

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年12月30日(30.12.2021)



(10) 国際公開番号

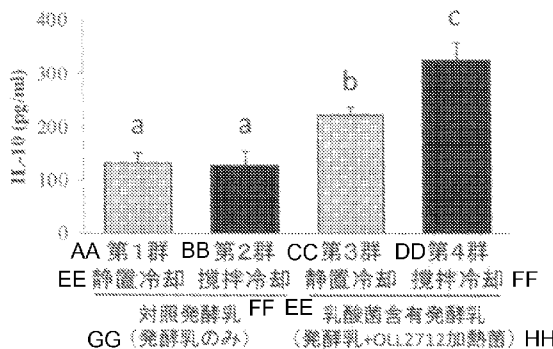
WO 2021/261423 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 35/747 (2015.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A23C 9/123 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A23L 33/135 (2016.01) *C12N 1/20* (2006.01)
A61K 35/20 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/023326
- (22) 国際出願日: 2021年6月21日(21.06.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
 特願 2020-107035 2020年6月22日(22.06.2020) JP
- (71) 出願人: 株式会社明治(MEIJI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1048306 東京都中央区京橋二丁目2番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 利光 孝之(TOSHIMITSU Takayuki); 〒1920919 東京都八王子市七国一丁目2-9番1号 株式会社明治 研究本体内 Tokyo (JP).
 河合 良尚(KAWAI Yoshitaka); 〒1920919 東京都八王子市七国一丁目2-9番1号 株式会社明治 研究本体内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 中村 行孝, 外(NAKAMURA Yukitaka et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内1丁目6番6号 日本生命丸の内ビル 協和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,

(54) Title: COMPOSITION FOR PROMOTING PRODUCTION OF INTERLEUKIN-10

(54) 発明の名称: インターロイキン-10の産生促進用組成物

[図3]



II 图中a, b, cはそれぞれ異符合間に有意差(P<0.05)があることを意味する。

AA First group
 BB Second group
 CC Third group
 DD Fourth group
 EE Static cooling
 FF Stir cooling
 GG Control fermented milk (fermented milk only)
 HH Lactic acid bacteria-containing fermented milk (fermented milk + OLL2712 heated bacteria)

II In the drawing, a, b, and c each denote a significant difference (P<0.05) among the sums of different signs.

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for promoting the production of interleukin-10, the composition comprising: a lactic acid bacterium belonging to the genus Lactobacillus; and fermented milk.

(57) 要約: 本発明は、ラクトバチルス属に属する乳酸菌および発酵乳を含んでなる、インターロイキン-10の産生促進のための組成物に関する。



WO 2021/261423 A1

SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称： インターロイキン－１０の産生促進用組成物

関連出願の参照

[0001] 本特許出願は、先に出願された日本国における特許出願である特願２０２０－１０７０３５号（出願日：２０２０年６月２２日）に基づく優先権の主張を伴うものである。かかる先の特許出願における全開示内容は、引用することにより本明細書の一部とされる。

技術分野

[0002] 本発明は、インターロイキン－１０の産生促進のための組成物に関する。

背景技術

[0003] インターロイキン－１０（ＩＬ－１０）は、免疫細胞（樹状細胞やマクロファージ等）によって産生される抗炎症性のサイトカインであり、生体内において過剰な炎症を抑制する役割を担っている。すなわち、ＩＬ－１０の産生を誘導することにより、炎症、さらには炎症に起因する疾患等を改善することができる。例えば、ＩＬ－１０の産生誘導活性が高い乳酸菌を対象に投与することで、該対象における腸炎を抑制し得ることが報告されている（例えば、非特許文献１および２）。また、遺伝子組み換えによりＩＬ－１０を過剰に発現させることで、炎症の抑制を介して心筋梗塞を抑制し得ることが報告されている（例えば、非特許文献３）。また、ＩＬ－１０の産生を促進する乳酸菌を対象に投与することで、該対象において炎症に起因する疾患を予防および／または治療し得ることが報告されている（例えば、特許文献１、非特許文献４）。したがって、生体内におけるＩＬ－１０の量は、炎症抑制の重要な指標とされている。

[0004] 一方、インターロイキン－１２（ＩＬ－１２）は、免疫細胞によって産生されるサイトカインである点はＩＬ－１０と同じであるものの、生体内において炎症を促進する機能を有する点でＩＬ－１０と異なることが知られている（例えば、非特許文献５および６）。したがって、生体内におけるＩＬ－

12の量は、炎症促進の一つの指標とされている。

[0005] したがって、IL-10とIL-12との比率（すなわち、IL-10量／IL-12量）が、IL-10の量と同様に、炎症抑制（抗炎症）活性の重要な指標とされている（例えば、非特許文献7～9）。

[0006] 従来、IL-10の産生誘導活性が高い細菌株（例えば、乳酸菌等）や、IL-12の産生誘導活性が低い細菌株の探索が行われており、IL-10の産生を促進し、かつ／またはIL-12の産生を抑制する乳酸菌株が報告されている（例えば、特許文献2、非特許文献10）。しかしながら、炎症は様々な疾患（メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等）との関連が示唆されていることから、これまで以上に効率的にIL-10の産生を促進し、かつ／またはIL-12の産生を抑制する方法、ひいては、さらに効率的に炎症を改善する方法が求められている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開第2012/014971号
特許文献2：国際公開第2018/038004号

非特許文献

[0008] 非特許文献1：Mahony L. et al. “Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles.” *Gastroenterology*, 2005; 128(3): 541-51
非特許文献2：Sokol H. et al. “Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients.” *Proc. Natl. Sci. U.S.A.*, 2008; 105(43): 16731-16736
非特許文献3：Yang Yu et al. “Central gene transfer of interleukin-10 reduces hypothalamic inflammation and evidence of heart failure in rats after myocardial infarction.” *Circ. Res.*, 2007; 101(3): 304-312

非特許文献4：Toshimitsu T. et al. “Identification of lactobacillus p
lantarum strain that ameliorates chronic inflammation and metabolic d
isorders in obese and type 2 diabetic mice.” J. Dairy Sci., 2016; 99
(2): 933-946

非特許文献5：Sennello JA, et al. Interleukin-18, together with interl
eukin-12, induces severe acute pancreatitis in obese but not in nonob
ese leptin-deficient mice.” Proc Natl Acad Sci U S A 105:8085 - 8090
, 2008

非特許文献6：Pini M, et al. “Effect of diet-induced obesity on acute
pancreatitis induced by administration of interleukin-12 plus interl
eukin-18 in mice.” Obesity 18:476 - 481, 2010

非特許文献7：Toshimitsu T, et al. “Effects of Lactobacillus plantaru
m strain OLL2712 culture conditions on the anti-inflammatory activiti
es for murine immune cells and obese and type 2 diabetic mice.” Appl
. Environ. Microbiol. 83, pii: e03001-03016, 2017

非特許文献8：Foligne B, et al. “Correlation between in vitro and in
vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria.” World J G
astroenterol 13:236-243, 2007

非特許文献9：Sokol H, et al. “Faecalibacterium prausnitzii is an ant
i-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analy
sis of Crohn disease patients.” Proc Natl Acad Sci U S A 105: 16731-
16736, 2008

非特許文献10：Toshimitsu T. et al. “Effects of 12-wk Lactobacillus p
lantarum OLL2712 treatment on glucose metabolism and chronic inflamma
tion in prediabetic individuals: A single-arm pilot study.” Nutritio
n, 2019; 58: 175-180

[0009] 本発明は、免疫細胞におけるIL-10の産生促進に有用な組成物を提供
することを一つの目的とする。また、本発明は、免疫細胞におけるIL-1

2の産生抑制に有用な組成物を提供することを一つの目的とする。

[0010] 本発明者らは、鋭意検討の結果、ラクトバチルス属に属する乳酸菌と発酵乳とを組み合わせ対象に投与した場合に、該対象の骨髄由来樹状細胞等の免疫細胞におけるIL-10の産生を促進し、さらに、IL-12の産生を抑制し得ることを見出した。本発明はこのような知見に基づくものである。

[0011] 本発明によれば、以下の発明が提供される。

[1] ラクトバチルス属に属する乳酸菌および発酵乳を含んでなる、インターロイキン-10の産生促進のための組成物。

[2] インターロイキン-12の産生抑制のための、[1]に記載の組成物。

[3] インターロイキン-12の量に対するインターロイキン-10の量の比を上昇させるための、[1]または[2]に記載の組成物。

[4] 抗炎症用組成物である、[1]～[3]のいずれかに記載の組成物。

[5] 炎症に起因する疾患を治療または予防するための、[1]～[4]のいずれかに記載の組成物。

[6] 炎症に起因する疾患が、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される、[5]に記載の組成物。

[7] 前記乳酸菌がラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) である、[1]～[6]のいずれかに記載の組成物。

[8] 前記乳酸菌が乳酸菌の死菌体を含む、[1]～[7]のいずれかに記載の組成物。

[9] 前記乳酸菌が加熱処理死菌体を含む、[1]～[8]のいずれかに記載の組成物。

[10] 前記組成物が食品組成物である、[1]～[9]のいずれかに記載の組成物。

[11] 前記組成物が医薬組成物である、[1]～[9]のいずれかに記載の組成物。

[12] 前記乳酸菌が、配列番号1で表される塩基配列と90%以上の同一性を有する16S rRNA遺伝子を有するものである、[1]～[11]のいずれかに記載の組成物。

[13] 前記乳酸菌が、受託番号FERM BP-11262の下で寄託されたラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) OLL2712株である、[1]～[12]のいずれかに記載の組成物。

[14] 前記発酵乳の平均粒径が0.5～100 μ mである、[1]～[13]のいずれかに記載の組成物。

[15] [1]～[14]のいずれかに記載の組成物の製造方法であって、
原料乳にスターターを接種して発酵乳基材を得るスターター接種工程、
前記発酵乳基材を発酵させて発酵乳を得る発酵工程、
前記原料乳、発酵乳基材および発酵乳からなる群から選択される少なくとも一つに、ラクトバチルス属に属する乳酸菌を添加して乳酸菌含有組成物を得る乳酸菌添加工程、
前記原料乳、発酵乳基材、発酵乳および乳酸菌含有組成物からなる群から選択される少なくとも一つを攪拌する攪拌工程、
を含む、前記製造方法。

[16] 前記攪拌工程における攪拌が、ラクトバチルス属乳酸菌を含む発酵乳の平均粒径が0.5～100 μ mとなる条件で行われる、[15]に記載の製造方法。

[17] 前記攪拌工程における攪拌が、30～500rpmの条件で行われる、[15]または[16]に記載の製造方法。

[18] インターロイキン-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための医薬の製造のための、[1]～[14]のいずれかに記載の組成物の使用。

[19] 前記疾患が、炎症および炎症に起因する疾患からなる群から選択される、[18]に記載の使用。

[20] 前記炎症に起因する疾患が、メタボリックシンドローム、脂質異常

症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される、[19]に記載の使用。

[21] インターロイキン-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための飲食品の製造のための、[1]～[14]のいずれかに記載の組成物の使用。

[22] 前記疾患が、炎症および炎症に起因する疾患からなる群から選択される、[21]に記載の使用。

[23] 前記炎症に起因する疾患が、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される、[21]に記載の使用。

