

ある実施形態において、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分からのカロリーの少なくとも：５０％、６０％、７０％、又はそれ以上は、（ａ）～（ｆ）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）からのものである。

【０１２９】

ある実施形態において、組成物は、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タ

ンパク質、エンドウ豆タンパク質、又は玄米タンパク質（例えば、無傷の又は加水分解性の形態で）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）から選択されるか又はそれらに由来する２０を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、タンパク質補充剤）を含まない。

【０１３０】

ある実施形態において、組成物（例えば、医薬組成物）は、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タンパク質、エンドウ豆タンパク質、又は玄米タンパク質（例えば、無傷の又は加水分解性の形態で）の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）から選択されるか又はそれらに由来する２０を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、タンパク質補充剤）を含まない。

【０１３１】

ある実施形態において、炭水化物（例えば、デキストロース、マルトデキストロース、スクロース、デキストリン、フルクトース、ガラクトース、グルコース、グリコーゲン、高フルクトースコーンシロップ、蜂蜜、イノシトール、転化糖、ラクトース、果糖、マルトース、糖蜜、サトウキビ、又はキシロースのうちの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、又は１８）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３２】

ある実施形態において、ビタミン（例えば、ビタミンＢ１、ビタミンＢ２、ビタミンＢ３、ビタミンＢ６、ビタミンＢ１２、ビタミンＣ、又はビタミンＤのうちの１、２、３、４、５、６、又は７つ）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３３】

ある実施形態において、硝酸塩又は亜硝酸塩の一方又は両方が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３４】

ある実施形態において、４－ヒドロキシイソロイシンが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３５】

ある実施形態において、プロバイオティック（例えば、バチルスプロバイオティック（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｐｒｏｂｉｏｔｉｃ））が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３６】

ある実施形態において、酢酸フェニルが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３７】

ある実施形態において、ゼラチン（例えば、ゼラチンカプセル）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量

％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３８】

ある実施形態において、Ｓ－アリルシステイン、Ｓ－アリルメルカプトシステイン、又はフルクトシル－アルギニンのうちの１、２、又は３つが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の１０重量％、５重量％、１重量％、０．５重量％、０．１重量％、０．０５重量％、０．０１重量％、０．００１重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【０１３９】

使用、例えば、治療の方法

本明細書に記載される本発明の組成物（例えば、活性部分）は、対象における炎症を軽減又は治療するために投与され得る。ある実施形態において、組成物は、対象における炎症を予防するために投与され得る。組成物は、本明細書に記載される炎症状態を治療又は予防するために投与され得る。

【０１４０】

ある実施形態において、対象は、炎症を有するか、又は炎症状態又は炎症性疾患であると診断されている。ある実施形態において、炎症又は炎症状態又は炎症性疾患を有する対象はヒトである。ある実施形態において、対象は、組成物による以前の治療を受けたことがない（例えば、未処理の対象）。

【０１４１】

本開示は、炎症を改善又は軽減するための方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示される組成物（例えば、活性部分）を有効量で投与することを含む方法を特徴とする。組成物は、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象を治療するために、本明細書に記載される投与計画にしたがって投与され得る。

【０１４２】

ある実施形態において、本明細書に記載される組成物（例えば、活性部分）は、対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）における炎症を治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）際の薬剤として使用するためのものである。ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）における炎症を治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）ための薬剤の製造に使用するためのものである。

【０１４３】

ある実施形態において、炎症は全身性である。ある実施形態において、炎症は局所的である。ある実施形態において、炎症は急性である。ある実施形態において、炎症は慢性である。

【０１４４】

ある実施形態において、炎症は、肉芽腫性炎症（例えば、結核、ハンセン病、サルコイドーシス、若しくは梅毒）、線維素性炎症（例えば、例えば、偽膜性大腸炎感染症に起因する、腸の炎症を含む）、化膿性炎症（例えば、ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉ）感染に関連する）、漿液性炎（例えば、皮膚疱疹）、又は潰瘍性炎症から選択される。

【０１４５】

例示的な炎症状態又は炎症性疾患としては、限定はされないが、全身性（例えば、慢性全身性炎症、ベーチェット病、サルコイドーシス、全身性エリテマトーデス、若年性特発性関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、又は敗血症）並びに臓器特異的な状態及び疾患（例えば、肺、心臓、腸、腎臓、膵臓、及び他の臓器の炎症）が挙げられる。

【０１４６】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、毒素；傷害（例えば、環境危険（例えば、アスベスト、炭塵、若しくは多環式芳香族炭化水素の１つ、２つ、又はそれ以上（例えば、全て））又は喫煙）；医療処置（例えば、外科手術）；又はそれらの組合せに

関連する（例えば、それに続発する）。

【０１４７】

本明細書に記載される組成物を投与することによって治療又は予防され得る例示的な炎症状態としては、限定はされないが、消化管の炎症状態、肺の炎症状態、皮膚の炎症、心血管系の炎症状態、神経系の炎症状態、腎臓の炎症状態、膵臓の炎症状態、関節の炎症状態、眼の炎症状態、内分泌の炎症状態、又はそれらの組合せが挙げられる。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、自己免疫疾患である。

【０１４８】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、消化管の炎症状態（例えば、腸）である。特定の実施形態において、消化管の炎症状態は、大腸炎（例えば、潰瘍性大腸炎、偽膜性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、分類不能大腸炎、虚血性大腸炎、放射線大腸炎、若しくは膠原線維性大腸炎）、クローン病、リーキーガット症候群、小腸の特発性炎症、回腸嚢炎、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）、バレット食道、腸の炎症、慢性胃炎、末端直腸炎（ｄｉｓｔａｌ　ｐｒｏｃｔｉｔｉｓ）、腸炎、全腸炎、胃炎、胃腸炎、胆管炎、回腸炎、便秘、下痢；消化不良若しくは非潰瘍性消化不良、憩室症、ポリープ、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。特定の実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、前腸の炎症状態、例えば、バレット食道又は慢性胃炎である。特定の実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、後腸の炎症状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）又は潰瘍性大腸炎である。特定の実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、クローン病である。

【０１４９】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、肺の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、肺の炎症状態又は炎症性疾患は、喘息、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、成人呼吸窮迫症候群（ＡＲＤＳ）、気管支炎（例えば、慢性気管支炎）、細気管支炎、肺炎症、肺線維症、嚢胞性線維症、肺炎（例えば、過敏性肺炎、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、肺炎（例えば、剥離性間質性肺炎、リンパ球様間質性肺炎、巨細胞性間質性肺炎、若しくは細胞性間質性肺炎）、外因性アレルギー性肺胞炎、石綿肺、珪肺症、気管支拡張症、ベリリウム中毒、滑石肺、塵肺症、肺サルコイドーシス、胸膜炎、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５０】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、皮膚の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、皮膚の炎症状態又は炎症性疾患は、乾癬；湿疹；皮膚炎（例えば、湿疹様皮膚炎、アトピー性若しくは脂漏性皮膚炎、アレルギー性若しくは刺激性接触皮膚炎、亀裂性湿疹、光アレルギー性皮膚炎、光毒性皮膚炎、植物性光皮膚炎、放射線皮膚炎、若しくは鬱滞性皮膚炎）；潰瘍；皮膚若しくは粘膜の外傷、熱傷、又は虚血に起因するびらん；魚鱗癬；表皮水疱症；肥厚性瘢痕；ケロイド；加齢の結果としての皮膚変化；炎症性皮膚疾患；光による老化；皮膚萎縮（例えば、コルチコステロイドの局所使用による）；炎症性皮膚疾患；遅延型過敏反応（例えば、ツタウルシ皮膚炎）；蜂巣炎；皮膚筋炎；天疱瘡；運動誘発性皮膚炎；又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。特定の実施形態において、皮膚の炎症状態としては、口唇炎、荒れた唇、鼻の炎症、粘膜炎、及び外陰膣炎などの、粘膜の炎症が挙げられる。

【０１５１】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、心血管系の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、心血管系の炎症状態は、アテローム性動脈硬化症、冠動脈梗塞傷害（ｃｏｒｏｎａｒｙ　ｉｎｆａｒｃｔ　ｄａｍａｇｅ）、末梢血管疾患、心筋炎、脈管炎、狭窄の血行再建、心筋炎、心膜炎、２型糖尿病に関連する血管疾患、心内膜炎、コレステロール関連代謝障害、酸素フリーラジカル傷害、虚血、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５２】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、神経系の炎症状態又は炎症性疾患

である。特定の実施形態において、神経系の炎症状態又は炎症性疾患は、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病若しくは認知症）、多発性硬化症、脳炎（例えば、炎症性浮腫を伴う脳炎）、鬱病、注意欠陥障害（ＡＤＤ）、パーキンソン病、統合失調症、神経障害（例えば、末梢神経障害）、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５３】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、腎臓の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、腎臓の炎症状態又は炎症性疾患は、腎炎；ウェゲナー病に続発する腎炎；急性腎炎に続発する急性腎不全；閉塞後症候群（ｐｏｓｔ－ｏｂｓｔｒｕｃｔｉｖｅ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）；尿細管虚血（ｔｕｂｕｌａｒ　ｉｓｃｈｅｍｉａ）；腎盂腎炎　糸球体硬化症；膜性神経障害（ｍｅｍｂｒａｎｏｕｓ　ｎｅｕｒｏｐａｔｈｙ）；腎動脈硬化；又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。特定の実施形態において、腎炎は、糸球体腎炎（例えば、急性糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、感染後糸球体腎炎（例えば、連鎖球菌感染後糸球体腎炎）、又はそれらの組合せ）；間質性腎炎；ループス腎炎；又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５４】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、膵臓の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、膵臓の炎症状態又は炎症性疾患は、膵炎（例えば、急性又は慢性膵炎）である。

【０１５５】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、関節の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、関節の炎症状態又は炎症性疾患は、関節リウマチ、リウマチ様脊椎炎、若年性関節リウマチ、変形性関節症、痛風性関節炎、乾癬性関節炎、ループス関連関節炎、強直性脊椎炎、脊椎関節症、変性性関節炎、滑膜炎、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５６】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、眼の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、眼の炎症状態又は炎症性疾患は、ブドウ膜炎、虹彩炎、視神経炎、結膜炎、強膜炎、虹彩炎、乾性角結膜炎、眼瞼炎、加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）、ドライアイ症候群、視神経障害、糖尿病性網膜症、角膜の炎症、網膜の炎症、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５７】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、内分泌系の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、内分泌系の炎症状態又は炎症性疾患は、自己免疫性甲状腺炎（橋本病）、副腎皮質炎症（例えば、急性副腎皮質炎症若しくは慢性副腎皮質炎症）、１型糖尿病、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５８】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、自己免疫疾患である。特定の実施形態において、自己免疫疾患は、関節炎（例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、ループス関連関節炎、強直性脊椎炎、又はそれらの組合せ）；自己免疫性甲状腺炎；強皮症；ループス；全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）；ＨＩＶ；シェーグレン症候群；脈管炎；多発性硬化症；皮膚炎（例えば、アトピー性皮膚炎若しくは湿疹様皮膚炎）、重症筋無力症；炎症性腸疾患（ＩＢＤ）；クローン病；大腸炎；糖尿病（１型）；急性炎症状態（例えば、内毒素血症、敗血症、若しくは毒素性ショック症候群）；移植拒絶反応；アレルギー性若しくはアトピー性疾患（例えば、喘息、アレルギー性鼻炎、湿疹、アレルギー性接触皮膚炎、若しくはアレルギー性結膜炎）；虹彩眼炎（ｉｒｉｄｏｅｙｅｌｉｔｉｓ）／ブドウ膜炎視神経炎（ｕｖｅｉｔｉｓｔｏｐｔｉｃ　ｎｅｕｒｉｔｉｓ）；全身性脈管炎；ウェゲナー肉芽腫症；血管炎（側頭動脈炎若しくは結節性多発動脈炎）；リウマチ性多発筋痛（ＰＭＲ）；腱炎；滑液嚢炎；即時型過敏反応（例えば、喘息、花粉症、皮膚アレルギー、若しくは急性アナフィラキシー）；急性播種性脳脊髄炎；シェーグレン病；アジソン病；心疾患；骨粗鬆症；全身性脱毛症；抗リン脂

質抗体症候群；自己免疫性溶血性貧血；悪性貧血；自己免疫性肝炎；水疱性類天疱瘡；子宮内膜症；グッドパスチャー症候群；汗腺膿瘍；特発性血小板減少性紫斑病；間質性膀胱炎；限局性強皮症；神経ミオトニー；側頭動脈炎（「巨細胞性動脈炎」）；脈管炎；白斑；外陰部痛；又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１５９】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、創傷治癒に関連する。特定の実施形態において、創傷は、急性創傷、慢性創傷、開放創、閉鎖創、感染創、外傷、内傷、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、例えば、外傷に起因する出血に関連する。

【０１６０】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、臓器損傷；組織移植；臓器移植；臓器機能の低下若しくは喪失；多臓器不全；臓器拒絶反応；組織拒絶反応；臓器再生；移植片対宿主病；又はそれらの組合せに関連する。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、例えば、臓器若しくは組織移植後の急性期における同種移植の拒絶反応又は慢性宿主対移植片拒絶を含む、臓器移植若しくは組織同種移植の後遺症の炎症に関連する。

【０１６１】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、虚血、例えば、心虚血、腸管虚血、脳虚血（例えば、脳卒中）、肢虚血、腸間膜虚血（例えば、腸の血流の低下により生じる）、又は皮膚虚血である。特定の実施形態において、炎症状態としては、虚血再かん流傷害後の組織損傷が挙げられる。特定の実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、かん流後症候群である。特定の実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、任意の臓器の一過性虚血（例えば、消化管、膀胱、若しくは心臓の一過性虚血）に関連する。

【０１６２】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、サルコイドーシス（例えば、肺、リンパ節、皮膚、眼、心臓、脳、又はそれらの組合せのサルコイドーシス）である。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、アミロイド症（例えば、軽鎖（ＡＬ）アミロイド症、炎症（ＡＡ）アミロイド症、透析（Ａβ２Ｍ）アミロイド症、又は遺伝性及び老年性（ＡＴＴＲ）アミロイド症）である。

【０１６３】

ある実施形態において、炎症状態は、物理的原因、例えば、熱傷；凍傷；物理的傷害、異物（例えば、破片、埃及びデブリ）、又は外傷に関連する。

【０１６４】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、薬物乱用又は薬物中毒に関連する。

【０１６５】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、血管疾患（例えば、脳卒中、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、腹部大動脈瘤（ＡＡＡ）、頸動脈疾患（ＣＡＤ）、動静脈奇形（ＡＶＭ）、重症下肢虚血（ＣＬＩ）、肺塞栓症（血栓）、深部静脈血栓症（ＤＶＴ）、慢性静脈不全（ＣＶＩ）、静脈瘤症、又はそれらの組合せ）に関連する。

【０１６６】

本明細書に記載される組成物で治療され得る例示的な炎症状態又は炎症性疾患としては、限定はされないが、歯周病、歯肉炎、虫垂炎、慢性炎症における組織壊死、内毒素性ショック、好中球減少性発熱、サイトカイン放出症候群（例えば、家族性血球貪食性リンパ組織症）、子宮頸管炎、多発性筋炎、天疱瘡、天疱瘡、類天疱瘡、重症筋無力症、グレーブス病、混合性結合組織病、硬化性胆管炎、リウマチ熱、脱毛症、膀胱炎（例えば、間質性膀胱炎）、胆嚢炎（例えば、急性若しくは慢性胆嚢炎）、尋常性座瘡、憩室炎、汗腺膿瘍、過敏性、扁平苔癬、マスト細胞活性化症候群、肥満細胞症、絨毛膜羊膜炎、涙腺炎、子宮内膜炎、上顆炎、精巣上体炎、筋膜炎、喉頭炎、脊髄炎、臍炎、卵巣炎、精巣炎、骨炎、耳炎、耳下腺炎、咽頭炎、静脈炎、直腸炎、前立腺炎、鼻炎、卵管炎、副鼻腔炎、口

内炎、扁桃炎、膣炎、脈管炎、外陰炎、外陰膣炎、血管炎、骨髄炎、又は横断性脊髄炎が挙げられる。

【０１６７】

本明細書に記載される組成物で治療され得る例示的な炎症状態又は炎症性疾患としては、感染症に関連する炎症が挙げられる。例えば、炎症は、ウイルス、細菌、真菌、又は寄生生物を含むがこれらに限定されない感染性因子に関連し得る。

【０１６８】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、敗血症、例えば、肺炎、腹部感染、腎臓感染、血流感染、又はそれらの組合せに起因する敗血症である。特定の実施形態において、敗血症は、敗血症候群、グラム陽性菌敗血症、グラム陰性菌敗血症、培養陰性敗血症、真菌性敗血症、尿性敗血症、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１６９】

本明細書に記載される組成物で治療され得る例示的な感染症としては、マラリヤ；肺炎；アフリカトリパノソーマ症；結核；ＨＩＶ；ヒトサイトメガロウイルス（ＨＣＭＶ）；ヘルペスウイルス感染症；インフルエンザ（例えば、インフルエンザウイルスＡ型、インフルエンザウイルスＢ型、若しくはインフルエンザウイルスＣ型）；エプスタイン・バー・ウイルス感染症；シャーガス病；細菌性、旋毛虫性、若しくは真菌性心筋炎；髄膜炎；レジオネラ（ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ）；肝炎（例えば、慢性活動性肝炎）；肺炎；クロストリジウム・ディフィシレ（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）感染；小腸細菌異常増殖（ＳＩＢＯ）；デング出血熱；ライム病；髄膜炎菌血症；壊疽性筋膜炎；壊死性腸炎；ハンセン病；連鎖球菌筋炎；感染性大腸炎；真菌症（例えば、カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ）感染）；バンコマイシン耐性腸球菌（ＶＲＥ）感染；肺炎 喉頭蓋炎；腹膜炎；溶血性尿毒症症候群；毒素性ショック症候群；ニューモシスチス・カリニ（ｐｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ ｃａｒｉｎｉｉ）；カンピロバクター・ジェジュニ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ）感染；ピロリ菌（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉ）感染；ウイルス性脳炎；敗血症性関節炎；ガス壊疽；骨盤内炎症性疾患；マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｖｉｕｍ－ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｅ）感染；精巣炎；ウイルス関連血球貪食症候群（ＶＡＨＳ）；又はそれらの組合せが挙げられる。

【０１７０】

ある実施形態において、感染症は、例えば、ＶＲＥ、Ｃ．ディフィシル（Ｃ．ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ）、サルモネラ属（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ）、カンピロバクター属（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ）、コレラ菌（Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａ）、ウェルシュ菌（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ）、セレウス菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｃｅｒｅｕｓ）、腸炎ビブリオ（Ｖｉｂｒｉｏ ｐａｒａｈｅｍｏｌｙｔｉｃｕｓ）、エルシニア・エンテロコリチカ（Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｅｎｔｅｒｏｃｏｌｉｔｉｃａ）、ピロリ菌（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉ）、炭疽菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ａｎｔｈｒａｃｉｓ）、ボツリヌス菌（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｂｏｔｕｌｉｎｕｍ）、ストレプトコッカス・アガラクティエ（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ）（ｂ群連鎖球菌）、リステリア菌（Ｌｉｓｔｅｒｉａ ｍｏｎｏｃｙｔｏｇｅｎｅｓ）、ストレプトコッカス・アガラクティエ（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ）、肺炎連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、髄膜炎菌（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）、インフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）、化膿連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ）、肺炎連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、モラクセラ・カタラーリス（Ｍｏｒａｘｅｌｌａ ｃａｔａｒｒｈａｌｉｓ）、インフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａ）、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）、表皮ブド

ウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ）、化膿連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ）、腸内細菌科（Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒｉａｃｅａｅ）、セレウス菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｃｅｒｅｕｓ）、ボツリヌス菌（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｂｏｔｕｌｉｎｕｍ）、ビロフィラ・ワーズワーシア（Ｂｉｌｏｐｈｉｌａ ｗａｄｓｗｏｒｔｈｉａ）、カンピロバクター・ジェジュニ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ）、シトロバクター・ファルメリ（Ｃｉｔｒｏｂａｃｔｅｒ ｆａｒｍｅｒ）、クロストリジウム・ディフィシレ（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）、破傷風菌（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｔｅｔａｎｉ）、コリンセラ・アエロファシエンス（Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌｌａ ａｅｒｏｆａｃｉｅｎｓ）、エンテロバクター・ホルメシェイ（Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒ ｈｏｒｍａｅｃｈｅｉ）、大便連鎖球菌（Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓ）、エンテロコッカス・フェシウム（Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃｉｕｍ）、フソバクテリウム・バリウム（Ｆｕｓｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｖａｒｉｕｍ）、フソバクテリウム・ヌクレアタム（Ｆｕｓｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｎｕｃｌｅａｔｕｍ）、パラインフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｐａｒａｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）、肺炎桿菌（Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）、ペプトストレプトコッカス・ストマティス（Ｐｅｐｔｏｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｏｍａｔｉｓ）、ポルフィロモナス・アサッカロリティカ（Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｓ ａｓａｃｃｈａｒｏｌｙｔｉｃａ）、緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）、サルモネラ・ボンゴリ（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｂｏｎｇｏｒｉ）、サルモネラ菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｅｎｔｅｒｉｃ）、ボイド赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｂｏｙｄｉｉ）、志賀赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｄｙｓｅｎｔｅｒｉａｅ）、フレクスナー赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｆｌｅｘｎｅｒｉ）、ソンネ赤痢菌（Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｓｏｎｎｅｉ）、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）、ストレプトコッカス・インファンタリウス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｆａｎｔａｒｉｕｓ）、エルシニア・エンテロコリチカ（Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｅｎｔｅｒｏｃｏｌｉｔｉｃａ）、又はそれらの組合せによる感染などの細菌感染である。

【０１７１】

ある実施形態において、感染症は、例えば、ロタウイルス、ノロウイルス、ＨＩＶ、ジカウイルス、フニンウイルス、ＢＫウイルス、マチュポウイルス、サビアウイルス、コロラドダニ熱ウイルス（ＣＴＦＶ）、αウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス（ＶＺＶ）、ライノウイルス及びコロナウイルス、サイトメガロウイルス、エンテロウイルス、デングウイルス、パルボウイルスＢ１９、Ａ型肝炎ウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、Ｄ型肝炎ウイルス、Ｅ型肝炎ウイルス、単純ヘルペス１若しくは２型ウイルス、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）、ヒトパラインフルエンザウイルス（ＨＰＩＶ）、エプスタイン・バー・ウイルス（ＥＢＶ）、ラッサ熱ウイルス、マールブルグ・ウイルス、麻疹ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ）、サル痘ウイルス、ムンプスウイルス、伝染性軟属腫ウイルス（ＭＣＶ）、ポリオウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）、狂犬病、ライノウイルス、コロナウイルス、風疹ウイルス、ＳＡＲＳコロナウイルス、又はそれらの組合せによる感染などのウイルス感染である。

【０１７２】

ある実施形態において、感染症は、例えば、カンジダ属（Ｃａｎｄｉｄａ）（例えば、カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ））、アスペルギルス属（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ）、ケカビ属（Ｍｕｃｏｒ）、クリプトコッカス属（Ｃｒｙｐｔｏｃｏｃｃｕｓ）、ヒストプラスマ属（Ｈｉｓｔｏｐｌａｓｍａ）、コクシジオイデス属（Ｃｏｃｃｉｄｉｏｉｄｅｓ）、マラセチア・フルフル（Ｍａｌａｓｓｅｚｉａ ｆｕｒｆｕｒ）、ミクロスポルム属（Ｍｉｃｒｏｓｐｏｒｕｍ）、トリコフィトン属（Ｔｒｉｃｈｏｐｈｙｔｏｎ）、エピデルモフィトン属（Ｅｐｉｄｅｒｍｏｐｈｙｔｏｎ）、又はそれらの組合せによる感染などの真菌感染症である。

【０１７３】

ある実施形態において、感染症は、例えば、赤痢アメーバ（Ｅｎｔａｍｏｅｂａ ｈｉ

ｓｔｏｌｙｔｉｃａ）、ランブル鞭毛虫（Ｇｉａｒｄｉａ　ｌａｍｂｌｉａ）、クリプトスポリジウム・パルバム（Ｃｒｙｐｔｏｓｐｏｒｉｄｉｕｍ　ｐａｒｖｕｍ）、又はそれらの組合せによる感染などの原虫感染症である。

【０１７４】

ある実施形態において、炎症は、ビロフィラ属（Ｂｉｌｏｐｈｉｌａ）、カンピロバクター属（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ）、カンジダツス属（Ｃａｎｄｉｄａｔｕｓ）、シトロバクター属（Ｃｉｔｒｏｂａｃｔｅｒ）、クロストリジウム属（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ）、コリンセラ属（Ｃｏｌｌｉｎｓｅｌｌａ）、デスルフォビブリオ属（Ｄｅｓｕｌｆｏｖｉｂｒｉｏ）、エンテロバクター属（Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒ）、エンテロコッカス属（Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ）、エシェリキア属（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ）、フゾバクテリウム属（Ｆｕｓｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ）、ヘモフィルス属（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ）、クレブシエラ属（Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ）、ラクノスピラ科（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ）、ペプトストレプトコッカス属（Ｐｅｐｔｏｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ）、ポルフィロモナス属（Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｓ）、ポルティエラ属（Ｐｏｒｔｉｅｒａ）、プロビデンシア属（Ｐｒｏｖｉｄｅｎｃｉａ）、シュードモナス属（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）、サルモネラ属（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ）、赤痢菌属（Ｓｈｉｇｅｌｌａ）、ブドウ球菌属（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）、連鎖球菌属（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ）、ビブリオ属（Ｖｉｂｒｉｏ）、エルシニア属（Ｙｅｒｓｉｎｉａ）、又はそれらの組合せから選択される細菌性病原体の感染に関連する。

【０１７５】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患である。特定の実施形態において、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患は、非アルコール性脂肪肝（ＮＡＦＬ）、非アルコール性脂肪肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）、アルコール性脂肪肝疾患（ＡＦＬＤ）、又はアルコール性脂肪性肝炎（ＡＳＨ）から選択される。特定の実施形態において、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患は、肝硬変（例えば、原発性胆汁性肝硬変若しくは原発性硬化性胆管炎）、肝炎（例えば、ウイルス感染、自己免疫応答、薬物治療、毒素、環境要因に起因するか、又は原発性疾患の二次的な結果としての肝炎）、胆管閉鎖症、又はそれらの組合せのうちの１つ又は複数から選択される。

【０１７６】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、Ｍ２マクロファージに関連する炎症状態又は炎症性疾患である。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患（例えば、Ｍ２マクロファージに関連する炎症状態又は炎症性疾患）は、メタボリック・シンドローム、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患（例えば、脂肪肝疾患）、肥満、耐糖能異常、腎障害、慢性腎疾患、心臓の炎症（例えば、心筋炎）、ウイルス感染（例えば、コクサッキーウイルスＢ３型感染）、寄生虫感染症（例えば、クルーズトリパノソーマ（Ｔｒｙｐａｎｏｓｏｍａ　ｃｒｕｚｉ）感染）、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、大腸炎、自己免疫疾患（例えば、乾癬若しくはアトピー性皮膚炎）、脊髄損傷、神経因性疼痛、多発性硬化症、アテローム性動脈硬化症、又は外傷性脳損傷（例えば、脳震とう）のうちの１つ又は複数から選択される。

【０１７７】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、肝臓の炎症状態又は炎症性疾患でない。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、筋肉の炎症状態又は炎症性疾患でない。

【０１７８】

ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、メタボリック・シンドロームでない。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、肥満でない。ある実施形態において、炎症状態又は炎症性疾患は、耐糖能異常でない。

【０１７９】

投与計画

組成物（例えば、活性部分）は、炎症を軽減又は治療するために、本明細書に記載される投与計画にしたがって投与され得る。例えば、組成物は、１日に２ｇ＋／－２０％～１日に９０ｇ＋／－２０％（例えば、１日に７２ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体）の用量で、例えば、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、９週間、１０週間、１１週間、１２週間、１３週間、１４週間、１５週間、１６週間、又はそれより長い治療期間にわたって、対象に投与され得る。

【０１８０】

ある実施形態において、組成物は、単回又は複数回投与計画のいずれかで、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象に提供され得る。ある実施形態において、用量は、１日２回、１日３回、１日４回、１日５回、１日６回、１日７回、又はそれ以上で投与される。特定の実施形態において、組成物は、１日１回、２回、又は３回投与される。ある実施形態において、組成物は、少なくとも２日間、３日間、４日間、５日間、６日間、７日間、又は２週間にわたって投与される。ある実施形態において、組成物は、長期間に（例えば、３０日間超、例えば、３１日間、４０日間、５０日間、６０日間、３ヶ月間、６ヶ月間、９ヶ月間、１年間、２年間、又は３年間）投与される。

【０１８１】

ある実施形態において、組成物は、食事前に投与される。他の実施形態において、組成物は、食事と同時に投与される。他の実施形態において、組成物は、食後に投与される。

【０１８２】

組成物は、対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）における炎症を改善又は軽減するために、２時間置き、３時間置き、４時間置き、５時間置き、６時間置き、７時間置き、８時間置き、９時間置き、又は１０時間置きに投与され得る。

【０１８３】

ある実施形態において、組成物は、４つのスティックパックを含み、例えば、各スティックパックは、本明細書に記載される組成物に含まれる各アミノ酸実体の量の２５％＋／－１５％を含む。特定の実施形態において、４つのスティックパックは、１日３回投与される。ある実施形態において、組成物は、３つのスティックパックを含み、例えば、各スティックパックは、本明細書に記載される組成物に含まれる各アミノ酸実体の量の３３．３％＋／－１５％を含む。特定の実施形態において、３つのスティックパックは、１日３回投与される。

【０１８４】

ある実施形態において、組成物は、例えば、１日１回、１日２回、１日３回、１日４回、１日５回、又は１日６回（例えば、１日３回）、約２ｇ＋／－２０％～５０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、１日３回、２ｇ＋／－２０％～１０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体、例えば、１日３回、８ｇ＋／－２０％又は１０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、１日３回、１０ｇ＋／－２０％～２０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体、例えば、１日３回、１１ｇ＋／－２０％、１２ｇ＋／－２０％、１５ｇ＋／－２０％、１６ｇ＋／－２０％、又は２０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、１日３回、２０ｇ＋／－２０％～３０ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体、例えば、１日３回、２１ｇ＋／－２０％、２２ｇ＋／－２０％、２３ｇ＋／－２０％、又は２４ｇ＋／－２０％の総アミノ酸実体の用量で投与される。

【０１８５】

活性部分及び医薬組成物の製造

本開示は、上記の発明の組成物（例えば、活性部分）を製造又は作製する方法を特徴とする。組成物を作製するのに使用されるアミノ酸実体は、分散及び／又は可溶化を補助するために、凝集され、及び／又はインスタント化され得る（ｉｎｓｔａｎｔｉｚｅｄ）。

【０１８６】

組成物は、以下の供給源からのアミノ酸実体を用いて作製され得るか、又は他の供給源

が使用され得る：例えば、ＦＵＳＩ－ＢＣＡＡ（商標）インスタント化ブレンド（Ｉｎｓｔａｎｔｉｚｅｄ　Ｂｌｅｎｄ）（２：１：１の重量比でＬ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン及びＬ－バリン）、インスタント化Ｌ－ロイシン、及び他の酸が、味の素株式会社（Ａｊｉｎｏｍｏｔｏ　Ｃｏ．，Ｉｎｃ．）から入手可能である。医薬品グレードのアミノ酸実体原料が、医薬品アミノ酸実体製品の製造に使用され得る。食品（又は栄養補助食品）グレードのアミノ酸実体原料が、食品アミノ酸実体製品の製造に使用され得る。

【０１８７】

本開示の組成物を製造するために、以下の一般的な工程が使用され得る：出発材料（個々のアミノ酸実体及び賦形剤）が、混合ユニット中で混合され、続いて、混合均一性及びアミノ酸含量が確認され、混合された粉末がスティックパック又は他の単位剤形へと充填され得る。スティックパック又は他の単位剤形の内容物は、経口投与のために使用時に水中に分散され得る。

