

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-254959

(P2012-254959A)

(43) 公開日 平成24年12月27日(2012.12.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/336 (2006.01)	A 6 1 K 31/336	4 C 0 4 8
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 6
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	4 C 2 0 6
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 14 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-129424 (P2011-129424)	(71) 出願人	000004477
(22) 出願日	平成23年6月9日 (2011.6.9)		キッコーマン株式会社
			千葉県野田市野田250番地
		(74) 代理人	100079108
			弁理士 稲葉 良幸
		(74) 代理人	100109346
			弁理士 大貫 敏史
		(74) 代理人	100117189
			弁理士 江口 昭彦
		(74) 代理人	100134120
			弁理士 内藤 和彦
		(72) 発明者	川島 忠臣
			千葉県野田市野田250番地 キッコーマン株式会社内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 I L - 1 7 産生抑制剤

(57) 【要約】

【課題】 I L - 1 7 産生抑制剤を提供すること。

【解決手段】 フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含む、 I L - 1 7 産生抑制剤、 T h 1 7 細胞分化抑制剤及び I L - 1 7 又は T h - 1 7 細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する I L - 1 7 産生抑制剤。

【請求項 2】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する T h 1 7 細胞分化抑制剤。

【請求項 3】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する、 I L - 1 7 又は T h 1 7 細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物。

【請求項 4】

前記疾患又は状態が、自己免疫性疾患又は非感染性炎症性疾患である、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記疾患又は状態が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎及び食物アレルギーからなる群から選択される、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体が海藻由来である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の剤又は組成物。

【請求項 7】

オクタデカテトラエン酸、エイコサペンタエン酸及び α - リノレン酸から選択される ω - 3 多価不飽和脂肪酸をさらに含有する、請求項 6 に記載の剤又は組成物。

【請求項 8】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、1 g 当り、乾燥物換算で、1 m g ～ 1 0 0 m g 含有する、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の剤又は組成物。

【請求項 9】

飲料であって、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、5 0 0 m L 当り、乾燥物換算で、5 m g ～ 2 5 0 0 m g 含有する、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の剤又は組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を有効成分とする I L - 1 7 産生抑制剤、T h 1 7 細胞分化抑制剤及び I L - 1 7 又は T h 1 7 細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

インターロイキン (I L) の一種である I L - 1 7 は、炎症性サイトカインの産生を誘導することが知られる。近年、I L - 1 7 を産生する T h 1 7 細胞 (ヘルパー T 細胞タイプ 1 7) が見出され、I L - 1 7 及び T h 1 7 細胞が、自己免疫性疾患や非感染性の炎症性疾患と深く関連することが明らかになってきた。

【0 0 0 3】

また、昨今、薬物療法と一般療法の中間に位置するともいえる疾患等の治療や予防に食品 (健康食品、機能性食品、健康補助食品、特定保健用食品等) が用いられるようになってきており、I L - 1 7 産生に着目した食品素材の開発も行われている。例えば、特許文献 1 は、マウス脾臓細胞と共培養した場合に I L - 1 7 産生を抑制する特定の乳酸菌、該乳酸菌によって発酵した発酵乳製品、該発酵乳製品を、I L - 1 7 産生抑制の有効成分として含有する医薬又は飲食品等を開示する。

【0 0 0 4】

IL-17に着目した炎症性疾患の処置として、特許文献2は、IL-23のアンタゴニストがIL-17産生を阻害すること、及び哺乳動物被験体中のIL-17の上昇した発現によって特徴付けられる炎症性疾患（アレルギー疾患等）の処置のための方法であって、有効量のIL-23のアンタゴニストを該被験体に投与する工程を包含する方法を開示する。IL-17産生を抑制し、炎症性腸疾患等の自己免疫疾患抑制作用等に効果を有する成分としては、レチノイン酸や合成レチノイドも知られている（非特許文献1）。

【0005】

一方、フコキサンチンは、海藻に特徴的に含まれるカロテノイドの一種であり、近年特に注目され、脂肪燃焼促進作用、白色脂肪細胞減少作用、抗酸化作用、抗ガン作用、抗糖尿病作用、血管新生抑制作用、抗炎症作用等が報告されている食品素材である。例えば、UV-B照射による細胞損傷に対し、フコキサンチンが保護作用を有することが報告されている（非特許文献2）。

10

【0006】

これまでにフコキサンチンについて報告されている抗炎症作用は、リポ多糖（LPS）により誘発させた、外的要因による感染性炎症（エンドトキシン誘発性ブドウ膜炎）に対し、フコキサンチンが炎症抑制作用を示したというものである（非特許文献3）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特開2010-115126号公報

20

【特許文献2】特開2011-042658号公報

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】J Leukoc Biol. 86(4):959-69 (2009)

【非特許文献2】J Photochem Photobiol B. 95(2):101-7 (2009)

【非特許文献3】Exp Eye Res. 81(4): 422-8 (2005)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

自己免疫性疾患や非感染性炎症性疾患に対する治療効果又は予防効果を有する食品及び医薬品へのニーズは高まってきている。効果が高く、しかも安心して長期に渡って服用できる製品や、経済的負担がより少ない製品も、求められている。また、フコキサンチンは、様々な作用を有する食品素材として知られているものの、IL-17やTh17細胞との関係、自己免疫疾患や非感染性炎症性疾患の予防及び治療作用を有することについては、知られていない。