[24] インターロイキン-10の産生を促進するための、[1]～[14]のいずれかに記載の組成物の使用。

[25] [1]～[14]のいずれかに記載の組成物の有効量を、それを必要とする対象に摂取させることを含む、インターロイキン-10の産生促進方法。

[0012] 本発明によれば、ラクトバチルス属に属する乳酸菌と発酵乳とを組み合わせることで対象に投与することにより、該対象の免疫細胞において、炎症を抑制することが知られているIL-10の産生を促進し、炎症を促進することが知られているIL-12の産生を抑制することができる。そのため、本発明によれば、炎症を効率的に抑制することができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図1は、本発明の組成物の製造過程の各時点（発酵開始前、発酵開始3時間後、攪拌冷却前、攪拌冷却後および均質化後）における、組成物のIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図2]図2は、発酵乳の冷却攪拌条件ごとの、組成物のIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図3]図3は、ラクトバチルス属乳酸菌OLL2712株の加熱菌を配合した発酵乳とラクトバチルス属乳酸菌OLL2712株の加熱菌を配合していない発酵乳について、冷却攪拌条件ごとの、組成物のIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図4]図4Aは、ラクトバチルス属乳酸菌OLL2712株の加熱菌、発酵乳（対照発酵乳）、発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳）のそれぞれについての、骨髄由来樹状細胞におけるIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。図4Bは、OLL2712株の加熱菌、発酵乳（対照発酵乳）、発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳）のそれぞれについての、骨髄由来樹状細胞におけるIL-12産生抑制活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図5]図5は、OLL2712株の加熱菌、発酵乳（対照発酵乳）、発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳）のそれぞれについての、骨髄由来樹状細胞におけるIL-12量に対するIL-10量の比（IL-10量/IL-12量）のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図6]図6Aは、スターターAを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターAを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターAを用いて調製した発酵乳とP200021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髄由来樹状細胞におけるIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。図6Bは、スターターAを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターAを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターAを用いて調製した発酵乳とP200

021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髓由来樹状細胞におけるIL-12産生抑制活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図7]図7は、スターターAを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターAを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターAを用いて調製した発酵乳とP200021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髓由来樹状細胞におけるIL-12量に対するIL-10量の比（IL-10量/IL-12量）のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図8]図8Aは、スターターBを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターBを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターBを用いて調製した発酵乳とP200021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髓由来樹状細胞におけるIL-10産生促進活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。図8Bは、スターターBを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターBを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターBを用いて調製した発酵乳とP200021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髓由来樹状細胞におけるIL-12産生抑制活性のTukey-Kramer法による多重比較検定の結果を示すグラフである。

[図9]図9は、スターターBを用いて調製した発酵乳（対照発酵乳）、スターターBを用いて調製した発酵乳とOLL2712株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳1）、およびスターターBを用いて調製した発酵乳とP200021株の加熱菌との組み合わせ（乳酸菌含有発酵乳2）のそれぞれについての、骨髓由来樹状細胞におけるIL-12量に対するIL-10量の比（IL-10量/IL-12量）のTukey-Kramer法による

多重比較検定の結果を示すグラフである。

発明の具体的説明

[0014] インターロイキン-10産生促進用組成物

本発明の一つの態様によれば、ラクトバチルス属に属する乳酸菌（以下、「ラクトバチルス属乳酸菌」、「乳酸菌」ともいう）と発酵乳とを含む、対象のインターロイキン-10（IL-10）の産生を促進するための組成物が提供される。なお、本明細書において、「対象のIL-10の産生」、「対象におけるIL-10の産生」等の用語は、いずれも「対象の免疫細胞におけるIL-10の産生」を意味する。本明細書において「免疫細胞」とは、IL-10の産生能を有する細胞であれば特に限定されないが、例えば、骨髄由来の樹状細胞（BMDC：Bone Marrow Derived Cell）が挙げられる。

[0015] 本発明の一つの実施形態によれば、本発明の組成物が適用される対象は、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、例えば、ヒト、サル、チンパンジー、ウシ、ウマ、ヒツジおよびヤギ等の哺乳類であり、好ましくはヒトである。

[0016] 本発明の組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌と発酵乳とを組み合わせることにより、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳をそれぞれ単独で投与した場合と比較して、適用対象の免疫細胞におけるIL-10の産生を促進することができる。このように、ラクトバチルス属乳酸菌と発酵乳との組み合わせにより、対象におけるIL-10の産生を効率的に促進し得ることは、当業者にとって意外な事実である。

[0017] また、本発明の組成物は、適用対象の免疫細胞におけるIL-10の量（濃度）によらずIL-10産生促進効果を奏することができる。すなわち、免疫細胞におけるIL-10の濃度が低い状態にある対象、および免疫細胞におけるIL-10の濃度が高い状態にある対象のいずれにおいてもIL-10産生促進効果を奏することができる。

[0018] 本発明の組成物は、IL-10の産生を効率的に促進できることから、I

IL-10の産生量の低下に起因する炎症等の疾患の改善に用いることができる。

[0019] また、炎症は様々な疾患の原因となり得ることが知られていることから、本発明の組成物は、炎症を抑制することが知られているIL-10の産生を効率的に促進することにより、炎症そのものの抑制だけではなく、炎症に起因する疾患等の改善に用いることもできる。したがって、本発明の本発明の組成物は、好ましくは、炎症に起因する疾患の改善用の組成物である。炎症に起因する疾患としては、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。本明細書において、疾患の「改善」とは、疾患の治療および予防を包含する。また、疾患の「治療」とは、疾患の進展または悪化を医療行為により止める、緩和するまたは遅延させることだけではなく、疾患の進展または悪化を非医療行為により止める、緩和するまたは遅延させることも包含する。また、疾患の「予防」とは、疾患について想定される悪化に対して事前に備え、疾患の発生または再発を医療行為または非医療行為により未然に防ぐことを含む。

[0020] 本発明の一つの実施形態によれば、本発明の組成物に含有されるラクトバチルス属乳酸菌は、該乳酸菌または該乳酸菌を含む組成物を摂取した対象の免疫細胞におけるIL-10の産生促進活性を有する乳酸菌であることが好ましい。免疫細胞におけるIL-10の産生促進活性を有する乳酸菌を使用することは、該乳酸菌または該乳酸菌を含む組成物を摂取した対象におけるIL-10の産生を効率的に促進し、炎症および炎症に起因する疾患等を改善する上で有利である。

[0021] 本明細書において、IL-10について「産生促進」および「産生促進活性を有する」とは、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物で骨髄由来の樹状細胞(BMDC)を刺激した場合に、刺激を受けていない対象と比較して、刺激を受けたBMDCにおけるIL-10量が統計的に有意に(すなわち、誤差の範囲を超えて)増大することを意味する。なお、IL-10量の測定は、例えば、後述する実施例に記載の方法により測定すること

ができる。また、IL-10量についての統計的な解析は、当業者に公知の統計学的解析手法を用いて行うことができる。具体的には、Tukey-Kramer法による多重比較検定により行うことができる。

[0022] 本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、適用対象におけるIL-12の産生を抑制することができる組成物である。また、本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳をそれぞれ単独で投与した場合と比較して、適用対象の免疫細胞におけるIL-12の産生を抑制することができる組成物である。なお、本明細書において、「対象のIL-12の産生」、「対象におけるIL-12の産生」等の用語は、いずれも「対象の免疫細胞におけるIL-12の産生」を意味する。

[0023] また、本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、適用対象の免疫細胞におけるIL-12の量（濃度）によらずIL-12の産生抑制効果を奏し得る。すなわち、本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、免疫細胞におけるIL-12の量が低い状態にある対象、および免疫細胞におけるIL-12量が高い状態にある対象のいずれにおいてもIL-12産生抑制効果を奏し得る。

[0024] 上述した非特許文献5および6の記載によれば、IL-12は炎症を促進することが知られていることから、IL-12の産生を効率的に抑制することにより、炎症をより効率的に抑制し、炎症に起因する疾患等をより効率的に改善することができる。

[0025] 本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物に含有されるラクトバチルス属乳酸菌は、該乳酸菌が投与された対象の免疫細胞におけるIL-12の産生抑制活性を有する乳酸菌である。免疫細胞におけるIL-12の産生抑制活性を有する乳酸菌を使用することは、該乳酸菌を含む組成物が投与された対象におけるIL-12の産生を抑制し、炎症および炎症に起因する疾患等を改善する上で有利である。

[0026] 本明細書において、IL-12について「産生抑制」および「産生抑制活

性を有する」とは、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物でBMD Cを刺激した場合に、刺激を受けていない対象と比較して、刺激を受けたBMD CにおけるIL-12量が統計的に有意に（すなわち、誤差の範囲を超えて）減少することを意味する。なお、IL-12量の測定は、例えば、後述する実施例に記載の方法により測定することができる。また、IL-12量についての統計的な解析は、当業者に公知の統計学的解析手法を用いて行うことができる。具体的には、Tukey-Kramer法による多重比較検定により行うことができる。

[0027] 本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、BMD CにおけるIL-12の量に対するIL-10の量の比（すなわち、IL-10量/IL-12量）を上昇させることができる組成物である。また、本発明の好ましい実施形態によれば、本発明の組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳をそれぞれ単独で投与した場合と比較して、適用対象の免疫細胞における上記比を上昇させることができる組成物である。

[0028] 上述した非特許文献7～9の記載によれば、IL-10量/IL-12量は炎症抑制（抗炎症）活性の指標であることが知られていることから、対象の免疫細胞におけるIL-10量/IL-12量を効率的に上昇させることができる組成物は、炎症抑制活性に優れた組成物ということができる。

[0029] 本発明の組成物に含まれる乳酸菌は、ラクトバチルス属乳酸菌であれば特に限定されることなく用いることができる。好ましくは、ラクトバチルス属乳酸菌は、免疫細胞におけるIL-10の産生促進活性を有する乳酸菌であり、より好ましくは、免疫細胞におけるIL-10の産生促進活性およびIL-12の産生抑制活性の両方を有する乳酸菌である。

[0030] ラクトバチルス属に属する乳酸菌としては、例えば、ラクトバチルス・デルブルッキー亜種ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *burgaricus*)、ラクトバチルス・デルブルッキー亜種ラクティス (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*)、ラクトバチルス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバチルス・ヘルベティクス (*Lactobacillus helveticus*)、ラ

クトバチルス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバチルス・クリスパタス (*Lactobacillus crispatus*)、ラクトバチルス・アミロボラス (*Lactobacillus amylovorus*)、ラクトバチルス・ガリナルム (*Lactobacillus gallinarum*)、ラクトバチルス・ガセリ (*Lactobacillus gasseri*)、ラクトバチルス・オリス (*Lactobacillus oris*)、ラクトバチルス・ラムノサス (*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバチルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*)、ラクトバチルス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバチルス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバチルス・ペントサス (*Lactobacillus pentosus*)、ラクトバチルス・パラプランタラム (*Lactobacillus paraplantarum*)、ラクトバチルス・パラコリノイデス (*Lactobacillus paracollinoides*)、ラクトバチルス・ハメシ (*Lactobacillus hammesii*) 等が挙げられる。これらのラクトバチルス属乳酸菌のうち、好ましくはラクトバチルス・プランタラム、より好ましくはラクトバチルス・プランタラム O L L 2 7 1 2 株が用いられる。なお、本明細書において「ラクトバチルス属に属する乳酸菌」とは、2020年4月15日付で発行された INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY, Volume 70, Issue 4における論文「A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*」において発表された乳酸菌の再編成により新たに設定された25の属、すなわち、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属、パララクトバチルス (*Paralactobacillus*) 属、ホルザプフェリア (*Holzapfelia*) 属、アミロアクトバチルス (*Amylolactobacillus*) 属、ボンビラクトバチルス (*Bombilactobacillus*) 属、コンパニラクトバチルス (*Companilactobacillus*) 属、ラピディラクトバチルス (*Lapidilactobacillus*) 属、アグリラクトバチルス (*Agrilactobacillus*) 属、シェライフェリラクトバチルス (*Schleiferilactobacillus*) 属、ロイゴラクトバチルス (*Loigolactobacillus*) 属、ラク