【０１８８】

本発明の栄養補助食品及び医学的栄養組成物は、経口投与に好適な形態である。

【０１８９】

原料、例えば、医薬品グレードアミノ酸実体及び／又は賦形剤を、組成物に組み合わせるとき、汚染物質が、組成物中に存在し得る。組成物が、汚染物質を実質的に含まない（例えば、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１、０．１、０．０１、又は０．００１％（ｗ／ｗ）未満を含む）場合、組成物は、汚染のレベルの基準を満たす。ある実施形態において、本明細書の方法において記載される組成物は、汚染物質を含まない。汚染物質は、組成物中に意図的に存在しない何らかの物質（例えば、医薬品グレードアミノ酸実体及び賦形剤、例えば、経口投与成分は、意図的に存在し得る）又は組成物の製品品質パラメータ（例えば、対象における副作用、減少した効力、減少した安定性／貯蔵期間、変色、匂い、不快な味、不快な質感／口当たり、又は組成物の成分の分離の増加）に悪影響を与える何らかの物質を含む。ある実施形態において、汚染物質は、微生物、内毒素、金属、又はそれらの組合せを含む。ある実施形態において、例えば、組成物の各部分の金属、レシチン、コリン、内毒素、微生物、又は他の汚染物質（例えば、原料からの汚染物質）による汚染のレベルが、食品中で許容されるレベル未満である。

【０１９０】

賦形剤

本開示のアミノ酸組成物は、１つ又は複数の賦形剤とともに配合又は製剤化され得る。好適な賦形剤の非限定的な例としては、味物質、香料、緩衝剤、保存料、安定剤、結合剤、圧密剤（ｃｏｍｐａｃｔｉｏｎ　ａｇｅｎｔ）、潤滑剤、分散促進剤、崩壊剤、香味料、甘味料、及び着色剤が挙げられる。

【０１９１】

ある実施形態において、賦形剤は、緩衝剤を含む。好適な緩衝剤の非限定的な例としては、クエン酸、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、及び重炭酸カルシウムが挙げられる。

【０１９２】

ある実施形態において、賦形剤は、保存料を含む。好適な保存料の非限定的な例としては、酸化防止剤、例えばα－トコフェロール及びアスコルベート、並びに抗菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、及びフェノールが挙げられる。

【０１９３】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として結合剤を含む。好適な結合剤の非限定的な例としては、でんぷん、アルファでんぷん、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキソアゾリドン（ｐｏｌｙｖｉｎｙｌｏｘｏａｚｏｌｉｄｏｎｅ）、ポリビニルアルコール、Ｃ１２～Ｃ１８脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、サッカリド、オリゴ糖、及びそれらの組合せが挙げられる。

【０１９４】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として潤滑剤を含む。好適な潤滑剤の非限定的な例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、硬化植物油、ステロテックス（ｓｔｅｒｏｔｅｘ）、モノステアリン酸ポリオキシエチレン、タルク、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、及び軽油が挙げられる。

【０１９５】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として分散促進剤を含む。好適な分散剤の非限定的な例としては、でんぷん、アルギン酸、ポリビニルピロリドン、グアーガム、カオリン、キサンタンガム、ベントナイト、精製木材セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、イソアモルファスシリケート（ｉｓｏａｍｏｒｐｈｏｕｓ　ｓｉｌｉｃａｔｅ）、及び高ＨＬＢ乳化剤界面活性剤としての微結晶性セルロースが挙げられる。

【０１９６】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として崩壊剤を含む。ある実施形態において、崩壊剤は、非発泡性崩壊剤である。好適な非発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、でんぷん（トウモロコシでんぷん、ジャガイモデンプン、それらのアルファ化及び加工でんぷんなど）、甘味料、例えばベントナイトなどの粘土、微結晶性セルロース、アルギン酸塩、デンプングリコール酸ナトリウム、ガム（寒天、グアー、イナゴマメ、カラヤ、ペクチン、及びトラガカントなど）が挙げられる。ある実施形態において、崩壊剤は、発泡性崩壊剤である。好適な発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、クエン酸と組み合わされた炭酸水素ナトリウム、及び酒石酸と組み合わされた炭酸水素ナトリウムが挙げられる。

【０１９７】

ある実施形態において、賦形剤は、香味料を含む。香味料は、合成香味油及び香味芳香族化合物；天然油；植物、葉、花、及び果実からの抽出物；並びにそれらの組合せから選択され得る。ある実施形態において、香味料は、ケイ皮油；ウインターグリーン油；ペパーミント油；クローバー油；干し草油（ｈａｙ　ｏｉｌ）；アニス油；ユーカリ；バニラ；レモン油、オレンジ油、ブドウ及びグレープフルーツ油などの柑橘類油；並びにリンゴ、モモ、セイヨウナシ、イチゴ、ラズベリー、サクランボ、プラム、パイナップル、及びアンズを含む果実エキスから選択される。

【０１９８】

ある実施形態において、賦形剤は、甘味料を含む。好適な甘味料の非限定的な例としては、グルコース（コーンシロップ）、デキストロース、転化糖、フルクトース、及びそれらの混合物（担体として使用されない場合）；サッカリン及びナトリウム塩などのその様々な塩；アスパルテームなどのジペプチド甘味料；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリチン；ステビア（Ｓｔｅｖｉａ　Ｒｅｂａｕｄｉａｎａ）（ステビオシド）；スクラロースなどのスクロースのクロロ誘導体；及びソルビトール、マンニトール、キシリトールなどの糖アルコールが挙げられる。水素化でんぷん加水分解物及び合成甘味料３，６－ジヒドロ－６－メチル－１，２，３－オキサチアジン－４－オン－２，２－ジオキシド、特に、カリウム塩（アセスルファム－Ｋ）、並びにそのナトリウム塩及びカルシウム塩も考えられる。

【０１９９】

ある実施形態において、組成物は、着色剤を含む。好適な着色剤の非限定的な例としては、食品、医薬品、及び化粧品用着色剤（ＦＤ＆Ｃ）、医薬品及び化粧品用着色剤（Ｄ＆Ｃ）、並びに外用医薬品及び化粧品用着色剤（Ｅｘｔ．Ｄ＆Ｃ）が挙げられる。着色剤は、染料又はそれらの対応するレーキとして使用され得る。

【０２００】

特定の賦形剤は、クエン酸、レシチン、（例えばＡｌｃｏｌｅｃ　Ｆ１００）、甘味料（例えばスクラロース、微粉化スクラロースＮＦ、アセスルファムカリウム（例えばＡｃｅ－Ｋ））、分散促進剤（例えばキサンタンガム（例えばＴｉｃａｘａｎ　Ｒａｐｉｄ－３））、香味料（例えばバニラカスタード＃４３０６、Ｎａｔ　Ｏｒａｎｇｅ　ＷＯＮＦ　＃１３２６、ライム８６５．００３２Ｕ、及びレモン８６２．２１６９Ｕ）、苦味マス

キング剤（例えば９３６．２１６０Ｕ）、及び天然又は人工着色料（例えばＦＤ＆Ｃ　Ｙｅｌｌｏｗ　６）のうちの１つ又は複数を含み得る。各スティックパックの例示的な成分含量が、表７に示される。

【０２０１】

【表７】

表7. 各スティックパック中の成分含量。

成分	グレード	機能	供給業者; 注記
アミノ酸	USP	医薬品有効成分(API)	様々な供給業者; 非インスタント化形態 (MFG 規模)
クエン酸	USP	pH、香味料	Spectrum Chems; f(体積) ≦ 1.0% w/v
アセスルファム K	NF	甘味料(早い発現)	Spectrum Chems; ターゲット 1 甘味料
スクラロース	NF	甘味料(遅い発現)	Spectrum Chems; WHO ADI ≦ 15 mg/kg
レシチン(Alecolec F100)	FCC	湿潤剤	American Lecithin Company
キサンタンガム	FCC	安定剤/増粘剤	TIC Gums; f(体積) ≦ 0.5% w/v
バニラカスタード(人工)	GRAS	味/香料	David Michael; 硫黄をマスクする
オレンジ(天然及び WONF)	GRAS	1° 香味料	David Michael; 柑橘類プロファイルが、低 pH に合う
ライム(天然及び WONF)	GRAS	2° 香味料	FONA; 単一の香味料供給業者
レモン(天然及び人工)	GRAS	2° 香味料	FONA; 単一の香味料供給業者
味調節剤	GRAS	苦味マスキング剤	FONA; 低体積で有用
FD&C Yellow No.6	USP	着色料	Sensient; 香味料プロファイルに合う

【０２０２】

別の実施形態において、賦形剤は、クエン酸、甘味料（例えば、スクラロース）、キサンタンガム、香料剤（例えば、バニラカスタード＃４０３６）、香味料（例えば、ナットオレンジ（Ｎａｔ　ｏｒａｎｇｅ）ＷＯＮＦ　＃１３６２）、及び着色剤（例えば、ＦＤ＆Ｃ　Ｙｅｌｌｏｗ　６）に限定され、例えば、賦形剤は、レシチンを特に除外する（表８）。

【０２０３】

【表８】

表 8. 各スティックパック中の例示的な含量。

成分	グレード	機能
アミノ酸	USP	医薬品有効成分(API)
クエン酸	*USP*	*pH、香味料*
スクラロース	*NF*	*甘味料 (遅い発現)*
キサンタンガム	*FCC*	*安定剤/増粘剤*
バニラカスタード (人工)	*GRAS*	*香料*
オレンジ (天然+WONF)	*GRAS*	*1° 香味料*
FD&C Yellow No. 6	*USP*	*着色料*

【０２０４】

食品組成物

アミノ酸実体を含む組成物（例えば、活性部分）は、例えば、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される食品組成物として製剤化され、使用され得る。このような実施形態において、原料及び最終生成物は、食品の基準を満たすべきである。

【０２０５】

本明細書に開示される態様及び実施形態のいずれかの組成物は、例えば、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される食品組成物として使用するためのものであり得る。ある実施形態において、食品組成物は、組成物を対象に投与することを含む方法において使用するためのものである。組成物は、炎症を改善又は軽減する目的のために食品組成物において使用するためのものであり得る。

【０２０６】

ある実施形態において、食品組成物は、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される。ある実施形態において、組成物は、本明細書に記載される組成物を含む、栄養補給食品、食品製剤、機能性食品、医療食、食品、又は飲料の形態である。ある実施形態において、（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象における）炎症の管理に使用するための、本明細書に記載される組成物を含む、栄養補給食品、食品製剤、機能性食品、医療食、食品、又は飲料。

【０２０７】

本開示は、炎症を改善する方法であって、有効量の本明細書に記載される食品組成物を対象に投与することを含む方法を特徴とする。

【０２０８】

本開示は、炎症を有する対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）に栄養補給又は栄養補助を提供する方法であって、有効量の本明細書に記載される組成物を対象に投与することを含む方法を特徴とする。

【０２０９】

本開示は、炎症（例えば、炎症状態又は炎症性疾患）の管理を助ける栄養補給又は栄養補助を提供する方法であって、有効量の本明細書に記載される組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法を特徴とする。

【０２１０】

ある実施形態において、対象は、炎症状態又は炎症性疾患であると診断されているか又は診断された。他の実施形態において、対象は、炎症状態又は炎症性疾患を有さない。

【０２１１】

さらに、組成物は、対象（例えば、炎症を有さない対象）の食事の管理の方法に使用さ

れ得る。
【０２１２】
ある実施形態において、対象は、消化管の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、肺の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、皮膚の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、心血管系の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、神経系の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、腎臓の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、膵臓の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、関節の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、眼の炎症状態又は炎症性疾患を有する。ある実施形態において、対象は、内分泌系の炎症状態又は炎症性疾患を有する。
【０２１３】
バイオマーカー
本明細書に開示される方法のいずれかは、本明細書に記載される本発明の組成物を、炎症を有する対象（例えば、炎症状態又は炎症性疾患を有する対象）に投与することの有効性を評価又は監視することを含み得る。本方法は、値が治療の有効性の指標であるように、組成物に有効性の値を取得することを含む。
【０２１４】
ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＣ－反応性タンパクを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＩＬ－１βを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＩＬ－２を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＭＣＰ－１を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＭＩＰ－１を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＮＦ－ｋＢを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＴＮＦαを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＡＬＴを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのＡＳＴを示す。
【０２１５】
ある実施形態において、対象は、例えば、炎症を有さない健常な対象と比べて、減少したレベルのＩＬ－１０を示す。
【０２１６】
ある実施形態において、対象への本明細書に記載される組成物（例えば、活性部分）の投与は、炎症性サイトカイン（例えば、ＴＮＦα、ＩＬ－１、ＩＬ－６、又はＩＦＮγの１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て））のレベル又は活性を低下させる。ある実施形態において、対象への本明細書に記載される組成物の投与は、炎症性メディエータ（例えば、ＮＦ－ｋＢ）のレベル又は活性を低下させる。ある実施形態において、対象への本明細書に記載される組成物の投与は、抗炎症性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１０、ＩＬ－４、ＩＬ－１３、及びＩＬ－５の１つ、２つ、３つ、又はそれ以上（例えば、全て））のレベル又は活性を増加させる。
【０２１７】
ある実施形態において、対象への本明細書に記載される投与計画における組成物の投与は、以下：（ａ）Ｃ－反応性タンパク；（ｂ）ＩＬ－１β；（ｃ）ＩＬ－２；（ｄ）ＩＬ－１０；（ｅ）ＭＣＰ－１；（ｆ）ＭＩＰ－１；（ｇ）ＮＦ－ｋＢ；（ｈ）ＴＮＦα；（ｉ）ＩＬ－６；（ｊ）ＩＰ－１０；（ｋ）ＭＣＰ－１；（ｌ）ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）；（ｍ）ＩＬ－８；又は（ｎ）ＹＫＬ４０のうちの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、又はそれ以上（例えば、全て）のレベル又は活性を低下させる。

【０２１８】
ある実施形態において、対象への本明細書に記載される投与計画における組成物の投与は、以下：（ａ）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）；（ｂ）アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）の一方又は両方のレベル又は活性を低下させる。
【０２１９】
ある実施形態において、対象への本明細書に記載される組成物の投与は、抗炎症性ケモカイン（例えば、ＣＣＬ１８）のレベル又は活性を増加させる。
【０２２０】
評価（例えば、スクリーニング）の方法
別の態様において、本明細書に記載される組成物を評価するための方法又はアッセイが、本明細書に開示される。本方法は、（ａ）例えば、培養物中で膜（例えば、透過性膜、例えば、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ）によって隔てられる１つ又は複数の肝細胞型（例えば、肝細胞、肝星細胞、及びマクロファージの三種共培養における、例えば、肝細胞、肝星細胞、又はマクロファージの１つ、２つ、又は３つ）（例えば、肝星細胞及びマクロファージの一方又は両方と膜によって隔てられる肝細胞）を、実施例１１において記載される条件下で、組成物と接触させること；及び（ｂ）炎症マーカー、例えば、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＭＣＰ－１、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）、ＩＬ－８、又はＹＫＬ４０の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを検出することを含む。ある実施形態において、炎症マーカー（例えば、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＭＣＰ－１、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）、ＩＬ－８、又はＹＫＬ４０の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て））のレベルの変化（例えば、低下）は、組成物が、炎症を軽減又は治療するのに好適であることを示す。ある実施形態において、組成物は、炎症マーカー（例えば、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＭＣＰ－１、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）、ＩＬ－８、又はＹＫＬ４０の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て））のレベルの低下、例えば、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、又はそれ以上の低下をもたらし、例えば、低下は、組成物が、炎症を軽減又は治療するのに好適であることを示す。特定の実施形態において、組成物は、以下の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て）の低下をもたらす：
（ｖｉｉ）ＩＬ－６のレベル（例えば、少なくとも５０％、６０％、７０％、又は８０％のＩＬ－６のレベルの低下）；
（ｖｉｉｉ）ＩＰ－１０のレベル（例えば、少なくとも３５％、４０％、４５％、又は５０％のＩＰ－１０のレベルの低下）；
（ｉｘ）ＭＣＰ－１のレベル（例えば、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、又は９０％のＭＣＰ－１のレベルの低下）；
（ｘ）ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）のレベル（例えば、少なくとも１５％、２０％、２５％、又は３０％のＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）のレベルの低下）；
（ｘｉ）ＩＬ－８のレベル（例えば、少なくとも５％、１０％、１５％、又は２０％のＩＬ－８のレベルの低下）；又は
（ｘｉｉ）ＹＫＬ４０のレベル（例えば、少なくとも７０％、８０％、９０％、又は９５％のＹＫＬ４０のレベルの低下）。
【０２２１】
ある実施形態において、１つ又は複数の肝細胞型（例えば、肝細胞、肝星細胞、及びマクロファージ）、例えば、約１０：２：１の肝細胞対マクロファージ対肝星細胞の比率（例えば、膜（例えば、透過性膜、例えば、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ）によって隔てられる肝細胞対肝星細胞対マクロファージの約１０：２：１の比率）で、例えば、培養物中の膜（例えば、透過性膜、例えば、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ）によって隔てられる肝細胞型（例えば、肝星細胞又はマクロファージの一方又は両方と膜によって隔てられる肝細胞）が、共培養物中に存在する。
【０２２２】
ある実施形態において、検出工程は、試料、例えば、培養試料、例えば、実施例１１に

おいて記載されるトランスウェルプレートからの培養試料を取得すること、及び炎症マーカー（例えば、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＭＣＰ－１、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）、ＩＬ－８、又はＹＫＬ４０の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又はそれ以上（例えば、全て））のレベルを測定することを含む。

【実施例】

【０２２３】

以下の実施例が、本発明の理解を助けるために記載されるが、決して本発明の範囲を限定することは意図されず、限定するように解釈されるべきではない。

【０２２４】

実施例１：治療的アミノ酸組成物Ａ－１処理が、化学的に誘導された炎症の動物モデルにおいて肝炎症を改善する。

アミノ酸組成物Ａ－１を、化学的に誘導された肝炎症のモデルにおいて肝炎症に作用するその能力について試験した。実験的肝炎症の一般的に使用されるモデルは、四塩化炭素；CCl_4を用いて、マウスにおいて化学的に誘導される（Ｇｉｄｅｏｎ Ｓｍｉｔｈ，Ａｎｉｍａｌ Ｍｏｄｅｌｓ ｏｆ Ｃｕｔａｎｅｏｕｓ ａｎｄ Ｈｅｐａｔｉｃ Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ；Ｐｒｏｇｒｅｓｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｖｏｌ．１０５，ｐｐ．３７１－４０８）。CCl_4は、処理の４週間後に炎症、肝細胞損傷、壊死及び炎症、並びに８週間後に肝硬変を引き起こす。四塩化炭素（CCl_4）によってマウスにおいて誘導される肝炎症は、炎症、再生及び線維形成を含む、ヒト肝炎症の重要な特性に類似している。

【０２２５】

７～８週齢の雄ＢＡＬＢ／ｃマウスをこの試験に使用した。動物を、１つのケージにつき４匹で飼育し、標準的な１２時間の明サイクルに保持し、水及び標準的なマウスの食事を自由に与えた。食品及び水は、自由に摂取可能であった。

【０２２６】

動物に、典型的に４週間にわたって週に３日、腹腔内（ＩＰ）に５％のCCl_4又はビヒクルを投与した。ＣＣｌ４を毎週配合した。２３ｍｇ／ｍｌ、７６ｍｇ／ｍｌ又は１５３ｍｇ／ｍｌで、１０ｍｌ／ｋｇのアミノ酸組成物Ａ－１を、１日２回、強制経口投与によって投与した。動物を、週２回秤量し、血液を、血清のために週１回、後眼窩洞（ｒｅｔｒｏ－ｏｒｂｉｔａｌ ｓｉｎｕｓ）を介して採取した。４週間後、血液を、血清単離のために採取し、マウスを、頸椎脱臼によって安楽死させた。肝臓の２つの葉を取り出し－左葉を、組織病理学のための１０％のホルマリンを含む管に入れ、右葉を秤量し、２．３ｍｍのジルコニアビーズ及び１：１００プロテアーゼ阻害剤（Ｓｉｇｍａ Ａｌｄｒｉｃｈ、＃Ｐ８３４０）の２×体積を含むビーズ破砕機（ｂｅａｄｂｅａｔｅｒ）管に入れた。組織試料を、ビーズ破砕機において２分間均質化し、その直後に、４℃で１５分間にわたって３，０００ｒｐｍで沈降させた。血清を、２及び４週目にＡＬＴ／ＡＳＴレベルについて分析した。均質化された肝臓試料を、肝炎症の形成を確認するために、ヒドロキシプロリン（Ｈｙｐ）含量についてさらに評価した。

【０２２７】

ヒドロキシプロリン（４週目）

ヒドロキシプロリン（４－ヒドロキシプロリン、Ｈｙｐ）は、一般的な非タンパク構成アミノ酸であり、炎症の指標である、存在するコラーゲンの量の間接的な指標として使用される。CCl_4で処理された動物における肝臓Ｈｙｐ含量レベルは、ビヒクルで処理された動物より有意に高かった。データは、平均±標準偏差（ｓｔｄｅｖ）であり；「組成物Ａ－１」：アミノ酸組成物Ａ－１であり；対応のないＴ検定によってビヒクル対照と比較される＊ｐ＜０．０５。生データが、表９に示される。

【０２２８】

【表９】

表9. 肝臓Hyp含量レベルの結果

	ヒドロキシプロリン				
	ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
平均	**0.160**	**0.263***	**0.280**	**0.228**	**0.201**
標準偏差	0.067	0.107	0.104	0.124	0.057

【０２２９】

ＡＳＴレベル及びＡＬＴレベル

アスパラギン酸トランスアミナーゼ（ＡＳＴ）及びアラニントランスアミナーゼ（ＡＬＴ）は、肝臓の健康の一般的に測定される臨床的バイオマーカーである。ＡＳＴ及びＡＬＴレベルの両方が、試験の期間全体にわたって、CCl_4を投与された動物において有意に上昇され、これは、肝障害が起こったことを示唆している。データは、平均±標準偏差（ｓｔｄｅｖ）であり；「組成物Ａ－１」：アミノ酸組成物Ａ－１であり；ｐ値が、片側Ｔ検定によってビヒクル／ＣＣｌ４対照と比較される；ｎ．ｓ．有意差なし。生データが、表１０及び１１に示される。

【０２３０】

【表１０】

表10. ALTレベルの結果

	肝臓 ALT				
	ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
平均	**1608.4**	**4153.4**	**3694.9**	**3023.4**	**2992.7**
標準偏差	1099.5	1427.4	2106.4	1343.8	1674.2
			有意差なし	p<0.05	p=0.0371

【０２３１】

【表１１】

表11. ASTレベルの結果

	肝臓 AST				
	ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
平均	**155.8**	**933.6**	**879.2**	**554.7**	**680.4**
標準偏差	69.7	237.0	527.3	336.6	431.2
			有意差なし	p<0.01	p=0.0394

【０２３２】

概要

アミノ酸組成物Ａ－１による処理が、コラーゲン産生のマーカーであるヒドロキシプロリンの低下したレベルによって示される、化学的に誘導される炎症の軽減、及び肝臓酵素ＡＬＴ及びＡＳＴのレベルの低下によって示される、肝障害の臨床的バイオマーカーの改善をもたらした（表１２～１４）。

【０２３３】
【表１２】

表12. 肝臓Hyp含量レベルの結果: 生データ

ヒドロキシプロリン				
ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
0.122	0.241	0.246154	0.190323	0.248649
0.277	0.318	0.529578	0.174684	0.24
0.152	0.298	0.234783	0.226549	0.18
0.108	0.493	0.216393	0.169128	0.174233
0.123	0.2	0.294737	0.175887	0.133333
0.108	0.196	0.22439	0.107692	0.135758
0.232	0.183	0.305512	0.212389	0.210219
	0.177	0.393064	0.316191	0.150265
		0.272897	0.612174	0.231293
		0.192683	0.18018	0.308824
		0.164341	0.218803	
			0.203279	
			0.17971	

【０２３４】
【表１３】

表13. ALTレベルの結果: 生データ

肝臓 ALT				
ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
685.0737	4963.448	1299.647	4325.237	2611.524
2623.343	578.7053	5069.816	4325.237	2150.594
1606.933	5235.278	5566.202	2304.237	1866.945
3805.214	2115.138	5188.003	1051.454	696.8924
779.6234	4384.331	3828.851	1488.746	1725.121
637.7988	4207.05	330.5123	4313.419	3722.483
1417.834	5471.652	649.6176	4112.501	5211.641
1311.466	5105.273	1441.471	2859.717	4797.986
	3462.471	5495.29	2564.249	1216.916
	4147.957	4892.536	5318.009	1796.033
	5436.196	5329.828	2836.079	5069.816
	3852.489	5247.097	2457.881	5046.179
	5034.36		1346.922	

【０２３５】

【表１４】

表14. ASTレベルの結果: 生データ

肝臓 AST				
ビヒクル/Sham	ビヒクル/CCL4	組成物 A-1、23mg/ml	組成物 A-1、76mg/ml	組成物 A-1、153mg/ml
95.37346	908.3081	315.7015	703.1751	508.1721
57.38585	1050.129	928.5682	720.9027	335.9616
239.7263	877.918	1389.484	371.4167	379.0142
194.1412	660.1224	1047.596	262.5189	211.8688
123.231	599.3423	589.2123	267.5839	510.7046
102.971	675.3175	181.4787	819.6704	885.5156
237.1938	1470.525	285.3115	629.7324	1214.742
196.6737	1070.389	305.5715	414.4693	941.2307
	733.5651	1690.853	505.6396	252.3889
	976.6858	1100.779	1485.72	297.974
	1088.116	1232.469	356.2217	1437.602
	918.4382	1483.187	406.8718	1189.416
	1108.376		267.5839	

【０２３６】

実施例２：前臨床動物モデルにおけるアミノ酸組成物Ａ－１によるＮＡＦＬＤ、ＮＡＳＨ、及びＨＣＣの治療的処理

アミノ酸組成物Ａ－１及びオベチコール酸（６α－エチル－ケノデオキシコール酸；「ＯＣＡ」）を、ＳＴＡＭ（商標）モデルにおけるＮＡＳＨを治療するそれらの能力について試験した（Ｓｔｅｌｉｃ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ＆ Ｃｏ.，Ｔｏｋｙｏ，Ｊａｐａｎ；Ｓａｉｔｏ Ｋ.ｅｔ ａｌ.，２０１５ Ｓｃｉ Ｒｅｐ ５：１２４６６）。標準食を与えられた正常なＣ５７ＢＬ／６マウス及びビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウスの２つのさらなる群が、対照として含まれていた。処理又はビヒクルを与えられる全ての動物を、６週間から開始して９週齢まで処理した。化合物を、１０ｍｌ／ｋｇの用量体積で、強制経口投与によって投与した。アミノ酸組成物Ａ－１を、１５００ｍｇ／ｋｇの用量で１日２回投与し、ＯＣＡを、３０ｍｇ／ｋｇの用量で１日１回投与した。

【０２３７】

ＳＴＡＭ（商標）は、ＳＭＣ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ.によって開発された、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）及び肝細胞癌（ＨＣＣ）のモデルであり、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを用いた薬品及び食事介入の組合せによって作成されている（Ｓａｉｔｏ Ｋ.ｅｔ ａｌ.，２０１５ Ｓｃｉ Ｒｅｐ ５：１２４６６）。マウスは、出生時に低用量のストレプトゾトシンで処理され、４週間から開始して高脂肪食を与えられる。脂肪肝のエビデンスが、５週間までに存在し、続いて、７週間までにＮＡＳＨ及び９週間までに線維症のエビデンスが存在する。

【０２３８】

出生の２日後の２００μｇのストレプトゾトシン（ＳＴＺ、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，ＵＳＡ）溶液の単回皮下注射、及び４週齢後の高脂肪食（ＨＦＤ、５７ｋｃａｌ％の脂肪、Ｃａｔ# ＨＦＤ３２、日本クレア（ＣＬＥＡ Ｊａｐａｎ）、日本）の供給によって、ＮＡＳＨを、５３匹の雄マウスにおいて誘導した。

【０２３９】

アミノ酸組成物Ａ－１、ＯＣＡ及びビヒクル（後述される）を、１０ｍＬ／ｋｇの体積

で経口経路によって投与した。アミノ酸組成物Ａ－１を、脱イオン水中で１５０ｍｇ／ｍｌ（１０倍）になるまで可溶化した。ＯＣＡ（Ａｄｖａｎｃｅｄ ＣｈｅｍＢｌｏｃｋｓ Ｉｎｃ．）を、水中０．５％のメチルセルロース中で、３ｍｇ／ｍｌ（１０倍）になるまで再懸濁させた。アミノ酸組成物Ａ－１を、１日２回（９ａｍ及び７ｐｍ）、１５００ｍｇ／ｋｇの用量で投与した。ＯＣＡを、１日１回（９ａｍ）、３０ｍｇ／ｋｇの用量で投与した。

【０２４０】

群２（ビヒクル）、３（アミノ酸組成物Ａ－１）及び４（ＯＣＡ）のマウスからの肝臓試料を、以下のアッセイに使用した。ＨＥ染色のため、ブアン液中で予め固定され、リリー・マイヤーヘマトキシリン液（武藤化学株式会社（Ｍｕｔｏ Ｐｕｒｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ Ｃｏ．，Ｌｔｄ．）、日本）及びエオシン溶液（和光純薬工業（Ｗａｋｏ Ｐｕｒｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｓ））で染色された肝臓組織のパラフィンブロックから切片を切り取った。ＮＡＦＬＤ活動性スコア（ＮＡＳ）を、Ｋｌｅｉｎｅｒの基準（Ｋｌｅｉｎｅｒ Ｄ．Ｅ．ｅｔ ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ，２００５；４１：１３１３）にしたがって計算した。

【０２４１】

試験群

群１：ＳＴＺ：ＳＴＺを前投与された１０匹の新生マウスに、９週齢まで処理なしで通常の食事を自由に与えた。

群２：ビヒクル：１０匹のＮＡＳＨマウスに、６～９週齢で、１日２回（９ａｍ及び７ｐｍ）、１０ｍＬ／ｋｇの体積のビヒクル（１０％のリン酸緩衝生理食塩水、ｐＨ７．２）を経口投与した。

群３：アミノ酸組成物Ａ－１：１０匹のＮＡＳＨマウスに、６～９週齢で、１日２回（９ａｍ及び７ｐｍ）、１５００ｍｇ／ｋｇの用量のアミノ酸組成物Ａ－１を補充した潅注用水を経口投与した。

群４：ＯＣＡ：１０匹のＮＡＳＨマウスに、６～９週齢で、１日１回（９ａｍ）、３０ｍｇ／ｋｇの用量のＯＣＡを補充した０．５％のメチルセルロースを経口投与した。

群５：正常：１０匹の正常なマウスに、９週齢まで処理なしで通常の食事を自由に与えた。

群６：ＨＦＤ：１０匹の正常なマウスに、９週齢まで処理なしで高脂肪食を自由に与えた。

【０２４２】

組織学的結果：ＨＥ染色、ＮＡＦＬＤ活動性スコア及びα－平滑筋アクチン染色

非アルコール性脂肪肝疾患（ＮＡＦＬＤ）活動性スコアを、各動物からのＨ＆Ｅ染色された肝臓切片の組織学的分析及び等級付けによって評価した。このスコアは、脂肪症（０～３）、炎症（０～２）、及び肝細胞風船様腫大（０～２）の程度を等級付けする３つの個々のスコアの合計である。全ての組織を、Ｋｌｅｉｎｅｒらの採点基準（Ｋｌｅｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ．２００５；４１（６）：１３１３－２１）を用いて等級付けした。結果が、表３７に示される。データは、平均±標準偏差（ｓｔｄｅｖ）である。標準食を与えられた正常なＣ５７ＢＬ／６マウスは、０＋／－０の平均スコアを有していた。ビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウスは、４．７＋／－０．６７の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物Ａ－１処理マウスは、３．１＋／－０．７４の平均スコアを有していた。ＯＣＡ処理マウスは、２．９＋／－０．７４の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物Ａ－１及びＯＣＡの両方は、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、ＮＡＦＬＤ活動性スコアについてビヒクルと統計的に異なっていた（アミノ酸組成物Ａ－１　ｐ＝０．０００１、ＯＣＡ　ｐ＝０．０００１）。