30

【0010】

以上のような背景のもと、本発明が解決しようとする課題は、新たなIL-17産生抑制剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0011】

40

本発明者は、上記課題を解決するために、鋭意検討を重ねた結果、フコキサンチン及びその誘導体であるフコキサンチノールが、IL-17産生抑制作用及びナイーブT細胞からIL-17産生抑Th17細胞への分化抑制作用を有し、自己免疫疾患及び非感染性炎症性疾患等のIL-17及びTh17細胞に関連する疾患の治療等に有用であることを見出した。また、食用として多量に流通している安価なワカメから簡便にフコキサンチンを抽出する方法を見出し、本発明を完成した。

【0012】

本発明は、以下のとおりである。

[1]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有するIL-17産生抑

50

制剤。

[2]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する T h 1 7 細胞分化抑制剤。

[3]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する、 I L - 1 7 又は T h 1 7 細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物。

[4]

前記疾患又は状態が、自己免疫性疾患又は非感染性炎症性疾患、である、[3]に記載の組成物。

[5]

前記疾患又は状態が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎及び食物アレルギーからなる群から選択される、[4]に記載の組成物。

[6]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体が海藻由来である、[1]～[5]のいずれかに記載の剤又は組成物。

[7]

オクタデカテトラエン酸、エイコサペンタエン酸及び α - リノレン酸から選択される ω - 3 多価不飽和脂肪酸をさらに含有する、[6]に記載の剤又は組成物。

[8]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、1 g 当り、乾燥物換算で、1 m g ～ 1 0 0 m g 含有する、[1]～[7]のいずれかに記載の剤又は組成物。

[9]

飲料であって、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、5 0 0 m L 当り、乾燥物換算で、5 m g ～ 2 5 0 0 m g 含有する、[1]～[7]のいずれかに記載の剤又は組成物。

[1 0]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体が、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの塩である、[1]～[9]のいずれかに記載の剤又は組成物。

[1 1]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体が、褐藻類のエタノール抽出物由来である、[1]～[9]のいずれかに記載の剤又は組成物。

[1 2]

ナイーブ T 細胞から T h 1 7 細胞への分化を抑制することで I L - 1 7 産生を抑制する、[1]に記載の I L - 1 7 産生抑制剤。

[1 3]

ナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞を誘導することで T h 1 7 細胞への分化を抑制する、[2]に記載の T h 1 7 細胞分化抑制剤。

[1 4]

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含有する免疫調節用組成物。

【発明の効果】

【 0 0 1 3 】

本発明によれば、新たな I L - 1 7 産生抑制剤及び T h 1 7 細胞分化抑制剤を提供することができる。また、本発明によれば、自己免疫性疾患、非感染性炎症性疾患等、I L - 1 7 又は T h 1 7 細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物を提供することができる。さらに、本発明によれば、食用として多量に流通している安価な原料を用いて、安心して長期に渡って服用できる、経済的負担がより少ない上記の剤及び組成物を提供することができる。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】実施例1において、培地に各種成分を様々な量添加してCD4陽性脾臓細胞を培養した時のIL-17産生量を示す。

【図2】実施例2において、培地に各種成分を様々な量添加してCD4陽性CD62L陽性T細胞を培養した際の、IL-17産生Th17細胞数及びFoxp3陽性制御性T細胞数を示す。

【発明を実施するための形態】

【0015】

以下、本発明を実施するための形態について詳細に説明する。なお、本発明は以下の実施の形態に限定されるものではなく、その要旨の範囲内で種々変形して実施することができる。

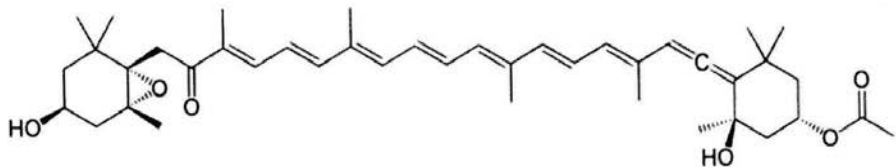
【0016】

本発明は、IL-17産生抑制剤、Th17細胞抑制剤、IL-17又はTh17細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物及び免疫調節用組成物（以下、単に「本発明の組成物等」ともいう）に関する。本発明の組成物等は、有効成分としてフコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体（以下、単に「本発明の有効成分」ともいう）を含有する。

【0017】

フコキサンチン（fucoxanthin、 $C_{42}H_{58}O_6$ ）は、褐藻類中の主要カロテノイドであり、以下の構造を有する。

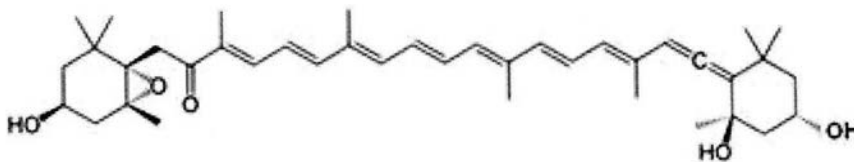
【化1】



【0018】

フコキサンチノール（fucoxanthinol、 $C_{40}H_{56}O_5$ ）は、フコキサンチンの加水分解によりアセチル基が遊離して得られる化合物であり、以下の構造を有する。