チカゼイバチルス (*Lacticaseibacillus*) 属、ラチラクトバチルス (*Lactilactobacillus*) 属、デラグリオア (*Dellaglioia*) 属、リクオリラクトバチルス (*Liquorilactobacillus*) 属、リギラクトバチルス (*Ligilactobacillus*) 属、ラクチプランティバチルス (*Lactiplantibacillus*) 属、フルフリラクトバチルス (*Furfurilactobacillus*) 属、パウシルラクトバチルス (*Paucilactobacillus*) 属、リモシラクトバチルス (*Limosilactobacillus*) 属、フルクチラクトバチルス (*Fructilactobacillus*) 属、アセティラクトバチルス (*Acetilactobacillus*) 属、アピラクトバチルス (*Apilactobacillus*) 属、レビラクトバチルス (*Levilactobacillus*) 属、セクンディラクトバチルス (*Secundilactobacillus*) 属およびレンティラクトバチルス (*Lentilactobacillus*) 属のいずれかの属に属する乳酸菌をいう。上記再編成後の属に属する乳酸菌のうち、本発明においては、好ましくはラクトバチルス属、ラクチカゼイバチルス属、ラクチプランティバチルス属、リクオリラクトバチルス属、リモシラクトバチルス属およびレビラクトバチルス属のいずれかに属する乳酸菌が用いられる。なお、上記再編成後の分類により、従来のラクトバチルス・プランタラムは、ラクチプランティバチルス属に分類され、ラクチプランティバチルス・プランタラムと呼称される。

[0031] ラクトバチルス・プランタラム O L L 2 7 1 2 株は、2010年7月2日付で独立行政法人 産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6）に寄託され、その後、国際寄託に移管され受託番号 F E R M B P - 1 1 2 6 2 が付与されている。なお、Budapest Notification No. 282 (http://www.wipo.int/treaties/en/notifications/budapest/treaty_budapest_282.html)に記載されるとおり、独立行政法人製品評価技術基盤機構（I P O D、N I T E）が独立行政法人 産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（I P O D、A I S T）から特許微生物寄託業務を承継したため、ラクトバチルス・プランタラム O L L 2 7 1 2 株は、現在は、独立行政法人製品評価技術基盤機構（I P O D、N I T E）（千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室）に受託番号 F E R M

B P - 1 1 2 6 2 のもとで寄託されている。

[0032] 本発明の組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌としては、上記寄託菌株と実質的に同等の菌株を用いることもできる。上記寄託菌株および実質的に同等の菌株が、IL-10の産生を促進し、かつ／またはIL-12の産生を抑制し得ることは、当業者にとって意外な事実である。実質的に同等の菌株とは、例えば、上述したラクトバチルス属乳酸菌の菌株であって、その16S rRNA遺伝子の塩基配列が、上記寄託菌株の16S rRNA遺伝子の塩基配列（配列番号1）と90%以上、好ましくは95%以上、より好ましくは98%以上、より一層好ましくは99%以上の相同性を有し、かつ、好ましくは上記菌株と同一の菌学的性質を有する菌株を言う。同一の菌学的性質を有する菌株は、好ましくは、免疫細胞におけるIL-10の産生促進活性を有する点で、上記寄託菌株と同程度の活性を有する菌株である。さらに、本発明の組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌としては、本発明の効果が奏される限り、寄託菌株またはそれと実質的に同等の菌株から、変異処理、遺伝子組み換え、自然変異株の選択等によって育種された菌株であってもよい。

[0033] 本発明の組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌としては、ラクトバチルス属乳酸菌の菌体そのものの他に、例えばラクトバチルス属乳酸菌の菌体を含む培養物等が挙げられる。ラクトバチルス属乳酸菌の菌体としては、生菌体および死菌体のいずれも用いることができるが、好ましくは死菌体であり、より好ましくは生菌体を加熱処理することにより得られる死菌体（加熱処理死菌体）である。すなわち、本発明の組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌には、好ましくは死菌体、より好ましくは加熱処理死菌体が含まれる。また、ラクトバチルス属乳酸菌の継代数は、本発明の効果が奏される限り特に限定されないが、例えば、1～30、好ましくは5～15、より好ましくは11～13である。

[0034] ラクトバチルス属乳酸菌の培養条件としては、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、乳酸菌を培養するために通常用いられる条件とすること

ができる。例えば、培地としては、ホエイ粉末、ホエイタンパク質濃縮物を滅菌水に溶解し、プロテアーゼAにより消化した後、酵母抽出物、魚抽出物および $MnSO_4$ を添加し、さらに各種栄養素（ビタミン、ミネラル、脂肪酸エステル）を添加し、 $NaOH$ によりpHを6.7に調整した後、オートクレーブにかけて滅菌して得られる培地を用いることができる。また、培養中のpHは4.8～6.8とすることができる。pHの調整には K_2CO_3 を用いることができる。培養中の温度は29～40℃とすることができる。

[0035] ラクトバチルス属乳酸菌の加熱処理死菌体を得るための加熱処理は、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、乳酸菌を殺菌するために通常用いられる条件で行われる。

[0036] ラクトバチルス属乳酸菌としては、上記加熱処理の他に、例えば濃縮や希釈、凍結、乾燥、粉末化等の処理を行ったものを用いることもできる。

[0037] 本発明の組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌としては、上述した培養や各種処理によって調製したものを用いてもよく、ラクトバチルス属乳酸菌を含有する市販の組成物を用いてもよい。

[0038] 本発明の組成物において、組成物の質量当たりのラクトバチルス属乳酸菌の菌数は、本発明の効果が奏される限り特に限定されないが、好ましくは $10^6 \sim 10^{13}$ 個/g、より好ましくは $10^6 \sim 10^{12}$ 個/g、より一層好ましくは $10^7 \sim 10^{11}$ 個/g、さらにより好ましくは $10^8 \sim 10^{11}$ 個/g、特に好ましくは $10^8 \sim 10^{10}$ 個/gである。また、本発明の組成物において、組成物中の固形分の質量当たりの菌体乾燥質量は、好ましくは0.01～100質量%、より好ましくは1～80質量%、より一層好ましくは10～40質量%である。

[0039] 本発明の組成物に含まれる発酵乳としては、乳および乳製品の成分規格等に関する省令（乳等省令）で定義される「発酵乳」、「乳製品乳酸菌飲料」および「乳酸菌飲料」を包含し、ヨーグルト等も包含される。具体的には、発酵乳としては、生乳、牛乳、特別牛乳、生山羊乳、殺菌山羊乳、生めん羊乳、成分調整牛乳、低脂肪牛乳、無脂肪牛乳、加工乳等の乳またはこれと同

等以上の無脂乳固形分を含む乳等を、乳酸菌または酵母を用いて発酵させ、糊状または液状にしたものまたはこれらを凍結したものが挙げられ、これらにはセットタイプヨーグルト（固形状発酵乳、ハードヨーグルト）、糊状発酵乳（ソフトヨーグルト）および液状発酵乳であるドリンクヨーグルトが包含される。本発明の組成物に含まれる発酵乳としては、好ましくはセットタイプヨーグルトおよびドリンクヨーグルト、より好ましくはドリンクヨーグルトである。本発明の組成物に含まれる発酵乳の平均粒径は、所望される組成物の特性によって適宜設定することができる。具体的には、発酵乳の平均粒径の下限値は、好ましくは $0.5\ \mu\text{m}$ 、好ましくは $1\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $5\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $10\ \mu\text{m}$ 、特に好ましくは $15\ \mu\text{m}$ であり、上限値は、好ましくは $100\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $50\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $25\ \mu\text{m}$ である。また、発酵乳の平均粒径の範囲は、好ましくは $0.5\sim 100\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $5\sim 50\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $10\sim 25\ \mu\text{m}$ 、特に好ましくは $15\sim 25\ \mu\text{m}$ である。発酵乳の平均粒径を上記範囲とすることで、 $1\text{L}-10$ 産生促進活性を特に大きく高めることができる。発酵乳の平均粒径は、例えば、レーザー回折式の粒度分布測定装置（例えば、SALD-2200、株式会社島津製作所製）によって測定することができる。

[0040] 本発明の組成物は、本願発明の効果を妨げない限り、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳以外の成分を含んでいてもよい。ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳以外の成分としては、例えば、培地成分、経口経管摂取に適した添加物、水等の溶媒、糖質、タンパク質、脂質、ビタミン類、ミネラル類、生体必須微量元素（硫酸マンガン、硫酸亜鉛、塩化マグネシウム、炭酸カリウム等）、香料、食品衛生上または薬学的に許容可能な担体、食品添加物等が挙げられる。

[0041] 糖質としては、例えば、糖類、加工澱粉（デキストリン、可溶性澱粉、ブリティッシュスターチ、酸化澱粉、澱粉エステル、澱粉エーテル等）、食物繊維等が挙げられる。

- [0042] タンパク質としては、例えば、全脂粉乳、脱脂粉乳、部分脱脂粉乳、カゼイン、ホエイ粉、ホエイタンパク質、ホエイタンパク質濃縮物、ホエイタンパク質分離物、 α -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼイン、 β -ラクトグロブリン、 α -ラクトアルブミン、ラクトフェリン、大豆タンパク質、鶏卵タンパク質、肉タンパク質等の動植物性タンパク質、これらの加水分解物、バター、乳性ミネラル、クリーム、ホエイ、非タンパク態窒素、シアル酸、リン脂質、乳糖等の各種乳由来成分等が挙げられる。
- [0043] 脂質としては、例えば、ラード、魚油等、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油等の動物性油脂、パーム油、サフラワー油、コーン油、ナタネ油、ヤシ油、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油等の植物性油脂等が挙げられる。
- [0044] ビタミン類としては、例えば、ビタミンA、カロチン類、ビタミンB群、ビタミンC、ビタミンD群、ビタミンE、ビタミンK群、ビタミンP、ビタミンQ、ナイアシン、ニコチン酸、パントテン酸、ビオチン、イノシトール、コリン、葉酸等が挙げられる。
- [0045] ミネラル類としては、例えば、カルシウム、カリウム、マグネシウム、ナトリウム、銅、鉄、マンガン、亜鉛、セレン等が挙げられる。
- [0046] 本発明の一つの実施形態によれば、本発明のIL-10産生促進用組成物を食品組成物として提供することができる。本発明の食品組成物は、適用対象におけるIL-10量の増大促進用、IL-10量の減少抑制用、IL-10量の維持用、炎症抑制用、抗炎症用、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等の予防および／または治療用であってもよい。
- [0047] 本発明の食品組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含有し得る飲食品であればどのような形態のものであってもよく、溶液、懸濁液、乳濁液、粉末、ペースト、半固体成形物、固体成形物等、経口または経管摂取可能な形態であればよい。具体的な飲食品としては、例えば、乳飲料、清涼飲料、発酵乳、乳酸菌飲料、乳性飲料、ヨーグルト、チーズ、バター、クリ