【０２４３】

同様に、アミノ酸組成物Ａ－１処理マウスは、１．６＋／－０．５２のビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウスの平均肝細胞風船様腫大スコア、及び０．３＋／－０．４８のＯＣＡ処理マウスの平均肝細胞風船様腫大スコアと比較して、０．４＋／－０．５２の平均肝

細胞風船様腫大スコアを示した。アミノ酸組成物Ａ－１及びＯＣＡの両方は、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、肝細胞風船様腫大スコアについてビヒクルと統計的に異なっていた（アミノ酸組成物Ａ－１　ｐ＝０．０００１、ＯＣＡ　ｐ＝０．０００１）。生データが、表１５～１８に示される。

【０２４４】

【表１５】

表15. NAFLD活動性スコア

NAFLD 活動性スコア(NAS)				
条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0**	**4.7**	**3.1**	**2.9**
標準偏差	0	0.67	0.74	0.74

【０２４５】

【表１６】

表16. NAFLD活動性: 脂肪症スコア

	脂肪症			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0**	**1**	**0.9**	**0.8**
標準偏差	0	0.00	0.32	0.42

【０２４６】

【表１７】

表17. NAFLD活動性: 炎症スコア

	炎症			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0**	**2.1**	**1.8**	**1.8**
標準偏差	0	0.32	0.63	0.79

【０２４７】

【表１８】

表18. NAFLD活動性: 肝細胞風船様腫大スコア

	肝細胞風船様腫大			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0**	**1.6**	**0.4**	**0.3**
標準偏差	0	0.52	0.52	0.48

【０２４８】
線維症：シリウスレッド染色の結果
線維症を、各動物からの染色された肝臓切片からのシリウスレッド陽性染色細胞面積の分析によって評価した。画像を、線維症の指標として使用される陽性染色面積のパーセントを用いて定量化した。この分析の結果が、表４１に示される。データは、平均±標準偏差（ｓｔｄｅｖ）である。標準食を与えられた正常なＣ５７ＢＬ／６マウスは、０．２８６＋／－０．０９の平均陽性面積を有していた。ビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウスは、１．１＋／－０．２６の平均陽性面積を有していた。アミノ酸組成物Ａ－１処理マウスは、０．８２８＋／－０．３３の平均陽性面積を有していた。ＯＣＡ処理マウスは、０．７７６＋／－０．２５の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物Ａ－１及びＯＣＡは、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、ビヒクルと統計的に異なっていた（アミノ酸組成物Ａ－１　ｐ＝０．００４９４、ＯＣＡ　ｐ＜０．０１６）。生データが、表１９に示される。
【０２４９】
【表１９】

表19. 線維症 (平均陽性染色面積、シリウスレッド)

条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0.286**	**1.1**	**0.828**	**0.776**
標準偏差	0.09	0.26	0.33	0.25

【０２５０】
アミノ酸組成物Ａ－１による処理の後のＳＴＡＭマウスモデルにおけるＮＡＦＬＤ活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症の統計的に有意な改善（図１Ａ）と同様に、アミノ酸組成物Ａ－１による処理の後の高脂肪、高フルクトース及びコレステロール食（ＨＦＦＣ）マウスモデルにおいて、ＮＡＦＬＤ活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症の統計的に有意な改善が決定された（図１Ｂ）。
【０２５１】
α－平滑筋アクチン（α－ＳＭＡ）染色の結果
全てのマウスの肝臓切片を、活性化された肝星細胞を同定するために、マーカーα－平滑筋アクチン（αＳＭＡ）について染色した。画像を、星細胞活性化の指標として使用される陽性染色面積のパーセントを用いて定量化した。結果が、表２０に示される。データは、平均±標準偏差（ｓｔｄｅｖ）であり；ｐ値が、片側Ｔ検定によって、ビヒクル処理ＳＴＡＭマウス対照と比較される。
【０２５２】
標準食を与えられた正常なＣ５７ＢＬ／６マウスは、０．６８２＋／－０．２６の平均陽性面積を有していた。ビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウスは、２．１２８＋／－０．５０の平均陽性面積を有していた。アミノ酸組成物Ａ－１処理マウスは、１．６５７＋／－０．８４の平均陽性面積を有していた。ＯＣＡ処理マウスは、１．５６２＋／－０．３１の平均スコアを有していた。
【０２５３】

【表２０】

表20. 活性化肝星細胞 (平均陽性染色面積、α-平滑筋アクチン)

条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	**0.682**	**2.128**	**1.657**	**1.562**
標準偏差	0.26	0.50	0.84	0.31
			p=0.073	p<0.05

【０２５４】

概要

アミノ酸組成物Ａ－１による処理が、ＮＡＦＬＤ活動性スコア（ＮＡＳ）の有意な減少（平均ＮＡＳ：２．９＋／－０．７４のＯＣＡ処理マウス平均スコアと比較して、アミノ酸組成物Ａ－１について３．１＋／－０．７４対４．７＋／－０．６７のビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウス平均スコア）によって示されるように、ＯＣＡ（ＮＡＳＨの治療について、Ｉｎｔｅｒｃｅｐｔ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．によって現在臨床試験中である）によるファルネソイドＸ受容体（ＦＸＲ）阻害と同等のレベルまでＮＡＳＨ重症度を有意に低下させ、肝星細胞活性化（平均αＳＭＡ陽性染色面積：１．５６２＋／－０．３１のＯＣＡ処理マウス平均面積と比較して、アミノ酸組成物Ａ－１について１．６５７＋／－０．８４対２．１２８＋／－０．５０のビヒクル処理ＳＴＡＭ（商標）マウス平均面積）の下方制御によって示されるように、線維症の発生を有意に低下させた。

【０２５５】

【表２１】

表21. NAFLD活動性スコア: 生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	6	3	4
0	5	4	2
0	5	4	2
0	4	3	4
0	5	2	3
0	5	2	3
0	4	3	2
0	4	3	3
0	4	3	3
0	5	4	3

【０２５６】

【表２２】

表22. NAFLD活動性：脂肪症スコア：生データ

脂肪症			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	0	1
0	1	1	0
0	1	1	1
0	1	1	0
0	1	1	1
0	1	1	1

【０２５７】

【表２３】

表23. NAFLD活動性：炎症スコア：生データ

炎症			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	3	1	2
0	2	2	1
0	2	2	1
0	2	2	2
0	2	1	2
0	2	1	3
0	2	2	1
0	2	2	3
0	2	2	2
0	2	3	1

【０２５８】

【表２４】

表24. NAFLD活動性：肝細胞風船様腫大スコア：生データ

肝細胞風船様腫大			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸 組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	2	1	1
0	2	1	0
0	2	1	0
0	1	0	1
0	2	1	0
0	2	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	2	0	1

【０２５９】

【表２５】

表25. 線維症 (平均陽性染色面積、シリウスレッド)：生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	**アミノ酸 組成物 A-1** 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0.26	0.79	1.07	0.36
0.35	1.43	0.58	0.56
0.19	1.44	0.48	1.1
0.31	1.36	0.58	1.19
0.19	1.04	1.07	0.89
0.36	0.75	0.34	0.91
0.24	1.07	0.86	0.66
0.37	1.13	1.43	0.72
0.18	0.83	0.96	0.68
0.41	1.16	0.91	0.69

【０２６０】

【表２６】

表26. 活性化肝星細胞(平均陽性染色面積、α-平滑筋アクチン): 生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0.47	2.16	0.81	1.46
0.59	2.77	1.35	1.51
1.13	2.21	1.3	1.49
0.52	1.5	3.03	1.17
0.75	2.87	2.04	1.49
0.46	1.93	0.97	1.5
0.37	1.6	3.08	1.13
0.85	1.46	1.91	2.03
0.62	2.36	1.15	1.87
1.06	2.42	0.93	1.97

【０２６１】

実施例３：アミノ酸組成物による処理後の肝細胞炎症の軽減

肝細胞炎症に影響を与えるアミノ酸の能力を、ＮＦ－ｋＢルシフェラーゼレポーター系（Ｓｉｇｎｏｓｉｓ，Ｉｎｃ．）を安定的に発現するＨｅｐＧ２肝細胞癌細胞を用いて評価した。ＨｅｐＧ２細胞を、０．１％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（ＨＩ－ＦＢＳ、ＨｙＣｌｏｎｅ）及び０．２％のＰｒｉｍｏｃｉｎ（ＩｎＶｉｖｏＧｅｎ）を補充したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ、Ｃｏｒｎｉｎｇ）中で、９６ウェルマイクロプレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）中で、４．５ｅ４で、０日目に播種し、３７℃、５％のCO_2で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を、ＤＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）で１回洗浄し、Ｈｕｍａｎ Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ Ｄａｔａｂａｓｅ（Ｗｉｓｈａｒｔ ＤＳ，Ｔｚｕｒ Ｄ，Ｋｎｏｘ Ｃ，ｅｔ ａｌ．，ＨＭＤＢ：ｔｈｅ Ｈｕｍａｎ Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ Ｄａｔａｂａｓｅ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２００７ Ｊａｎ；３５（Ｄａｔａｂａｓｅ ｉｓｓｕｅ）：Ｄ５２１－６．１７２０２１６８）に公開されている値に基づいた血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を、２５ｍＭのグルコース、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム及び５０倍の所定のアミノ酸組成物（すなわち、ビヒクル、ＬＩＶＲＱ＋Ｎ－アセチルシステイン、ＬＩＶＲＱ、ＲＱ＋Ｎ－アセチルシステイン、Ｎ－アセチルシステイン単独、ＬＩＶ、又は個別に、ロイシン、イソロイシン、バリン、アルギニン、グルタミン、システイン）の用量曲線とともに含むアミノ酸不含ＤＭＥＭ（ＵＳ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）と交換した（表２７）。細胞を、３７℃、５％のCO_2で１２時間にわたって所定の培地中で前処理した。前処理の後、ＴＮＦα（Ｒ＆ＤＳｙｓｔｅｍｓ）又はビヒクルを、１００ｐＭの最終濃度になるように各ウェル中に添加し、細胞を、３７℃、５％のCO_2でさらに６時間にわたってこの刺激下でインキュベートした。１２時間のインキュベーションの後、細胞を、低温ＰＢＳ中で１回洗浄し、Ｐａｓｓｉｖｅ Ｌｙｓｉｓ Ｂｕｆｆｅｒを用いて溶解させ、ルシフェラーゼアッセイを、製造業者のプロトコル（Ｓｉｇｎｏｓｉｓ）にしたがって行った。ホタルルシフェラーゼ活性を、Ｂｉｏ－Ｔｅｋ ＳｙｎｅｒｇｙＨ４プレートリーダー及び照度計を用いて評価した（Ｓｉｔｃｈｅｒａｎ Ｒ＊，Ｃｏｍｂ ＷＣ，Ｃｏｇｓｗｅｌｌ ＰＣ，Ｂａｌｄｗｉｎ ＡＳ＊．Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ ｒｏｌｅ ｆｏｒ ｅｐｉｄｅｒｍａｌ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｉｎ ｇｌｕｔａｍａｔｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ｔｏ ＮＦ－ｋａｐｐａＢ．Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．（２００８）Ａｕｇ；２８（１６）：５０６１－７０．Ｅｐｕｂ

２００８　Ｊｕｎ　９）。

【０２６２】

ＴＮＦαで刺激されるＮＦ－ｋＢ活性は、１×血漿アミノ酸ベースライン培地と比べて、５０×ロイシン、イソロイシン、バリン、アルギニン、及びグルタミン中で細胞を処理することによって影響されなかった。５０×システイン中で細胞を前処理することは、ＴＮＦαで誘導されるＮＦ－ｋＢ活性の有意な鈍化をもたらした。単一のアミノ酸との組合せ処理は、ＮＦ－ｋＢレポーター活性に対する様々な影響を与えたが、重要なことには、全ての６つのアミノ酸を一緒にした組合せ（ＬＩＶＲＱＮＡＣ）が、肝細胞におけるＴＮＦαで誘導されるＮＦ－ｋＢ活性の最も有意な阻害をもたらした（表２７）。

【０２６３】

【表２７】

表27.

TNFα	アミノ酸 補充剤	NF-kB レポーター活性		
		平均	標準偏差	数値
100pM	ビヒクル (1× AA)	8865.50	333.05	2
100pM	LIVRQNAC	3960.50	678.12	2
100pM	LIVRQ	5685.00	1453.81	2
100pM	RQNAC	5618.00	926.31	2
100pM	NAC	6852.00	1023.89	2
100pM	LIV	5911.00	422.85	2
100pM	1x L	5811.00	134.35	2
100pM	50x L	6070.50	58.69	2
100pM	1x I	8129.50	713.47	2
100pM	50x I	8937.50	17.68	2
100pM	1x V	7255.50	557.91	2
100pM	50x V	5992.00	644.88	2
100pM	1x R	10170.50	140.71	2
100pM	50xR	9760.00	1083.29	2
100pM	1x Glu	8201.00	2091.62	2
100pM	50x Glu	7313.50	1054.30	2
100pM	1x Cys	9968.50	1614.33	2
100pM	50x Cys	6820.50	23.34	2

【０２６４】

実施例４：アミノ酸組成物による処理が、脂質代謝、炎症、及び線維症に影響を与えるこ

とによって、２匹のげっ歯類モデルにおけるＮＡＳＨ進行を改善する。

アミノ酸組成物は、ＮＡＳＨを安全且つ有効に治療するために疾患病状の複数の機構を同時に標的にするように製剤化される（表２８）。本明細書に記載されるように、アミノ酸組成物の有効性を、ＮＡＳＨの２匹の確立されたマウスモデルにおいて試験して、ＮＡＳＨ及び関連疾患に関連する兆候及び症状に対するアミノ酸組成物の影響を決定した。

【０２６５】

【表２８】

表28. アミノ酸組成物の例示的なアミノ酸成分。

アミノ酸	重量比	重量%	g/パケット	g用量#1	g用量#2
ロイシン	1	16.78	1.00 g	2 g	4 g
イソロイシン	0.5	8.39	0.50 g	1 g	2 g
バリン	0.5	8.39	0.50 g	1 g	2 g
アルギニンHCl	1.81	30.37	1.81 g	3.62 g	7.24 g
グルタミン	2	33.56	2.00 g	4 g	8 g
N-アセチルシステイン	0.15	2.52	0.15 g	0.3 g	0.6 g
総アミノ酸			5.96 g	~12 g	~24 g

【０２６６】

ＳＴＡＭ（商標）マウスは、ＳＭＣ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．によって開発された、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）及び肝細胞癌（ＨＣＣ）のモデルである。脂肪肝のエビデンスが、５週齢までに存在し、続いて、７週齢までにＮＡＳＨ、及び９週齢までに線維症のエビデンスが存在する。出生の２日後に低用量のストレプトゾトシンを投与し、４週齢から開始して高脂肪食（５７％ｋｃａｌの脂肪、ＨＦＤ３２、日本クレア（ＣＬＥＡ Ｊａｐａｎ，Ｉｎｃ．））を与えたＣ５７ＢＬ／６マウスにおいて、雄ＳＴＡＭマウスを作成した（全体が参照により本明細書に援用される；Ｓａｉｔｏ Ｋ．ｅｔ ａｌ．，２０１５ Ｓｃｉ Ｒｅｐ ５：１２４６６）。アミノ酸組成物を、６週齢から開始して３週間にわたって、１日２回、１．６ｍ／ｋｇの用量でＳＴＡＭマウスに投与した。ビヒクル処理ＳＴＡＭマウスの１つの群が、対照として含まれていた。非絶食マウスを、９週齢で安楽死させた。血漿及び肝臓試料を、さらなる分析のために採取した（図２）。

【０２６７】

ＦＡＴＺＯ（商標）マウスは、Ｃｒｏｗｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃによって開発された、肥満、メタボリック・シンドローム、及びＮＡＳＨの、近交系のポリジーンモデルである（全体が参照により本明細書に援用される；Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ＲＧ．Ｅｔ ａｌ．，２０１７ ＰＬｏＳ Ｏｎｅ）。雄ＦＡＴＺＯマウスに、６週齢から開始して、高脂肪、フルクトース、及びコレステロール（ＨＦＦＣ）食（４０％ｋｃａｌの脂肪、Ｄ１２０７９Ｂ、Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｄｉｅｔｓ，Ｉｎｃ．及び飲料水中５％のフルクトース）を与えて、ＮＡＦＬＤ及びＮＡＳＨを誘導した。脂肪肝のエビデンスが、誘導の４週間後までに存在し、続いて、誘導の１６週間後までにＮＡＳＨ及び誘導の２０週間後までに線維症のエビデンスが存在する。設計されたアミノ酸組成物を、誘導の１６週間後から開始して、４週間にわたって１日２回、３．０ｇ／ｋｇの用量で投与した（図２）。ビヒクル処理ＦＡＴＺＯマウスの１つの群が、対照として含まれていた。非絶食マウスを、誘導の２０週間後の時点で安楽死させた。血漿及び肝臓試料を、さらなる分析のために採取した。

【０２６８】
Ａｐｅｒｉｏ ＳｃａｎＳｃｏｐｅ ＣＳホールスライドデジタルイメージングシステム（Ｖｉｓｔａ，ＣＡ）を、Ｈ＆Ｅ、Ｐｉｃｒｉｃシリウスレッド、ＳＭＡ、Ｆ４／８０におけるイメージングに使用した。画像を、ホールスライドから獲得した。
【０２６９】
肝臓を、ＮＡＳＨ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｎｅｔｗｏｒｋ（ＣＲＮ）肝臓組織学的採点システムを用いて、サンプルＩＤを知らされていない獣医病理学者によって評価した（全体が参照により本明細書に援用される、Ｋｌｅｉｎｅｒ ＤＥ，ｅｔ ａｌ．，２０１５）。ＮＡＳＨ ＣＲＮ Ｓｃｏｒｉｎｇ Ｓｙｓｔｅｍは、脂肪症、小葉炎症、肝細胞風船様腫大、変性、及び線維症の進行を評価する。各事例の肝臓の１つの断面を、ＮＡＳＨスコアシステムを用いて分析した。脂肪症、小葉炎症、及び線維症の進行を、０～３の尺度で評価した。肝細胞風船様変性を、０～２の尺度で評価した。
【０２７０】
Ａｐｅｒｉｏ Ａｕｔｏｍａｔｉｃ Ｉｍａｇｅ ＱｕａｎｔｉｔａｔｉｏｎのＰｏｓｉｔｉｖｅ Ｐｉｘｅｌ Ｃｏｕｎｔアルゴリズムを用いて、走査されたスライド画像中に存在する特定の染色のパーセンテージを定量化した。色の範囲（色相及び彩度の範囲）並びに３つの輝度範囲（弱、ポジティブ（ｐｏｓｉｔｉｖｅ）、及び強）をマスクし、評価した。アルゴリズムは、３つのさらなる量：平均輝度、強／総数の比率、及び弱いポジティブピクセルの平均輝度とともに、各輝度範囲における数及び輝度の総和を計数した。
【０２７１】
特定のポジティブピクセルアルゴリズムを、シリウスレッド及びオイルレッドＯ肝臓切片をイメージングするのに使用した。ポジティブピクセルアルゴリズムは、オレンジ色と青色を区別するように調節された。通常の「色相値」（０．１～０．９６）及び「彩度」（０．０４～０．２９）からの変更が、シリウスレッド評価のためになされた。血管系及び人工物は、分析から除外された。
【０２７２】
肝臓総脂質抽出物を、Ｆｏｌｃｈの方法によって得た（全体が参照により本明細書に援用される；Ｆｏｌｃｈ Ｊ．ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．１９５７；２２６：４９７）。肝臓試料を、クロロホルム－メタノール（２：１、ｖ／ｖ）中で均質化し、室温で一晩インキュベートした。クロロホルム－メタノール－水（８：４：３、ｖ／ｖ／ｖ）での洗浄の後、抽出物を、蒸発乾固させ、イソプロパノールに溶解させた。肝臓トリグリセリド及びコレステロール含量を、それぞれトリグリセリドＥ－試験及びコレステロールＥ－試験によって測定した。
【０２７３】
肝臓ＲＮＡ試料を、Ｉｌｌｕｍｉｎａ ＴｒｕＳｅｑ Ｓｔｒａｎｄｅｄ ｍＲＮＡ試料調製キット（Ｉｌｌｕｍｉｎａ ＃ ＲＳ－１２２－２１０３）を用いてｃＤＮＡライブラリーに変換した。トランスクリプトームを、Ｑ２ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ（Ｍｏｒｒｉｓｖｉｌｌｅ，ＮＣ）において分析した。ＲＮＡ Ｓｅｑデータを正規化し、Ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ Ｐａｔｈｗａｙ Ａｎａｌｙｓｉｓ（ＱＩＡＧＥＮ Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ）を用いて分析した。ヒトＮＡＦＬＤに変換可能であるため、経路レベルでのマウス肝臓遺伝子発現に焦点を合わせた（全体が参照により本明細書に援用される、Ｔｅｕｆｅｌ Ａ，ｅｔ ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，２０１６）。
【０２７４】
キャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析法（ＣＥ－ＴＯＦＭＳ）及びＬＣ－ＴＯＦＭＳプラットフォームの両方に基づいた代謝プロファイルを、ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ（Ｈｕｍａｎ Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）（山形、日本）において行った。試料中の代謝産物を、移動時間及びｍ／ｚ比を認証標準と比較することによって同定し、それらのピーク面積を認証標準のものと比較することによって定量化した。
【０２７５】

肝臓におけるＩＬ－１ｂ、ＭＣＰ－１、及びＭＩＰ－１タンパク質のレベルを、多重ＥＬＩＳＡ Ａｓｓａｙ（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍａｒｙｌａｎｄ）を用いて定量化した。

【０２７６】

アミノ酸組成物は、ＳＴＡＭ及びＦＡＴＺＯマウスの両方において肝細胞風船様腫大及び線維症を改善する。

アミノ酸組成物による処理は、ＳＴＡＭ及びＦＡＴＺＯマウスの両方においてＮＡＦＬＤ活動性スコア（ＮＡＳ）を有意に低下させた（図３Ａ）。アミノ酸組成物による処理はまた、ＳＴＡＭマウスにおいて肝細胞風船様腫大を有意に軽減した（図３Ｂ）。脂肪症及び炎症のスコアは、組織学的指標によれば、アミノ酸組成物によるＳＴＡＭマウスの処理によって変化されなかった。シリウスレッド陽性の、線維症領域は、ＳＴＡＭマウスをアミノ酸組成物で処理することによって有意に低下された一方、オイルレッドＯ領域は、ＳＴＡＭマウスをアミノ酸組成物で処理することによって変化されなかった（図３Ｃ）。肝臓トリグリセリド及びコレステロールレベルは変化されなかった。

【０２７７】

アミノ酸組成物による処理はまた、ＦＡＴＺＯマウスにおいて肝細胞風船様腫大を有意に軽減した（図３Ｄ）。脂肪症及び炎症並びに肝臓トリグリセリド及びコレステロールレベルのスコアは、アミノ酸組成物処理で処理されたＦＡＴＺＯマウスにおいて変化されなかった。シリウスレッド陽性の、線維症領域は、アミノ酸組成物によるＦＡＴＺＯマウスの処理によって有意に低下された一方、オイルレッドＯ領域は、アミノ酸組成物処理によるＦＡＴＺＯマウスの処理によって変化されなかった（図３Ｅ）。

【０２７８】

アミノ酸組成物による処理によって影響される肝臓中の差次的遺伝子発現パターンは、Ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ Ｐａｔｈｗａｙ Ａｎａｌｙｓｉｓによって開発された上流レギュレータシステム生物学知識ベースフレームワーク（ｕｐｓｔｒｅａｍ ｒｅｇｕｌａｔｏｒ ｓｙｓｔｅｍｓ ｂｉｏｌｏｇｙ ｋｎｏｗｌｅｄｇｅｂａｓｅ ｆｒａｍｅｗｏｒｋ）の文脈において解釈された。計算されたｚスコアは、遺伝子発現パターンが、上流レギュレータとしてペルオキシソーム脂肪酸酸化をコードする、ＡＣＯＸ１の活性化と一致することを示した（図４及び表２９）。

【０２７９】

【表２９】

表 29. 対照と比較した、アミノ酸組成物(処理)による STAM マウスの処理の後の、ACOX1 経路に関連する遺伝子発現についての P 値及び倍率変化。

遺伝子	IPA_上流_レギュレータ	ACOX1_経路	IPA_遺伝子_名	対照倍率変化	対照 p 値	処理倍率変化	処理 p 値
Akr1c6	ACOX1	ACOX1	AKR1C4	-1.68	1.88E-06	1.207	8.606E-02
C9	ACOX1	ACOX1		-3.10	7.81E-07	1.370	1.678E-02
Ces3a	ACOX1	ACOX1		-2.10	2.69E-06	1.379	3.900E-02
Ces3b	ACOX1	ACOX1		-3.16	1.05E-07	1.476	8.274E-02
Cyp2c50	ACOX1	ACOX1	Cyp2c54	-1.72	1.24E-04	1.243	6.999E-02
Cyp4a12a	ACOX1	ACOX1		-1.59	4.60E-03	1.293	8.589E-02
Cyp7b1	ACOX1	ACOX1		-4.45	4.29E-04	1.408	7.877E-02
Egfr	NFKB;ACOX1	ACOX1		-1.98	1.31E-04	1.348	1.187E-02
Gstp1	ACOX1	ACOX1		-2.31	2.56E-06	1.281	2.924E-02
Mup1	ACOX1	ACOX1		-7.69	1.47E-03	1.781	7.683E-02
Mup11	ACOX1	ACOX1		-2.47	9.01E-03	1.703	5.779E-02
Mup14	ACOX1	ACOX1		-2.05	1.27E-02	1.395	4.890E-02
Mup16	ACOX1	ACOX1		-6.27	4.38E-03	1.465	7.558E-02
Mup6	ACOX1	ACOX1		-1.73	2.27E-02	1.330	5.784E-02
Selenbp2	TGFB;IL10;ACOX1	ACOX1	Selenbp1	-15.77	3.73E-05	3.015	2.916E-02
Serpina1c	TGFB;ACOX1	ACOX1		-2.25	7.22E-09	1.290	5.612E-02
Serpina1e	TGFB;ACOX1	ACOX1		-43.20	3.93E-08	2.361	1.852E-02
Slc4a4	ACOX1	ACOX1		1.55	7.00E-06	-1.209	4.682E-03
Trib3	IL2;NFKB;ACOX1	ACOX1		2.40	3.14E-04	-1.472	1.987E-02

【０２８０】

アミノ酸組成物は、炎症経路を抑える。

炎症は、ＮＡＳＨの「セカンドヒット（ｓｅｃｏｎｄ－ｈｉｔ）」である。アミノ酸組成物による処理の結果としての肝臓中の差次的遺伝子発現パターンにより、抗炎症性ＩＬ－１０の上流のレギュレータ活性化（図５Ａ）及び炎症性ＮＦ－ｋＢの阻害（図５Ｂ及び表３０）、インターフェロン、ＩＬ－１ｂ、及びＩＬ－２（図５Ｃ及び表３０）に関連するＩＰＡ分析内のｚスコアが得られた。タンパク質レベルにおいて、アミノ酸組成物によ

る処理は、それぞれＣ－Ｃケモカイン受容体２型（ＣＣＲ２）及び５型（ＣＣＲ５）のリガンドである肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１を有意に下方制御した（図６）。したがって、アミノ酸組成物による処理は、抗炎症状態へと免疫系を抑制し、それにより、ＮＡＳＨの進行を抑え得る。

【０２８１】

【表３０】

表 30. 対照と比較した、アミノ酸組成物(処理)による STAM マウスの処理の後の、ACOX1 経路に関連する遺伝子発現についての P 値及び倍率変化。

遺伝子	IPA 上流レギュレータ	IPA 遺伝子名	IL10_経路	IL1b_経路	IL2 経路	NFKB_経路	TGFB_経路	対照倍率変化	対照 p 値	処理倍率変化	処理 p 値
Abcb1a	NFKB; IL10		IL10			NFKB		3.02	1.55E-06	-1.239	1.047E-01
Abcb1b	NFKB; IL10		IL10			NFKB		-2.24	4.90E-03	1.272	9.745E-02
Acta1	TGFB						TGFB	7.96	5.87E-03	-1.849	1.044E-01
Adora1	TGFB						TGFB	1.94	1.99E-05	-1.222	3.262E-02
AK007436	NFKB	ADAMTS9				NFKB		2.32	6.38E-03	-1.788	6.451E-02
AK043676	IL1b	PFKP		IL1b				1.68	3.12E-03	-1.462	1.586E-02

【０２８２】

【表３１】

AK154184	IL1b; TGFB	CYBA		IL1b			TGFB	1.99	1.02E-03	-1.222	9.247E-02
AK158038	IL2	NAV1			IL2			1.62	2.63E-02	-1.659	1.587E-02
Atf5	IL1b; IL2			IL1b	IL2			1.71	3.00E-04	-1.223	9.622E-02
Bcl2a1d	IL1b; IL2; NFKB			IL1b	IL2	NFKB		4.00	1.74E-04	-1.733	3.064E-02
Capn5	IL2				IL2			1.51	2.05E-05	-1.235	5.908E-03
Ccr1	IL1b;IL2;TGFB			IL1b	IL2		TGFB	2.82	1.28E-03	-1.352	7.496E-02
Cd274	IL1b;IL2;NFKB			IL1b	IL2	NFKB		2.37	1.71E-07	-1.282	1.506E-02
Cd83	IL1b;IL2;NFKB;TGFB			IL1b	IL2	NFKB	TGFB	2.41	5.36E-07	-1.434	6.661E-03
Chst11	TGFB						TGFB	2.91	7.87E-06	-1.308	1.881E-02
Clec2i	TGFB						TGFB	1.80	1.01E-03	-1.226	5.963E-02
Egfr	NFKB					NFKB		-1.98	1.31E-04	1.348	1.187E-02
Entpd1	IL2				IL2			1.87	1.84E-04	-1.218	8.413E-02
Fgf21	TGFB						TGFB	49.56	1.03E-03	-1.478	4.472E-02
Gabrd	TGFB						TGFB	5.82	1.48E-04	-1.511	5.978E-02
Gbp4	IL1b;IL10	Gbp6	IL10	IL1b				1.60	1.01E-03	-1.234	5.234E-02
Gbp5	IL10		IL10					1.81	7.82E-05	-1.217	6.120E-02
Gm8909	IL1b;NFKB;IL10	HLA-A	IL10	IL1b		NFKB		4.03	8.19E-04	-1.943	2.569E-02
Gpr85	TGFB						TGFB	2.46	1.77E-02	-1.685	6.628E-02
Gucy2c	TGFB						TGFB	2.35	8.97E-03	-1.395	1.080E-01
Hk2	IL1b;IL2			IL1b	IL2			2.00	2.01E-04	-1.301	9.834E-02
Hsd17b6	TGFB						TGFB	2.89	4.20E-05	-1.244	1.036E-02
Il1rn	IL1b;NFKB;TGFB;IL10		IL10	IL1b		NFKB	TGFB	4.43	5.94E-09	-1.273	1.951E-02
Lama3	IL1b			IL1b				-3.09	1.90E-05	1.650	5.542E-02
Lck	IL2				IL2			1.92	8.87E-04	-1.246	3.027E-02
Lifr	IL1b;IL2;TGFB			IL1b	IL2		TGFB	-4.43	2.43E-05	1.406	2.099E-02
Msr1	TGFB						TGFB	1.58	1.13E-03	-1.226	5.836E-02
Mst1r	TGFB						TGFB	2.08	4.17E-03	-1.523	1.147E-02
Nlrp3	TGFB						TGFB	1.93	1.30E-03	-1.506	2.456E-02
P2ry14	TGFB						TGFB	3.29	4.67E-05	-1.268	4.039E-02
Pcsk1	IL1b			IL1b				2.07	9.00E-03	-2.070	8.150E-02
Pla2g4a	IL1b;TGFB			IL1b			TGFB	2.10	7.94E-05	-1.265	1.064E-01
Plb1	IL1b			IL1b				2.01	2.09E-02	-1.696	2.324E-02
Rgs16	IL1b;IL2;NFKB			IL1b	IL2	NFKB		7.68	2.47E-05	-1.604	4.319E-02
Saa4	IL1b			IL1b				-1.72	4.76E-02	1.283	9.771E-02
Selenbp2	TGFB;IL10	Selenbp1	IL10				TGFB	-15.77	3.73E-05	3.015	2.916E-02
Sema3b	TGFB						TGFB	4.12	4.78E-05	-1.285	9.461E-02
Serpina1c	TGFB						TGFB	-2.25	7.22E-09	1.290	5.612E-02