【化2】



【0019】

本発明の有効成分は、所望の作用（IL-17産生抑制作用、Th17細胞分化抑制作用等）を有する限り、上記の構造の一部が改変又は修飾された誘導体であっても良い。フコキサンチン又はフコキサンチノールの誘導体としては、例えば、生理学的に許容される塩、エステル又はプロドラッグ等が挙げられる。なお、フコキサンチノールはフコキサンチンの誘導体の一種であり、フコキサンチンはフコキサンチノールの誘導体の一種である。

【0020】

フコキサンチン又はフコキサンチノールの誘導体のうち、生理学的に許容される塩としては、特に限定されないが、例えば、アルカリ金属塩（ナトリウム塩、カリウム塩等）、アルカリ土類金属塩（マグネシウム塩、カルシウム塩等）、これらの水酸化物塩又は炭酸塩、アルカリ金属アルコキサイド（ナトリウムメトキサイド、カリウムトートロキサイド等）との塩が挙げられる。また、無機酸（塩酸、硫酸、リン酸等）や有機酸（マレイン酸、クエン酸、フマル酸等）を付加した酸付加塩、アミンの付加塩、アミノ酸の付加塩等も

挙げられる。なお、上記の塩の水和物もここでいう塩に含まれる。

【0021】

フコキサンチン又はフコキサンチノールの誘導体のうち、エステルは、カルボン酸とのエステル化反応で生じるエステルであれば特に限定されない。カルボン酸としてはギ酸、酢酸、乳酸等が例示される。

【0022】

フコキサンチン又はフコキサンチノールの誘導体のうち、プロドラッグとは、生体に投与された後に生体内で代謝され、所望の作用（IL-17産生抑制作用、Th17細胞分化抑制作用等）を発現する化合物を意味する。生体内におけるフコキサンチンの代謝物として、フコキサンチノールやアマロウシアキサンチンA（amarouciaxanthin A）が知られており、例えば、生体に投与された後、これらの化合物を代謝物として生じる化合物も、上記のプロドラッグに含まれる。また、安定性や吸収性の改善、副作用の低減等を目的としてプロドラッグ化されたフコキサンチン又はフコキサンチノールも、上記のプロドラッグに含まれる。

10

【0023】

本発明の有効成分であるフコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体としては、市販品を用いてもよいし、化学的に合成したものを用いてもよいが、より簡便には、海藻から抽出した海藻抽出物（以下、海藻を溶媒で抽出処理して得られる海藻抽出物を単に「海藻抽出物」と略記する場合がある）を用いることができる。海藻抽出物を用いる場合、海藻中には後述の ω -3多価不飽和脂肪酸も含まれるため、本発明の有効成分とともに ω -3多価不飽和脂肪酸を含む本発明の組成物等を容易に得ることができる。

20

【0024】

海藻抽出物の原料となる海藻は、本発明の有効成分を含むものであれば特に限定されないが、本発明の有効成分を多く含むという観点から褐藻類が好ましく、安価で容易に入手可能であるという観点から、ワカメ、コンブ、モズク等を用いることができる。このような海藻の種子を除く地上部部分の葉、茎、花、及び皮等の植物体を原料として用いることができ、硬い茎の部分を除いた葉の部分の部分を原料として用いることが好ましい。

【0025】

上記の原料について、本発明の有効成分を、直接、生の植物体から抽出してもよく、ピューレ状に粉碎して海藻ピューレを得た後、抽出してもよい。植物体を一度乾燥させた後に抽出してもよく、乾燥後さらに粉末化したものを抽出してもよい。市販の海藻粉末を用いてもよい。

30

【0026】

また、上記の原料から海藻溶液を作成し、これを抽出に用いてもよい。海藻溶液は、上記の原料由来の成分を含む溶液であって、本発明の有効成分を含む溶液であれば特に限定されない。海藻溶液としては、例えば、上記の海藻ピューレに水又は温水を加えた溶液、海藻粉末を水又は温水に溶解又は混合させた海藻粉末溶液等が挙げられる。海藻溶液は、植物体（葉等）の固形分を含んでいてもよい。

【0027】

上記の原料又は海藻溶液を溶媒で抽出処理する方法は、従来公知の方法に従って行うことができ、特に限定されるものではないが、例えば、上記の原料又は海藻溶液に抽出溶媒を添加、懸濁し、攪拌後、遠心分離又は吸引ろ過により固形物を除去し、液体部を回収することで、海藻抽出物を得ることができる。

40

【0028】

抽出溶媒としては、本発明の有効成分が抽出できる限り特に限定されないが、好ましくは、食品添加物の抽出溶剤となり得る有機溶媒であり、例えばエタノール、メタノール、酢酸エチル、ヘキサン等を単独又は組み合わせて用いることができる。安価で安全であるという観点から、好ましくはエタノールを用いることができる。