ーム、アイスクリーム、氷菓、チョコレート、タブレット（錠菓）、グミ、パン、流動食、病者用食品、栄養食品、冷凍食品、加工食品、調味料その他の市販食品等が挙げられる。

[0048] 本発明の食品組成物は、IL-10産生促進用、炎症抑制用等の用途が表示された飲食品とすることができる。飲食品には、「IL-10量の増大促進用」、「IL-10量の減少抑制用」、「IL-10量の維持用」、「IL-10産生促進用」、「炎症抑制用」、「抗炎症用」、「メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患、の予防用」等の表示をすることができる。また、これらの以外の表示であっても、IL-10の産生促進によって生じる効果を表す文言であれば、同様に使用できる。

[0049] 本発明の食品組成物が、適用対象の免疫細胞におけるIL-12の産生を抑制することができる組成物である場合、IL-12産生抑制用、炎症抑制用等の用途が表示された飲食品とすることができる。飲食品には、「IL-12量の減少促進用」、「IL-12量の増大抑制用」、「IL-12量の維持用」、「IL-12産生抑制用」、「炎症抑制用」、「抗炎症用」、「メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患の予防用」等の表示をすることができる。また、これらの以外の表示であっても、IL-12の産生抑制によって生じる効果を表す文言であれば、同様に使用できる。

[0050] 本明細書において「表示」とは、需要者に対して上記用途を知らしめるための全ての行為を意味し、上記用途を想起・類推させうるような表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物及び媒体等の如何に拘わらず、すべて本発明の「表示」に該当する。しかしながら、需要者が上記用途を直接的に認識できるような表現により表示することが好ましい。

[0051] 表示としては、行政等によって許可された表示（例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示）であることが好ましい。例えば、健康食品、機能性食品、機能性表示食品、

経腸栄養食品、特別用途食品、病者用食品、栄養機能食品、医薬用部外品等としての表示を例示することができ、その他厚生労働省によって認可される表示、例えば、特定保健用食品、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。後者の例としては、特定保健用食品としての表示、条件付き特定保健用食品としての表示、身体の構造や機能に影響を与える旨の表示、疾病リスク低減表示等を例示することができる。さらに詳細には、健康増進法施行規則（平成15年4月30日日本国厚生労働省令第86号）に定められた特定保健用食品としての表示（特に保健の用途の表示）、およびこれに類する表示等を例示することができる。

[0052] 本発明の一つの実施形態によれば、本発明のIL-10産生促進用組成物を医薬組成物として提供することができる。本発明の医薬組成物は、適用対象におけるIL-10量の増大促進用、IL-10量の減少抑制用、IL-10量の維持用、炎症抑制用、抗炎症用、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等の予防および／または治療用であってもよい。本発明の医薬組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含有させる以外は、当該医薬の通常の製造手順に従って製造することができる。ここで、医薬組成物とは、本発明の組成物を、常法に従って、経口製剤または非経口製剤として調製したものである。製剤化には、製剤化のために許容可能な添加剤を併用してもよい。製剤化のために許容可能な添加剤としては、例えば、賦形剤、安定剤、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、滑沢剤、甘味料、着色料、香料、緩衝剤、酸化防止剤、pH調整剤等が挙げられる。医薬組成物が経口製剤の場合には、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、徐放剤等の固形製剤、溶液、懸濁液、乳濁液等の液状製剤の形態をとることができる。また、医薬組成物が非経口製剤の場合には、注射剤や座剤等の形態をとることができる。なお、摂取対象への摂取（投与）の簡易性の観点からは、医薬組成物は経口製剤であることが好ましい。

[0053] また、本発明の一つの実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む、抗炎症用組成物が提供される。

[0054] 本発明の組成物の適用量（摂取量、投与量）は、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、適用対象の年齢、健康状態、体重等に応じて適宜調整することができる。典型的には、一日当たり0.001～10g/kg体重であり、好ましくは0.01～7g/kg体重、より好ましくは0.5～5g/kg体重、より一層好ましくは1～2g/kg体重である。また、ラクトバチルス属乳酸菌の菌体乾燥質量として、好ましくは0.001～1000mg/kg体重、より好ましくは0.01～100mg/kg体重、より好ましくは0.05～30mg/kg体重、より一層好ましくは0.1～10mg/kg体重である。また、ラクトバチルス属乳酸菌の菌数として、好ましくは 10^4 ～ 10^{12} 個/kg体重、より好ましくは 10^5 ～ 10^{11} 個/kg体重、より一層好ましくは 10^6 ～ 10^{10} 個/kg体重、特に好ましくは 10^6 ～ 10^8 個/kg体重である。

[0055] 本発明の組成物は、その効果をよりよく発揮させるために、長期間にわたって継続的に適用（摂取、投与）することが好ましく、具体的には、3日以上継続的に適用することが好ましく、1週間以上継続的に適用することがより好ましい。適用期間としては、例えば、1～6週間、1～12週間、2～10週間、4～10週間、4～12週間等が挙げられる。本明細書において「継続的」とは、本発明の組成物を毎日決められた量適用し続けることを意味する。

[0056] IL-10産生促進用組成物の製造方法

本発明の組成物は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の他に、上述の通り、薬学的に許容可能な担体および／または添加物、食品衛生的に許容可能な担体および／または添加物等を配合することにより製造することができる。したがって、本発明の別の態様によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を配合する工程を含んでなる、IL-10産生促進用組成物の製造方法が提供される。

[0057] 本発明の一つの態様によれば、以下の工程を含むIL-10産生促進用組成物の製造方法が提供される：

原料乳にスターターを接種して発酵乳基材を得るスターター接種工程、
前記発酵乳基材を発酵させて発酵乳を得る発酵工程、
前記発酵乳に、ラクトバチルス属に属する乳酸菌を添加して乳酸菌添加発酵乳を得る乳酸菌添加工程、および、
前記発酵乳および乳酸菌添加発酵乳からなる群から選択される少なくとも一つを攪拌する攪拌工程。

[0058] 本発明の製造方法において、原料乳は、所望の組成物の種類に応じて公知のものを用いることができる。原料乳は、乳、濃縮乳、全脂粉乳、脱脂乳、脱脂濃縮乳、脱脂粉乳、部分脱脂乳、部分脱脂濃縮乳、部分脱脂粉乳および乳タンパク質濃縮物からなる群から選択される1種以上を含む。原料乳としては、例えば、生乳を用いることができる。また、生乳に、殺菌乳、全脂乳、脱脂乳、全脂濃縮乳、脱脂濃縮乳、全脂粉乳、脱脂粉乳、バターミルク、有塩バター、無塩バター、ホエイ、ホエイ粉、ホエイタンパク質濃縮物（WPC）、ホエイタンパク質単離物（WPI）、 α -ラクトアルブミン（ α -L a）、 β -ラクトグロブリン（ β -L g）、乳糖、クリーム、水等を添加した混合物を用いることもできる。

[0059] 原料乳は、予め均質化处理されたものであってもよい。均質化处理では、主に原料乳に含まれるタンパク質および／または脂肪分によって構成される粒子（脂肪球）を細かく破碎（微細化）する。均質化处理は1回のみ行われてもよいし、2回以上行われてもよい。原料乳を均質化する方法としては、例えば原料乳を加圧して押し出しながら狭い間隙を通過させる方法、原料乳を減圧して吸引しながら狭い間隙を通過させる方法等が挙げられる。

[0060] また、原料乳は、予め殺菌処理されたものであってもよい。殺菌処理は、原料乳に含まれる雑菌を殺菌できる程度に、加熱温度および加熱時間を調整して加熱することにより行われる。原料乳の加熱温度は、例えば、80℃以上、90℃以上である。殺菌処理は、例えば、高温短時間殺菌処理（HTST）、超高温殺菌処理（UHT）等の公知の方法により行うことができる。加熱により原料乳を殺菌処理した場合、高温になっている原料乳を、スター

ター接種工程の前に、発酵に適した温度域（発酵温度域）まで冷却することが好ましい。発酵温度とは、乳酸菌等の微生物が活性化して、該微生物の増殖が促進される温度を意味する。例えば、原料乳の発酵温度域は、30～60℃である。

[0061] 以下、本発明の製造方法における各工程について説明する。

[0062] <スターター接種工程>

スターター接種工程は、原料乳にスターターを接種（添加）する工程である。原料乳に摂取するスターターの量は、例えば、原料乳の全質量に対して0.01質量%以上、0.01～15質量%、0.05～10質量%、0.11～5質量%である。なお、本明細書において、スターターが摂取された原料乳を「発酵乳基材」ともいう。

[0063] スターターは、乳酸菌および酵母の両方またはいずれか一方を含む。乳酸菌としては、好ましくはラクトバチルス・デルブルッキー、より好ましくはラクトバチルス・デルブルッキー・亜種・ブルガリカスを含む。また、より一層好ましくは、ラクトバチルス・デルブルッキー・亜種・ブルガリカスに加えて、ストレプトコッカス・サーモフィルスを含む。また、スターターには、上記ラクトバチルス・デルブルッキー・亜種・ブルガリカス、ストレプトコッカス・サーモフィルスに加えて、またはこれらに代えて公知の乳酸菌やビフィズス菌が含まれていてもよい。公知の乳酸菌としては、例えば、ラクトバチルス・ガセリ (*Lactobacillus gasserii*)、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバチルス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*)、ラクトコッカス・ラクティス・亜種・クレモリス (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 等が挙げられる。公知のビフィズス菌 (*Bifidobacterium*) としては、例えば、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*)、ビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum*) 等が挙げられる。スターターに含まれる乳酸菌は、後述する乳酸菌添加工程で発酵乳に添加する乳酸菌と同じであっても異なってもよいが、好ましくは異なる

乳酸菌が使用される。

[0064] <発酵工程>

発酵工程は、スターターによって原料乳を発酵させる工程である。発酵工程では、スターターが摂取された原料乳（発酵乳基材）を発酵温度域（例えば、30～60℃）に保持して発酵させて発酵乳を得る。発酵条件としては、原料乳の種類、スターターの種類や量、所望の発酵乳の風味や食感等に応じて、発酵温度や発酵時間を適宜調整する。具体的には、原料乳を発酵温度域で1時間以上、好ましくは1～12時間、より好ましくは2～8時間、より一層好ましくは3～5時間保持する。また、原料乳の発酵条件を、得られる発酵乳の乳酸酸度（酸度）やpHとして設定してもよい。例えば、発酵条件としては、原料乳の無脂乳固形分（SNF）が8～10質量%の場合に、得られる発酵乳の乳酸酸度が、例えば、0.7%以上、0.8%以上となるまで発酵が継続される。なお、原料乳の酸度は、乳等省令の「乳等の成分規格の試験法」に従って測定される。