【０２８３】

【表３２】

Serpina1e	TGFB						TGFB	-43.20	3.93E-08	2.361	1.852E-02
Serpina3k	IL1b;NFKB;TGFB			IL1b		NFKB	TGFB	-2.95	1.85E-08	1.500	1.125E-02
Serpinb2	IL1b;NFKB			IL1b		NFKB		1.94	4.98E-02	-1.935	1.865E-02
Slc23a2	TGFB						TGFB	2.00	1.02E-05	-1.258	2.229E-02
Slc2a6	NFKB;IL10		IL10			NFKB		1.79	2.68E-02	-1.281	9.775E-02
Slc7a1	NFKB;TGFB					NFKB	TGFB	1.64	3.96E-03	-1.324	8.657E-02
Slc7a11	IL1b;IL10		IL10	IL1b				65.45	1.35E-03	-1.869	1.068E-01
Tk1	IL1b			IL1b				-2.40	4.99E-06	1.295	4.036E-02
Tlr11	IL10		IL10					1.66	6.11E-03	-1.368	6.005E-02
Tlr2	IL1b;IL2;NFKB;TGFB;IL10		IL10	IL1b	IL2	NFKB	TGFB	2.12	5.32E-05	-1.300	5.430E-02
Trib3	IL2;NFKB				IL2	NFKB		2.40	3.14E-04	-1.472	1.987E-02
Xcl1	IL2				IL2			2.52	1.22E-03	-1.796	6.279E-02

【０２８４】

アミノ酸組成物は、線維成長経路を防止する。

線維症は、代謝調節異常、炎症、及び細胞死などの、いくつかの生物学的過程の中心である。肝細胞内の脂質蓄積及び慢性炎症は、肝星細胞の線維形成性活性化を誘導する（全体が参照により本明細書に援用される、Ｗｏｂｓｅｒ Ｈ，ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｒｅｓ．２００９）。アミノ酸組成物による処理から得られる肝臓遺伝子発現パターンは、線維形成性ＴＧＦ－ｂシグナル伝達経路の抑制と一致していた（図５Ｄ）。

【０２８５】

増加するエビデンスは、ＣＣＲ２／ＣＣＲ５及びＭＣＰ－１／ＭＩＰ－１を含むそれらのリガンドが、肝臓組織損傷後の線維症の原因となるマクロファージ動員及び肝星細胞活性化を促進することを示唆する（全体が参照により本明細書に援用される、Ｌｅｆｅｂｖｒｅ Ｅ，ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ ２０１６）。アミノ酸組成物は、減少する肝臓ＴＧＦ－ｂシグナル伝達並びにＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１タンパク質によって、ＮＡＳＨのＳＴＡＭモデルにおける強力な抗線維化活性を示した（図６）。

【０２８６】

アミノ酸組成物は、ＮＡＳの改善並びに肝細胞風船様腫大及び線維症の改善を含む、ＮＡＳＨのＳＴＡＭ及びＦＡＴＺＯマウスモデルの両方における一貫した疾患修飾活性を示した。アミノ酸組成物の活性は、少なくとも部分的に、脂肪酸酸化の増加、主要なサイトカインのレベルの低下並びに肝臓炎症及び線維症に関連する転写経路によって駆動されるようである。

【０２８７】

実施例５：脂肪症及び炎症の肝細胞モデル

肝細胞脂肪毒性は、酸化的ストレス及び小胞体（ＥＲ）ストレスによる肝細胞障害の中心的な駆動因子であるようである。肝細胞における脂肪症（脂質蓄積）及び炎症に影響を与えるアミノ酸の能力を、ヒト初代肝細胞（Ｌｏｎｚａ，ＴＲＬ）を用いて評価した。

【０２８８】

２人の健常なヒトドナーからの初代肝細胞ロット番号を、１０％の熱で不活性化したＦＢＳ（Ａｔｌａｎｔａ Ｂｉｏ）、２ｍＭのＧｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）及び０．２％のＰｒｉｍｏｃｉｎ（ＩｎＶｉｖｏＧｅｎ）を補充した肝細胞平板培養培地（ウイリアムＥ培地（Ｇｉｂｃｏ）中で、９６ウェル光学的マイクロプレート（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）中で、６ｅ０４細胞の密度で、０日目に播種し、３７℃、５％のCO_2で６時間インキュベートした。６時間後、細胞を２回洗浄し、２ｍＭのＧｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）及び１×ペニシリン／ストレプトマイシンを補充した肝細胞用規定培地（Ｃｏｒｎ

ｉｎｇ）を用いて、３７℃、５％のCO_2で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を２回洗浄し、上述されるのと同じ条件で、肝細胞培地中で、２４時間インキュベートした。

【０２８９】

２日目に、細胞を、ＤＰＢＳ　１×（Ｇｉｂｃｏ）で２回洗浄し、血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を含むアミノ酸不含ＷＥＭ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）中で維持した。値は、Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｄａｔａｂａｓｅにおいて公開されている（全体が参照により本明細書に援用される；Ｗｉｓｈａｒｔ　ＤＳ，Ｔｚｕｒ　Ｄ，Ｋｎｏｘ　Ｃ，ｅｔ　ａｌ．，ＨＭＤＢ：ｔｈｅ　Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２００７　Ｊａｎ；３５（Ｄａｔａｂａｓｅ　ｉｓｓｕｅ）：Ｄ５２１－６．１７２０２１６８）。この特別な培地には、１１ｍＭのグルコース、０．２７２ｍＭのピルビン酸ナトリウム、及び様々な範囲の濃度における所定のアミノ酸組成物（すなわち、ビヒクル、ＬＩＶＲＱ＋Ｎ－アセチルシステイン、ＬＩＶＲＱ、ＲＱ＋Ｎ－アセチルシステイン、Ｎ－アセチルシステイン単独、ＬＩＶ、又は個別に、Ｌ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＬ－システイン）の用量曲線が補充されている。細胞を、３７℃、５％のCO_2で２４時間にわたってこの規定培地中で維持した。

【０２９０】

前処理の後、細胞を、１ｎｇ／ｍｌのＴＮＦ－α（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）又はビヒクルを補充した２：１（オレエート：パルミテート）の比率を有する２５０ｕＭの遊離脂肪酸（ＦＦＡ）に曝した。細胞を、３７℃、５％のCO_2で２４時間にわたって、ＦＦＡ混合物及び様々なアミノ酸の組合せとともにインキュベートした。２４時間のインキュベーションの後、培地を、サイトカイン分析のために除去し、同じ刺激条件及びアミノ酸濃度を含む新鮮な培地に交換した。細胞を、さらに４８時間、合計で７２時間のＦＦＡ及びＴＮＦα刺激のためにインキュベートした。

【０２９１】

ヒトＣＣＬ２（ＭＣＰ－１）を、１×Ｒｅａｇｅｎｔ　Ｄｉｌｕｅｎｔ（Ｒｅａｇｅｎｔ　Ａｎｃｉｌｌａｒｙ　Ｋｉｔ　２，Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）中１／５又は１／１０の希釈で、ＥＬＩＳＡ（ヒトＣＣＫ２／ＭＣＰ－１　ＤｕｏＳｅｔ　ＥＬＩＳＡ，Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）によって測定した。データを、後述される蛍光顕微鏡法においてＨｏｅｃｈｓｔ　３３４２（Ｌｉｆｅ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって染色される核数によって決定される特定のウェル当たりの細胞密度に対して正規化した。

【０２９２】

ＭＣＰ１／ＣＣＬ２分泌

表３１～３４は、２人の健常なドナー（表３１及び３２のドナー１、並びに表３３及び３４のドナー２）からの初代ヒト肝細胞におけるＭＣＰ１／ＣＣＬ２のベースライン減算した分泌を示す。ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＬＩＶＲＱ及びＲＱＮＡＣは、両方のドナーにおいてＭＣＰ１／ＣＣＬ２分泌を有意に減少させた。しかしながら、組合せＬＩＶは、ドナーの一方のみにおいてＭＣＰ１／ＣＣＬ２分泌を有意に増加させた。ＬＩＶの組合せへのアルギニン（Ｒ）及びグルタミン（Ｑ）の添加が、ＬＩＶ単独と比較して、両方のドナーにおいてＭＣＰ１／ＣＣＬ２の分泌を減少させた。個別に、Ｎ－アセチルシステイン及びグルタミンが、ＭＣＰ１／ＣＣＬ２分泌を有意に減少させることが示される一方、アルギニンは、ＭＣＰ１分泌を増加させた。イソロイシン、ロイシン及びバリンは、ＭＣＰ１／ＣＣＬ２分泌に対する影響を与えなかった。

【０２９３】

【表３３】

表 31. アミノ酸組成物の投与時のドナー1 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	対照と比べた MCP1 発現 - ドナー1				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-24.1616	0.032252	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-22.2916	2.119583	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-18.4363	0.850597	3	0.0005	***
LIVRQNAC	10	-14.3383	1.854977	3	0.0074	**
LIVRQNAC	1	0	1.048045	3		
LIVRQNAC+G	40	-22.0824	0.873105	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-19.2605	1.611788	3	0.0003	***
LIVRQNAC+G	20	-17.5807	2.893835	3	0.0009	***

【０２９４】

【表３４】

LIVRQNAC+G	10	-13.7521	3.068991	3	0.0106	*
LIVRQNAC+G	1	0	1.682719	3		
LIVRQNAC+S	40	-32.4703	0.340537	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-30.768	1.339048	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-25.5964	1.854519	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	10	-17.8326	1.974033	3	0.0008	***
LIVRQNAC+S	1	2.37E-15	18.41384	3		
LIV	40	15.52052	6.323205	3	0.0094	**
LIV	30	12.3111	10.02706	3	0.0475	*
LIV	20	12.6686	4.109608	3	0.0401	*
LIV	10	-5.18869	1.579468	3	0.6477	有意差なし
LIV	1	-1.2E-15	8.178943	3		
LIVRQ	40	-25.9576	0.484283	3	0.0028	**
LIVRQ	30	-23.6562	2.599721	3	0.0099	**
LIVRQ	20	-13.4723	3.427666	3	0.6401	有意差なし
LIVRQ	10	-9.22141	7.599407	3	0.9986	有意差なし
LIVRQ	1	-8.23198	5.80889	3		
RQNAC	40	-21.4681	2.903892	3	0.0003	***
RQNAC	30	-17.1873	5.202568	3	0.0038	**
RQNAC	20	-12.1782	2.907484	3	0.0506	有意差なし
RQNAC	10	-8.89378	4.748653	3	0.206	有意差なし
RQNAC	1	1.18E-15	10.02527	3		
N-アセチルシステイン	40	-17.6065	1.211739	3	0.0009	***
N-アセチルシステイン	20	-10.8919	2.27818	3	0.0545	有意差なし
N-アセチルシステイン	10	-2.49755	8.795693	3	0.9424	有意差なし
N-アセチルシステイン	5	-0.76286	7.457085	3	0.9991	有意差なし
N-アセチルシステイン	0	0	6.716428	3		

【０２９５】

【表３５】

表 32. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー1 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	対照と比べた MCP1 発現- ドナー1				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	14.16805	19.23365	3	0.6777	有意差なし
バリン	11710	77.73396	137.82	3	0.9998	有意差なし
バリン	4684	23.6867	46.48697	3	0.2502	有意差なし
バリン	234	-2.4E-15	13.86902	3		
アルギニン	5440	10.9386	4.79774	3	0.0057	**
アルギニン	2720	6.526801	4.266971	3	0.1517	有意差なし
アルギニン	1088	5.114414	4.685563	3	0.3321	有意差なし
アルギニン	109	2.37E-15	0.666016	3		
グルタミン	22484	-21.8392	1.113443	3	0.0004	***
グルタミン	11242	-9.00139	1.68951	3	0.2459	有意差なし
グルタミン	3747	-0.89805	6.374471	3	0.9991	有意差なし
グルタミン	749	0	9.549143	3		
イソロイシン	6639	-0.205	2.292188	3	0.9998	有意差なし
イソロイシン	3320	-2.41722	2.382379	3	0.4907	有意差なし
イソロイシン	1328	-0.30729	2.409691	3	0.9992	有意差なし
イソロイシン	66	-1.2E-15	3.163838	3		
ロイシン	15270	-1.36762	3.37035	3	0.8675	有意差なし
ロイシン	7635	1.895506	3.757642	3	0.6872	有意差なし
ロイシン	3054	3.340489	3.016641	3	0.2201	有意差なし
ロイシン	153	5.92E-16	3.132507	3		
N-アセチルシステイン	10000	-17.6065	1.211739	3	0.0009	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.8919	2.27818	3	0.0545	有意差なし
N-アセチルシステイン	2500	-2.49755	8.795693	3	0.9424	有意差なし
N-アセチルシステイン	1000	-0.76286	7.457085	3	0.9991	有意差なし
N-アセチルシステイン	0	0	6.716428	3		

【０２９６】

【表３６】

表 33. アミノ酸組成物の投与時のドナー2 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	対照と比べた MCP1 発現 - ドナー2				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-24.5376	1.632923	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-13.6824	2.562571	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-8.42053	1.545343	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	2.126223	0.453924	3	0.0007	***
LIVRQNAC	1	-4.7E-15	0.412226	3		
LIVRQNAC+G	40	-35.3651	2.08381	3	0.0007	***
LIVRQNAC+G	30	-30.3247	5.225183	3	0.001	***
LIVRQNAC+G	20	-17.0719	4.522244	3	0.0119	*
LIVRQNAC+G	10	-14.2586	2.767898	3	0.049	*
LIVRQNAC+G	1	-7.1E-15	7.613666	3		
LIVRQNAC+S	40	-35.8381	1.404782	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-30.9946	2.372062	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-16.8831	3.223007	3	0.0004	***
LIVRQNAC+S	10	-5.60595	10.2119	3	0.1887	
LIVRQNAC+S	1	2.37E-15	4.4168	3		
LIV	40	-46.7898	8.664441	3	0.3692	有意差なし
LIV	30	-34.5953	16.84743	3	0.6246	有意差なし
LIV	20	-28.0851	31.84348	3	0.7684	有意差なし
LIV	10	-11.0006	72.74556	3	0.9889	有意差なし
LIV	1	9.47E-15	60.93638	3		
LIVRQ	40	-129.802	7.067989	3	0.0008	***
LIVRQ	30	-110.034	4.53852	3	0.0042	**
LIVRQ	20	-33.3611	31.87706	3	0.6524	
LIVRQ	10	-3.30904	71.03267	3	0.9999	

【０２９７】

【表３７】

LIVRQ	1	-4.7E-15	46.12987	3		
RQNAC	40	-133.48	1.908424	3	0.0006	***
RQNAC	30	-123.712	1.043889	3	0.0013	**
RQNAC	20	-109.575	5.533323	3	0.0044	**
RQNAC	10	-55.8583	22.72309	3	0.2273	
RQNAC	1	1.42E-14	43.79031	3		
N-アセチルシステイン	10000	-28.4419	1.694	3	0.0001	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.5725	4.362178	3	0.0012	**
N-アセチルシステイン	2500	-4.0591	5.600773	3	0.0572	有意差なし
N-アセチルシステイン	1000	1.602474	3.423109	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	0	2.068861	3		

【０２９８】

【表３８】

表 34. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー2 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	対照と比べた MCP1 発現- ドナー2				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-30.7921	22.55378	3	0.6118	有意差なし
バリン	11710	38.24762	28.44112	3	0.4268	有意差なし
バリン	4684	10.79011	51.87642	3	0.9835	有意差なし
バリン	234	-1.4E-14	30.91388	3		
アルギニン	5440	8.493664	22.98385	3	0.9913	有意差なし
アルギニン	2720	24.06261	63.49489	3	0.7429	有意差なし
アルギニン	1088	24.95224	52.94171	3	0.7192	有意差なし
アルギニン	109	-4.7E-15	11.27976	3		
グルタミン	22484	-138.873	10.74317	3	0.0001	****
グルタミン	11242	-90.6558	15.43989	3	0.0037	**
グルタミン	3747	-45.0574	41.63249	3	0.2474	有意差なし
グルタミン	749	2.84E-14	59.86955	3	0.7631	
イソロイシン	6639	18.62132	26.01824	3	0.5663	有意差なし
イソロイシン	3320	-5.64461	7.719105	3	0.9882	有意差なし
イソロイシン	1328	26.62309	5.65413	3	0.2613	有意差なし
イソロイシン	66	0	4.245462	3		
ロイシン	15270	-26.6436	10.08177	3	0.2607	有意差なし
ロイシン	7635	-2.98815	21.00205	3	0.9989	有意差なし
ロイシン	3054	16.11014	8.662188	3	0.68	有意差なし
ロイシン	153	-4.7E-15	7.63396	3		
N-アセチルシステイン	10000	-28.4419	1.694	3	0.0001	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.5725	4.362178	3	0.0012	**
N-アセチルシステイン	2500	-4.0591	5.600773	3	0.0572	有意差なし
N-アセチルシステイン	1000	1.602474	3.423109	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	0	2.068861	3		

【０２９９】

実施例６：肝星細胞－ＴＮＦα炎症反応

初代ヒト肝星細胞を、Ｓａｍｓａｒａ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓから入手し、１０回未満の継代で、Ｔ７５又はＴ１５０フラスコ中で、約８０％コンフルエンスになるまで完全ＨＳＣ培地中で成長させ、９６ウェルプレート中に播種し、加湿された培養器中で、３７℃、５％のCO_2で６時間インキュベートした。６時間後、プレートを、ＤＰＢＳで洗浄された

培養器から取り出し、一晩、約１４～１５時間前処理した（±単一のアミノ酸ドロップアウト、±補助的アミノ酸用量；培地の組成については実験を参照）。一晩の前処理の後、培地を細胞から除去し、ここで３ｎｇ／ｍＬのＴＮＦαを補充した同じ前処理培地を加えた。プレートを、３７℃、５％のCO_2で１２時間インキュベートした。ＴＮＦαによる１２時間の刺激の後、上清を除去し、２つの別個のアリコートで、－８０℃で凍結させた。プレートを洗浄し、１時間にわたってＣＣＫ－８生存率検出試薬（ｖｉａｂｉｌｉｔｙ ｒｅａｇｅｎｔ）（Ｄｏｊｉｎｄｏ）とともにインキュベートした。生存率を、Ｓｙｎｅｒｇｙプレートリーダーにおいて測定した。直ぐに、培地を除去し、プレートを、免疫蛍光染色のために固定した。

【０３００】

ヒトＣＣＬ２／ＭＣＰ１及びヒトＩＬ－６を、１×Ｒｅａｇｅｎｔ Ｄｉｌｕｅｎｔ（Ｒｅａｇｅｎｔ Ａｎｃｉｌｌａｒｙ Ｋｉｔ ２，Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）中で、１／５及び１／２０の希釈でＥＬＩＳＡ（ヒトＣＣＫ２／ＭＣＰ－１ ＤｕｏＳｅｔ ＥＬＩＳＡ，Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ；ヒトＩＬ－６ ＤｕｏＳｅｔ ＥＬＩＳＡ，Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）によって測定した。データを、Ｈｏｅｃｈｓｔ染色された核数によって決定される特定のウェル当たりの細胞密度に対して正規化した。

【０３０１】

炎症性ＭＣＰ－１ケモカイン分泌

表３５～３８は、血漿アミノ酸バックグラウンドからの倍率変化として、２人のドナーからの初代ヒト肝星細胞における細胞当たりの正規化されたＭＣＰ－１ケモカイン分泌を示す。統計的有意性を、各処理群内でダネットの多重比較検定を用いた一元ＡＮＯＶＡによって計算した。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＲＱＮＡＣは、両方のドナーにおいてＭＣＰ－１分泌を有意に減少させた。ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓは、ＭＣＰ１分泌を減少させ、２人のドナーのうちの１人において統計的に有意であった。個別に、バリン、アルギニン、及びロイシンのそれぞれが、ＭＣＰ－１分泌に対する有意な影響を与えなかった。グルタミンは、両方のドナーにおいてＭＣＰ１分泌を減少させたが、２人のドナーのうちの１人においてのみ統計的に有意であった。Ｎ－アセチルシステインは、両方のドナーにおいてＭＣＰ－１分泌を有意に減少させた。

【０３０２】

【表３９】

表 35. アミノ酸組成物の投与時のドナー3 のついての MCP1 分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	細胞当たりの正規化された MCP1 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
LIVRQNAC	40	0.6237	0.2500	3	有意差なし	0.2763
LIVRQNAC	30	0.6180	0.2436	3	有意差なし	0.2657
LIVRQNAC	20	0.5679	0.1728	3	有意差なし	0.1863
LIVRQNAC	10	0.5548	0.2139	3	有意差なし	0.1694
LIVRQNAC	1	1.0000	0.3619	3		
LIVRQNAC+G	40	0.6216	0.0903	3	**	0.0036

【０３０３】

【表４０】

LIVRQNAC+G	30	0.6742	0.0549	3	**	0.0095
LIVRQNAC+G	20	0.6373	0.0888	3	**	0.0047
LIVRQNAC+G	10	0.7075	0.0610	3	*	0.0179
LIVRQNAC+G	1	1.0000	0.1704	3		
LIVRQNAC+S	40	0.5911	0.1451	3	有意差なし	0.2045
LIVRQNAC+S	30	0.5932	0.1943	3	有意差なし	0.2077
LIVRQNAC+S	20	0.5760	0.1681	3	有意差なし	0.1828
LIVRQNAC+S	10	0.6820	0.2396	3	有意差なし	0.3845
LIVRQNAC+S	1	1.0000	0.4098	3		
LIV	40	1.2677	0.5786	3	有意差なし	0.7802
LIV	30	1.3632	0.5837	3	有意差なし	0.8368
LIV	20	1.3336	0.4754	3	有意差なし	0.7964
LIV	10	1.3745	0.5427	3	有意差なし	0.9132
LIV	1	1.0000	0.3186	3		
LIVRQ	40	1.3042	0.4140	3	有意差なし	0.7695
LIVRQ	30	1.2208	0.4403	3	有意差なし	0.9036
LIVRQ	20	0.9915	0.3521	3	有意差なし	0.9999
LIVRQ	10	0.9968	0.3907	3	有意差なし	0.9999
LIVRQ	1	1.0000	0.4257	3		
RQNAC	40	0.3220	0.0282	3	****	0.0001
RQNAC	30	0.4353	0.0941	3	****	0.0001
RQNAC	20	0.4629	0.0998	3	***	0.0001
RQNAC	10	0.6513	0.0925	3	**	0.0028
RQNAC	1	1.0000	0.1132	3		
N-アセチルシステイン	40	0.4485	0.0587	3	***	0.0002
N-アセチルシステイン	20	0.5413	0.1018	3	***	0.0009
N-アセチルシステイン	10	0.6565	0.0502	3	**	0.007
N-アセチルシステイン	5	0.8492	0.1515	3	有意差なし	0.2738
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.1142	3		

【０３０４】

【表４１】

表 36. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー3 についての MCP1 分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	細胞当たりの正規化された MCP1 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
バリン	23420	1.2651	0.1295	3	有意差なし	0.1126
バリン	11710	1.0204	0.1126	3	有意差なし	0.9956
バリン	4684	1.0630	0.0878	3	有意差なし	0.8999
バリン	234	1.0000	0.2008	3		
アルギニン	5440	0.7840	0.2753	3	有意差なし	0.7069
アルギニン	2720	0.8821	0.2249	3	有意差なし	0.9264
アルギニン	1088	0.9435	0.3221	3	有意差なし	0.9903
アルギニン	109	1.0000	0.3404	3		
グルタミン	22484	0.6212	0.1952	3	有意差なし	0.2465
グルタミン	11242	0.6106	0.2085	3	有意差なし	0.226
グルタミン	3747	0.6036	0.2596	3	有意差なし	0.2135
グルタミン	749	0.7048	0.2473	3	有意差なし	0.4593
グルタミン	562	1.0000	0.2185	3		
イソロイシン	6639	1.2084	0.1334	3	有意差なし	0.284
イソロイシン	3320	1.2169	0.0589	3	有意差なし	0.2565
イソロイシン	1328	1.5550	0.2070	3	**	0.0038
イソロイシン	66	1.0000	0.1188	3		
ロイシン	15270	1.1808	0.2601	3	有意差なし	0.5156
ロイシン	7635	1.3054	0.1748	3	有意差なし	0.1491
ロイシン	3054	1.1479	0.0605	3	有意差なし	0.6605
ロイシン	153	1.0000	0.0784	3		
N-アセチルシステイン	10000	0.4485	0.0587	3	***	0.0002
N-アセチルシステイン	5000	0.5413	0.1018	3	***	0.0009
N-アセチルシステイン	2500	0.6565	0.0502	3	**	0.007
N-アセチルシステイン	1000	0.8492	0.1515	3	有意差なし	0.2738
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.1142	3		

【０３０５】

【表４２】

表 37. アミノ酸組成物の投与時のドナー4 についての MCP1 分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	細胞当たりの正規化された MCP1 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
LIVRQNAC	40	0.7791	0.0740	3	有意差なし	0.1328
LIVRQNAC	30	0.6333	0.1114	3	*	0.0116
LIVRQNAC	20	0.6997	0.1013	3	*	0.0352
LIVRQNAC	10	0.8114	0.1271	3	有意差なし	0.2216
LIVRQNAC	1	1.0000	0.1607	3		
LIVRQNAC+G	40	0.6738	0.0979	3	*	0.0454
LIVRQNAC+G	30	0.7117	0.0783	3	有意差なし	0.0794
LIVRQNAC+G	20	0.6735	0.1127	3	*	0.0452
LIVRQNAC+G	10	0.7682	0.0563	3	有意差なし	0.1778
LIVRQNAC+G	1	1.0000	0.2452	3		
LIVRQNAC+S	40	0.5780	0.0781	3	**	0.0025
LIVRQNAC+S	30	0.5393	0.1185	3	**	0.0013
LIVRQNAC+S	20	0.6487	0.0732	3	**	0.0085
LIVRQNAC+S	10	0.6872	0.0118	3	*	0.017
LIVRQNAC+S	1	1.0000	0.1803	3		
LIV	40	0.7010	0.1399	3	**	0.0059
LIV	30	0.8883	0.0530	3	有意差なし	0.3745
LIV	20	0.9284	0.0579	3	有意差なし	0.7114
LIV	10	0.8663	0.0569	3	有意差なし	0.2428
LIV	1	1.0000	0.0928	3		
LIVRQ	40	1.2235	0.0592	3	有意差なし	0.4365
LIVRQ	30	1.1653	0.0558	3	有意差なし	0.6679
LIVRQ	20	0.8845	0.2698	3	有意差なし	0.862
LIVRQ	10	1.0110	0.0738	3	有意差なし	0.9999
LIVRQ	1	1.0000	0.3016	3		
RQNAC	40	0.4312	0.0994	3	***	0.0006
RQNAC	30	0.3910	0.0649	3	***	0.0003

【０３０６】

【表４３】

RQNAC	20	0.5579	0.2079	3	**	0.0037
RQNAC	10	0.5545	0.0663	3	**	0.0035
RQNAC	1	1.0000	0.0987	3		
N-アセチルシステイン	40	0.5011	0.0756	3	***	0.0001
N-アセチルシステイン	20	0.6728	0.1024	3	**	0.003
N-アセチルシステイン	10	0.8033	0.1101	3	有意差なし	0.058
N-アセチルシステイン	5	0.6437	0.0648	3	**	0.0017
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.0673	3		

【０３０７】

【表４４】

表 38. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー4 についての MCP1 分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	細胞当たりの正規化された MCP1 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
バリン	23420	1.1525	0.0406	3	有意差なし	0.9999
バリン	11710	1.1544	0.1743	3	有意差なし	0.8877
バリン	4684	1.0942	0.0846	3	有意差なし	0.3545
バリン	234	1.0000	0.1464	3		
アルギニン	5440	0.9456	0.0639	3	有意差なし	0.9076
アルギニン	2720	1.0446	0.0741	3	有意差なし	0.9449
アルギニン	1088	1.0453	0.1733	3	有意差なし	0.9423
アルギニン	109	1.0000	0.1486	3		
グルタミン	22484	0.7039	0.0544	3	**	0.0065
グルタミン	11242	0.7129	0.2237	3	**	0.0077
グルタミン	3747	0.6639	0.0467	3	**	0.0027
グルタミン	749	0.7782	0.0860	3	*	0.0452
グルタミン	562	1.0000	0.0709	6		
イソロイシン	6639	0.9103	0.0536	3	有意差なし	0.5597
イソロイシン	3320	0.8830	0.0872	3	有意差なし	0.3538
イソロイシン	1328	1.3338	0.1099	3	**	0.0044
イソロイシン	66	1.0000	0.0853	3		
ロイシン	15270	1.5745	0.0844	3	有意差なし	0.1886
ロイシン	7635	1.7129	0.6026	3	有意差なし	0.0885
ロイシン	3054	1.5342	0.1746	3	有意差なし	0.2332
ロイシン	153	1.0000	0.2040	3		
N-アセチルシステイン	10000	0.5011	0.0756	3	***	0.0001
N-アセチルシステイン	5000	0.6728	0.1024	3	**	0.003
N-アセチルシステイン	2500	0.8033	0.1101	3	有意差なし	0.058
N-アセチルシステイン	1000	0.6437	0.0648	3	**	0.0017
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.0673	3		

【０３０８】

ＩＬ－６サイトカイン分泌

表３９～４２は、血漿アミノ酸バックグラウンドからの倍率変化として、２人のドナーからの初代ヒト肝星細胞における細胞当たりの正規化されたＩＬ－６サイトカイン分泌を示す。統計的有意性を、各処理群内でダネットの多重比較検定を用いた一元ＡＮＯＶＡによって計算した。ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ及びＲＱＮＡＣは、２人のドナーのうちの１人においてＩＬ－６分泌を有意に減少させた。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ及びＲＱＮＡＣは、両方のドナーにおいてＩＬ－６分泌を減少させた。ＬＩＶ及びＬＩＶＲＱは、いずれかのドナーにおいてＩＬ－６分泌に対する有意な影響を与えなかった。個別に、バリン、アルギニン、イソロイシン、及びロイシンは、ＩＬ－６分泌に対する有意な影響を与えなかった。Ｎ－アセチルシステインは、両方のドナーにおいてＩＬ－６分泌を減少させたが、２人のドナーのうちの１人においてのみ統計的に有意であった。グルタミンは、両方のドナーにおいてＩＬ－６分泌を有意に減少させた。