【0029】

抽出処理の具体例としては、例えば、30～80％程度のエタノールを乾燥原料の5～

50

50倍程度の量となるよう添加し、室温～60℃程度で、15分～60分程度、攪拌しながら行う処理を挙げることができる。必要に応じて抽出を繰り返すこともできる。このような条件で抽出処理を行って得られた海藻抽出物は、 ω -3多価不飽和脂肪酸も含有することを本発明者らは確認している。

【0030】

ω -3多価不飽和脂肪酸は、 ω -3位に二重結合を複数個有する不飽和脂肪酸であり、動物は体内で生合成することができない脂肪酸である。海藻類に多く含まれる ω -3多価不飽和脂肪酸としては、例えば、オクタデカテトラエン酸（ステアリドン酸）、エイコサペンタエン酸（必須脂肪酸）、 α -リノレン酸（必須脂肪酸）が知られ、それぞれ様々な効能が報告されている。したがって、一態様において、本発明の組成物等は、さらに、オクタデカテトラエン酸、エイコサペンタエン酸及び α -リノレン酸から選択される ω -3多価不飽和脂肪酸を含有することで、本発明の有効成分の作用に加えて、これらの ω -3多価不飽和脂肪酸の有する作用も提供することができる。

【0031】

海藻抽出物は、溶液の形態であってもよいし、所望により、エバポレーター等により濃縮処理を行って得られた濃縮物、乾燥処理を行って得られた乾燥物、凍結処理を行って得られた凍結物であってもよい。得られた海藻抽出物に本発明の有効成分が含まれているかは、例えば標準品を用いたHPLC等、常法により確認することができる。得られた海藻抽出物は、溶液（水溶液及び油溶液）、濃縮物、乾燥物等いずれの形態であっても、そのまま本発明の組成物等としてもよいし、そのまま又はさらに精製して得られる精製物を下記の医薬品や飲食品に添加して本発明の組成物等としてもよい。特に、本発明の組成物等が上記の ω -3多価不飽和脂肪酸も含有する場合、さらなる精製を行わずに海藻抽出物を用いることが好ましい場合がある。

【0032】

フコキサンチン及びフコキサンチノールは、後述の実施例に記載の通り、IL-17産生抑制作用及びTh17細胞分化抑制作用を有する。したがって、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を含む組成物は、IL-17産生抑制剤、Th17細胞分化抑制剤及びIL-17又はTh17細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物として用いることができる。

【0033】

IL-17産生抑制作用は、例えば後述の実施例1に記載の方法を参照して確認することができる。また、Th17細胞分化抑制作用は、例えば後述の実施例2に記載の方法を参照して確認することができる。本発明者らは、様々な種類が知られるカロテノイドのうち、特にフコキサンチン及びその誘導体であるフコキサンチノールが、上記の作用を有することを確認している。

【0034】

すでにTh17細胞分化抑制作用等が報告されているレチノイン酸は、生体内でビタミンAから誘導され、生体内濃度が、恒常性により一定に保たれていることが知られる。従って、ビタミンAを多量に摂取しても生体内のレチノイン酸濃度に大きな変動はない。一方、フコキサンチン及びフコキサンチノールは、摂取後、生体内での代謝の影響を受けにくく、生体内で上記の所望の作用を発揮することができると考えられる。

【0035】

IL-17は、炎症性サイトカインや炎症メディエーター（IL-1、IL-6、IL-8、G-CSF、MCP-1、TNF- α 、NOS-2、メタロプロテアーゼ、ケモカイン等）の産生を誘導することが知られる。従って、IL-17産生抑制剤は、IL-17の産生を抑制することにより、上記の炎症性サイトカインや炎症メディエーターの産生も抑制することができる。従って、IL-17産生抑制剤は、上記の炎症性サイトカインや炎症メディエーターの関与する疾患の治療又は予防においても有用であり得る。また、関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、潰瘍性大腸炎、クローン病等、様々な自己免疫性疾患や非感染性炎症性疾患において、IL-17の濃度が著しく上昇していることが知られ

る。従って、I L-17 産生抑制剤は、これらの疾患の治療又は予防においても有用であり得る。

【0036】

よって、本明細書中において、I L-17 に関連する疾患又は状態とは、I L-17 及び／又は I L-17 により産生が誘導される炎症性サイトカインや炎症メディエーターの量が、健常な状態と異なる疾患又は状態を指す。

【0037】

T h-17 細胞は、ヘルパー T 細胞のサブセットの 1 つである。骨髄で産生された T 細胞は胸腺で分化・成熟後、ナイーブ T 細胞として血流を循環しているが、各種サイトカインによる刺激を受けて各サブセットへと分化する。例えば、通常、ナイーブ T 細胞は、T G F- β 及び I L-6 の刺激により T h 17 細胞に分化し、T G F- β のみの刺激により制御性 T 細胞に分化する。

10

【0038】

T h-17 細胞は、I L-17 のほか、I L-2、I L-6、T N F- α 、I L-22 等のサイトカイン産生能を有することが知られる。また、T h-17 細胞は自己免疫性疾患に関与していることが知られる。T h-17 細胞はまた自己免疫性疾患（例えば関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬等）、炎症性腸疾患等とも関連することが明らかになってきている。