[0065] <乳酸菌添加工程>

乳酸菌添加工程は、原料乳、発酵乳基材および発酵乳からなる群から選択される少なくとも一つにラクトバチルス属乳酸菌を添加して乳酸菌含有組成物を得る工程である。ラクトバチルス属乳酸菌は、スターターを添加する前の原料乳、スターターを添加した後の発酵乳基材、発酵乳基材の発酵中の発酵乳、および／または発酵乳基材の発酵後の発酵乳に添加される。ラクトバチルス属乳酸菌としては、インターロイキン-10産生促進用組成物に含まれるラクトバチルス属乳酸菌と同じものを使用することができる。ラクトバチルス属乳酸菌としては、好ましくはラクトバチルス・プランタラムであり、より好ましくはラクトバチルス・プランタラムOLL2712株である。ラクトバチルス属乳酸菌としては、培養液、濃縮培養液、凍結濃縮菌、凍結ペレット、凍結乾燥粉末等を用いることができる。なお、上述したスターター接種工程において原料乳に接種されるスターターがラクトバチルス属乳酸菌を含む場合、該スターターに含まれるラクトバチルス属乳酸菌と本乳酸菌

添加工程において添加される乳酸菌とは同じであってもよく、または異なってもよい。本発明の好ましい実施形態によれば、スターター接種工程におけるスターターに含まれるラクトバチルス属乳酸菌と乳酸菌添加工程において添加される乳酸菌とは異なる。

[0066] 原料乳、発酵乳基材および／または発酵乳に添加するラクトバチルス属乳酸菌の量は、例えば、ラクトバチルス属乳酸菌が添加される原料乳、発酵乳基材または発酵乳の全質量に対して0.01質量%以上、0.01～15質量%、0.02～10質量%、0.03～5質量%であり、特に好ましくは0.03～1質量%である。発酵乳に添加するラクトバチルス属乳酸菌の菌数としては、好ましくは 10^6 個/g～ 10^{12} 個/g、より好ましくは 10^7 個/g～ 10^{11} 個/g、より一層好ましくは 10^8 c f u / g ～ 10^{10} 個 / g である。

[0067] <攪拌工程>

攪拌工程とは、原料乳、発酵乳基材、発酵乳および／または乳酸菌含有組成物を攪拌する工程である。乳酸菌含有組成物を攪拌することにより、本発明の製造方法により得られる組成物におけるIL-10産生促進活性を特に大きく高めることができる。

[0068] 攪拌工程における攪拌条件は、攪拌に用いる容器、攪拌具等のサイズ、形状等、攪拌速度、攪拌時間等によって適宜設定することができる。例えば、攪拌対象がラクトバチルス属乳酸菌を含む発酵乳である場合、攪拌後の発酵乳の平均粒径の下限値が、好ましくは $0.5\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $5\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $10\ \mu\text{m}$ 、特に好ましくは $15\ \mu\text{m}$ 、上限値が、好ましくは $100\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $50\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $25\ \mu\text{m}$ となるような条件が適宜設定される。攪拌後の発酵乳の平均粒径の範囲は、好ましくは $0.5\sim 100\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $1\sim 50\ \mu\text{m}$ 、より好ましくは $5\sim 50\ \mu\text{m}$ 、より一層好ましくは $10\sim 25\ \mu\text{m}$ 、特に好ましくは $15\sim 25\ \mu\text{m}$ とすることができる。ラクトバチルス属乳酸菌を含む発酵乳の平均粒径を上記範囲とすることで、IL-10産生促進活性を特に大きく高め

ることができる。本発明において、ラクトバチルス属乳酸菌を含む発酵乳の平均粒径は、上述した本発明の組成物における発酵乳の平均粒径の測定と同様の方法によって測定することができる。また、例えば、3.0L容量のステンレス製バット（直径15cm）および直径10cmのT字型攪拌翼を用いて1,000gの原料乳、発酵乳基材、発酵乳または乳酸菌含有組成物を攪拌する場合、攪拌速度の下限値を30rpm、50rpm、100rpm、150rpm、160rpm、200rpm、攪拌速度の上限値を500rpm、400rpm、350rpm、300rpm、250rpmとすることができる。攪拌速度の範囲は、好ましくは30～500rpm、より好ましくは50～400rpm、より一層好ましくは100～200rpmとすることができる。攪拌は連続的に行ってもよく、間欠的に行ってもよいが、発生する炭酸ガスの除去、固形物の浮上の抑制の観点から、連続的に行うことが好ましい。攪拌工程においては、公知のパドル型攪拌翼、ミキサー、フードカッターを用いることもできる。また、攪拌工程時に乳酸菌含有組成物をせん断するせん断力は、攪拌機（せん断機）の種類や攪拌条件等によって適宜調整することができる。

[0069] <冷却工程>

本発明の製造方法は、乳酸菌含有組成物を冷却する冷却工程をさらに含んでもよい。

[0070] 冷却工程では、乳酸菌含有組成物を、発酵温度域（例えば、30～60℃）よりも低い温度、例えば15℃以下になるまで冷却する。好ましくは1～15℃、より好ましくは3～12℃、より一層好ましくは5～10℃に乳酸菌含有組成物を冷却する。冷却の方法（冷却条件）は特に限定されず、氷冷等により急速に冷却してもよく、冷蔵庫等の恒温器や恒温室等により緩慢に冷却してもよい。なお、「急速に冷却」とは、例えば、40℃前後の発酵温度域にある乳酸菌含有組成物が10℃以下になるまでの時間が10～30分程度である冷却方法を意味する。一方、「緩慢に冷却」とは、例えば、40℃前後の発酵温度域にある乳酸菌含有組成物が10℃以下になるまでの時間

が1～3時間程度である冷却方法を意味する。

[0071] 冷却工程は、単独で行ってもよく、上述した攪拌工程と並行して行ってもよい。組成物の製造効率を高めるという観点、また、得られる組成物におけるIL-10産生促進活性を高めるという観点からは、冷却工程は攪拌工程と並行して行うことが好ましい。攪拌工程と冷却工程とを並行して行う場合の攪拌条件および冷却条件は、それぞれ攪拌工程および冷却工程において記載したのと同様の条件を採用することができる。

[0072] 本発明の一つの態様によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの有効量を対象に適用することを含む、該対象におけるIL-10の産生を促進する方法が提供される。また、本発明の好ましい実施形態によれば、上記方法は、対象における炎症を改善するための方法である。対象における炎症を改善する方法は、非治療的方法であってもよく、治療的方法であってもよい。本発明の一つの実施形態によれば、治療的方法は、炎症に起因する疾患等を改善する方法として提供される。別の好ましい実施形態によれば、治療的方法における改善とは、治療および／または予防である。したがって、一つの実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの有効量を対象に適用することを含む、該対象における炎症を治療および／または予防する方法である。また、別の実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの有効量を対象に適用することを含む、該対象における炎症に起因する疾患を治療および／または予防する方法である。

[0073] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの有効量を対象に適用することを含む、該対象におけるメタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される疾患を治療および／または予防する方法である。

- [0074] また、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの適用対象は、IL-10の産生を促進する必要がある対象であれば特に限定されず、健康者であってもよく、また、IL-10の産生が低下している者、IL-10の産生が低下傾向にある者であってもよい。
- [0075] IL-10の産生を促進する方法において、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの適用量および適用期間は、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、適用対象の年齢、健康状態、体重等に応じて適宜調整することができる。典型的には、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の組み合わせの適用量および適用期間は、本発明の組成物における適用量および適用期間と同様とされる。
- [0076] 本発明の別の態様によれば、IL-10の産生促進のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用が提供される。本発明の一つの実施形態によれば、上記使用は、炎症の治療および／または予防のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用として提供される。また、別の一つの実施形態によれば、上記使用は、炎症に起因する疾患を治療および／または予防のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用として提供される。
- [0077] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される疾患を治療および／または予防するための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。
- [0078] 好ましい実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物は、食品組成物として提供される。別の好ましい実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物は、非治療的方法により対象に適用される。
- [0079] 本発明の別の態様によれば、IL-10産生促進用組成物の製造のための

、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の使用が提供される。本発明の一つの実施形態によれば、上記使用は、炎症の治療および／または予防のための組成物の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳の使用として提供される。また、別の一つの実施形態によれば、上記使用は、炎症に起因する疾患を治療および／または予防のための組成物の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用として提供される。

[0080] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される疾患の治療および／または予防のための組成物の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。

[0081] 好ましい実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳は、食品組成物の製造のために使用される。別の好ましい実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳は、非治療的方法により対象に適用される。

[0082] 本発明の別の態様によれば、IL-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための医薬の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用が提供される。好ましい実施形態によれば、IL-10の産生量の低下に起因する疾患とは、炎症、炎症に起因する疾患等である。したがって、一つの実施形態は、炎症の治療のための医薬の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。また、別の実施形態は、炎症に起因する疾患の治療のための医薬の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。

[0083] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる

群から選択される疾患の治療のための医薬の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。

[0084] 本発明の別の態様によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の有効量を、それを必要とする対象に適用することを含む、該対象におけるIL-10の産生を促進する方法が提供される。また、本発明の好ましい実施形態によれば、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の有効量を、それを必要とする対象に適用することを含む、該対象における炎症、炎症に起因する疾患を抑制する方法が提供される。ここで、「抑制」には、確立された病態を治療することだけでなく、将来に確立される可能性がある病態を予防する概念も含まれる。さらに「抑制」には、非治療的な概念、例えば、炎症または炎症に起因する疾患等の改善または緩和も含まれる。したがって、一つの実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の有効量を、それを必要とする対象に適用することを含む、該対象における炎症を改善および／または緩和する方法である。また、別の実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の有効量を、それを必要とする対象に適用することを含む、該対象における炎症に起因する疾患を改善および／または緩和する方法である。

[0085] 本発明の別の態様によれば、IL-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための飲食品の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用が提供される。好ましい実施形態によれば、IL-10の産生量の低下に起因する疾患とは、炎症、炎症に起因する疾患等である。したがって、一つの実施形態は、炎症の治療のための飲食品の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。また、別の実施形態は、炎症に起因する疾患の治療のための飲食品の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。

[0086] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、メタボリックシンドロ

ーム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される疾患の治療のための飲食品の製造のための、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の使用である。

[0087] 炎症に起因する疾患としては、特に限定されないが、例えば、メタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌、自己免疫疾患等が挙げられる。したがって、別の一つの実施形態は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の有効量を、それを必要とする対象に適用することを含む、該対象におけるメタボリックシンドローム、脂質異常症、糖尿病、肥満、高血糖、癌および自己免疫疾患からなる群から選択される疾患を改善および／または緩和する方法である。

実施例

[0088] 以下の例に基づいて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。なお、特段の記載がない限り、本実施例における単位および測定方法は、JIS（日本工業規格）に従う。また、特段の記載がない限り、本実施例におけるIL-10量およびIL-12量の統計解析は、Tukey-Kramer法による多重比較検定により行った。

[0089] 例1：ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の製造方法の検討

ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の製造方法について、得られる組成物のIL-10産生促進活性の観点から検討を行った。

[0090] (1) ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の製造工程におけるIL-10産生促進活性の変動

原料乳（生乳、脱脂粉乳、クリーム、砂糖およびステビアを含む混合物）に、ラクトバチルス・デルブルッキー・亜種・ブルガリカスとストレプトコッカス・サーモフィルスとから構成される乳酸菌スターターAおよび加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株（受託番号：FERM BP-11262）を添加して、pH4.4～4.6程度になるまで（4～6時間）43℃で保持して原料乳を発酵させて発酵乳を調製した。なお、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の加熱処理