【０３０９】

【表４５】

表39. アミノ酸組成物の投与時のドナー1についてのIL-6サイトカイン分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	細胞当たりの正規化されたIL-6分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P値
LIVRQNAC	40	0.4857	0.0915	3	***	0.0004
LIVRQNAC	30	0.5667	0.0941	3	**	0.0014
LIVRQNAC	20	0.6671	0.0431	3	**	0.0088
LIVRQNAC	10	0.6579	0.1231	3	**	0.0074
LIVRQNAC	1	1.0000	0.1361	3		
LIVRQNAC+G	40	0.4995	0.1427	3	有意差なし	0.0949
LIVRQNAC+G	30	0.5722	0.2185	3	有意差なし	0.1679
LIVRQNAC+G	20	0.6185	0.1769	3	有意差なし	0.2376
LIVRQNAC+G	10	0.7040	0.2809	3	有意差なし	0.4276
LIVRQNAC+G	1	1.0000	0.3513	3		
LIVRQNAC+S	40	0.5397	0.1569	3	*	0.0105
LIVRQNAC+S	30	0.5513	0.1190	3	*	0.0122
LIVRQNAC+S	20	0.6264	0.1593	3	*	0.0338
LIVRQNAC+S	10	0.6799	0.1218	3	有意差なし	0.0703
LIVRQNAC+S	1	1.0000	0.1671	3		
LIV	40	1.3536	0.4767	3	有意差なし	0.6216
LIV	30	1.2423	0.3135	3	有意差なし	0.8437
LIV	20	1.2321	0.4818	3	有意差なし	0.8611
LIV	10	1.1421	0.3489	3	有意差なし	0.9704
LIV	1	1.0000	0.1647	3		
LIVRQ	40	0.8274	0.2003	3	有意差なし	0.7863
LIVRQ	30	0.8880	0.2175	3	有意差なし	0.938
LIVRQ	20	0.8468	0.1100	3	有意差なし	0.8431
LIVRQ	10	0.9247	0.2696	3	有意差なし	0.984
LIVRQ	1	1.0000	0.3311	3		
RQNAC	40	0.3958	0.0947	3	*	0.0109
RQNAC	30	0.4433	0.1317	3	*	0.0177
RQNAC	20	0.4936	0.1079	3	*	0.0297
RQNAC	10	0.5729	0.1741	3	有意差なし	0.0674
RQNAC	1	1.0000	0.3440	3		
N-アセチルシステイン	40	0.5716	0.2306	3	有意差なし	0.2067
N-アセチルシステイン	20	0.6121	0.1718	3	有意差なし	0.2729
N-アセチルシステイン	10	0.7354	0.2816	3	有意差なし	0.5703
N-アセチルシステイン	5	0.7141	0.2509	3	有意差なし	0.5098
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.3472	3		

【０３１０】

【表４６】

表40. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー1についてのIL-6サイトカイン分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	細胞当たりの正規化された IL-6 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
バリン	23420	1.0404	0.2175	3	有意差なし	0.9949
バリン	11710	0.9562	0.3332	3	有意差なし	0.9935
バリン	4684	0.9790	0.1777	3	有意差なし	0.9993
バリン	234	1.0000	0.2868	3		
アルギニン	5440	0.7776	0.1994	3	有意差なし	0.6927
アルギニン	2720	1.0231	0.4381	3	有意差なし	0.9993
アルギニン	1088	0.9828	0.2957	3	有意差なし	0.9997
アルギニン	109	1.0000	0.1728	3		
グルタミン	22484	0.5138	0.0818	3	**	0.0046
グルタミン	11242	0.5136	0.1189	3	**	0.0046
グルタミン	3747	0.5460	0.0891	3	**	0.0072
グルタミン	749	0.6320	0.1181	3	*	0.0249
グルタミン	562	1.0000	0.2226	3		
イソロイシン	6639	1.0859	0.1489	3	有意差なし	0.764
イソロイシン	3320	1.1156	0.0776	3	有意差なし	0.5903
イソロイシン	1328	1.0233	0.1536	3	有意差なし	0.9922
イソロイシン	66	1.0000	0.1276	3		
ロイシン	15270	1.0767	0.0246	3	有意差なし	0.853
ロイシン	7635	1.1215	0.0872	3	有意差なし	0.6249
ロイシン	3054	1.1762	0.2273	3	有意差なし	0.3655
ロイシン	153	1.0000	0.1535	3		
N-アセチルシステイン	10000	0.5716	0.2306	3	有意差なし	0.2067
N-アセチルシステイン	5000	0.6121	0.1718	3	有意差なし	0.2729
N-アセチルシステイン	2500	0.7354	0.2816	3	有意差なし	0.5703
N-アセチルシステイン	1000	0.7141	0.2509	3	有意差なし	0.5098
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.3472	3		

【０３１１】

【表４７】

表41. アミノ酸組成物の投与時のドナー2についてのIL-6サイトカイン分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	細胞当たりの正規化された IL-6 分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P 値
LIVRQNAC	40	0.9911	0.1150	3	有意差なし	0.9998
LIVRQNAC	30	0.9560	0.0473	3	有意差なし	0.9404
LIVRQNAC	20	1.0008	0.1450	3	有意差なし	0.9999
LIVRQNAC	10	1.0845	0.0707	3	有意差なし	0.6567
LIVRQNAC	1	1.0000	0.0553	3		
LIVRQNAC+G	40	0.8055	0.1705	3	有意差なし	0.4153
LIVRQNAC+G	30	0.8218	0.1567	3	有意差なし	0.4855
LIVRQNAC+G	20	0.9236	0.1642	3	有意差なし	0.9342
LIVRQNAC+G	10	1.1076	0.2097	3	有意差なし	0.8216
LIVRQNAC+G	1	1.0000	0.0416	3		
LIVRQNAC+S	40	0.9508	0.0933	3	有意差なし	0.967
LIVRQNAC+S	30	0.8581	0.0364	3	有意差なし	0.4836
LIVRQNAC+S	20	0.8289	0.0765	3	有意差なし	0.3356
LIVRQNAC+S	10	0.8487	0.1018	3	有意差なし	0.432
LIVRQNAC+S	1	1.0000	0.2312	3		
LIV	40	0.9122	0.0773	3	有意差なし	0.8233
LIV	30	1.0994	0.0987	3	有意差なし	0.7586
LIV	20	1.0400	0.2330	3	有意差なし	0.9857
LIV	10	0.9579	0.1077	3	有意差なし	0.9828
LIV	1	1.0000	0.0540	3		
LIVRQ	40	0.9327	0.0639	3	有意差なし	0.8313
LIVRQ	30	0.8421	0.1125	3	有意差なし	0.2361
LIVRQ	20	0.7871	0.0932	3	有意差なし	0.0841
LIVRQ	10	0.8693	0.0750	3	有意差なし	0.3744
LIVRQ	1	1.0000	0.1428	3		
RQNAC	40	0.8711	0.0816	3	有意差なし	0.5267
RQNAC	30	0.7460	0.1133	3	有意差なし	0.0843
RQNAC	20	0.7838	0.0708	3	有意差なし	0.1544
RQNAC	10	0.8781	0.1566	3	有意差なし	0.5705
RQNAC	1	1.0000	0.1557	3		
N-アセチルシステイン	40	0.7064	0.0418	3	有意差なし	0.0508
N-アセチルシステイン	20	0.8111	0.1049	3	有意差なし	0.2549
N-アセチルシステイン	10	0.9180	0.2230	3	有意差なし	0.8353
N-アセチルシステイン	5	0.9161	0.1067	3	有意差なし	0.8252
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.0632	3		

【０３１２】

【表４８】

表42. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー2についてのIL-6サイトカイン分泌の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	細胞当たりの正規化されたIL-6分泌倍率変化				
		平均	標準偏差	数値	有意性	P値
バリン	23420	0.9015	0.0930	3	有意差なし	0.4967
バリン	11710	0.9218	0.1179	3	有意差なし	0.6516
バリン	4684	1.0383	0.1014	3	有意差なし	0.9291
バリン	234	1.0000	0.0696	3		
アルギニン	5440	0.8895	0.0897	3	有意差なし	0.547
アルギニン	2720	0.9401	0.1611	3	有意差なし	0.8654
アルギニン	1088	0.9924	0.0692	3	有意差なし	0.9996
アルギニン	109	1.0000	0.1263	3		
グルタミン	22484	0.5993	0.0611	3	****	0.0001
グルタミン	11242	0.6478	0.0371	3	****	0.0001
グルタミン	3747	0.7100	0.0356	3	***	0.0003
グルタミン	749	0.7673	0.0222	3	**	0.0017
グルタミン	562	1.0000	0.1027	6		
イソロイシン	6639	1.1648	0.1125	3	有意差なし	0.1448
イソロイシン	3320	0.9096	0.0916	3	有意差なし	0.5304
イソロイシン	1328	1.1020	0.0987	3	有意差なし	0.4446
イソロイシン	66	1.0000	0.0641	3		
ロイシン	15270	1.0183	0.1155	3	有意差なし	0.9795
ロイシン	7635	0.9574	0.0590	3	有意差なし	0.8187
ロイシン	3054	1.0011	0.0618	3	有意差なし	0.9999
ロイシン	153	1.0000	0.0277	3		
N-アセチルシステイン	10000	0.7064	0.0418	3	有意差なし	0.0508
N-アセチルシステイン	5000	0.8111	0.1049	3	有意差なし	0.2549
N-アセチルシステイン	2500	0.9180	0.2230	3	有意差なし	0.8353
N-アセチルシステイン	1000	0.9161	0.1067	3	有意差なし	0.8252
N-アセチルシステイン	0	1.0000	0.0632	3		

【０３１３】

実施例７：初代ヒトマクロファージにおけるサイトカイン分泌
末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）の単離
非精製バフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｂｌｏｏｄ Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）を、５０ｍＬの遠心分離管中に注意深く注ぎ、カルシウム及びマグネシウム（Ｇｉｂｃｏ）を含む室温のダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（ｄＰＢＳ）で希釈した。希釈されたバフィーコートを、管当たり２０ｍＬで、４つの合計５０ｍＬの遠心分離管中にさらに分割した。リンパ球分離培地（Ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ Ｓｅｐａｒａｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｕｍ）（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を、各遠心分離管の底部に注意深くピペット注入した。混合物を、０減速及び加速で、２０℃で３２分間にわたって、８５０×ｇで遠心分離した。

【０３１４】
ＰＢＭＣ層を、遠心分離後に他の成分から分離し、２５ｍＬのｄＰＢＳを含む新たな５０ｍＬの遠心分離管に加えた。総体積を、ｄＰＢＳを含めて５０ｍＬにし、９の加速、５の減速を用いて、２０℃で１０分間にわたって６００×ｇで遠心分離した。上清を、細胞ペレットから注意深く除去した。細胞ペレットを、１０ｍＬのｄＰＢＳを用いて再懸濁させた。次に、総体積を、ｄＰＢＳを用いて５０ｍＬにし、９の加速、９の減速を用いて、２０℃で５分間にわたって４５０×ｇで遠心分離した。上清の除去及び細胞ペレットの再懸濁を、再度繰り返した。

【０３１５】
次に、上清を、細胞ペレットから注意深く除去した。細胞ペレットを、カルシウム又はマグネシウムを含まない１０ｍＬのｄＰＢＳ中で再懸濁させ、７０ｕＭのセルストレーナー（ｃｅｌｌ ｓｔｒａｉｎｅｒ）に通してろ過した。総ＰＢＭＣ数を、Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ Ｋ２自動セルカウンターを用いて決定した。合計で５Ｅ６細胞を、フローサイトメトリー分析のために保存した。残っている細胞を、９の加速、９の減速を用いて、２０℃で５分間にわたって４９０×ｇで遠心分離した。

【０３１６】
ＣＤ１４＋細胞の選択
ＣＤ１４＋細胞を、ＥａｓｙＳｅｐ（商標）Ｈｕｍａｎ ＣＤ１４ Ｐｏｓｉｔｉｖｅ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｋｉｔ ＩＩ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて選択した。細胞を、1×10^{8}個の細胞／ｍＬで、低温ＥａｓｙＳｅｐ（商標）Ｂｕｆｆｅｒ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中で再懸濁させた。合計で１００ｕＬ／ｍＬのＥａｓｙＳｅｐ（商標）Ｈｕｍａｎ ＣＤ１４ Ｐｏｓｉｔｉｖｅ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｃｏｃｋｔａｉｌ ＩＩを、細胞懸濁液に加え、混合し、室温で１０分間インキュベートした。合計で１００ｕＬ／ｍＬのＲａｐｉｄＳｐｈｅｒｅｓを、混合物に加え、混合後に室温で３分間インキュベートし、次に、ＲｏｂｏＳｅｐ緩衝液を加えて、総体積を１０ｍＬにした。１５ｍＬの管中の混合物を磁石に入れ、室温で３分間インキュベートした。上清を廃棄し、１０ｍＬの新鮮なＥａｓｙＳｅｐ（商標）緩衝液を１５ｍＬの管に加えた。ＲｏｂｏＳｅｐ緩衝液の添加、混合、及び上清の廃棄を、さらに２回繰り返した。

【０３１７】
陰性及び陽性画分を、９の加速、９の減速を用いて、２０℃で５分間にわたって４９０×ｇで遠心分離し、ＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（Ａｔｌａｎｔａ Ｂｉｏ）及びペニシリン／ストレプトマイシン中で再懸濁させた。細胞を計数し、９の加速、９の減速を用いて、２０℃で５分間にわたって、４９０×ｇで再度遠心分離した。遠心分離の後、細胞を、ＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（Ａｔｌａｎｔａ Ｂｉｏ）及び５００Ｕ／ｍＬのＧＭ－ＣＳＦを含有するペニシリン／ストレプトマイシン中で再懸濁させ、１０ｃｍの組織培養プレートにおいて$1\sim2\times10^{6}$個の細胞／ｍＬで平板培養した。細胞を、供給と採取との間、３７℃、５％のCO_2中で保持した。

【０３１８】
ＣＤ１４＋細胞の供給

培地及び結合されていない細胞を除去し、９の加速、９の減速を用いて、２０℃で５分間にわたって、４９０×ｇで遠心分離し、新鮮なＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（Ａｔｌａｎｔａ　Ｂｉｏ）及びＧＭ－ＣＳＦを含有するペニシリン／ストレプトマイシン中で再懸濁させることによって、細胞を、３～４日置きに供給した。再懸濁された細胞を、１０ｃｍの組織培養プレートに戻して播種し、３７℃、５％のＣＯ２でインキュベートした。分化したマクロファージを、その後の実験に使用した。

【０３１９】

スクリーン

初代ヒトＰＭＢＣ由来マクロファージを、ペニシリン－ストレプトマイシン（Ｈｙｃｌｏｎｅ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（ＨＩ－ＦＢＳ）（Ａｔｌａｎｔａ　Ｂｉｏ）を補充したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｇｉｂｃｏ）中で、９６ウェルマイクロプレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）中で、ウェル当たり３．０Ｅ４細胞で、０日目に播種し、３７℃、５％のＣＯ２で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を、ウェル当たり１５０ｕＬのＤＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）で１回洗浄し、７５ｕＬの以下のもので処理した：

ａ．Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＨＭＤＢ）に公開されている値に基づいた血液中の平均生理学的濃度に基づいた規定の特別なアミノ酸濃度を、６ｍＭのグルコース、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ、０．２％のｐｒｉｍｏｃｉｎ（ＩｎＶｉｖｏＧｅｎ）とともに含有するアミノ酸不含ＤＭＥＭ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）；又は

ｂ．完全なドロップアウトを含む様々な濃度の１つのアミノ酸を含む、上述される同じ培地。

【０３２０】

２日目に、細胞を、０．１５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳの最終濃度になるように０．３０ｎｇ／ｍＬのリポ多糖（ＬＰＳ）（Ｓｉｇｍａ）を補充した上述される同じ培地７５ｕＬで処理した。対照ウェルを、１ｕＭのＢＸ－７９５（Ｔｏｃｉｓ）、１ｕＭのＴＡＫ２４２（Ｓｉｇｍａ）、０．１５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳ、又はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で処理した。

【０３２１】

３日目に、上清を収集し、－８０℃の冷凍庫中で直ぐに凍結させた。細胞を１５０ｕＬのＤＰＢＳで１回洗浄し、生存率を、ＷＳＴ－８細胞増殖細胞毒性アッセイ（Ｄｏｊｉｎｄｏ）を用いて評価した。アッセイの後、細胞を１５０ｕＬのＰＢＳで２回洗浄し、５分間にわたって４％のパラホルムアルデヒドで固定した後、１５０ｕＬのＰＢＳでさらに２回洗浄した。上清試料におけるタンパク質レベルを、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって、市販のキット（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて、ＩＬ－６及びＴＮＦａについてＥＬＩＳＡによって分析した。結果が、以下の表４３～４８に示される。

【０３２２】

【表４９】

表43. IL-6測定: ドナー1

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー1 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-619.787	114.1592	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-525.849	63.87122	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-290.199	33.5584	3	0.0092	**
LIVRQNAC	10	51.81434	183.3933	3	0.9479	有意差なし
LIVRQNAC	1	0	148.7761	3	該当なし	該当なし
LIVRQNAC+G	40	-1099.11	44.1139	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-903.836	107.7113	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	20	-616.626	114.7826	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	10	-367.918	98.44611	3	0.0007	***
LIVRQNAC+G	1	0	172.9553	3	該当なし	該当なし
LIVRQNAC+S	40	-968.997	90.53282	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-798.326	52.89122	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-506.804	63.85224	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	10	-243.259	114.742	3	0.0365	*
LIVRQNAC+S	1	0	259.8506	3	該当なし	該当なし
LIV	40	4.918642	62.7077	3	0.9999	有意差なし
LIV	30	86.01907	128.1151	3	0.7604	有意差なし
LIV	20	112.1501	83.62436	3	0.564	有意差なし
LIV	10	54.22668	63.10515	3	0.9392	有意差なし
LIV	1	0	75.98804	3	該当なし	該当なし
LIVRQ	40	322.0706	73.87715	3	0.0033	**
LIVRQ	30	297.8004	34.60168	3	0.0072	**
LIVRQ	20	604.021	203.8836	3	0.0001	****
LIVRQ	10	289.1798	57.78952	3	0.0095	**
LIVRQ	1	0	93.58494	3	該当なし	該当なし
RQNAC	40	-911.011	12.65475	3	0.0001	****
RQNAC	30	-766.912	26.23659	3	0.0001	****
RQNAC	20	-511.403	32.15983	3	0.0001	****
RQNAC	10	-201.63	6.477522	3	0.1054	有意差なし
RQNAC	1	0	174.9658	3	該当なし	該当なし
N-アセチルシステイン	40	-914.194	56.77271	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-553.802	85.27013	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	-121.142	53.05191	3	0.4973	有意差なし
N-アセチルシステイン	5	308.1772	263.4651	3	0.0052	**
N-アセチルシステイン	0	0	45.08485	3	該当なし	該当なし

【０３２３】

【表５０】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー1 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-106.268	155.3559	3	0.7885	有意差なし
バリン	11710	-97.25	77.26313	3	0.8339	有意差なし
バリン	4684	-85.9843	74.99317	3	0.8841	有意差なし
バリン	234	0	124.8497	3	該当なし	該当なし
アルギニン	5440	357.4394	154.8508	3	0.0159	*
アルギニン	2720	-186.57	85.86105	3	0.3477	有意差なし
アルギニン	1088	-181.36	131.6475	3	0.3722	有意差なし
アルギニン	109	0	282.0306	3	該当なし	該当なし
グルタミン	22484	440.1437	114.443	3	0.0022	**
グルタミン	11242	397.1745	23.36272	3	0.0064	**
グルタミン	3747	291.5443	81.30853	3	0.0623	有意差なし
グルタミン	749	0	73.06692	3	該当なし	該当なし
イソロイシン	6639	-218.332	146.5098	3	0.221	有意差なし
イソロイシン	3320	-15.8843	89.88616	3	0.9998	有意差なし
イソロイシン	1328	25.98372	323.6109	3	0.9984	有意差なし
イソロイシン	66	0	48.21125	3	該当なし	該当なし
ロイシン	15270	84.46122	68.15253	3	0.8902	有意差なし
ロイシン	7635	-69.9873	99.00843	3	0.9398	有意差なし
ロイシン	3054	244.9743	355.6551	3	0.1442	有意差なし
ロイシン	153	0	61.85589	3	該当なし	該当なし

【０３２４】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＩＬ－６分泌を有意に減少させた。ＬＩＶＲＱによる処理は、ＩＬ－６分泌を有意に増加させた一方、ＬＩＶは、効果を与えなかった。単独で投与されたアルギニン及びグルタミンは、ＩＬ－６分泌を増加させたが、他の単独のアミノ酸は、ＩＬ－６分泌に影響を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３２５】

【表５１】

表44. IL-6測定: ドナー2

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー2 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-27.1916	1.853569	3	0.0003	***
LIVRQNAC	30	-21.5766	1.709414	3	0.0045	**
LIVRQNAC	20	-8.20655	8.458638	3	0.5143	有意差なし
LIVRQNAC	10	-1.71581	6.104437	3	0.9965	有意差なし
LIVRQNAC	1	-2.4E-15	11.85079	3		
LIVRQNAC+G	40	-33.2001	3.55425	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-30.8468	0.854995	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	20	-18.4318	4.870421	3	0.0187	*
LIVRQNAC+G	10	14.63551	21.82024	3	0.0824	有意差なし
LIVRQNAC+G	1	2.37E-15	8.607557	3		
LIVRQNAC+S	40	-26.5993	2.963677	3	0.0004	***
LIVRQNAC+S	30	-14.2166	1.460268	3	0.0954	有意差なし
LIVRQNAC+S	20	-8.2522	2.917345	3	0.5095	有意差なし
LIVRQNAC+S	10	8.127841	1.783214	3	0.5227	有意差なし
LIVRQNAC+S	1	0	6.232673	3		
LIV	40	34.10306	1.950493	3	0.0001	****
LIV	30	31.10835	9.757211	3	0.0001	****
LIV	20	20.32684	3.17293	3	0.0081	**
LIV	10	15.10204	9.179111	3	0.0697	有意差なし
LIV	1	-7.1E-15	4.738966	3		
LIVRQ	40	49.62156	17.37012	3	0.0001	****
LIVRQ	30	42.9625	7.798872	3	0.0001	****
LIVRQ	20	48.38603	13.08566	3	0.0001	****
LIVRQ	10	45.99191	15.19687	3	0.0001	****
LIVRQ	1	1.18E-15	6.324379	3		
RQNAC	40	-36.5521	1.877658	3	0.0001	****
RQNAC	30	-26.3768	0.744676	3	0.0004	***
RQNAC	20	-18.7428	1.353649	3	0.0164	*
RQNAC	10	-3.74427	4.74578	3	0.9393	有意差なし
RQNAC	1	2.37E-15	12.26314	3		
N-アセチルシステイン	40	-33.7585	0.895842	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-24.9999	1.083467	3	0.0008	***
N-アセチルシステイン	10	-9.75111	2.381012	3	0.3617	有意差なし
N-アセチルシステイン	5	-0.79458	5.988677	3	0.9998	有意差なし
N-アセチルシステイン	0	-2.4E-15	1.900091	3		

【０３２６】

【表５２】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー2 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	4.395899	10.35903	3	0.973	有意差なし
バリン	11710	-1.19605	7.303571	3	0.9998	有意差なし
バリン	4684	-4.52846	4.069907	3	0.97	有意差なし
バリン	234	-4.7E-15	9.361734	3		
アルギニン	5440	-12.4164	0.292618	3	0.5017	有意差なし
アルギニン	2720	-13.6102	2.1177	3	0.4207	有意差なし
アルギニン	1088	-9.70116	9.286942	3	0.6995	有意差なし
アルギニン	109	2.37E-15	14.30728	3		
グルタミン	22484	34.38845	7.467725	3	0.0026	**
グルタミン	11242	63.31441	35.02748	3	0.0001	****
グルタミン	3747	22.51543	9.686139	3	0.0721	有意差なし
グルタミン	749	2.37E-15	2.203881	3		
イソロイシン	6639	-1.77438	10.22772	3	0.999	有意差なし
イソロイシン	3320	2.305485	1.328015	3	0.9975	有意差なし
イソロイシン	1328	-2.31776	9.121049	3	0.9974	有意差なし
イソロイシン	66	0	12.3413	3		
ロイシン	15270	47.59735	16.64049	3	0.0001	****
ロイシン	7635	30.46065	7.144005	3	0.0087	**
ロイシン	3054	29.60609	13.39676	3	0.0111	*
ロイシン	153	7.11E-15	6.308577	3		

【０３２７】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＩＬ－６分泌を有意に減少させた。ＬＩＶＲＱ及びＬＩＶによる処理は、ＩＬ－６分泌を有意に増加させた。単独で投与されたグルタミン及びロイシンは、ＩＬ－６分泌を増加させた一方、他の単独のアミノ酸は、効果を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３２８】

【表５３】

表45. IL-6測定: ドナー3

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー3 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-18.2445	4.129349	3	0.7529	有意差なし
LIVRQNAC	30	-16.8219	1.366045	3	0.8001	有意差なし
LIVRQNAC	20	-13.4826	12.48206	3	0.8948	有意差なし
LIVRQNAC	10	-34.4539	37.38053	3	0.2356	有意差なし
LIVRQNAC	1	-1.4E-14	14.03982	3		
LIVRQNAC+G	40	-54.4799	5.467815	3	0.0228	*
LIVRQNAC+G	30	-48.3118	1.960574	3	0.0513	有意差なし
LIVRQNAC+G	20	-55.792	7.763897	3	0.019	*
LIVRQNAC+G	10	-44.8309	14.34972	3	0.0783	有意差なし
LIVRQNAC+G	1	0	26.01471	3		
LIVRQNAC+S	40	-14.5337	15.82418	3	0.868	有意差なし
LIVRQNAC+S	30	-25.9127	10.00119	3	0.479	有意差なし
LIVRQNAC+S	20	-25.8862	21.61536	3	0.48	有意差なし
LIVRQNAC+S	10	-11.9742	10.3333	3	0.9277	有意差なし
LIVRQNAC+S	1	-4.3E-14	15.34164	3		
LIV	40	10.21257	37.58938	3	0.9576	有意差なし
LIV	30	-32.6891	24.862	3	0.2771	有意差なし
LIV	20	27.66715	39.40901	3	0.4207	有意差なし
LIV	10	9.44789	71.20002	3	0.9677	有意差なし
LIV	1	-4.7E-14	27.50075	3		
LIVRQ	40	74.9145	12.55033	3	0.001	***
LIVRQ	30	120.1764	20.21514	3	0.0001	****
LIVRQ	20	77.12007	11.45452	3	0.0007	***
LIVRQ	10	67.95483	43.58345	3	0.003	**
LIVRQ	1	-2.4E-14	27.62048	3		
RQNAC	40	-45.9765	5.740028	3	0.0683	有意差なし
RQNAC	30	-53.3845	16.45009	3	0.0265	*
RQNAC	20	-65.6761	3.400465	3	0.0044	**
RQNAC	10	-32.8776	33.99103	3	0.2724	有意差なし
RQNAC	1	-2.8E-14	23.14404	3		
N-アセチルシステイン	40	-140.851	4.662272	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-122.656	8.219985	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	-103.586	28.4385	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	5	-70.3269	8.563896	3	0.0021	**
N-アセチルシステイン	0	-9.5E-15	11.75797	3		

【０３２９】

【表５４】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー3 IL-6 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-29.2004	25.98066	3	0.4329	有意差なし
バリン	11710	-43.8022	8.331697	3	0.1239	有意差なし
バリン	4684	-30.0609	8.478329	3	0.4072	有意差なし
バリン	234	4.26E-14	17.2027	3		
アルギニン	5440	-6.80983	0.643932	3	0.9922	有意差なし
アルギニン	2720	-7.50318	22.06663	3	0.9888	有意差なし
アルギニン	1088	31.5786	70.48311	3	0.3642	有意差なし
アルギニン	109	0	17.26952	3		
グルタミン	22484	108.5158	55.59202	3	0.0001	****
グルタミン	11242	98.4903	58.37	3	0.0001	****
グルタミン	3747	25.35457	16.40416	3	0.556	有意差なし
グルタミン	749	3.79E-14	16.54987	3		
イソロイシン	6639	-16.3663	8.09174	3	0.9718	有意差なし
イソロイシン	3320	0	19.80362	3	0.9928	有意差なし
イソロイシン	1328	-28.9897	13.10903	3	0.6593	有意差なし
イソロイシン	66	-6.69039	13.72995	3		
ロイシン	15270	#	#	3	#	#
ロイシン	7635	#	#	3	#	#
ロイシン	3054	#	#	3	#	#
ロイシン	153	#	#	3	#	#
#	ロイシンは、技術的エラーにより実験 3 において測定されなかった					

【０３３０】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＩＬ－６分泌を有意に減少させた。ＬＩＶＲＱによる処理は、ＩＬ－６分泌を増加させた一方、ＬＩＶ及びＬＩＶＲＱＮＡＣは、ＩＬ－６分泌に対する統計的に有意な効果を与えなかった。単独で投与されたグルタミンは、ＩＬ－６分泌を有意に増加させた一方、他の単独のアミノ酸は、効果を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３３１】

【表５５】

表46. TNFα測定: ドナー1

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー1 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-422.74	4.347575	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-389.74	1.004633	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-336.69	3.007435	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	-246.04	27.61929	3	0.0001	****
LIVRQNAC	1	0	36.31082	3		
LIVRQNAC+G	40	-490.92	4.427614	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-447.73	9.819865	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	20	-377.32	5.837159	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	10	-268.29	9.642365	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	1	0	37.44353	3		
LIVRQNAC+S	40	-415.03	4.800449	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-379.44	4.694868	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-323.77	7.971135	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	10	-209.59	21.15676	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	1	0	30.0492	3		
LIV	40	60.37	20.26331	3	0.0065	**
LIV	30	42.09	22.95664	3	0.0865	有意差なし
LIV	20	63.37	37.24144	3	0.004	**
LIV	10	45.61	44.71078	3	0.0556	有意差なし
LIV	1	0	10.49958	3		
LIVRQ	40	6.38	17.1283	3	0.9909	有意差なし
LIVRQ	30	-6.72	18.9622	3	0.989	有意差なし
LIVRQ	20	38.38	39.85515	3	0.1333	有意差なし
LIVRQ	10	-18.95	10.84371	3	0.6982	有意差なし
LIVRQ	1	0	36.96184	3		
RQNAC	40	-408.44	1.179877	3	0.0001	****
RQNAC	30	-390.41	1.341282	3	0.0001	****
RQNAC	20	-338.2	3.284307	3	0.0001	****
RQNAC	10	-251.35	4.121085	3	0.0001	****
RQNAC	1	0	51.06933	3		
N-アセチルシステイン	40	-644.49	2.42197	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-561.33	8.435064	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	-446.88	12.22132	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	5	-326.24	11.10173	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	0	42.00516	3		

【０３３２】

【表５６】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー1 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-14.98	20.86784	3	0.9928	有意差なし
バリン	11710	-41.77	36.61662	3	0.7784	有意差なし
バリン	4684	-40.37	32.31016	3	0.7974	有意差なし
バリン	234	0	24.8661	3		
アルギニン	5440	62.06	48.80326	3	0.4786	有意差なし
アルギニン	2720	5.12	15.47951	3	0.9998	有意差なし
アルギニン	1088	-24.33	17.74317	3	0.9577	有意差なし
アルギニン	109	0	18.5366	3		
グルタミン	22484	-103.07	27.02483	3	0.0985	有意差なし
グルタミン	11242	-65.24	23.02631	3	0.4346	有意差なし
グルタミン	3747	-45.7	28.56445	3	0.7222	有意差なし
グルタミン	749	0	30.75138	3		
イソロイシン	6639	-40.95	78.56369	3	0.7896	有意差なし
イソロイシン	3320	-96.3	45.66981	3	0.1339	有意差なし
イソロイシン	1328	-42.68	21.07739	3	0.7657	有意差なし
イソロイシン	66	0	115.9559	3		
ロイシン	15270	-46.21	29.00402	3	0.7148	有意差なし
ロイシン	7635	-23.04	40.08864	3	0.965	有意差なし
ロイシン	3054	42.04	77.19161	3	0.7746	有意差なし
ロイシン	153	0	157.6578	3		

【０３３３】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＴＮＦａ分泌を有意に減少させた。ＬＩＶによる処理は、ＴＮＦａ分泌を増加させた一方、ＬＩＶＲＱは、ＴＮＦａ分泌に対する有意な効果を与えなかった。個別に投与されたアミノ酸のいずれも、ＴＮＦａ分泌に対する効果を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３３４】