【0039】

よって、本明細書中において、T h-17 に関連する疾患又は状態とは、T h-17 及び／又は T h-17 により産生が誘導されるサイトカインの量が、健常な状態と異なる疾患又は状態を指す。

20

【0040】

より特定すれば、本明細書中において、I L-17 又は T h-17 に関連する疾患又は状態には、自己免疫性疾患及び非感染性炎症性疾患が含まれる。自己免疫性疾患の例としては、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、乾癬等が挙げられ、非感染性炎症性疾患の例としては、炎症性腸疾患（クローン病及び潰瘍性大腸炎）、食物アレルギー等が挙げられる。

【0041】

なお、本明細書中において、非感染性炎症性疾患とは、細菌感染等の外的要因によらず、自己に対する過剰な応答等によって引き起こされる炎症性疾患を意味する。

30

【0042】

また、本明細書中、軽症から中等症の自己免疫疾患又は炎症性疾患に罹患した際、あるいは薬剤により活動期から寛解期に移行した際に摂取（好ましくは経口摂取）することで、I L-17 産生抑制作用及び／又は T h 17 細胞分化抑制作用を引き起こす組成物を、免疫調節用組成物ということもある。

【0043】

本発明の組成物等は、飲食品や医薬品とすることができる。摂取容易性の観点から、好ましくは本発明の組成物を飲食品とすることができる。

【0044】

飲食品としては、サプリメント、特定保健用食品、栄養機能食品、健康食品、機能性食品、健康補助食品、通常の飲食品等が挙げられる。通常の飲食品の好ましい形態は、飴、ゼリー、錠菓、飲料、スープ、麺、煎餅、和菓子、冷菓、焼き菓子等の食品や飲料であり、本発明の有効成分の酸化を防ぐという観点から、好ましくは、果汁飲料、野菜ジュース、果物野菜ジュース、茶飲料、コーヒー飲料、スポーツドリンク、清涼飲料等の容器詰飲料である。これらの飲食品は、いずれも当業者に公知の手法を用いて、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体あるいはそれらを含む海藻抽出物を添加して製造することができる。

40

【0045】

フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体あるいはそれらを含む上記の

50

海藻抽出物は、味・臭いに特異な厭味が少ないことから液状、半流動状又は固形形態で経口投与により摂取することが可能であり、それ自体または適宜製剤上の都合で賦形剤などと混合して粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤などの形態で投与することができる。

【0046】

本発明の組成物等を飲食品とする場合、上記の海藻抽出物は、溶液、濃縮物、乾燥物、凍結物等のいずれの形態であっても、そのまま上記飲食品とすることができる。また、本発明の組成物等を各種飲食品の配合剤として利用することもできる。例えば、上記の海藻抽出物を溶液（水溶液又は油溶液）として得た場合、そのまま飲料として、又は上記の飲食品に配合して利用することができる。海藻抽出物は、適当な濃度まで減圧濃縮することによって濃厚な液状組成物とすることも可能である。また、上記の海藻抽出物は、乾燥物とすることにより保存安定性に優れる。乾燥物も、そのまま飲食品として、又は上記の飲食品に配合して利用することができる。

10

【0047】

本発明の組成物等を飲食品とする場合、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、1 g 当り、乾燥物換算で、0.01 mg ~ 100 mg 程度、好ましくは1 mg ~ 100 mg 程度、配合することができる。例えば本発明の組成物等を飲料とする場合、500 mL 当り、乾燥物換算で、好ましくは5 mg ~ 2,500 mg、より好ましくは10 mg ~ 1,000 mg 配合することができる。例えば本発明の組成物等をサプリメントとする場合、1 g 当り、乾燥物換算で、0.1 mg ~ 10 mg 程度配合することができる。該配合量を達成できるように、適宜他の原料、添加物等と混合することができる。なお、一般に、海藻中のフコキサンチン量は多くても乾燥重量の0.1%程度であることが知られ、海藻中のフコキサンチノール量は、さらに少ないことが知られる。

20

【0048】

摂取回数は、特に限定されないが、好ましくは1日1~3回であり、必要に応じて摂取回数を増減してもよい。

【0049】

上記の飲食品は、自己免疫性疾患予防作用、非感染性炎症性疾患予防作用、より詳細には、炎症性腸疾患（クローン病又は潰瘍性大腸炎）予防作用（例えば、消化管の炎症抑制作用、腹痛緩和作用、排便の改善作用等）、関節痛緩和作用、関節リウマチ予防作用、全身性エリテマトーデス予防作用、多発性硬化症予防作用、乾癬予防作用、食物アレルギー軽減作用等の作用を有する旨の表示を付した飲食品であってもよい。

30

【0050】

本発明の組成物等を医薬品とする場合、フコキサンチン、フコキサンチノール、またはそれらの誘導体あるいはそれらを含む海藻抽出物に薬学的に許容可能な賦形剤を添加して、医薬品として用いることができる。医薬品の剤形としては、液体、ペースト等の液剤、粉末、顆粒、錠剤等の固体等、公知の剤型が挙げられる。より詳細には、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤、シロップ剤、チュアブル、トローチ等の経口剤、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、貼付剤等の外用剤、注射剤、舌下剤、吸入剤、点眼剤、坐剤等の剤形が挙げられ、好ましくは、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、注射剤である。