は、菌体を濃縮した後、60℃で10分間加熱することにより行った。次いで、発酵乳を150rpmで攪拌しながら冷蔵庫で4℃まで緩慢に冷却した。その後、ホモミキサーにより発酵乳を均質化して、ドリンクヨーグルトを得た。なお、発酵乳に含まれる乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の菌体量は、 5×10^9 個以上/112gであった。

[0091] 発酵乳を均質化するまでの過程で、発酵開始時（pH6.5程度）の原料乳、発酵開始3時間後（pH4.8～5.0程度）の発酵乳、攪拌冷却前（pH4.4～4.6程度）の発酵乳、攪拌冷却後（pH4.2～4.4程度）の発酵乳、均質化後の発酵乳をそれぞれ採取し、-80℃で保存した。

[0092] -80℃で保存した原料乳および各発酵乳をそれぞれ解凍し、骨髓由来樹状細胞（BMDC）におけるIL-10産生促進活性を、以下のように測定した。

[0093] BALB/cマウス（日本SLC株式会社製）の大腿骨より抽出した骨髓液を、70μmセルストレイナーに通し、溶血した後、抗体の非特異的結合を防ぐためにウサギIgGを添加した。次いで、ビオチン標識抗CD4抗体、抗CD8抗体およびI-Ad（MHCIIマーカー）抗体を添加して、氷上で30分静置した。次いで、ストレプトアビジン磁気ビーズおよび抗B220抗体磁気ビーズを添加した。40μmのセルストレイナーを通した後、auto MACS DEpleteでネガティブ画分を回収した。この操作により、骨髓液中細胞からT細胞、B細胞および抗原提示細胞を除去し、未成熟樹状細胞のみを分離できたものとした。

[0094] 得られた未成熟樹状細胞を10% GM-CSF入りRPMI-1010mlで培養し、3日後にGM-CSF入りRPMI-10を5ml添加した。さらに5日後に浮遊細胞を回収し、BMDCとして使用した。

[0095] 得られたBMDCを 10^5 個/ウェルとなるように96穴プレートに播種し、次いで、0.5～2%の濃度で原料乳または各発酵乳をそれぞれ添加して培養した。24時間後に培養上清を回収し、マウスELISAキットを用いて、回収した培地上清中のIL-10量（濃度）を測定し、BMDCにおけ

るIL-10産生量を測定した。なお、使用した抗体類およびELISAキットはいずれもBecton Dickinson社より購入した。原料乳および各発酵乳について、BMDCにおけるIL-10産生量（すなわち、各試料のIL-10産生促進活性）の結果をそれぞれ図1に示す。

[0096] 図1の結果から、攪拌冷却前、攪拌冷却後および均質化後の各時点の発酵乳を添加した場合には、発酵開始前の原料乳を添加した場合と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。特に、攪拌冷却後および均質化後の各時点の発酵乳を添加した場合には、IL-10の産生が特に顕著に促進されることが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10産生促進活性が増大すること、さらに、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物を攪拌冷却することにより、該組成物のIL-10産生促進活性が特に顕著に増大することを示唆するものである。

[0097] (2) 攪拌冷却工程の条件の検討1

ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳（ドリンクヨーグルト）を含む組成物の製造における攪拌冷却工程の条件検討を、以下の手順に従って行った。

[0098] 原料乳（生乳、脱脂粉乳、クリーム、砂糖およびステビアを含む混合物）に乳酸菌スターターAおよび加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株を添加して、pH4.4~4.6程度になるまで（4~6時間）43℃で保持して原料乳を発酵させて発酵乳を調製した。なお、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の加熱処理は、菌体を濃縮した後、60℃で10分間加熱することにより行った。また、得られた発酵乳に含まれる乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の菌体量は、 5×10^9 個以上/112gであった。得られた発酵乳を3つの群に分け、各群の発酵乳を以下の条件で冷却した。

第1群：氷冷中で急速に冷却しながら攪拌した。

第2群：冷蔵庫内で緩慢に冷却しながら攪拌した。

第3群：攪拌せずに冷蔵庫内で静置して緩慢に冷却した。

なお、第1群および第2群において、攪拌は150rpmで行った。また、第1群の急速な冷却では、乳酸菌添加発酵乳が10℃以下となるまでに20分程度の時間を要した。一方、第2群および第3群の緩慢な冷却では、乳酸菌添加発酵乳が10℃以下となるまでに2時間程度の時間を要した。

[0099] 攪拌冷却後の各群の発酵乳を採取し、-80℃で保存した。保存後の各発酵乳を解凍し、各発酵乳について、BMD CにおけるIL-10の産生促進活性を上記(1)と同様にして測定した。結果をそれぞれ図2に示す。

[0100] 図2の結果から、急速に冷却しながら攪拌をした第1群、および緩慢に冷却しながら攪拌をした第2群では、いずれも攪拌せずに緩慢に冷却した第3群と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。この結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の製造過程において攪拌を行うことにより、該組成物のIL-10産生促進活性が顕著に増大することを示唆するものである。

[0101] (3) 攪拌冷却工程の条件の検討2

ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物の製造における攪拌冷却工程の条件を、以下の手順に従って検討した。

[0102] 原料乳(生乳、脱脂粉乳、クリーム、砂糖およびステビアを含む混合物)に乳酸菌スターターAおよび加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株を添加して、pH4.4~4.6程度になるまで(4~6時間)43℃で保持して原料乳を発酵させて乳酸菌含有発酵乳を調製した。なお、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の加熱処理は、菌体を濃縮した後、60℃で10分間加熱することにより行った。また、得られた乳酸菌含有発酵乳に含まれる乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株の菌体量は、 5×10^9 個以上/112g個/gであった。一方、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株を添加しないこと以外は上記乳酸菌含有発酵乳と同様にして対照発酵乳を調製した。上記乳酸菌含有発酵乳および対照発酵乳をそれぞれ2つの群に分け、各群の発酵乳を以下の条件で冷却・攪拌した。

第1群（対照発酵乳）：攪拌せずに冷蔵庫内で静置して緩慢に冷却した。

第2群（対照発酵乳）：冷蔵庫内で緩慢に冷却しながら攪拌した。

第3群（乳酸菌含有発酵乳）：攪拌せずに冷蔵庫内で静置して緩慢に冷却した。

第4群（乳酸菌含有発酵乳）：冷蔵庫内で緩慢に冷却しながら攪拌した。

[0103] 冷却前および冷却後の各群の発酵乳を採取し、 -80°C で保存した。保存後の各発酵乳を解凍し、各発酵乳について、BMD CにおけるIL-10の産生促進活性を上記（1）と同様にして測定した。結果をそれぞれ図3に示す。

[0104] 図3の結果から、乳酸菌含有発酵乳では、静置冷却をした場合（第3群）および攪拌冷却をした場合（第4群）のいずれにおいても、対照発酵乳と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。さらに、攪拌冷却をした乳酸菌含有発酵乳（第4群）では、静置冷却をした乳酸菌含有発酵乳（第3群）と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10の産生促進活性が増大されること、さらに、ラクトバチルス属乳酸菌を含む組成物の製造過程において攪拌を行うことにより、該組成物のIL-10産生促進活性が増大することにより、該組成物IL-10産生促進活性が特に顕著に増大することを示唆するものである。

[0105] 例2：ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物がサイトカインに及ぼす効果の確認

ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物が抗炎症性サイトカイン（IL-10）および炎症性サイトカイン（IL-12）の産生に及ぼす効果について検討を行った。

（1）サイトカインの産生促進活性に及ぼす効果1

原料乳（生乳、脱脂粉乳、クリーム、砂糖およびステビアを含む混合物）に、乳酸菌スターターAとは異なるラクトバチルス・デルブルッキー・亜種・ブルガリカスとストレプトコッカス・サーモフィルスとから構成される乳

酸菌スターターBおよび加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株を添加した。乳酸酸度（酸度）が0.7%になるまで43℃で保持して原料乳を発酵させて乳酸菌含有発酵乳（ハードヨーグルト）を調製した。なお、乳酸菌の加熱処理は、菌体を濃縮した後、60℃で10分間加熱することにより行った。また、得られた乳酸菌含有発酵乳に含まれるラクトバチルス属乳酸菌の菌体量は、 5×10^9 個以上/112gであった。一方、ラクトバチルス属乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株を添加しないこと以外は上記乳酸菌含有発酵乳と同様にして対照発酵乳（ハードヨーグルト）を調製した。

[0106] 調製翌日の各発酵乳を、1%の濃度で骨髓由来樹状細胞（ 10^5 個/ウェル）に添加した以外は、上記例1と同様の方法で、抗炎症性サイトカインIL-10の産生量を測定した。また、IL-10の産生量を、ELISAキットとして「Mouse IL-12 (p70) ELISA Set」（Becton Dickinson社製）を使用した以外は、上記例1におけるIL-10の産生量の測定と同じ方法により測定した。ここで、IL-12の産生量（濃度）は、活性型であるIL-12 (p70)の産生量（濃度）として測定した。また、乳酸菌含有発酵乳に含まれるのと同程度の菌体量となるように乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株のみを添加した以外は上記と同様にして、骨髓由来樹状細胞におけるIL-10およびIL-12の産生量を測定した。IL-10の産生量およびIL-12の産生量についての結果をそれぞれ図4AおよびBに示す。

[0107] 図4Aの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳を添加した場合には、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。さらに、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳を添加した場合のIL-10の産生量は、ラクトバチルス属乳酸菌を単独で添加した場合および発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合のそれぞれのIL-10の産生量の合計よりも大きいことが示され

た。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、 $1L-10$ の産生促進活性が増大されること、さらに、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物では、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳を単独で含む組成物と比較して $1L-10$ の産生が相乗的に促進されることを示唆するものである。

[0108] 図4Bの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳を添加した場合には、ラクトバチルス属乳酸菌を単独で添加した場合と比較して、有意に $1L-12$ の産生が抑制され、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して $1L-12$ の産生が抑制される傾向があることが示された（ $p=0.08$ ）。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、 $1L-12$ の産生が抑制されることを示唆するものである。

[0109] さらに、図4AおよびBの結果に基づいて、 $1L-12$ 量に対する $1L-10$ 量の比（ $1L-10$ 量/ $1L-12$ 量）を算出した結果を図5に示す。

[0110] 図5の結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳を添加した場合には、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意に $1L-10$ 量/ $1L-12$ 量の比が増大することが示された。さらに、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳を添加した場合の $1L-10$ 量/ $1L-12$ 量の比は、ラクトバチルス属乳酸菌を単独で添加した場合および発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合のそれぞれの $1L-10$ 量/ $1L-12$ 量の比の合計よりも大きいことが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物では、ラクトバチルス属乳酸菌または発酵乳を単独で含む組成物と比較して $1L-10$ 量/ $1L-12$ 量の比が相乗的に増大することを示唆するものである。

[0111] (2) サイトカインの産生促進活性に及ぼす効果2

原料乳（生乳、脱脂粉乳、クリーム、砂糖およびステビアを含む混合物）に乳酸菌スターターAおよび加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プランタ