【表５７】

表47. TNFα測定: ドナー2

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー2 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-98.1341	2.118962	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-85.1019	1.385677	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-64.3364	10.07525	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	-38.3512	5.120689	3	0.0001	****
LIVRQNAC	1	0	5.45587	3		
LIVRQNAC+G	40	-91.3454	5.994009	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-82.4397	4.200763	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	20	-61.247	8.702492	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	10	-23.9913	7.471422	3	0.008	**
LIVRQNAC+G	1	-4.7E-15	4.578295	3		
LIVRQNAC+S	40	-74.1572	4.163823	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-64.0016	5.549308	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-47.5673	3.970363	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	10	-28.635	7.390447	3	0.0012	**
LIVRQNAC+S	1	-4.7E-15	7.564883	3		
LIV	40	49.84155	4.092799	3	****	0.0001
LIV	30	29.1118	14.72509	3	***	0.001
LIV	20	30.17595	5.797518	3	***	0.0006
LIV	10	16.68974	10.85983	3	有意差なし	0.0974
LIV	1	0	10.41523	3		
LIVRQ	40	64.1705	27.82953	3	****	0.0001
LIVRQ	30	50.92104	6.955429	3	****	0.0001
LIVRQ	20	45.65882	19.0128	3	****	0.0001
LIVRQ	10	32.37038	19.44425	3	***	0.0002
LIVRQ	1	-4.7E-15	5.942707	3		
RQNAC	40	-84.147	5.821583	3	****	0.0001
RQNAC	30	-77.9626	1.626776	3	****	0.0001
RQNAC	20	-63.3754	3.494595	3	****	0.0001
RQNAC	10	-37.6072	1.88043	3	****	0.0001
RQNAC	1	-9.5E-15	4.727924	3		
N-アセチルシステイン	40	-103.984	0.720962	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-88.6528	0.668195	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	-70.8382	12.08717	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	5	-54.1596	11.06287	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	9.47E-15	2.926881	3		

【０３３５】

【表５８】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー2 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-1.25079	12.85688	3	0.9991	有意差なし
バリン	11710	-0.83505	8.524018	3	0.9998	有意差なし
バリン	4684	-0.00221	5.127759	3	0.9999	有意差なし
バリン	234	-4.7E-15	8.717375	3		
アルギニン	5440	-0.57378	8.672536	3	0.9999	有意差なし
アルギニン	2720	-3.76334	2.467885	3	0.9594	有意差なし
アルギニン	1088	-12.7222	4.764842	3	0.2488	有意差なし
アルギニン	109	1.42E-14	3.511446	3		
グルタミン	22484	11.50181	6.216029	3	0.3311	有意差なし
グルタミン	11242	20.03996	11.90208	3	0.0279	*
グルタミン	3747	9.338214	9.748253	3	0.5134	有意差なし
グルタミン	749	-9.5E-15	7.275868	3		
イソロイシン	6639	19.25756	5.097831	3	0.0365	*
イソロイシン	3320	10.26061	7.861148	3	0.4307	有意差なし
イソロイシン	1328	2.918887	1.921961	3	0.9836	有意差なし
イソロイシン	66	4.74E-15	6.264135	3		
ロイシン	15270	46.68507	11.63209	3	0.0001	****
ロイシン	7635	41.97528	6.512087	3	0.0001	****
ロイシン	3054	31.74019	11.56537	3	0.0002	***
ロイシン	153	0	0.482598	3		

【０３３６】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＴＮＦａ分泌を有意に減少させた。ＬＩＶ及びＬＩＶＲＱによる処理は、ＴＮＦａ分泌を増加させた。個別に投与されたロイシン、イソロイシン、及びグルタミンは、ＴＮＦａ分泌を増加させた一方、他のアミノ酸は、効果を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３３７】

【表５９】

表48. TNFα測定: ドナー3

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ドナー3 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-18.7507	2.487301	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-15.5979	0.932399	3	0.0006	***
LIVRQNAC	20	-10.7042	3.013527	3	0.026	*
LIVRQNAC	10	-8.49034	2.434812	3	0.1029	有意差なし
LIVRQNAC	1	0	4.067982	3		
LIVRQNAC+G	40	-14.6552	3.149813	3	0.0013	**
LIVRQNAC+G	30	-11.6973	2.026588	3	0.0129	*
LIVRQNAC+G	20	-8.0218	0.671662	3	0.1331	有意差なし
LIVRQNAC+G	10	-4.8035	1.658348	3	0.5453	有意差なし
LIVRQNAC+G	1	-2.4E-15	5.625453	3		
LIVRQNAC+S	40	-14.247	1.800575	3	0.0018	**
LIVRQNAC+S	30	-15.1388	1.568817	3	0.0009	***
LIVRQNAC+S	20	-12.4722	3.334857	3	0.0073	**
LIVRQNAC+S	10	-6.72057	1.833554	3	0.2549	有意差なし
LIVRQNAC+S	1	0	4.171555	3		
LIV	40	14.07984	11.14252	3	0.002	**
LIV	30	1.759786	1.102706	3	0.9748	有意差なし
LIV	20	14.51396	10.41503	3	0.0014	**
LIV	10	8.560957	12.86074	3	0.0989	有意差なし
LIV	1	2.37E-15	3.660423	3		
LIVRQ	40	25.84453	0.659584	3	0.0001	****
LIVRQ	30	33.74883	5.974096	3	0.0001	****
LIVRQ	20	20.94481	2.163828	3	0.0001	****
LIVRQ	10	15.45187	3.942596	3	0.0007	***
LIVRQ	1	0	4.575346	3		
RQNAC	40	-21.5102	1.191926	3	0.0001	****
RQNAC	30	-20.8898	2.622446	3	0.0001	****
RQNAC	20	-19.9558	3.302225	3	0.0001	****
RQNAC	10	-9.09425	5.483242	3	0.0725	有意差なし
RQNAC	1	0	6.189505	3		
N-アセチルシステイン	40	-55.3093	0.809363	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	-48.4373	1.563179	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	-41.7266	3.533914	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	5	-33.6246	0.253484	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	4.74E-15	8.55997	3		

【０３３８】

【表６０】

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー3 TNFa 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	3.688279	7.532913	3	0.8962	有意差なし
バリン	11710	-2.59866	2.586099	3	0.9674	有意差なし
バリン	4684	0.126	0.903014	3	0.9999	有意差なし
バリン	234	-2.4E-15	2.731283	3		
アルギニン	5440	-1.76662	4.067694	3	0.992	有意差なし
アルギニン	2720	-0.96691	4.86075	3	0.9991	有意差なし
アルギニン	1088	3.131153	10.346	3	0.9384	有意差なし
アルギニン	109	3.55E-15	4.325877	3		
グルタミン	22484	29.14034	17.71417	3	0.0001	****
グルタミン	11242	18.00238	14.58602	3	0.0061	**
グルタミン	3747	1.935546	2.127977	3	0.9887	有意差なし
グルタミン	749	0	5.196592	3		
イソロイシン	6639	-1.66019	4.262718	3	0.9938	有意差なし
イソロイシン	3320	3.308901	3.745411	3	0.9262	有意差なし
イソロイシン	1328	-6.22991	0.48195	3	0.5976	有意差なし
イソロイシン	66	-2.4E-15	3.844593	3		
ロイシン	15270	#	#	3	#	#
ロイシン	7635	#	#	3	#	#
ロイシン	3054	#	#	3	#	#
ロイシン	153	#	#	3	#	#

ロイシンは、技術的エラーにより実験 3 において測定されなかった

【０３３９】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｓ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＬＰＳ誘導性ＴＮＦａ分泌を有意に減少させた。ＬＩＶ及びＬＩＶＲＱによる処理は、ＴＮＦａ分泌を増加させた。個別に投与されたアミノ酸は、ＴＮＦａ分泌を増加させたグルタミンを除いて、ＴＮＦａ分泌に対する有意な効果を与えなかった。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、統計的分析について行った。平均値が、ベースライン減算された値として表される。

【０３４０】

実施例８．アミノ酸組成物による、マウスモデルのＮＡＳＨの処理

一例において、ＦＡＴＺＯマウスモデルにおける肥満、代謝に起因する非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）におけるＬＩＶＲＱＮＡＣ及び関連するアミノ酸組成物の影響を調べた。

【０３４１】

１６週間の誘導期中に、飲料水（ＷＤＦ）中５％のフルクトースを補充した西洋型食（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｄｉｅｔ　＃　Ｄ１２０７９Ｂ；脂肪４０％ｋｃａｌ、タンパク質１７％ｋｃａｌ、炭水化物４３％ｋｃａｌ）によって、ＮＡＳＨを、６０匹の雄ＦＡＴＺＯマウスにおいて誘導した。食事及び水は、自由に摂取可能であった。同腹子対照雄ＦＡＴＺＯマウスには、対照食（ｎ＝６、Ｐｕｒｉｎａ　＃　５００８；脂肪１７％ｋｃａｌ、タンパク質２７％ｋｃａｌ、炭水化物５６％ｋｃａｌ）を与え、滅菌水を、対照目的で提

供した。マウスを、マイクロアイソレータを備えたプラスチックのケージ中で飼育した。滅菌した寝床を、週に１回交換した。マウスを、１つのケージにつき３匹飼育し、試験期間を通して１２時間の明サイクルで維持した。室温を毎日監視し、２２～２５℃に維持した。体重を、誘導期中に毎週記録した。

【０３４２】

１６週間の食事誘導の後、６匹のマウスは、対照食（群１、対照）のままであった一方、６０匹の誘導マウスは、以下の処理への割り当てのために体重及び血漿グルコース（ｆｅｄ）について無作為化された。ＦＡＴＺＯマウスに、４週間にわたる西洋型食ＮＡＳＨ誘導後１６週間の時点から開始して、被験物質を投与した。被験物質を、強制経口投与によって投与した。動物を、西洋型食ＮＡＳＨ誘導後２０週間の時点で安楽死させ、組織を分析のために採取した。

【０３４３】

【表６１】

群	(n)	処理(経口)	食事
1	6	ビヒクル	5008 WDF
2	10	ビヒクル	D12079B + 5%のフルクトース
3	10	LIVRQNAC (1500 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
4	10	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
5	10	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
6	10	LRQNAC (2469 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
7	10	OCA (30 mg/kg/日)	D12079B + 5%のフルクトース

【０３４４】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＲＱＮＡＣ、及びＯＣＡ（Ａｄｖａｎｃｅｄ ＣｈｅｍＢｌｏｃｋｓ，Ｉｎｃ．）、賦形剤（ｉｎｃｉｐｉｅｎｔ）、及び潅注用水を、Ａｘｃｅｌｌａ Ｈｅａｌｔｈ，Ｉｎｃ．によって提供した。０．５％のメチルセルロースは、ＣｒｏｗｎＢｉｏ，Ｉｎｃ．によって提供された。投与溶液を、付属書（Ａｐｐｅｎｄｉｘ）１にしたがって調製した。ＴＡ化合物（アミノ酸組成物）は、潅注用水（Ｂａｘｔｅｒ ＃ ２７Ｆ７１１４）並びに賦形剤０．１２５％のキサンタンガム、１．５ｍＭのラウリル硫酸ナトリウム及び０．２８％のレシチン中で毎日新たに製剤化されるアミノ酸ブレンドであった。オベチコール酸（ＯＣＡ）を、潅注用水中０．５％のメチルセルロース中で懸濁させた。全ての被験物質を、冷蔵保存した。ＴＡ化合物は、スポンサーによって凍結粉末で提供された。投与を４週間にわたって続けた。

【０３４５】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣのロイシン投与量を、ＬＩＶＲＱＮＡＣのものに適合させた。

【０３４６】

【表６２】

成分	グレード	供給業者	供給業者品番	ロット番号
風味付けされていない Fusi-BCAA (2:1:1 L-Leu:L-Ile:L-Val)	インスタント化 (0.3~0.9%のレシチン)	味の素(AjiPure)	33555	OH704
L-アルギニン HCl	USP	Sigma (味の素)	A4599	CDB0352V
L-アルギニン HCl	USP	Sigma (味の素)	A4599	CDB0352V
L-グルタミン	USP	味の素	32824	R014A003
グリシン	USP	味の素	30359	R015T008
アセチルシステイン(NAC)	USP	Spectrum Chemical	AC126	1FI0576

【０３４７】
【表６３】

	LIVRQNAC	LIVRQNAC+G	LRQNAC
成分	1日用量(g)	1日用量(g)	1日用量(g)
風味付けされていない Fusi-BCAA (2:1:1 L-Leu:L-Ile:L-Val)	24.0	24.0	
Fusil (L-ロイシン)			12.0
L-アルギニン HCl	18.0	18.0	18.0
L-グルタミン	24.0	24.0	24.0
グリシン		20.0	
アセチルシステイン (NAC)	1.8	1.8	1.8
アミノ酸 =	67.8	87.8	55.8

【０３４８】
ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＲＱＮＡＣ、ＯＣＡ及びビヒクルを、試験全体を通して１０ｍＬ／ｋｇの体積で、強制経口投与によって投与した。投与量を、一日体重によって計算した。ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＲＱＮＡＣ、及びビヒクルを、１日２回（ＢＩＤ）投与した一方、ＯＣＡを、午前中に１日１回（ＱＤ）投与した。マウスは、１日１回（ＱＤ）ＯＣＡ、及び１日１回（ＱＤ）１つのビヒクルを投与されている。用量を、４週間にわたって、０７００及び１８００に、強制経口投与によって投与した。
【０３４９】
生存率、臨床兆候及び行動を毎日監視した。体重を、投与期間の間、毎日記録した。血液試料を、グルコース測定（ＳｔａｔＳｔｒｉｐ血糖値測定器）のために、尾切断によって毎週ＡＭ（０７００）に採取した。
【０３５０】
動物に、ＣＯ２吸入により麻酔をかけ、安楽死のために心穿刺によって放血させた。末梢血試料（Ｋ２ＥＤＴＡ）を、終了時に、麻酔された動物において心穿刺によって取得し

た。試料は、Ａｘｃｅｌｌａ　Ｈｅａｌｔｈに、凍結された状態で提供された。臓器重量（肝臓全体、生殖腺脂肪パッド（ｇｏｎａｄａｌ　ｆａｔ　ｐａｄ））を記録した。膵臓、及び小腸及び生殖腺脂肪パッドを、１０％の緩衝ホルマリン中で固定し、プロトコルにおいて指示どおりに調製した。また、小腸、生殖腺脂肪パッド及び肝臓の切片を、液体窒素中で急速凍結させ、スポンサーに輸送した。

【０３５１】

肝臓組織を、２４時間にわたって４℃で、ブアン液、続いて標準的な濃度のアルコールの浴、次にキシレン中で固定して、パラフィン包埋のための組織を調製した。パラフィンに包埋され、冷却された後、５ミクロンの切片を切断し、慣例的なＨ＆Ｅ及びピクリン酸シリウスレッドで染色した。肝臓の右葉及び左葉の両方の切片を、オイルレッドＯ染色を用いた脂質含量の分析のためにＯＣＴ中で凍結させた。Ａｐｅｒｉｏホールスライドデジタルイメージングシステム（Ｓｃａｎ　Ｓｃｏｐｅ　ＣＳ，Ｖｉｓｔａ，ＣＡ）を、イメージングに使用した。全てのスライドを２０倍でイメージングした。走査時間は、１．５分から２．２５分の最大時間までの範囲であった。全画像を収納し、それらのＳｐｅｃｔｒｕｍソフトウェアシステムに保存し、画像をホールスライドから撮影した。

【０３５２】

肝臓を、採点のためのＮＡＳＨ肝臓基準を用いて評価した。このマウス試験では、各事例の肝臓の１つの断面を、ＮＡＳＨスコアシステムを用いて分析した。公開されたＮＡＳＨ　ＣＲＮ　Ｓｃｏｒｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍによれば、この採点システムは、ＮＡＦＬＤ活動性スコア（ＮＡＳ）、線維症段階及びパターン認識によるＮＡＳＨの同定を含む。ＮＡＳは、０～８の範囲であり得、Ｈ＆Ｅ染色された切片からの脂肪症（０～３）、小葉炎症（０～３）及び肝細胞風船様腫大（０～２）のスコアの合計によって計算される。線維症を、ピクロシリウスレッド染色されたスライドから採点した（０～４）。ＮＡＳＨシステムを、ヒト肝臓１８ゲージ生検に使用した。脂肪症、小葉炎症、肝細胞．肝細胞風船様変性、線維症、ＮＡＳ及びパターン認識によるＮＡＳＨの存在を、組織的に評価した。この試験では、この試験において１匹のマウスにつき肝臓の１つの全断面積を評価した。これは、１８ゲージヒト肝生検のサイズの約１５倍である。病理学的スコアを、０、＋１、＋２、又は＋３として決定した。病変を、場所（門脈周囲、小葉中心、及び中間帯）及び脂肪蓄積（限局性、門脈周囲、及び／又は小葉中心）について採点した。スコアの他の部分は、病変の分布：限局性、多発性及び／又は広範性であった。また、病変の軽度、中等度及び重症度。これらのパラメータが、全ＮＡＳＨスコアを構成していた。

【０３５３】

全ての免疫組織化学的染色工程を、自動免疫染色装置（ａｕｔｏｍａｔｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｔａｉｎｅｒ）においてＤａｋｏ　ＦＬＥＸ　ＳＹＳＴＥＭを用いて行い；インキュベーションを、室温で行い、トリス緩衝生理食塩水及び０．０５％のＴｗｅｅｎ　２０、ｐＨ７．４（ＴＢＳ－Ｄａｋｏ　Ｃｏｒｐ．）を、全ての洗浄剤及び希釈剤に使用した。十分な洗浄を、各インキュベーション後に行った。一次抗体は、抗マウスＳＭＡ、Ｆ４／８０、Ｍａｃ－２、及びピクリン酸シリウスレッドを含んでいた。対照切片を、一次抗体と同じ濃度を用いてアイソタイプコントロールで処理して、染色特異性を確認した。

【０３５４】

白色脂肪組織（ＷＡＴ）脂肪細胞サイズを、Ｈ＆Ｅで染色された切片から分析した。Ａｐｅｒｉｏ　Ｉｍａｇｅ　Ｓｃｏｐｅアプリケーションを用いて、各組織標本の３つの局部的な領域（組織の縁部、血管領域を囲んでいない組織、血管領域を囲んでいる組織）を、この領域の大きい順に１０の脂肪細胞の面積を測定することによって評価した。各組織内で、各領域の１０のホットスポットを定量化し（um^2）、平均した。

【０３５５】

膵臓β島細胞を、免疫組織化学的染色によって同定した。

【０３５６】

Ａｐｅｒｉｏ　Ａｕｔｏｍａｔｉｃ　Ｉｍａｇｅ　Ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｏｎが、免疫組織化学的染色、オイルレッドＯ、及びシリウスレッド染色のポジティブピクセルを定量

化するのに用いられた。Ｐｏｓｉｔｉｖｅ Ｐｉｘｅｌ Ｃｏｕｎｔアルゴリズムを用いて、走査されたスライド画像中に存在する特定の染色のパーセンテージを定量化した。色の範囲（色相及び彩度の範囲）及び３つの輝度範囲（弱、ポジティブ、及び強）をマスクし、評価した。アルゴリズムは、３つのさらなる量：平均輝度、強／総数の比率、及び弱いポジティブピクセルの平均輝度とともに、各輝度範囲における数及び輝度の総和を計数した。ポジティブピクセルアルゴリズムは、オレンジ色と青色を区別するように調節された。通常の「色相値」（０．１～０．９６）及び「彩度」（０．０４～０．２９）からの変更が、シリウスレッド評価のためになされた。血管系及び人工物は、分析から除外された。

【０３５７】

ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａの肝臓遺伝子発現を、定量ＰＣＲによって測定した。

【０３５８】

肝臓ＩＬ－１ｂ、ＭＣＰ－１、及びＭＩＰ－１タンパク質レベルを、多重ＥＬＩＳＡアッセイ（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍａｒｙｌａｎｄ）を用いて定量化した。

【０３５９】

肝臓組織学的スコアの統計的分析を、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ ６（ＧｒａｐｈＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｉｎｃ．，ＵＳＡ）においてボンフェローニの多重比較検定を用いて行った。Ｐ値＜０．０５は、統計的に有意であると見なされた。結果を、平均±ＳＥＭとして表した。群２（ビヒクル）と、以下の群；群３（ＬＩＶＲＱＮＡＣ １，５００ｍｇ／ｋｇ）、群４（ＬＩＶＲＱＮＡＣ ３，０００ｍｇ／ｋｇ）、群５（ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、３，８８５ｍｇ／ｋｇ）、及び（ＬＲＱＮＡＣ、２，４６９ｍｇ／ｋｇ）との間で、比較を行った。

【０３６０】

体重及び肝臓重量

１６週間にわたって、フルクトース（ＷＤＦ）を補充した西洋型食を供給することにより、対照を供給された動物と比較して、体重に対する有意な効果を誘発した。試験薬剤の投与の前に、ＷＤＦを供給された動物は、対照食を供給された動物と比較して、有意に重かった（４７．６±０．４５対４３．９±１．０３ｇ；ｐ＜０．０１）。

【０３６１】

体重は、全ての処理群においてベースライン値と比較して減少し；ビヒクルと比較して体重減少の有意差はなかった（対照、ビヒクル、ＬＩＶＲＱＮＡＣ（１５００ｍｇ／ｋｇ）、ＬＩＶＲＱＮＡＣ（３０００ｍｇ／ｋｇ）、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＲＱＮＡＣ、及びＯＣＡについてそれぞれ、－７．６±０．９、－６．９±１．３、－６．８±１．４、－５．７±１．２、－６．４±１．０、－４．７±１．６及び－３．９±１．５％；ｐ＜０．４９９２）。

【０３６２】

肝臓重量（％体重）は、対照食と比較してＷＤＦを供給されたビヒクル処理動物において有意に多かったが（７．２２±０．３対５．０５±０．２４％；ｐ＜０．０００１）；ＷＤＦを供給された動物において、ビヒクルと比較して有意な効果は、いずれの処理群においても示されなかった（ビヒクル、ＬＩＶＲＱＮＡＣ（１５００ｍｇ／ｋｇ）、ＬＩＶＲＱＮＡＣ（３０００ｍｇ／ｋｇ）、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、ＬＲＱＮＡＣ、及びＯＣＡについてそれぞれ、７．２２±０３、７．１４±０．３、７．１９±０．２６、６．６９±０．１８、７．０２±０．５及び６．８１±０．２；ｐ＜０．７４５０）。

【０３６３】

肝組織像

対照食を供給されたＦＡＴＺＯマウスは、軽度の脂肪症を発症し、炎症、肝細胞風船様腫大、又は線維症を発症しなかった（図７）。ＷＤＦを供給され、且つビヒクルで処理されたＦＡＴＺＯマウスは、重篤な脂肪症、軽度の炎症、肝細胞風船様腫大、及び線維症を発症した。ビヒクル群における主に大滴性（ｍａｃｒｏｖｅｓｉｃｕｌａｒ）脂肪症と対

照的に、主に小滴性（ｍｉｃｒｏｖｅｓｉｃｕｌａｒ）及び低下した大滴性脂肪症の混合が、図８に示されるように、ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣ群において観察された。

【０３６４】

ＮＡＦＬＤ活動性スコアは、固定した肝組織における脂肪症（０～３）、炎症（０～３）、及び肝細胞風船様腫大（０～２）の組織学的採点から計算される。ＷＤＦを供給された動物において、全てのアミノ酸組成物処理は、ビヒクル処理群と比較して、ＮＡＳの有意な軽減をもたらした（図９）。ＬＩＶＲＱＮＡＣ及びアミノ酸組成物処理は、ビヒクルと比較して、肝臓脂肪症を軽減したが、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣのみが統計的有意性（ｐ＜０．０５）に達した一方、ＬＩＶＲＱＮＡＣは達しなかった（ＬＩＶＲＱＮＡＣ　３．０ｇ／ｋｇ、ｐ＝０．１２）。全てのアミノ酸組成物処理は、脂肪毒性及び細胞死のバイオマーカーである、肝細胞風船様腫大を有意に緩和した。アミノ酸組成物処理は、肝臓炎症を有意に変化させなかった。結論として、肝臓病変のアミノ酸組成物に関連する改善は、主に、肝細胞風船様腫大の緩和に起因している。

【０３６５】

ビヒクルと比較して、ＮＡＳスコア及びＮＡＳ構成要素に対するＯＣＡの有意な効果はなかった。

【０３６６】

【表６４】

肝臓病変	**ビヒクル**	**LIVRQNAC 1.5 g/kg**	**LIVRQNAC 3.0 g/kg**	**LIVRQNAC+G**	**LRQNAC**	**OCA**
NAS	3.65±0.183	2.70±0.213	2.89±0.111	2.83±0.186	2.72±0.147	3.72±0.147
脂肪症	1.8±0.133	1.6±0.163	1.44±0.176	1.33±0.167	1.33±0.167	1.78±0.147
炎症	0.9±0.1	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
肝細胞風船様腫大	0.95±0.05	0.1±0.1	0.44±0.176	0.50±0.144	0.39±0.111	0.94±0.056

【０３６７】

肝臓遺伝子発現

ＭＣＰ－１（ＣＣＬ２）及びＭＩＰ－１ａ（ＣＣＬ３）は、マクロファージ及び好中球動員によって肝臓炎症を媒介する炎症性ケモカインである。ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａは、ＮＡＳＨにおける肝線維症を治療するための有望な治療標的である、それぞれＣＣＲ２及びＣＣＲ５のリガンドである。肝臓におけるＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａ　ＲＮＡ発現レベルは、表４９及び５０に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、ＷＤＦを供給されたマウスにおいて有意に上方制御された。

【０３６８】

【表６５】

表 49. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 mRNA レベルの倍率変化

MCP-1	**対照食**	**ビヒクル**	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	0.1457	1.079	1.396	0.6102	0.8777
SEM	0.0291	0.1956	0.3414	0.09597	0.2315

【０３６９】

【表６６】

表 50. アミノ酸組成物の投与後の MIP-1a mRNA レベルの倍率変化

MIP-1a	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	0.08328	1.194	1.67	0.814	1.514
SEM	0.02141	0.25	0.3366	0.1029	0.525

【０３７０】

ＬＩＶＲＱＮＡＣ及びＬＲＱＮＡＣ処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａ　ＲＮＡ発現を有意に変化させなかった。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ処理は、ビヒクル群（ｐ＝０．０５４）及びＬＩＶＲＱＮＡＣ群（ｐ＜０．０５）と比較して、肝臓ＭＣＰ－１　ＲＮＡ発現をわずかに低下させた。同様に、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓ＭＣＰ－１　ＲＮＡ発現をわずかに低下させたが、差は有意でなかった（ｐ＝０．１９）及びＬＩＶＲＱＮＡＣ群（ｐ＜０．０５）。

【０３７１】

肝臓ケモカイン及びサイトカイン

ＲＮＡデータと一致して、肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａタンパク質レベルは、表５１及び５２に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、ＷＤＦを供給されたマウスにおいて上昇された。

【０３７２】

【表６７】

表 51. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 MCP-1 タンパク質レベル

MCP-1	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	41.47	278.3	392	221.1	247.1
SEM	7.463	61.41	83.97	36.6	75.16

【０３７３】

【表６８】

表 52. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 MIP-1a タンパク質レベル

MIP-1a	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	23.16	191.8	282.9	142.8	141.1
SEM	5.429	30.03	58.88	17.04	24.36

【０３７４】

肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａタンパク質レベルも、表５３及び５４に示されるように、ＲＮＡ発現レベルと正に相関していた。

【０３７５】
【表６９】

表 53. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 タンパク質及び RNA レベルの間の相関

対照食	y=0.0022x+0.0542	R2=0.3202
ビヒクル	y=0.0029x+0.3316	R2=0.7986
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	y=0.0036x+0.0144	R2=0.7831
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	y=0.0018x+0.2542	R2=0.3988
LRQNAC (2469 mg/kg)	y=0.0027x+0.2969	R2=0.6857

【０３７６】
【表７０】

表 54. アミノ酸組成物の投与後の MIP-1a タンパク質及び RNA レベルの間の相関

対照食	y=0.001x+0.0593	R2=.069
ビヒクル	y=0.0057x+0.191	R2=0.4202
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	y=0.0051x+0.2334	R2=0.7887
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	y=0.0045x+0.1817	R2=0.4403
LRQNAC (2469 mg/kg)	y=0.0064x+0.1814	R2=0.4875

【０３７７】
ＬＩＶＲＱＮＡＣ及びＬＲＱＮＡＣ処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａタンパク質レベルを有意に変化させなかった。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ処理は、ＬＩＶＲＱＮＡＣ群と比較して、肝臓ＭＣＰ－１（ｐ＝０．０９５）及びＭＩＰ－１ａ（ｐ＜０．０５）タンパク質レベルをわずかに低下させた。さらに、肝臓ＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａタンパク質レベルは、表５５に示されるように、正に相関していた。
【０３７８】
【表７１】

表 55. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 及び MIP-1a タンパク質レベルの間の相関

対照食	y=0.6803x-5.0537	R2=0.8744
ビヒクル	y=0.389x+83.574	R2=0.6325
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	y=0.6615x+23.609	R2=0.8903
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	y=0.4437x+44.728	R2=0.9082
LRQNAC (2469 mg/kg)	y=0.3108x+75.901	R2=0.9241

【０３７９】
肝臓における炎症性サイトカインＩＬ－１ｂ、ＩＬ－６、ＴＮＦａ、及びＣＸＣＬ１タ

ンパク質レベルは、表５６～５９に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、ＷＤＦを供給されたマウスにおいて上昇された。

【０３８０】

【表７２】

表 56. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 IL-1b タンパク質レベル

IL-1b	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	10.53	22.31	22.11	14.42	28.85
SEM	1.248	6.063	5.739	3.299	10.41

【０３８１】

【表７３】

表 57. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 IL-6 タンパク質レベル

IL-6	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	5.838	8.452	7.298	5.77	6.71
SEM	0.3536	2.723	2.043	1.06	1.625

【０３８２】

【表７４】

表 58. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 CXCL1 タンパク質レベル

CXCL1	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	41.42	105.9	119.6	77.77	84.9
SEM	2.487	13.26	26.15	8.023	10.49

【０３８３】

【表７５】

表 59. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 TNFα タンパク質レベル

TNFa	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	1.703	3.71	4.574	2.974	4.119
SEM	0.5641	0.4647	0.5654	0.1513	0.8341