【0051】

上記の医薬品は、動物、中でも哺乳類に投与することができる。哺乳類としては、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマなどが挙げられ、ヒトであることが好ましい。

40

【0052】

上記の医薬品の投与量は、個々の薬剤の活性、患者の症状、年齢、体重等の種々の条件により適宜調整することができるが、例えば、フコキサンチン、フコキサンチノール又はそれらの誘導体を、乾燥物換算で、好ましくは1回5 mg ~ 2,500 mg、より好ましくは1回10 mg ~ 1,000 mg、さらに好ましくは1回10 mg ~ 100 mg 投与することができる。海藻抽出物を含む医薬品の場合も同様に、乾燥物換算で上記の量の有効成分となるよう、投与することができる。

【0053】

50

投与回数は、特に限定されないが、好ましくは1日1～3回であり、必要に応じて投与回数を増減してもよい。投与方法についても特に制限されないが、フコキサンチンは腸管から吸収されるため、経口摂取が好ましい。

【0054】

本発明の組成物等が ω -3多価不飽和脂肪酸を含有する場合、その含有量は、特に限定されないが、例えば1g当り、0.1mg～500mg程度含有することができる。

【実施例】

【0055】

以下、本発明を実施例及び比較例により具体的に説明するが、本発明は、これらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、実施例1及び2は、Blood. 111(3):1013-20 (2008)に記載の方法を参照して行った。

【0056】

[実施例1]

C57BL/6マウス(10週齢、雄、日本クレア生産)より脾臓を摘出後、400ユニット/mLのタイプIコラゲナーゼ(シグマ社製)及び10%FBS(ニチレイ社製)を含有するRPMI 1640培地中で攪拌し、脾臓細胞を得た。その後、脾臓細胞を、CD4マイクロビーズ(ミルテニー・バイオテック社製)を含むMACSバッファー[0.5% BSA(シグマ社製)及び2mM EDTA含有PBS(pH7.2)]中に懸濁し、15分間、4℃でインキュベートを行った。脾臓細胞をMACSバッファーで洗浄後、MACSカラム(ミルテニー・バイオテック社製)によりCD4陽性細胞を分離・回収し、CD4陽性T細胞として試験に用いた。96ウェルマイクロプレート(BD社製)に50 μ Lの5 μ g/mL抗マウスCD3抗体(eBioscience社製)を分注し、4℃、15時間インキュベート後、PBSで2回洗浄し、上記のCD4陽性T細胞の培養に用いた。CD4陽性T細胞からTh17細胞を誘導するために、5 μ g/mL抗マウスCD28抗体(eBioscience社製)、20ng/mL IL-6(R&D Systems社製)、2ng/mL TGF- β (R&D Systems社製)及び10%FBSを含有するRPMI 1640培地中で 5×10^5 cells/well(培養液量250 μ L)で培養した。

【0057】

培養開始時に、レチノイン酸(ポジティブコントロール)、フコキサンチン又はフコキサンチン以外の各種カロテノイドを培地に添加した。レチノイン酸(シグマ社製)は終濃度1 μ Mとなるように、フコキサンチン(Cayman Chemical社)、アスタキサンチン(和光純薬工業社製)、リコペン(和光純薬工業社製)及びルテイン(和光純薬工業社製)は、それぞれ終濃度2 μ M又は4 μ Mとなるように添加した。培養72時間後、上清を回収し、IL-17の濃度をマウスIL-17 ELISA Kit(eBioscience社製)を用いて測定した。

【0058】

結果を図1に示す。対照として、レチノイン酸、フコキサンチン及び各種カロテノイドの添加をせずに同様の培地で培養した結果(「Med」)ならびに5 μ g/mL抗マウスCD28抗体(eBioscience社製)、及び10%FBSを含有するRPMI 1640培地(IL-6及びRGF- β を添加しない)中で、レチノイン酸、フコキサンチン及び各種カロテノイドの添加をせずに培養した結果(「Unt」)を示す。レチノイン酸はナイーブT細胞からFoxp3陽性の制御性T細胞を誘導することで、Th17細胞の分化を抑制し、IL-17の産生を抑えることが知られているが、フコキサンチンにもIL-17産生抑制作用があることが示された。フコキサンチン以外の各種カロテノイド(アスタキサンチン、リコペン、ルテイン)は、IL-17産生抑制作用を示さなかった。

【0059】

[実施例2]

実施例1と同様の手法を用いてマウスより脾臓細胞を得た。その後、脾臓細胞よりMo

use CD4⁺ T Cell Isolation Kit II (ミルテニー・バイオテック社製)を用いることで、CD4陽性T細胞を回収した。FITC標識抗マウスCD62L抗体(eBioscience社製)で細胞を標識後、FITCマイクロビーズ(ミルテニー・バイオテック社製)と共に15分間、4℃でインキュベートし、MACSパッファーにて洗浄後、MACSカラムによりCD62L陽性細胞を分離、回収した。これによりCD4陽性、CD62L陽性のナイーブT細胞を得た。得られたナイーブT細胞からTh17細胞を誘導するために、5 µg/mL 抗マウスCD28抗体(eBioscience社製)、20 ng/mL IL-6 (R&D Systems社製)、2 ng/mL TGF-β (R&D Systems社製)及び10% FBSを含有するRPMI 1640培地中、 5×10^5 cells/well (培養液量250 µL)で培養した。