ラムOLL2712株を添加した。乳酸酸度（酸度）が0.7%になるまで43℃で保持して発酵させて乳酸菌含有発酵乳1（ハードヨーグルト）を調製した。なお、乳酸菌の加熱処理は、菌体を濃縮した後、60℃で10分間加熱することにより行った。また、得られた被験組成物1に含まれるラクトバチルス属乳酸菌の菌体量は、 5×10^9 個以上/112gであった。また、添加するラクトバチルス属乳酸菌を、加熱処理した乳酸菌ラクトバチルス・プラントラムP200021株に変えたこと以外は上記乳酸菌含有発酵乳1と同様にして乳酸菌含有発酵乳2を調製した。一方、ラクトバチルス属乳酸菌を添加しないこと以外は上記各被験組成物と同様にして対照発酵乳（ハードヨーグルト）を調製した。

[0112] 調製翌日の各組成物を、1%の濃度で骨髓由来樹状細胞（ 10^5 個/ウェル）に添加した以外は、上記例1と同様の方法で、抗炎症性サイトカインIL-10の産生量を測定した。また、IL-12の産生量を、ELISAキットとして「Mouse IL-12 (p70) ELISA Set」（Becton Dickinson社製）を使用した以外は、上記例1におけるIL-10の産生量の測定と同じ方法により測定した。ここで、IL-12の産生量（濃度）は、活性型であるIL-12 (p70)の産生量（濃度）として測定した。IL-10の産生量およびIL-12の産生量についての結果をそれぞれ図6AおよびBに示す。

[0113] 図6Aの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。さらに、乳酸菌含有発酵乳1を添加した場合には、乳酸菌含有発酵乳2を添加した場合と比較しても、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10産生促進活性が顕著に増大すること、乳酸菌ラクトバチルス・プラントラムOLL2712株および発酵乳を含む組成物により、IL-10産生促進活性が特に顕著に増大することを示唆するものである。

。

[0114] 図6Bの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-12の産生が抑制されることが示された。この結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-12の産生が顕著に抑制されることを示唆するものである。

[0115] さらに、図6AおよびBの結果に基づいて、IL-12量に対するIL-10量の比（IL-10量/IL-12量）を算出した結果を図7に示す。

[0116] 図7の結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-10量/IL-12量の比が増大することが示された。さらに、乳酸菌含有発酵乳1を添加した場合には、乳酸菌含有発酵乳2を添加した場合と比較しても、有意にIL-10量/IL-12量の比が増大することが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10量/IL-12量の比が顕著に増大すること、さらに、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株および発酵乳を含む組成物により、IL-10量/IL-12量の比が特に顕著に増大することを示唆するものである。

[0117] (3) サイトカインの産生促進活性に及ぼす効果3

原料乳を発酵させて発酵乳を調製する際のスターターを、乳酸菌スターターAから乳酸菌スターターBに変えたこと以外は、上記(2)と同様にして乳酸菌含有発酵乳1および2、ならびに対照発酵乳を調製した。

[0118] 上記(2)と同様の方法で、抗炎症性サイトカインIL-10および炎症性サイトカインIL-12の産生量を測定した。IL-10の産生量およびIL-12の産生量についての結果をそれぞれ図8AおよびBに示す。

[0119] 図8Aの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-10の産生が促進されることが示され

た。さらに、乳酸菌含有発酵乳1を添加した場合には、乳酸菌含有発酵乳2を添加した場合と比較しても、有意にIL-10の産生が促進されることが示された。これらの結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10産生促進活性が顕著に増大されること、さらに、乳酸菌ラクトバチルス・プランタラムOLL2712株および発酵乳を含む組成物により、IL-10産生促進活性が特に顕著に増大することを示唆するものである。

[0120] 図8Bの結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、顕著にIL-12の産生が抑制されることが示された。この結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-12の産生が顕著に抑制されることが示唆するものである。

[0121] さらに、図8AおよびBの結果に基づいて、IL-12量に対するIL-10量の比（IL-10量/IL-12量）を算出した結果を図9に示す。

[0122] 図9の結果から、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む乳酸菌含有発酵乳1または2を添加した場合には、発酵乳（対照発酵乳）を単独で添加した場合と比較して、有意にIL-10量/IL-12量の比が増大することが示された。この結果は、ラクトバチルス属乳酸菌および発酵乳を含む組成物により、IL-10量/IL-12量の比が顕著に増大することを示唆するものである。これらのことから、発酵乳の製造時に使用するスターターの種類によらず、ラクトバチルス属乳酸菌と発酵乳を組み合わせることで、ラクトバチルス属乳酸菌単独、または、発酵乳単独よりも、IL-10産生促進活性が増大し、IL-12の産生が顕著に抑制され、IL-10量/IL-12量の比が顕著に増大することが示された。

産業上の利用可能性

[0123] 本発明によれば、対象におけるIL-10の産生を促進することができる。また、本発明によれば、対象におけるIL-12の産生を抑制することができる。IL-10が炎症を抑制し、IL-12が炎症を促進することが知

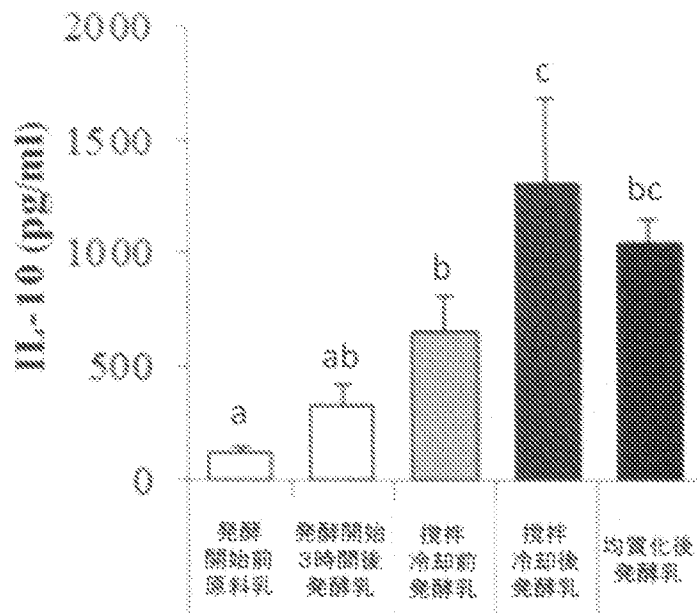
られていることから、本発明によれば、炎症、および炎症に起因する疾患等を改善することができる。

請求の範囲

- [請求項1] ラクトバチルス属に属する乳酸菌および発酵乳を含んでなる、インターロイキン-10の産生促進のための組成物。
- [請求項2] インターロイキン-12の産生抑制のための、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] インターロイキン-12の量に対するインターロイキン-10の量の比を上昇させるための、請求項1または2に記載の組成物。
- [請求項4] 抗炎症用組成物である、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項5] 前記乳酸菌がラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) である、請求項1～4のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項6] 前記乳酸菌が乳酸菌の死菌体を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項7] 前記乳酸菌が加熱処理死菌体を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項8] 前記組成物が食品組成物である、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項9] 前記組成物が医薬組成物である、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項10] 前記乳酸菌が、配列番号1で表される塩基配列と90%以上の相同性を有する16S rRNA遺伝子を有するものである、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項11] 前記乳酸菌が、受託番号FERM BP-11262の下で寄託されたラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) OLL2712株である、請求項1～10のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項12] 前記発酵乳の平均粒径が0.5～100 μ mである、請求項1～11のいずれか一項に記載の組成物。

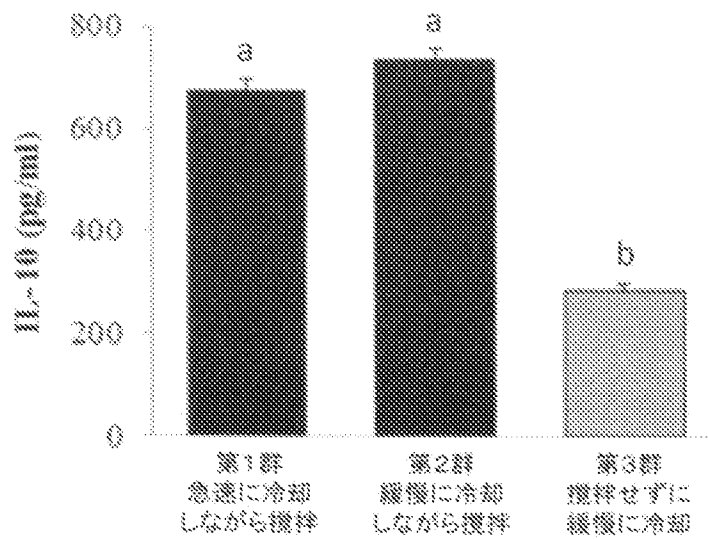
- [請求項13] 請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物の製造方法であって、
原料乳にスターターを接種して発酵乳基材を得るスターター接種工程、
前記発酵乳基材を発酵させて発酵乳を得る発酵工程、
前記原料乳、発酵乳基材および発酵乳からなる群から選択される少なくとも一つに、ラクトバチルス属に属する乳酸菌を添加して乳酸菌含有組成物を得る乳酸菌添加工程、
前記原料乳、発酵乳基材、発酵乳および乳酸菌含有組成物からなる群から選択される少なくとも一つを攪拌する攪拌工程、
を含む、前記製造方法。
- [請求項14] 前記攪拌工程における攪拌が、ラクトバチルス属乳酸菌を含む発酵乳の平均粒径が $0.5 \sim 100 \mu\text{m}$ となる条件で行われる、請求項13に記載の製造方法。
- [請求項15] 前記攪拌工程における攪拌が、 $30 \sim 500 \text{rpm}$ の条件で行われる、請求項13または14に記載の製造方法。
- [請求項16] インターロイキン-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための医薬の製造のための、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物の使用。
- [請求項17] インターロイキン-10の産生量の低下に起因する疾患の治療のための飲食品の製造のための、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物の使用。
- [請求項18] インターロイキン-10の産生を促進するための、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物の使用。
- [請求項19] 請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物の有効量を、それを必要とする対象に摂取させることを含む、インターロイキン-10の産生促進方法。

[図1]



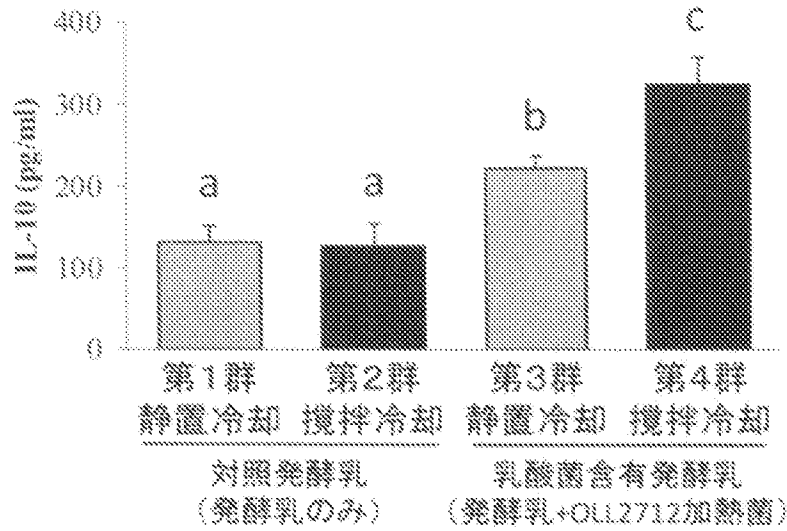
图中a, b, cはそれぞれ凍結段階に有意差 ($p < 0.05$)
があることを示している。