【０３８４】
ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ、及びＬＲＱＮＡＣ処理は、ビヒクルと比較して、ＩＬ－１ｂ、ＩＬ－６、ＴＮＦａ、及びＣＸＣＬ１タンパク質レベルを有意に変化させなかった。肝臓ＴＮＦａレベルは、ＬＩＶＲＱＮＡＣと比較して、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ処理によって低下された。
【０３８５】
概要
臨床的観察に基づいて、ＷＤＦを供給されたＦＡＴＺＯマウスは、対照食を供給されたマウスより体重を増加させた。食事摂取状態の血糖値は、体重変化の差にもかかわらず、ＷＤＦを供給されたマウスと対照食を供給されたマウスとの間で同等であった。全ての処理は、ＦＡＴＺＯマウスにおいて良好な忍容性を示した。ＷＤＦを供給されたマウス及び対照食を供給されたマウスは両方とも、治療期間中に体重を減少させ、これは、１日２回の強制経口投与による被験物質又はビヒクルの投与に関連するストレスに起因し得る。
【０３８６】
ＮＡＳは、主に肝細胞風船様腫大スコアに起因して、ビヒクルと比較して、全てのアミノ酸組成物処理群において有意に緩和された。肝細胞風船様腫大は、全てのアミノ酸組成物処理群において有意に軽減された。脂肪症は、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣ処理群において有意に軽減された。ＬＩＶＲＱＮＡＣも、脂肪症を低下させたが、差は有意でなかった。炎症は、アミノ酸組成物処理によって影響されなかった。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣ処理群における脂肪症スコアの組織学的改善にもかかわらず、肝臓トリグリセリド、コレステロール、及びオイルレッドＯ染色は、アミノ酸組成物処理によって変化されないままであった。組織学的及び生化学的データと一致して、デノボ脂質生成酵素ＦＡＳＮ及びＡＣＡＣＡ　ＲＮＡレベルは、アミノ酸組成物処理によって影響されなかった。
【０３８７】
肝臓トリグリセリドレベルは、アミノ酸組成物処理によって影響されなかったが、肝細胞脂肪症の特徴は、アミノ酸組成物処理により変化された。ＷＤＦを供給されたマウス（ビヒクル群）の肝臓は、主に、大滴性脂肪症を示した。対照的に、大滴性脂肪症は減少され、全てのアミノ酸組成物処理群において小滴性及び大滴性脂肪症の混合であった。大滴性ないし小滴性脂肪症表現型におけるアミノ酸組成物の生物学的意味及び機構は、さらに調査する価値がある。
【０３８８】
ＮＡＦＬＤのＦＡＴＺＯモデルにおける肝線維症スコアは、高用量ではなく低用量でのＬＩＶＲＱＮＡＣ処理によって有意に緩和された。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣは、線維症に対する効果を与えなかった。それにもかかわらず、シリウスレッドコラーゲン染色は、ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣが、肝臓におけるコラーゲン沈着を有意に減少させたことを示した。
【０３８９】
肝臓炎症スコアと一致して、炎症性ケモカインＭＣＰ－１及びＭＩＰ－１ａ及びサイトカインＩＬ－１ｂ、ＩＬ－６、ＴＮＦａ、及びＣＸＣＬ１の肝臓ＲＮＡ及びタンパク質レベルは、アミノ酸組成物処理によって有意に影響されなかった。ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ（ＬＩＶＲＱＮＡＣ及びグリシンに相当する）処理が、ＬＩＶＲＱＮＡＣと比較して、肝臓ＭＣＰ－１、ＭＩＰ－１ａ、及びＴＮＦａを低下させたことに留意することは興味深い。
【０３９０】
炎症に関連して増加した肝臓の酸化的ストレスが、ＮＡＦＬＤ及びＮＡＳＨの間で観察された。グルタチオン（ＧＳＨ）は、活性酸素種を抑え得る、極めて重要な内因性酸化防止剤である。グリシン及びその直接の代謝前駆体であるセリンは、ＧＳＨ生合成の基質である。したがって、セリン及び／又はグリシン補給は、ＧＳＨを補充するのを助け、ＮＡＦＬＤ及びＮＡＳＨを改善する。ＬＩＶＲＱＮＡＣＧ処理は、肝臓における炎症ケモカイン及びサイトカインを低下させ、これは、グリシン又はセリンの補給が、ＮＡＦＬＤ及び

ＮＡＳＨにおいて有益であることを示唆している。
【０３９１】
結論として、ＦＡＴＺＯマウスにおいて試験される３つ全てのアミノ酸組成物（ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ＋Ｇ及びＬＲＱＮＡＣ）は、ＮＡＦＬＤ活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症を緩和する。これらのアミノ酸組成物は、ＮＡＳＨを治療するのに使用され得る。グリシン含有アミノ酸組成物は、肝臓炎症をさらに軽減することができ、これにより、肝線維症の軽減をもたらす。
【０３９２】
実施例９．アミノ酸組成物による対象の処理
本明細書に記載される試験は、２型糖尿病（Ｔ２ＤＭ）及び非アルコール性脂肪肝疾患（ＮＡＦＬＤ）に罹患した対象への、アミノ酸を含む組成物の投与を特徴とする。このプレＩＮＤ及びＩＲＢ承認試験の目的は、投与の６週間及び１２週間後に、線維症、炎症、インスリン感受性、グルコース及び脂質代謝、及びアポトーシスの様々なマーカーを調べることによって、アミノ酸組成物の安全性及び忍容性並びにヒト生理学の構造及び機能に対するその影響を決定することであった。組成物は、１日３回の４つのスティックパックの投与（例えば、１日に合計で約７２ｇ、又は約２４ｇを１日３回）のために、スティックパケット当たり、約１ｇのＬ－ロイシン、約０．５ｇのＬ－イソロイシン、約０．５ｇのＬ－バリン、約１．５ｇのＬ－アルギニン（又は１．８１ｇのＬ－アルギニンＨＣｌ）、約２．０ｇのＬ－グルタミン、及び約０．１５ｇのＮ－アセチルシステインを含んでいた。
【０３９３】
この試験において、対象に、１２週間にわたって１日３回、アミノ酸組成物を与えた。アミノ酸を、１２オンスの水に溶解されるべき粉末形態で提供した。参加者に、１２週間の試験期間にわたってアミノ酸組成物を与えた。
【０３９４】
この試験の主要評価項目は、安全性及び忍容性であった。二次評価項目は、代謝、炎症及び線維症に関連するバイオマーカーによって、ヒト生理学に対する影響を調べることであった。評価を、ベースライン（１日目）、試験の６週、及び１２週の時点で行った。
【０３９５】
対象を選択するための主要な基準は、以下を含んでいた：１８歳以上７０歳以下の男性又は女性；書面によるインフォームド・コンセントを提供する意思があり、提供できる；スクリーニングの時点で６．５％以上及び１０％未満のＴ２ＤＭ又はヘモグロビンＡ１ｃ（ＨｂＡ１ｃ）の病歴；以下の基準の１つによる脂肪肝疾患の実証：ａ．以下の方法の少なくとも１つによって３か月のスクリーニング中に確認された脂肪症の前歴：８％以上のＰＤＦＦを有するＭＲＩによる肝臓脂肪；３００ｄＢ／ｍ以上の制御減衰パラメータ（Ｃｏｎｔｒｏｌ　Ａｔｔｅｎｕａｔｉｏｎ　Ｐａｒａｍｅｔｅｒ）を有するフィブロスキャン（Ｆｉｂｒｏｓｃａｎ）；グレードＩを超える非ＮＡＳＨ　ＮＡＦＬＤ脂肪症を示す肝臓生検。患者が、（４ａに示されるように）３か月のスクリーニング中に脂肪症のこの実証された前歴を有さない場合、１０％以上の肝臓脂肪スコアが、下式を用いて、スクリーニング時に実証されなければならない：
予測される肝臓脂肪パーセント＝１０＾（－０．８０５＋（０．２８２＊メタボリック・シンドローム［あり＝１／なし＝０］）＋（０．０７８＊２型糖尿病［あり＝２／なし＝０］）＋（０．５２５＊ｌｏｇ１０（インスリンｍＵ／Ｌ））＋（０．５２１＊ｌｏｇ１０（ＡＳＴ　Ｕ／Ｌ））－（０．４５４＊ｌｏｇ１０（ＡＳＴ／ＡＬＴ））３４
注記：インスリン、ＡＬＴ及びＡＳＴは、空腹時の血清試料において測定されるべきである。対象は、大きな体重の変動がなく、スクリーニング前の３か月以内に、運動、食事及び生活様式の一定の習慣がなければならず、すなわち、対象は、スクリーニングの時点で、過去３か月間にわたって体重の±３％以内であるべきである。スクリーニングの時点で３２ｋｇ／ｍ２以上のボディマス指数（ＢＭＩ）。ＭＲＩ機器が４５ｋｇ／ｍ２以上のＢＭＩを有する患者に対応できない部位については、４０～４５ｋｇ／ｍ２の上限が適用さ

れ得る。患者は、スクリーニング前の少なくとも３か月間にわたってグルコースを低下させる薬剤（メトホルミン、スルホニル尿素、ジペプチジルペプチダーゼ－４［ＤＰＰ－４］阻害剤、ナトリウム－グルコース共輸送体２［ＳＧＬＴ２］阻害剤、又は長時間作用型基礎インスリンを含み得る）の一定の用量を継続し、試験期間にわたってそれらの薬剤の予測される用量の調節なしに同じ薬剤を服用し続ける予定でなければならない。除外される糖尿病関連の薬剤の詳細な一覧については、以下のセクション８を参照されたい。対象が、高血圧治療薬（例えば、β遮断薬、ヒドロクロロチアジド、ＡＣＥ阻害剤、アンジオテンシン受容体遮断薬）、脂質異常症のための薬剤（例えば、スタチン、フィブラート系薬）、及び甲状腺機能低下症のための薬剤（例えば、レボチロキシン）で同時に治療される場合、スクリーニング前の少なくとも３か月間にわたってこれらの薬剤の一定の用量及び投与計画を継続しており、試験期間にわたってそれらの薬剤の予測される用量の調節なしに同じ薬剤を服用し続ける予定である限り、その対象は試験に含まれ得る。対象は、ビタミン補充剤（例えば、マルチビタミン；ビタミンＥ＜４００ＩＵ／日）を服用し続けていてもよい。しかしながら、対象は、試験期間にわたって予測される用量の調節なしにスクリーニング前の少なくとも３か月間にわたってこれらのビタミン補充剤の一定の用量及び投与計画を継続していなければならない。妊娠の可能性がある女性対象は、スクリーニングの時点で血清妊娠検査陰性を有さなければならず、全試験期間中及び治験薬の最後の投与の後３０日間にわたって、異性との性交渉の際に極めて有効な避妊方法に同意し、使用しなければならない。妊娠の可能性は、無月経の期間を有する、子宮摘出、両側卵巣摘出を受けていないか、若しくは卵巣不全が医学的に確認されていない女性対象、又は５０歳未満の女性を指す。

【０３９６】

ＬＩＶＲＱＮＡＣは、炎症及びアポトーシスを抑制する。アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）の血清中レベルを、ベースライン（１日目）並びに２、６及び１２週（Ｗ２、Ｗ６及びＷ１２）の時点で測定した。ベースラインから６及び１２週への血清ＡＬＴ＋／－ＳＥＭの平均変化が、示される数の対象において、図１０Ａ（ＩＵ／ｍｌ）に示される。さらに、Ｃ－反応性タンパク（ＣＲＰ）を測定し、平均値＋／－ＳＥＭが、１日目、６週及び１２週について示される（図１０Ａ）。サイトケラチン１８（ＣＫ－１８）Ｍ６５の血漿中レベルを測定し、平均レベル＋／－ＳＥＭが、図１０Ｂに示される。アミノ酸組成物による処理は、ＣＫ－１８　Ｍ６５の平均レベルを低下させた（図１０Ｂ、Ｕ／Ｌ、平均＋／－ＳＥＭ）。

【０３９７】

ＡＬＴ、ＣＲＰ及びＣＫ－１８　Ｍ６５は全て、ＬＩＶＲＱＮＡＣ処理による低下を示し、これは、炎症及びアポトーシスに対するアミノ酸組成物の抑制効果を裏付けている。

【０３９８】

この試験からの知見は、アミノ酸組成物が、好ましい安全性及び忍容性プロファイルを有し、炎症に関連するヒト身体の構造及び機能についてのバイオマーカーに影響を与えることを裏付けている。

【０３９９】

実施例１０．初代ヒトマクロファージにおける抗炎症性ケモカイン分泌

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）の単離

リンパ球を、リンパ球分離培地（Ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ　Ｓｅｐａｒａｔｉｏｎ　Ｍｅｄｉｕｍ）（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を用いて非精製バフィーコート（Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ）から精製した。遠心分離の後、ＰＢＭＣ層を抽出し、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（ＤＰＢＳ；Ｇｉｂｃｏ）を用いて数回すすいだ。７０ｕＭのセルストレーナー（ｃｅｌｌ　ｓｔｒａｉｎｅｒ）に通してＰＢＭＣをろ過した後、細胞を再懸濁させ、Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ　Ｋ２自動セルカウンターを用いて計数した。

【０４００】

ＣＤ１４＋細胞の選択

ＣＤ１４＋細胞を、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって、ＥａｓｙＳｅｐ（

商標）Ｈｕｍａｎ　ＣＤ１４　Ｐｏｓｉｔｉｖｅ　Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ　Ｋｉｔ　ＩＩ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて選択した。単離の後、ＣＤ１４＋細胞を、１０ｃｍの組織培養プレートに播種し、Ｍ－ＣＳＦ（Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）を用いてマクロファージへと分化させた。

【０４０１】

スクリーン

０日目に、初代ヒトＰＢＭＣ由来マクロファージを、９６ウェルマイクロプレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）中で、ペニシリン－ストレプトマイシン（Ｈｙｃｌｏｎｅ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（ＨＩ－ＦＢＳ）（Ａｔｌａｎｔａ　Ｂｉｏ）を補充したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｇｉｂｃｏ）中に播種し、３７℃、５％のＣＯ２で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を、ＤＰＢＳで１回洗浄し、次に、以下のもので処理した：

ａ．Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＨＭＤＢ）に公開されている値に基づいた血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を、６ｍＭのグルコース、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ、ペニシリン－ストレプトマイシンとともに含有するアミノ酸不含ＤＭＥＭ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）；又は

ｂ．様々な濃度の１つのアミノ酸又はアミノ酸の組合せを含む、上述される同じ培地。

【０４０２】

２日目に、細胞を、組み換えヒトインターロイキン－４（ＩＬ－４；Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）を補充した上述される同じ培地で処理した。対照ウェルを、トファシチニブ（Ｔｏｃｒｉｓ）及びＩＬ－４、ＩＬ－４とＰＢＳ、又はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）単独で処理した。

【０４０３】

３日目に、上清を収集し、－８０℃の冷凍庫中で直ぐに凍結させた。細胞をＤＰＢＳで１回洗浄し、生存率を、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって、ＷＳＴ－８細胞増殖細胞毒性アッセイ（Ｄｏｊｉｎｄｏ）を用いて評価した。アッセイの後、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、４％のパラホルムアルデヒドで固定した。上清試料におけるタンパク質レベルを、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって、市販のキット（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて、ＣＣＬ１８についてＥＬＩＳＡによって分析した。

【０４０４】

ドナー１（表６０）において、グルタミン、ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＩＬ－４誘導性ＣＣＬ１８分泌を有意に増加させた。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、全ての統計的分析について行った。平均値が、ビヒクル対照と比べた倍率変化として表される。

【０４０５】

【表７６】

表60. CCL18測定: ドナー1

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー1 CCL18 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	0.949097	0.598349	3	0.9968	有意差なし
バリン	11710	1.442409	0.142735	3	0.0813	有意差なし
バリン	4684	1.264206	0.075478	3	0.4598	有意差なし
バリン	234	1.10856	0.11892	3	0.9481	有意差なし
アルギニン	5440	1.277168	0.06012	3	0.4170	有意差なし
アルギニン	2720	1.120927	0.106869	3	0.9256	有意差なし
アルギニン	1088	1.067855	0.071542	3	0.9903	有意差なし
アルギニン	109	1.131121	0.088602	3	0.9037	有意差なし
グルタミン	22484	1.992111	0.205574	3	0.0001	****
グルタミン	11242	1.645228	0.04602	3	0.0046	**
グルタミン	3747	1.492332	0.037262	3	0.0436	*
グルタミン	749	1.38233	0.127492	3	0.1594	有意差なし
イソロイシン	6639	0.982295	0.267407	3	0.9999	有意差なし
イソロイシン	3320	1.18097	0.235385	3	0.7576	有意差なし
イソロイシン	1328	1.119781	0.089333	3	0.9278	有意差なし
イソロイシン	66	1.069981	0.007126	3	0.9892	有意差なし
ロイシン	15270	1.227009	0.12341	3	0.5918	有意差なし
ロイシン	7635	1.24668	0.146598	3	0.5207	有意差なし
ロイシン	3054	1.302176	0.095687	3	0.3406	有意差なし
ロイシン	153	1.124073	0.017644	3	0.9191	有意差なし

【０４０６】

【表７７】

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	4.441526	0.147629	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	3.984574	0.316381	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	3.484273	0.26935	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	2.981642	0.863991	3	0.0001	****
LIV	40	0.893309	0.081797	3	0.9509	有意差なし
LIV	30	1.009683	0.044004	3	0.9999	有意差なし
LIV	20	0.951498	0.094607	3	0.9972	有意差なし
LIV	10	1.013561	0.005812	3	0.9999	有意差なし
LIVRQ	40	1.757036	0.150196	3	0.0007	***
LIVRQ	30	1.453082	0.085012	3	0.0715	有意差なし
LIVRQ	20	1.420764	0.124431	3	0.1046	有意差なし
LIVRQ	10	1.409382	0.134088	3	0.1190	有意差なし
RQNAC	40	3.752149	0.534515	3	0.0001	****
RQNAC	30	3.274799	0.471915	3	0.0001	****
RQNAC	20	3.186935	0.551805	3	0.0001	****
RQNAC	10	2.099917	0.357559	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	40	2.463969	0.125333	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	20	2.205906	0.196915	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	10	1.978978	0.053168	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	4	1.83131	0.222042	3	0.0002	***

【０４０７】

ドナー２（表６１）において、グルタミン、バリン、イソロイシン、ロイシン、ＬＩＶ、ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱ、ＲＱＮＡＣ、及びＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＩＬ－４誘導性ＣＣＬ１８分泌を有意に増加させた。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、全ての統計的分析について行った。平均値が、ビヒクル対照と比べた倍率変化として表される。

【０４０８】

【表７８】

表61. CCL18測定: ドナー2

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー2 CCL18 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	2.26873	0.426201	3	0.0001	****
バリン	11710	1.997707	0.319821	3	0.0001	****
バリン	4684	1.545414	0.211411	3	0.0104	*
バリン	234	1.255086	0.108673	3	0.4151	有意差なし
アルギニン	5440	1.089235	0.096545	3	0.9644	有意差なし
アルギニン	2720	1.031317	0.039625	3	0.9991	有意差なし
アルギニン	1088	0.984588	0.004732	3	0.9999	有意差なし
アルギニン	109	0.963449	0.041279	3	0.9987	有意差なし
グルタミン	22484	2.219421	0.253955	3	0.0001	****
グルタミン	11242	1.857035	0.091108	3	0.0001	****
グルタミン	3747	1.558991	0.215362	3	0.0082	**
グルタミン	749	1.399911	0.080426	3	0.0882	有意差なし
イソロイシン	6639	1.68467	0.079968	3	0.0008	***
イソロイシン	3320	1.502686	0.126432	3	0.0205	*
イソロイシン	1328	1.460502	0.117241	3	0.0387	*
イソロイシン	66	1.203846	0.060914	3	0.6101	有意差なし
ロイシン	15270	1.711979	0.232592	3	0.0005	***
ロイシン	7635	1.824637	0.120047	3	0.0001	****
ロイシン	3054	1.646257	0.154302	3	0.0017	**
ロイシン	153	1.488186	0.106079	3	0.0257	*

【０４０９】

【表７９】

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	5.989243	0.200088	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	5.743413	0.553726	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	5.196535	0.222808	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	3.972502	0.131113	3	0.0001	****
LIV	40	1.733309	0.225744	3	0.0003	***
LIV	30	1.740156	0.091833	3	0.0003	***
LIV	20	1.680526	0.202456	3	0.0009	***
LIV	10	1.504982	0.224823	3	0.0198	*
LIVRQ	40	3.522854	0.443397	3	0.0001	****
LIVRQ	30	3.787171	0.27209	3	0.0001	****
LIVRQ	20	3.621162	0.346938	3	0.0001	****
LIVRQ	10	2.714177	0.279719	3	0.0001	****
RQNAC	40	3.462184	0.627092	3	0.0001	****
RQNAC	30	3.705562	0.221302	3	0.0001	****
RQNAC	20	2.866573	0.237298	3	0.0001	****
RQNAC	10	2.627548	0.33665	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	40	1.516661	0.150969	3	*	0.0165
N-アセチルシステイン	20	1.16878	0.135278	3	有意差なし	0.7479
N-アセチルシステイン	10	1.293193	0.087408	3	有意差なし	0.2937
N-アセチルシステイン	5	1.325934	0.147582	3	有意差なし	0.2104

【０４１０】

ドナー３（表６２）において、グルタミン、ロイシン、ＬＩＶＲＱＮＡＣ、ＬＩＶＲＱ、及びＲＱＮＡＣによる処理は、初代ヒト単球由来マクロファージにおけるＩＬ－４誘導性ＣＣＬ１８分泌を有意に増加させた。二元ＡＮＯＶＡダネットの多重比較を、全ての統計的分析について行った。平均値が、ビヒクル対照と比べた倍率変化として表される。

【０４１１】

【表８０】

表62. CCL18測定: ドナー3

アミノ酸補充剤	濃度 (μM)	ドナー3 CCL18 測定				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	1.081528	0.116802	3	0.9821	有意差なし
バリン	11710	0.997602	0.067916	3	0.9999	有意差なし
バリン	4684	0.978143	0.151477	3	0.9998	有意差なし
バリン	234	0.789648	0.082491	3	0.6660	有意差なし
アルギニン	5440	1.205901	0.128266	3	0.6822	有意差なし
アルギニン	2720	1.207998	0.069955	3	0.6745	有意差なし
アルギニン	1088	0.913127	0.102233	3	0.9776	有意差なし
アルギニン	109	1.138134	0.101839	3	0.8927	有意差なし
グルタミン	22484	2.329991	0.154623	3	0.0001	****
グルタミン	11242	2.428446	0.226999	3	0.0001	****
グルタミン	3747	1.606457	0.317894	3	0.0100	*
グルタミン	749	1.560256	0.020296	3	0.0196	*
イソロイシン	6639	1.111076	0.05214	3	0.9471	有意差なし
イソロイシン	3320	1.430672	0.503605	3	0.1017	有意差なし
イソロイシン	1328	1.025862	0.007048	3	0.9998	有意差なし
イソロイシン	66	1.055722	0.085925	3	0.9958	有意差なし
ロイシン	15270	1.192795	0.081987	3	0.7281	有意差なし
ロイシン	7635	1.557514	0.074782	3	0.0204	*
ロイシン	3054	1.502025	0.208156	3	0.0430	*
ロイシン	153	1.24163	0.054612	3	0.5537	有意差なし

【０４１２】

【表８１】

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	3.746867	0.225237	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	4.327635	0.249607	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	4.253952	0.286925	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	3.809616	0.80323	3	0.0001	****
LIV	40	1.192795	0.081987	3	0.1763	有意差なし
LIV	30	1.557514	0.074782	3	0.0991	有意差なし
LIV	20	1.502025	0.208156	3	0.0816	有意差なし
LIV	10	1.24163	0.054612	3	0.1440	有意差なし
LIVRQ	40	1.192795	0.081987	3	0.0001	****
LIVRQ	30	1.557514	0.074782	3	0.0001	****
LIVRQ	20	1.502025	0.208156	3	0.0001	****
LIVRQ	10	1.24163	0.054612	3	0.0001	****
RQNAC	40	1.192795	0.081987	3	0.0506	有意差なし
RQNAC	30	1.557514	0.074782	3	0.0001	****
RQNAC	20	1.502025	0.208156	3	0.0001	****
RQNAC	10	1.24163	0.054612	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	40	1.887336	0.246217	3	0.2820	有意差なし
N-アセチルシステイン	20	1.811696	0.225173	3	0.4453	有意差なし
N-アセチルシステイン	10	1.67011	0.140422	3	0.8101	有意差なし
N-アセチルシステイン	5	1.324166	0.169128	3	0.9750	有意差なし

【０４１３】

実施例１１．炎症を調べるために肝臓微小環境を再現するための三種共培養モデル

細胞播種及び維持

肝臓の３つの主要な細胞型（肝細胞、肝臓マクロファージ及び肝星細胞）を含む三種共培養モデルを構築して、炎症に対するアミノ酸の組合せＬ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＮ－アセチルシステイン（ＬＩＶＲＱＮＡＣ）の影響を評価した。

【０４１４】

９６ウェル又は１２ウェルのトランスウェル（ｔｒａｎｓｗｅｌｌ）（ｃｏｒｎｉｎｇ

）を用いて、健常なドナーから単離された肝細胞、マクロファージ及び肝星細胞を共培養した。Ｓａｍｓａｒａ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓから入手し、Ｔ１５０フラスコ中で約８０％コンフルエンスになるまで完全ＨＳＣ培地中で成長された初代ヒト肝星細胞を、コラーゲンで予め被覆されたトランスウェル（Ｃｏｒｎｉｎｇ）の膜の下面に播種した。

【０４１５】

肝星細胞を播種した後、初代ヒトＰＢＭＣ由来マクロファージも、膜の下面に加えた。Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ中で、両方の細胞を、１０％の熱で不活性化したＦＢＳ（Ａｔｌａｎｔａ　Ｂｉｏ）、２ｍＭのＧｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）、及び０．２％のＰｒｉｍｏｃｉｎ（ＩｎＶｉｖｏＧｅｎ）を補充した肝細胞平板培養培地（ウイリアムＥ培地（Ｇｉｂｃｏ）中で平板培養し、３７℃、５％のCO_2で６時間インキュベートした。

【０４１６】

６時間のインキュベーションの後、健常なヒトドナーからの初代肝細胞を、トランスウェルの上面におけるコラーゲンゲルに播種した。三種共培養を、上述される肝細胞平板培養培地中で、３７℃、５％のCO_2でインキュベートした。６時間後、細胞を１回洗浄し、肝細胞平板培養培地中で、３７℃、５％のCO_2で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を１回洗浄し、２ｍＭのＧｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）、及び１×ペニシリン／ストレプトマイシン（Ｐ／Ｓ）を補充した肝細胞用規定培地（Ｃｏｒｎｉｎｇ）中で、３７℃、５％のCO_2で一晩インキュベートした。

【０４１７】

アミノ酸前処理

２日目に、細胞を、ＤＰＢＳ　１×（Ｇｉｂｃｏ）で２回洗浄し、

ａ．１１ｍＭのグルコース（Ｓｉｇｍａ）、０．２７２ｍＭのピルビン酸ナトリウム（Ｓｉｇｍａ）、１×Ｐ／Ｓ（Ｇｉｂｃｏ）を補充した、血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を含有するアミノ酸不含ＷＥＭ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）；又は

ｂ．３０倍又は４０倍の所定のアミノ酸組成物ＬＩＶＲＱＮＡＣの１つの濃度を有する、上述される同じ培地

の中で維持した。

【０４１８】

細胞を、３７℃、５％のCO_2で２４時間にわたって規定培地（ａ．及びｂ．）中で維持した。

【０４１９】

遊離脂肪酸及び様々なアミノ酸の組合せによる併用治療

２４時間の前処理の後、細胞を、上述される同じ培地中で維持し、１ｎｇ／ｍｌ±ＬＩＶＲＱＮＡＣのＴＮＦ－α（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ）を補充した２：１（オレエート：パルミテート）の比率を有する２５０ｕＭの遊離脂肪酸（ＦＦＡ）に曝した。３７℃、５％のCO_2での２４時間のインキュベーションの後、培地を、トランスウェルの各側から別々に取り出し、細胞を、さらに４８時間にわたって上述されるのと同じ条件でインキュベートした。

【０４２０】

ＥＬＩＳＡによる２４時間後のサイトカイン／ケモカイン及びプロコラーゲンＩα１分析

９６ウェルのトランスウェルプレートの両側からの上清を用いて、被験物質：ＩＬ６、ＩＬ８、ＭＣＰ１、ＩＰ１０、Ｇｒｏ　α、プロコラーゲンＩα１（ファイアプレックス（ｆｉｒｅｐｌｅｘ）キット、Ａｂｃａｍ）の多重パネルを分析した。ＹＫＬ４０を、ＥＬＩＳＡ（Ｈｕｍａｎ　Ｃｈｉｔｉｎａｓｅ　３－ｌｉｋｅ　１（ＹＫＬ４０）Ｑｕａｎｔｉｋｉｎｅ　ＥＬＩＳＡ、Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ）によって、１２ウェルのトランスウェルプレートから収集された上清から測定した。

【０４２１】

プロコラーゲンＩα１分泌

表６３は、（ＦＦＡ　ＴＮＦα）＋ＦＦＡ＋ＴＮＦαベースラインに対して正規化され

た３０倍のＬＩＶＲＱＮＡＣで処理された肝星細胞によって分泌されるプロコラーゲンＩα１の倍率変化を示す。ｔ検定によって計算された統計的有意性は、ＬＩＶＲＱＮＡＣが、プロコラーゲンＩα１分泌を有意に減少させたことを示す。肝細胞側からのプロコラーゲンＩα１レベルを測定したところ、両方の処理間で差を示さなかった（表６４）。

【０４２２】

【表８２】

表 63. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、30 倍の LIVRQNAC の投与後の三種共培養における肝星細胞によるプロコラーゲン Iα1 分泌の倍率変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	プロコラーゲン Iα1 分泌 (1 倍の倍率変化)				
		平均 (log2)	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	30	-1.2E+00	0.00	3	0.004	*
LIVRQNAC	1	-4.7E-02	0.44	3	該当なし	該当なし

【０４２３】

【表８３】

表 64. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、30 倍の LIVRQNAC の投与後の三種共培養における肝細胞側から測定したプロコラーゲン Iα1 レベルの倍率変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	プロコラーゲン Iα1 分泌 (1 倍の倍率変化)				
		平均 (log2)	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	30	3.4E-02	0.002	3	0.1509	有意差なし
LIVRQNAC	1	-7.5E-05	0.02	3	該当なし	該当なし

【０４２４】

表６５及び６６は、ＦＦＡ＋ＴＮＦα＋ＦＦＡ＋ＴＮＦαベースライン（１倍のＬＩＶＲＱＮＡＣ）に対して正規化された３０倍のＬＩＶＲＱＮＡＣでそれぞれ処理されたマクロファージ及び肝星細胞又は肝細胞側のいずれかによって分泌されるサイトカイン及びケモカインの倍率変化を示す。確立された化学誘引物質特性を有し、ＮＡＳＨ患者において上方制御されることが示されたいくつかの炎症性サイトカイン（ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＰ－１０、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１））及びケモカイン（ＭＣＰ１）を測定した。ｔ検定によって計算される統計的有意性は、３０倍のＬＩＶＲＱＮＡＣによる処理が、１倍の対照ＬＩＶＲＱＮＡＣと比較して、ＩＬ－６、ＩＰ－１０、ＧＲＯα（ＣＸＣＬ１）及びＭＣＰ１レベルを有意に低下させたことを示す。ＩＬ－８レベルも、ＬＩＶＲＱＮＡＣ３０倍で処理されたときに低下されたが、ＬＩＶＲＱＮＡＣ１倍と比較して、統計的有意性を示さなかった。

【０４２５】

【表８４】

表 65. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、30 倍の LIVRQNAC の投与後のマクロファージ及び肝星細胞によるサイトカイン及びケモカイン分泌の倍率変化

サイトカイン/ケモカイン	アミノ酸補充剤	濃度(倍)	平均(log2)	標準偏差	数値	P 値*	有意性
IL-6	LIVRQNAC	30	-2.9E+00	0.16	3	0.0015	**
IL-6	LIVRQNAC	1	-6.3E-05	0.02	3	該当なし	該当なし
IL-8	LIVRQNAC	30	-8.2E-01	0.52	3	0.1409	有意差なし
IL-8	LIVRQNAC	1	-1.0E-02	0.24	3	該当なし	該当なし
IP-10	LIVRQNAC	30	-1.4E+00	0.31	3	0.0069	**
IP-10	LIVRQNAC	1	-2.4E-02	0.33	3	該当なし	該当なし
GROα (CXCL1)	LIVRQNAC	30	-9.4E-01	0.48	3	0.0785	有意差なし
GROα (CXCL1)	LIVRQNAC	1	-2.2E-04	0.04	3	該当なし	該当なし
MCP1	LIVRQNAC	30	-1.4E+00	0.27	3	0.0061	**
MCP1	LIVRQNAC	1	-1.8E-04	0.03	3	該当なし	該当なし

【０４２６】

【表８５】

表 66. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、30 倍の LIVRQNAC の投与後の肝細胞によるサイトカイン及びケモカイン分泌の倍率変化

サイトカイン/ケモカイン	アミノ酸補充剤	濃度(倍)	平均(log2)	標準偏差	数値	P 値*	有意性
IL-6	LIVRQNAC	30	-2.7E+00	0.58	3	0.0018	**
IL-6	LIVRQNAC	1	-1.1E-02	0.23	3	該当なし	該当なし
IL-8	LIVRQNAC	30	-1.4E+00	0.29	3	0.0541	有意差なし
IL-8	LIVRQNAC	1	0.0E+00	0.00	3	該当なし	該当なし
IP-10	LIVRQNAC	30	-2.7E+00	0.26	3	0.0001	****
IP-10	LIVRQNAC	1	-9.3E-04	0.06	3	該当なし	該当なし
GROα (CXCL1)	LIVRQNAC	30	-1.8E+00	0.04	3	0.0002	***
GROα (CXCL1)	LIVRQNAC	1	-2.6E-03	0.11	3	該当なし	該当なし
MCP1	LIVRQNAC	30	-1.6E+00	0.03	3	0.0039	**
MCP1	LIVRQNAC	1	-1.6E-02	0.27	3	該当なし	該当なし