10

【0060】

培養開始時に、レチノイン酸(ポジティブコントロール)、フコキサンチン又はフコキサンチン以外の各種カロテノイドを培地に添加した。レチノイン酸(シグマ社製)は終濃度1 µMとなるように、フコキサンチン(Cayman Chemical社製)、フコキサンチノール(和光純薬工業社製)、アスタキサンチン(和光純薬工業社製)、リコペン(和光純薬工業社製)及びルテイン(和光純薬工業社製)は、それぞれ終濃度2 µM又は4 µMとなるように添加した。培養72時間後、Phorbol 12-Myristate 13-acetate (PMA、シグマ社製)、イオノマイシン(シグマ社製)及びGolgi Stop (BD社製)を、それぞれ終濃度が0.1 µg/mL、0.25 µg/mL及び2 µL/mLとなるように添加した。4時間後、細胞を回収し、Foxp3 Staining Kit (eBioscience社製)により細胞を固定後、FITC標識抗マウスIL-17抗体(eBioscience社製)、及びPE標識抗マウスFoxp3抗体(eBioscience社製)で染色後、フローサイトメーターにより各発現を解析し、Foxp3陽性 制御性T細胞、IL-17産生 Th17細胞の割合を調べ、Foxp3陽性 制御性T細胞とIL-17産生 Th17細胞の比率を算出した。

20

【0061】

結果を図2に示す。なお、図2の縦軸及び横軸に記載の数値は蛍光強度を示す。蛍光強度は測定ごとに多少変化するが、同時に測定した細胞群同士の割合を示す数値として用いることができる。対照として、レチノイン酸、フコキサンチン及び各種カロテノイドの添加なしに同様の培地で培養した結果(対照(培地添加))、ならびに5 µg/mL 抗マウスCD28抗体(eBioscience社製)、及び10% FBSを含有するRPMI 1640培地(IL-6及びRGF-βを添加しない)中で、レチノイン酸、フコキサンチン及び各種カロテノイドの添加をせずに培養した結果(「未処理」)を示す。レチノイン酸と同様に、フコキサンチン、及びフコキサンチノールの代謝物であるフコキサンチノールにも、ナイーブT細胞からFoxp3陽性 制御性T細胞を誘導し、IL-17を産生するTh17細胞の分化を抑制する作用があることが示された。レチノイン酸は、生体内ではビタミンAから誘導されるが、生体内濃度が恒常性により一定の濃度に保たれていることが知られている。すなわち、ビタミンAを多量に摂取しても生体内のレチノイン酸濃度に大きな変動はないが、フコキサンチン及びその代謝物のフコキサンチノールは、摂取後、生体内での代謝の影響を受けにくく、生体内で効果を発揮することができるという利点を有すると考えられた。

30

40

【0062】

[実施例3]

ワカメ抽出物の作製並びに抽出物中のフコキサンチン含量及び脂肪酸含量の測定を行った。乾燥ワカメ(粉末)30 gに80%エタノールを200 mL添加し、30分攪拌した。その後、吸引ろ過により上清を回収し、回収した上清をエバポレーターにより濃縮し、分析に用いるため、100%エタノール50 mLに溶解した。分析値の結果を表に示す。ω-3多価不飽和脂肪酸である、オクタデカテトラエン酸、エイコサペンタエン酸及びα