【０４２７】

表６７及び６８は、１倍のＬＩＶＲＱＮＡＣに対して正規化された４０倍のＦＦＡ　ＴＮＦα＋ＬＩＶＲＱＮＡＣで処理されたマクロファージ及び肝星細胞又は肝細胞のいずれかによって分泌されるＹＫＬ－４０の倍率変化を示す。

【０４２８】

ＹＫＬ４０（キチナーゼ－３様タンパク質１［ＣＨＩ３Ｌ１］とも呼ばれる）の血漿中レベルは、ＮＡＳＨを含むいくつかの炎症性疾患において増加される。ＹＫＬ４０血漿中レベルが、線維症の進行を有するＮＡＦＬＤ患者において増加されることが示されている。ｔ検定によって計算される統計的有意性は、４０倍のＬＩＶＲＱＮＡＣが、肝細胞ＹＫＬ４０レベルを有意に低下させることを示す。マクロファージ及び肝星細胞側から測定されたＹＫＬ－４０レベルも、ＬＩＶＲＱＮＡＣ４０倍で処理されたときに低下されたが、ＬＩＶＲＱＮＡＣ１倍による処理と比較して、統計的有意性を示さなかった。

【０４２９】

【表８６】

表 67. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、40 倍の LIVRQNAC の投与後の肝星細胞及びマクロファージによる YKL40 分泌の倍率変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	YKL40 分泌 (1 倍の倍率変化)				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	30	-6.0E-01	0.28	2	0.148	有意差なし
LIVRQNAC	1	-9.2E-03	0.23	2	該当なし	該当なし

【０４３０】

【表８７】

表 68. 1 倍の LIVRQNAC と比較した、40 倍の LIVRQNAC の投与後の肝細胞による YKL40 分泌の倍率変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	YKL40 分泌 (1 倍の倍率変化)				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	30	-1.5E+00	0.13	2	0.0097	**
LIVRQNAC	1	-4.9E-03	0.17	2	該当なし	該当なし

【０４３１】

実施例１２．初代ヒトＭ１マクロファージにおけるＡＴＰ産生速度

マクロファージの活性化は、酸化的リン酸化から解糖への代謝の切り替えを誘導する。この活性化は、解糖、乳酸産生及び解糖系ＡＴＰレベルの増加、並びに（ＴＣＡサイクル基質コハク酸及びクエン酸の増加とともに）ミトコンドリアＡＴＰの減少並びに炎症性サイトカイン及び活性酸素種の増加をもたらす。マクロファージにおけるこのような代謝の変化は、ＮＡＦＬＤ進行の促進に寄与し得る。Ｍ１マクロファージ代謝に対するアミノ酸の組合せＬ－ロイシン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－バリン、Ｌ－アルギニン、Ｌ－グルタミン、及びＮ－アセチルシステイン（ＬＩＶＲＱＮＡＣ）の影響を、リアルタイムＡＴＰ速度アッセイを用いて評価した。

【０４３２】

初代ヒトＰＭＢＣ由来マクロファージを、ペニシリン－ストレプトマイシン（Ｇｉｂｃｏ）及び１０％の熱で不活性化したウシ胎仔血清（ＨＩ－ＦＢＳ）（Ａｔｌａｎｔａ Ｂｉｏ）を補充したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｇｉｂｃｏ）中で、０．１ｍｇ／ｍＬのポリ－Ｄ－リジン（Ｔｒｅｖｉｇｅｎ）で被覆したＳｅａｈｏｒｓｅ Ｘ９６ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ Ｖ３－ＰＳ ＴＣ－Ｔｒｅａｔｅｄプレート（Ａｇｉｌｅｎｔ）中で、ウェル当たり２．０Ｅ４細胞で、０日目に播種し、３７℃、５％のＣＯ２で一晩インキュベートした。１日目に、細胞を、ウェル当たり１５０ｕＬのＤＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）で１回洗浄し、１００ｕＬの以下のもので処理した：

ａ．Ｈｕｍａｎ Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ Ｄａｔａｂａｓｅ（ＨＭＤＢ）に公開されている値に基づいた血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を、６ｍＭのグルコース、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ（Ｓｉｇｍａ）、及びペニシリン－ストレプトマイシン（Ｇｉｂｃｏ）とともに含有するアミノ酸不含

ＤＭＥＭ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）；又は
ｂ．ＨＭＤＢの１５倍又は３０倍のＬＩＶＲＱＮＡＣを用いた、上述される同じ培地。
【０４３３】
２日目に、細胞を、０．１５ｎｇ／ｍＬのリポ多糖（ＬＰＳ）（Ｓｉｇｍａ）を補充した上述される同じ培地１００ｕＬで処理した。対照ウェルを、０．１５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳ、又はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で処理した。
【０４３４】
３日目に、上清を収集し、－８０℃の冷凍庫中で直ぐに凍結させた。細胞を、Ｓｅａｈｏｒｓｅ　ＸＦｅ機器において、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって、市販のキット（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｓｅａｈｏｒｓｅ　ＸＦ　Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ　ＡＴＰ　Ｒａｔｅ　Ａｓｓａｙ　Ｋｉｔ）を用いて、総ＡＴＰ産生速度、解糖系ＡＴＰ産生速度、及びミトコンドリアＡＴＰ産生速度について分析した。Ｈｕｍａｎ　Ｍｅｔａｂｏｌｏｍｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＨＭＤＢ）に公開されている値に基づいた血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を、１０ｍＭのＸＦグルコース（Ａｇｉｌｅｎｔ）、１ｍＭのＸＦピルビン酸（Ａｇｉｌｅｎｔ）、及び５ｍＭのＨＥＰＥＳ（Ｓｉｇｍａ）とともに含有する、フェノールレッド又は炭酸水素ナトリウム（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）を含まない特別なアッセイ培地（アミノ酸不含ＤＭＥＭ／Ｆ１２を使用した。特別なアッセイ培地の緩衝因子を、製造業者に供給されるプロトコルにしたがって決定した。アッセイの後、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、４％のパラホルムアルデヒドで固定した。データを、Ｈｏｅｃｈｓｔ　３３４２（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いて染色される核の数によって決定される特定のウェル当たりの細胞密度に対して正規化した。結果が、以下の表６９～７１に示される。
【０４３５】
【表８８】

表 69. 総 ATP 産生速度の結果

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	総 ATP 測定				
		平均速度 (pmol/分)	標準偏差	数値	P 値	有意性
LIVRQNAC	30	65.31	19.59	5	0.5528	有意差なし
LIVRQNAC	15	74.32	21.47	5	0.7562	有意差なし
LPS、アミノ酸補充剤なし	該当なし	71.08	7.03	5	該当なし	該当なし

【０４３６】

【表８９】

表 70. 解糖系 ATP 測定

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	解糖系 ATP 測定				
		平均速度 (pmol/分)	標準偏差	数値	P 値	有意性
LIVRQNAC	30	0.63	3.06	5	<0.0001	****
LIVRQNAC	15	5.95	3.12	5	0.0004	***
LPS、アミノ酸補充剤なし	該当なし	16.80	2.75	5	該当なし	該当なし

【０４３７】

【表９０】

表 71. ミトコンドリア ATP 測定

アミノ酸補充剤	濃度(倍)	ミトコンドリア ATP 測定				
		平均速度 (pmol/分)	標準偏差	数値	P 値	有意性
LIVRQNAC	30	64.68	18.36	5	0.1456	有意差なし
LIVRQNAC	15	68.38	18.80	5	0.2590	有意差なし
LPS、アミノ酸補充剤なし	該当なし	54.28	5.38	5	該当なし	該当なし

【０４３８】

表６９～７１は、分当たりピコモルの３０倍及び１５倍のＬＩＶＲＱＮＡＣによる処理を用いた場合及び用いない場合の正規化されたＡＴＰ産生速度を示す。表６９に示されるように、３０倍及び１５倍のＬＩＶＲＱＮＡＣは、総ＡＴＰ産生速度に有意に影響を与えなかった。しかしながら、解糖系ＡＴＰ産生速度（表７０）は、両方の試験される濃度のＬＩＶＲＱＮＡＣ処理によって有意に低下された。ミトコンドリアＡＴＰ産生速度（表７１）は増加されたが、統計的有意性を達成しなかった。Ｐ値をｔ検定によって計算した。

【０４３９】

本発明は、好ましい実施形態及び様々な代替的な実施形態を参照して、具体的に示され、記載されているが、形態及び詳細の様々な変更が、本発明の趣旨及び範囲を逸脱せずに行われ得ることが、関連技術の当業者によって理解されるであろう。

【０４４０】

本明細書の本文内に引用される全ての参照文献、発行特許及び特許出願は、あらゆる目的のために、全体が参照により本明細書に援用される。

【図１Ａ】

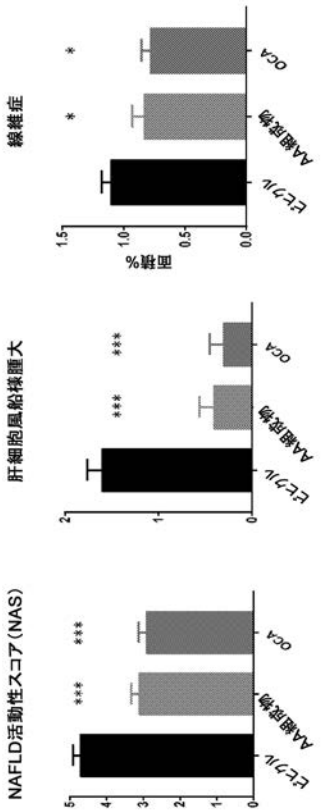

図1A

【図１Ｂ】

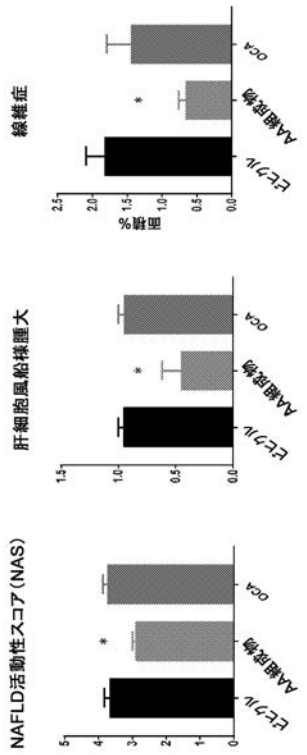

図1B

【図２】

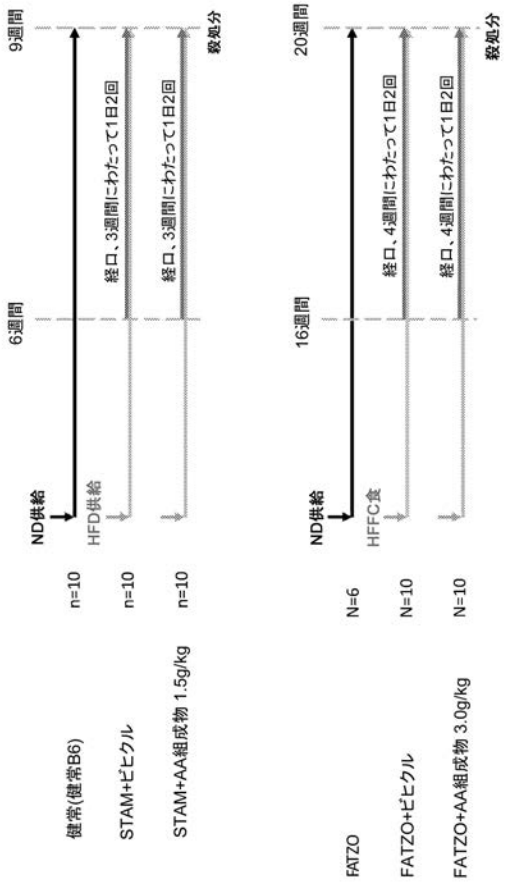

図2

【図３Ａ】

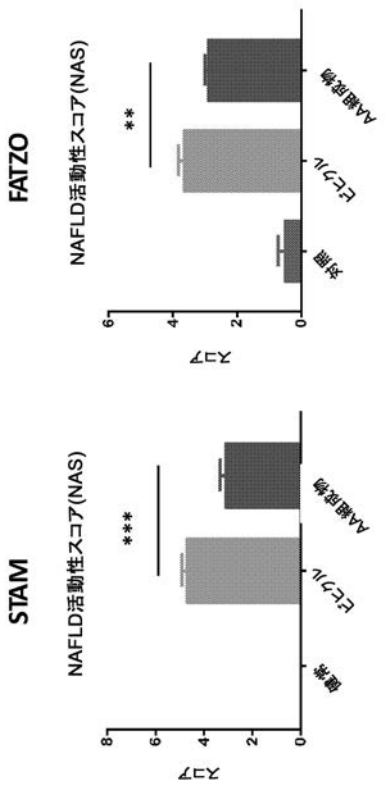

図3A

【図３Ｂ】

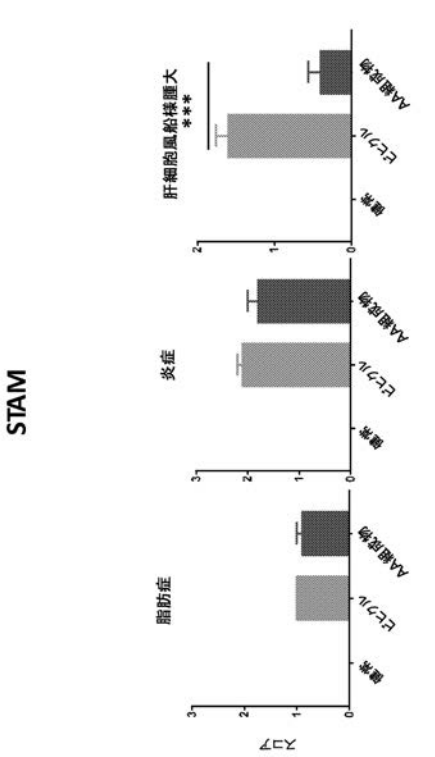

図 3B

【図３Ｃ】

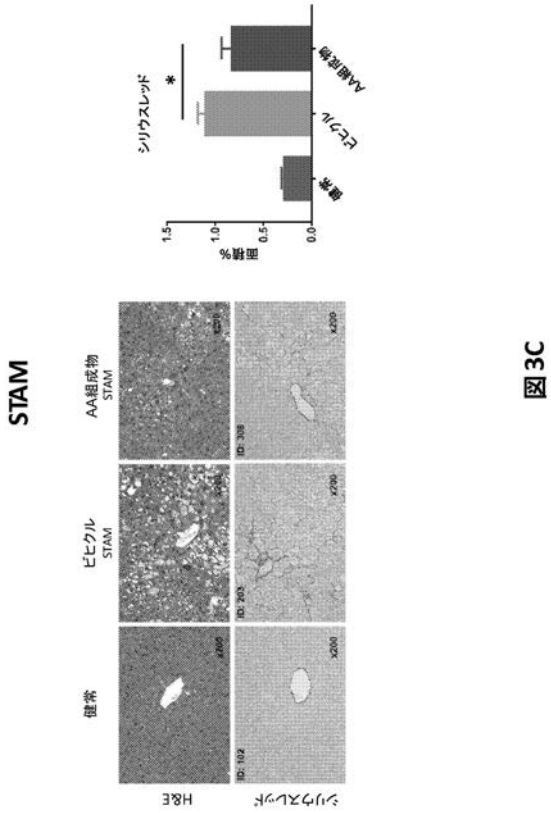

図 3C

【図３Ｄ】

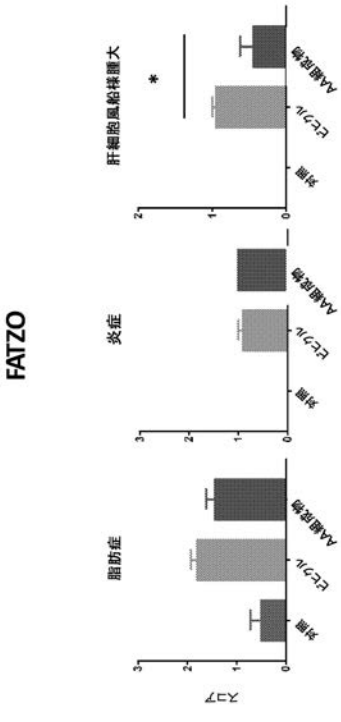

図 3D

【図３Ｅ】

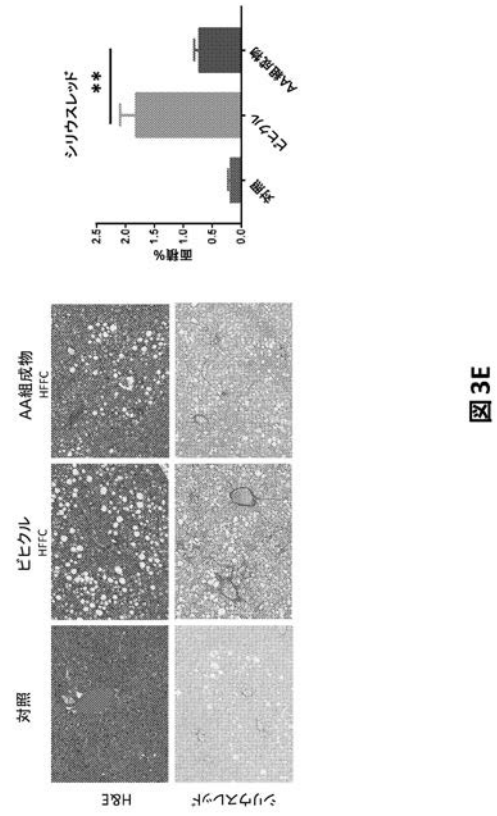

図 3E

【図４】

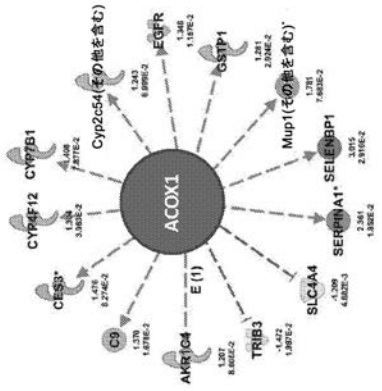

図４

【図５Ａ】

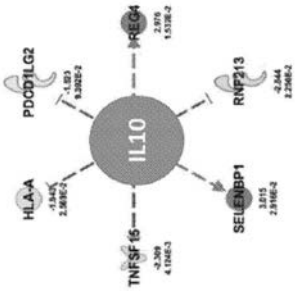

図5A

【図５Ｂ】

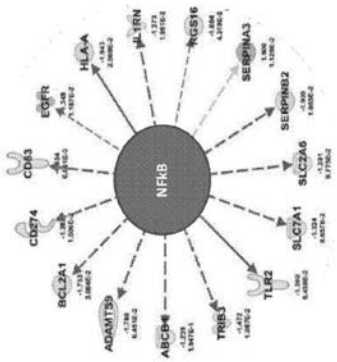

図5B

【図５Ｃ】

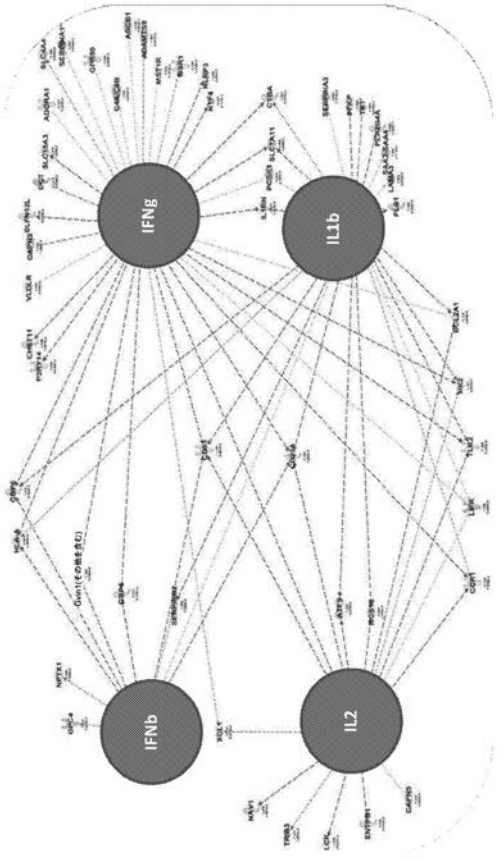

図5C

【図５Ｄ】

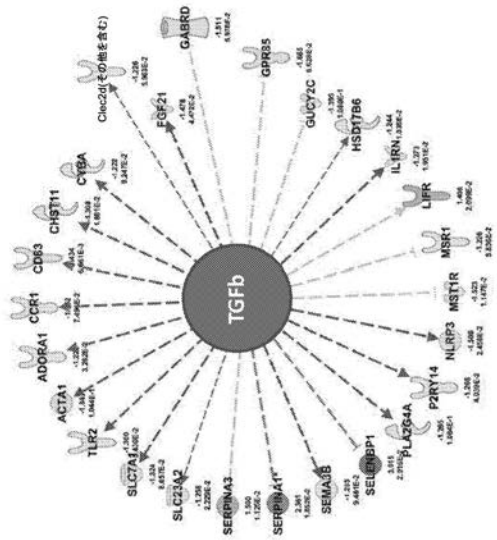

図 5D

【図６】

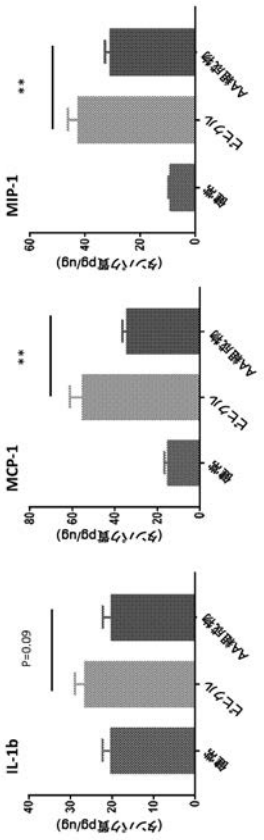

図 6

【図７】

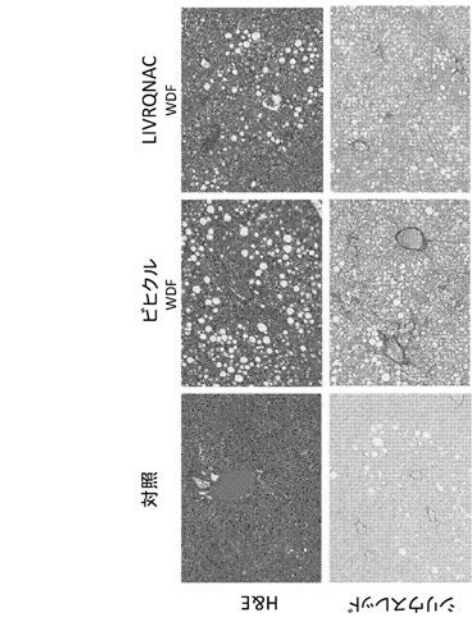

図 7

【図８】

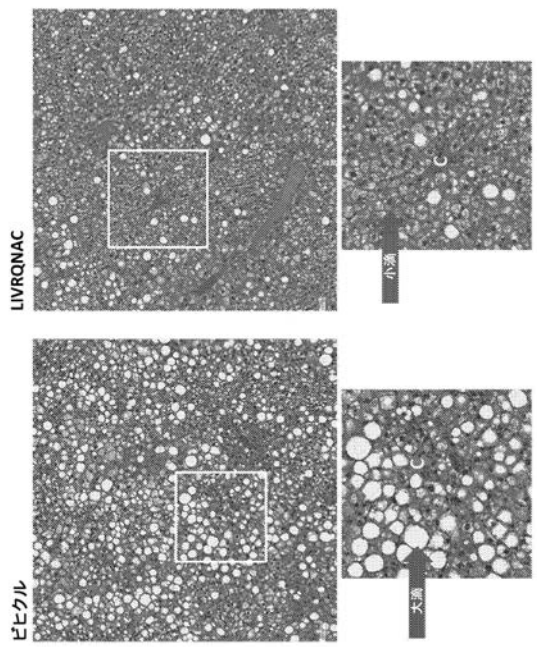

図 8

【図９】

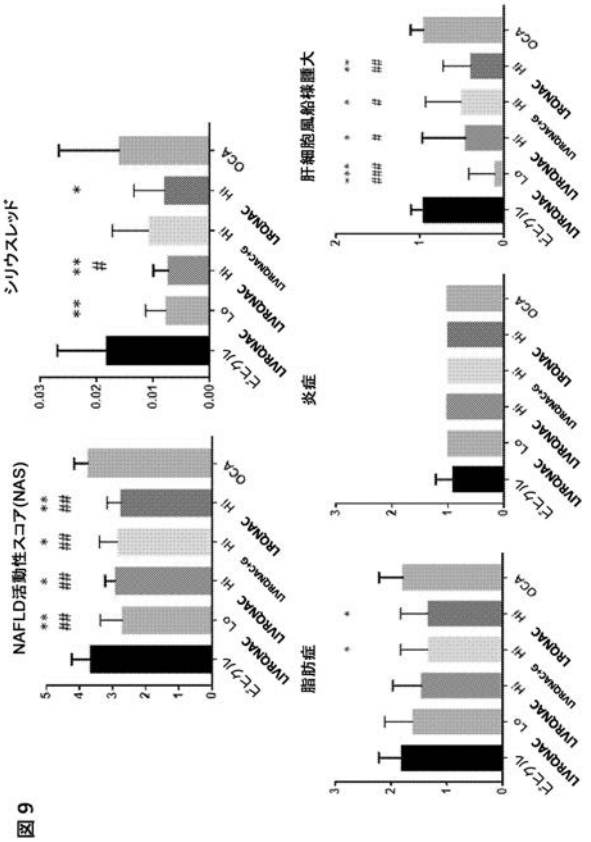

図 9

【図１０Ａ】

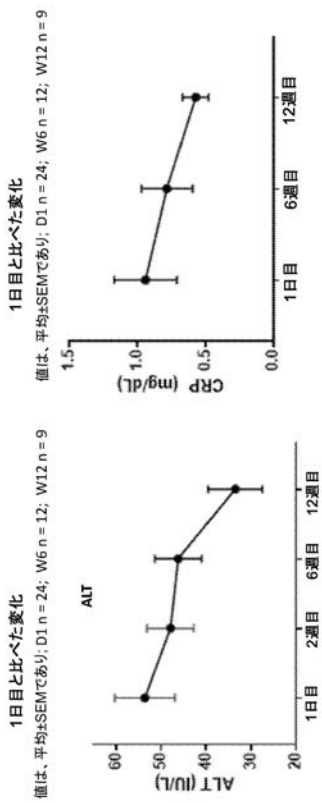

図 10A

【図１０Ｂ】

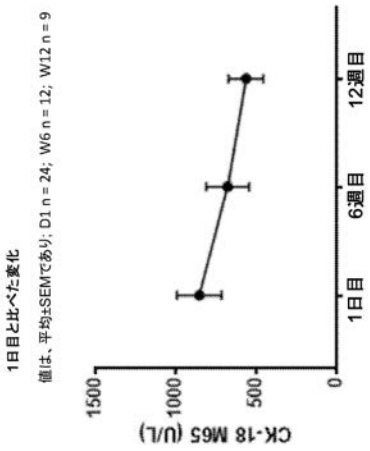

図 10B

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/038055

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61P29/00 A61K31/198
ADD.

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)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2008/108684 A1 (MATSUMOTO HIDEKI [JP] ET AL) 8 May 2008 (2008-05-08)	1-5, 8-15,17, 20-22
Y	paragraphs [0031] - [0033]; claims 1,6,7	7
X	US 2011/081329 A1 (SMITH DANIEL S [US] ET AL) 7 April 2011 (2011-04-07)	1-5, 8-16, 18-22
Y	paragraph [0061]; claims 1,23	7
X	CN 101 049 500 A (SULIMAN MEDICAL TECH CO LTD BE [CN]) 10 October 2007 (2007-10-10)	1-6,8-22
Y	the whole document	7

☐ 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
18 September 2019	10/10/2019

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bochelen, Damien

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2019/038055

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2008108684 A1	08-05-2008	EP 1920770 A1	14-05-2008
		JP WO2007004613 A1	29-01-2009
		US 2008108684 A1	08-05-2008
		US 2010076044 A1	25-03-2010
		US 2012329846 A1	27-12-2012
		WO 2007004613 A1	11-01-2007
US 2011081329 A1	07-04-2011	US 2007286909 A1	13-12-2007
		US 2011081329 A1	07-04-2011
CN 101049500 A	10-10-2007	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 9/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00	
Ａ６１Ｐ 25/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	
Ａ６１Ｐ 13/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12	
Ａ６１Ｐ 1/18	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/18	
Ａ６１Ｐ 19/02	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02	
Ａ６１Ｐ 27/02	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02	
Ａ６１Ｐ 5/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	5/00	
Ａ６１Ｐ 31/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00	
Ａ６１Ｐ 31/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04	
Ａ６１Ｐ 37/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06	
Ａ６１Ｐ 43/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
Ａ６１Ｐ 9/10	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ 17/02	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/02	
Ａ６１Ｋ 38/05	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１
Ａ６１Ｋ 38/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/05	
Ａ６１Ｋ 31/197	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/06	
Ａ２３Ｌ 33/175	*(2016.01)*	Ａ６１Ｋ	31/197	
Ｃ０７Ｋ 14/535	*(2006.01)*	Ａ２３Ｌ	33/175	
Ｃ０７Ｋ 14/545	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/535	
Ｃ０７Ｋ 14/55	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/545	
Ｃ０７Ｋ 14/525	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/55	
Ｃ１２Ｎ 9/10	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/525	
		Ｃ１２Ｎ	9/10	

(31)優先権主張番号 62/758,249
(32)優先日 平成30年11月9日(2018.11.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),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,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ

(74)代理人 100104282
弁理士 鈴木 康仁
(72)発明者 ハミル，マイケル
アメリカ合衆国 ０２１３９ マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード フロア，メモリアル ドライヴ ８４０
(72)発明者 アフェヤン，ラフィ
アメリカ合衆国 ０２１３９ マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード フロア，メモリアル

ドライヴ　８４０
(72)発明者　リー，チュン－ウェイ
アメリカ合衆国　０２１３９　マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード　フロア，メモリアル　ドライヴ　８４０
(72)発明者　ルイサード，ハリー
アメリカ合衆国　０２１３９　マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード　フロア，メモリアル　ドライヴ　８４０
(72)発明者　アオヤマ，サイモン
アメリカ合衆国　０２１３９　マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード　フロア，メモリアル　ドライヴ　８４０
(72)発明者　マルキャン，スヴェトラナ
アメリカ合衆国　０２１３９　マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード　フロア，メモリアル　ドライヴ　８４０
(72)発明者　ダウ，ナディン
アメリカ合衆国　０２１３９　マサチューセッツ州，ケンブリッジ，サード　フロア，メモリアル　ドライヴ　８４０

Ｆターム(参考)　4B018 MD19 ME14
4B050 CC07 DD11 LL01
4C084 AA02 BA02 BA14 BA15 MA02 MA52 NA05 ZA011 ZA331 ZA361 ZA591 ZA661 ZA811 ZA891 ZA961 ZB081 ZB111 ZB211 ZB311 ZB351 ZC011 ZC751
4C206 AA01 AA02 FA53 GA20 GA22 HA32 JA59 KA17 MA03 MA04 MA72 NA05 ZA01 ZA33 ZA36 ZA59 ZA66 ZA81 ZA89 ZA96 ZB08 ZB11 ZB21 ZB31 ZB35 ZC01 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA17 BA18 BA19 BA20 BA21 CA40 DA03 DA04 DA12 DA14 DA89 EA20