50

ーリノレン酸ならびにフコキサンチン（36.6mg）が回収された。

【表1】

	オクタデカテ トラエン酸	エイコサペン タエン酸	α -リノレン酸	フコキサンチン
回収量	1.25g	1.60g	0.66g	36.6mg

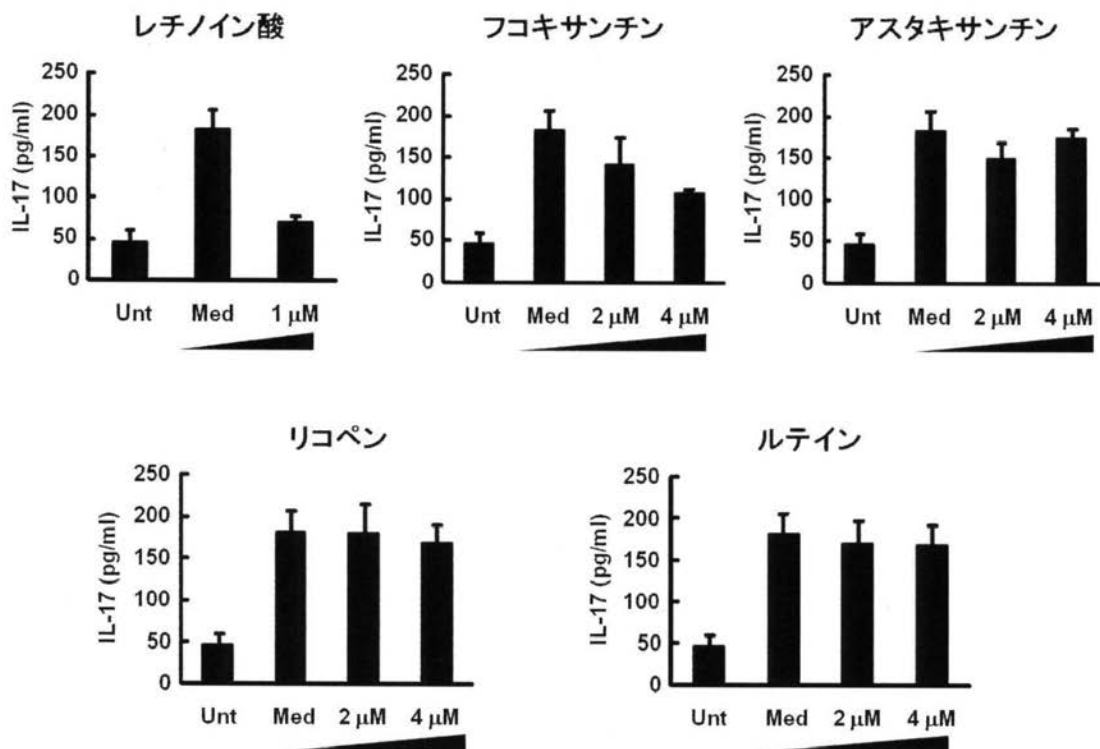
【産業上の利用可能性】

10

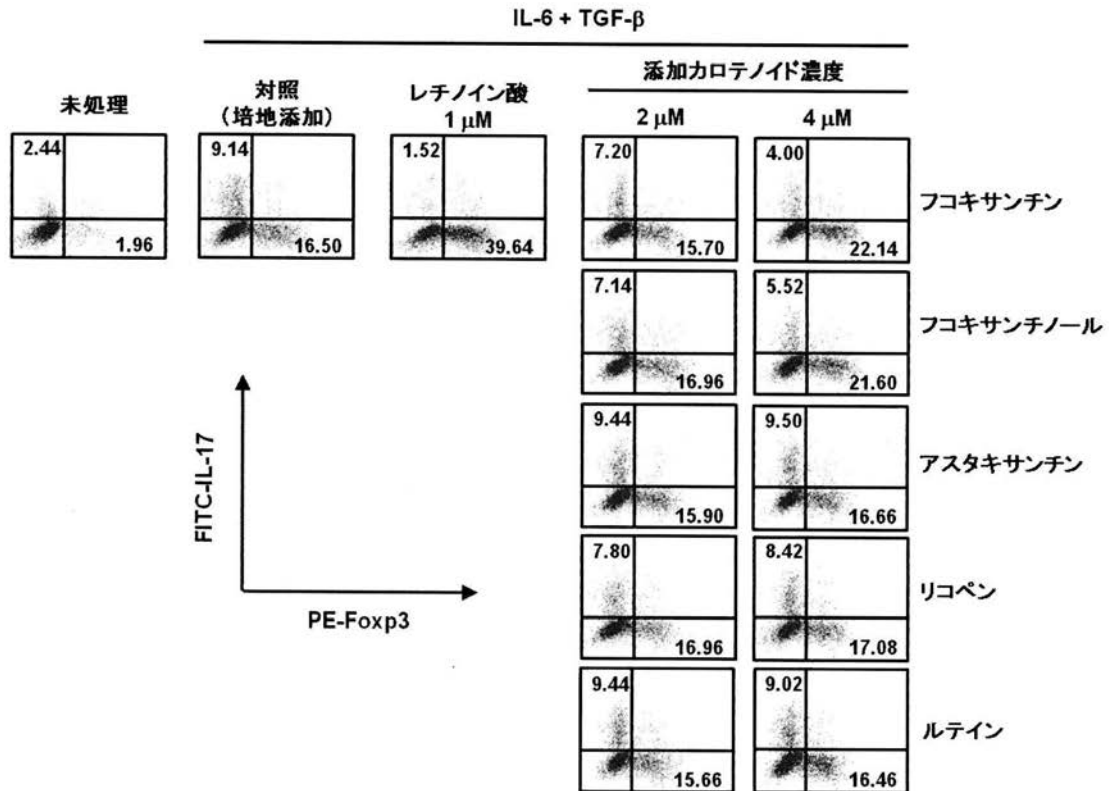
【0063】

本発明のIL-17産生抑制剤、Th17細胞分化抑制剤及びIL-17又はTh17細胞に関連する疾患又は状態の予防又は治療用組成物は、医薬品、食品及び試薬等の分野において産業上の利用可能性を有する。本発明によれば、上記の剤及び組成物を安価に簡便に提供することができる。

【図1】



【 図 2 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P 17/06
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P 29/00 1 0 1
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 K	31/202	(2006.01)	A 6 1 P 37/08
C 0 7 D	303/48	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5
			A 6 1 K 31/202
			C 0 7 D 303/48

F ターム (参考) 4C048 AA04 BB02 BB14 BC15 CC01 XX01
 4C086 AA01 AA02 BA02 GA17 MA01 MA02 MA04 NA14 ZA15 ZA66
 ZA89 ZA96 ZB02 ZB08 ZB11 ZB13 ZB21
 4C206 AA01 AA02 DA05