[図2]



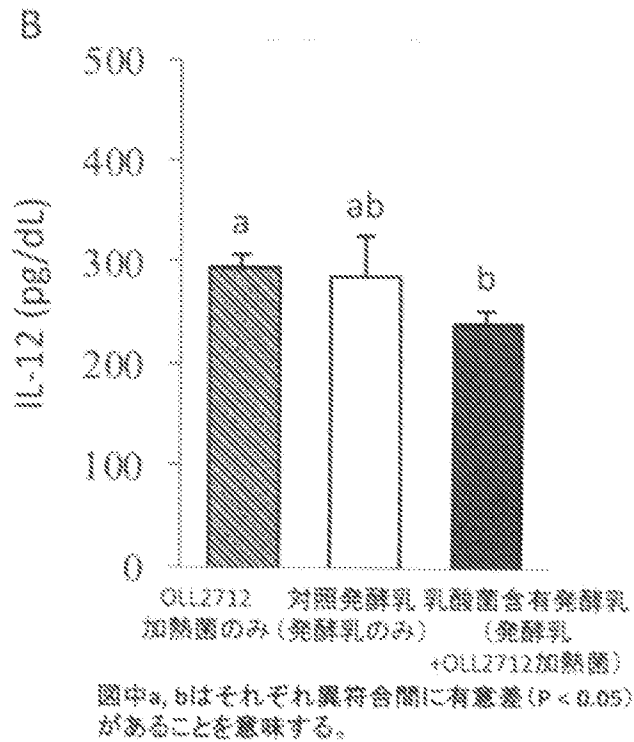
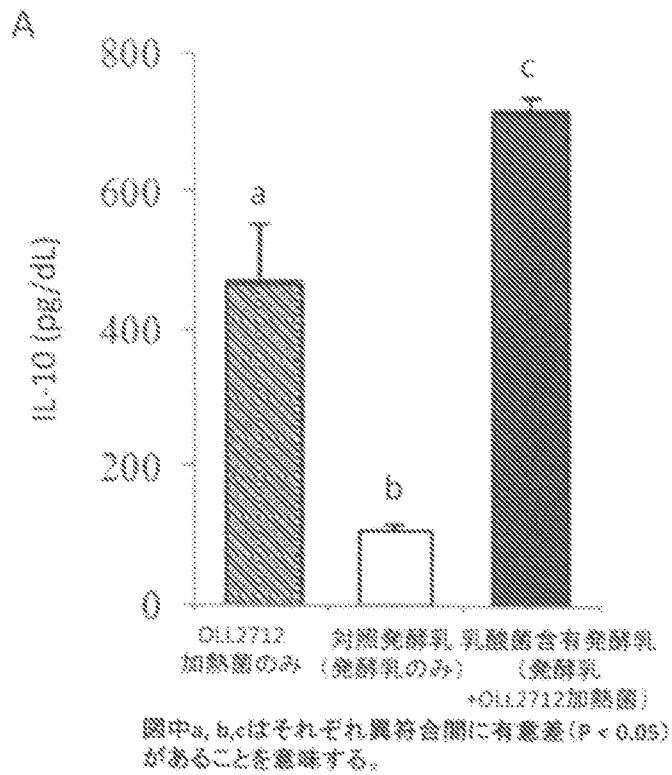
图中a, bはそれぞれ凍結段階に有意差 ($p < 0.05$)
があることを示している。

[図3]

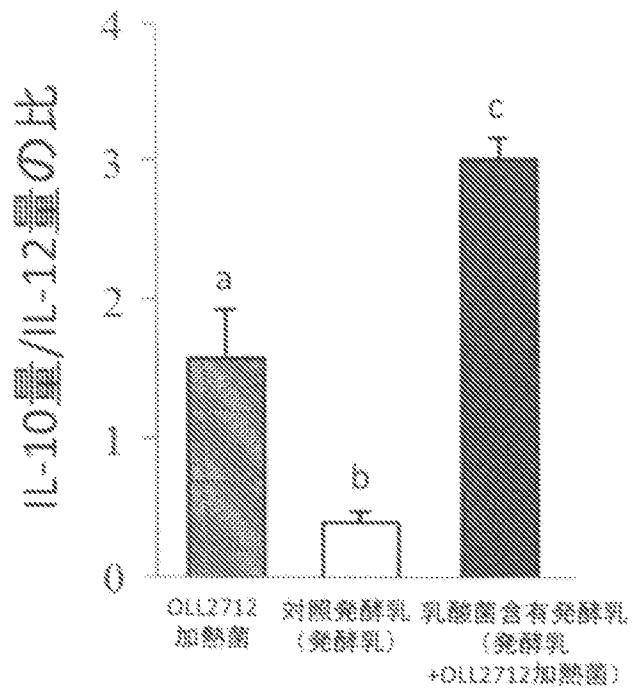


図中a, b, cはそれぞれ異符号間に有意差 ($P < 0.05$) があることを意味する。

[図4]

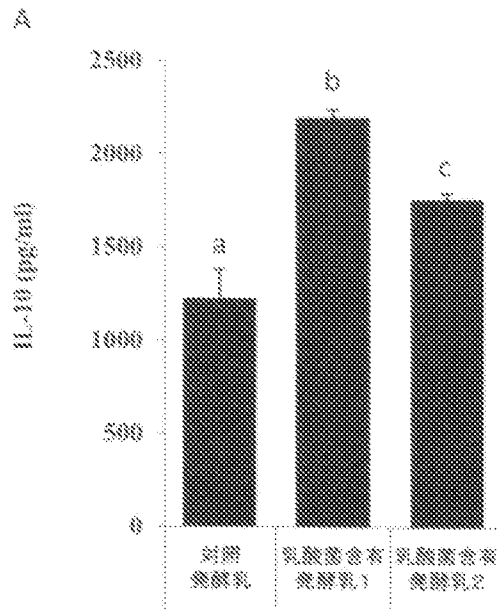


[図5]

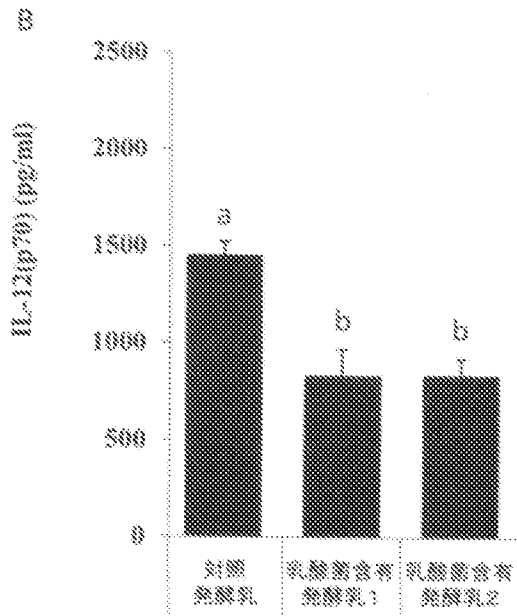


图中a, b, cはそれぞれ異符号間に有意差 ($P < 0.05$) があることを意味する。

[図6]

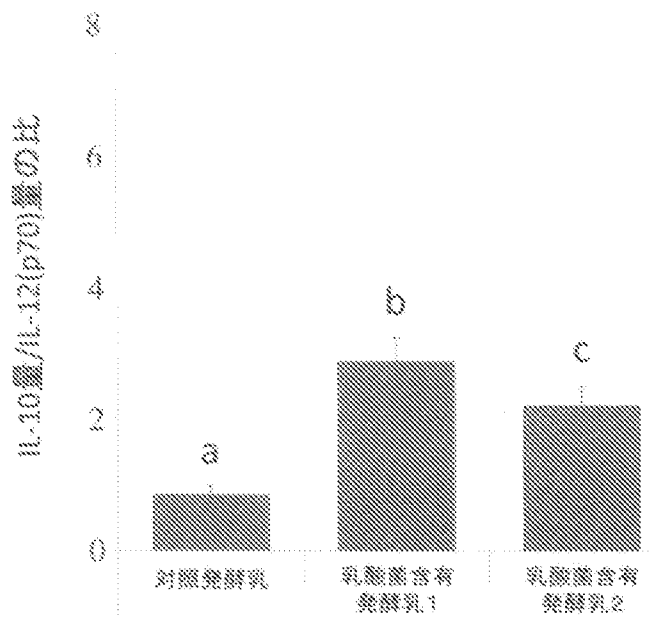


図中、a, bはそれぞれ乳搾乳期間に有意差 ($p < 0.05$) が認められることを示す。



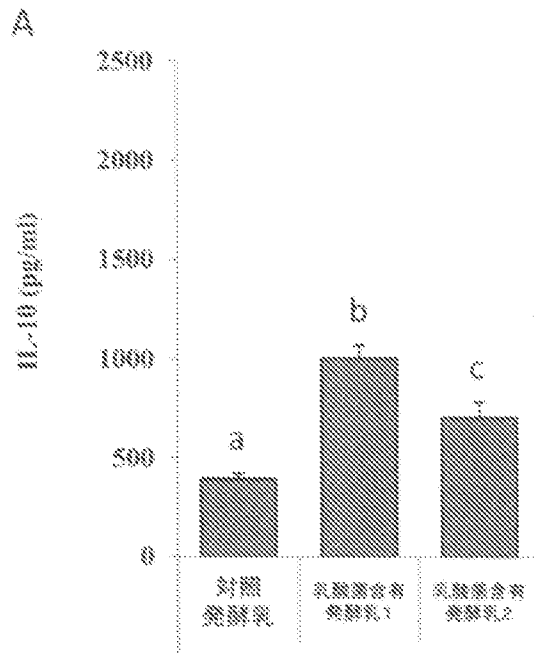
図中、a, bはそれぞれ乳搾乳期間に有意差 ($p < 0.05$) が認められることを示す。

[図7]

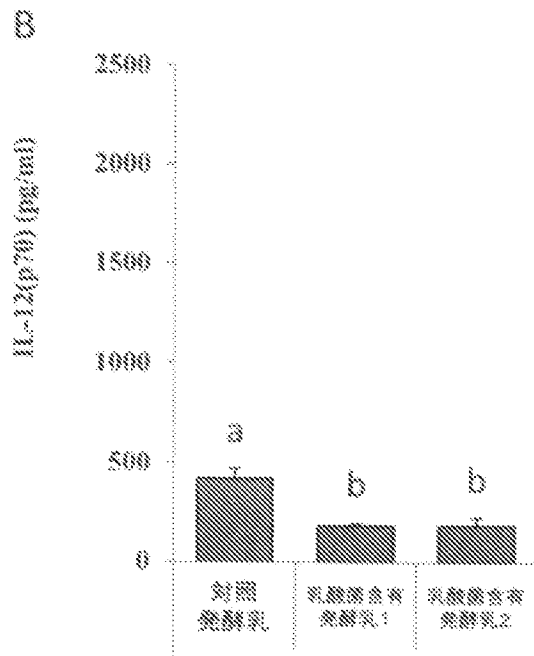


图中a, b, cはそれぞれ異符号間に有意差($P < 0.05$)があることを意味する。

[図8]

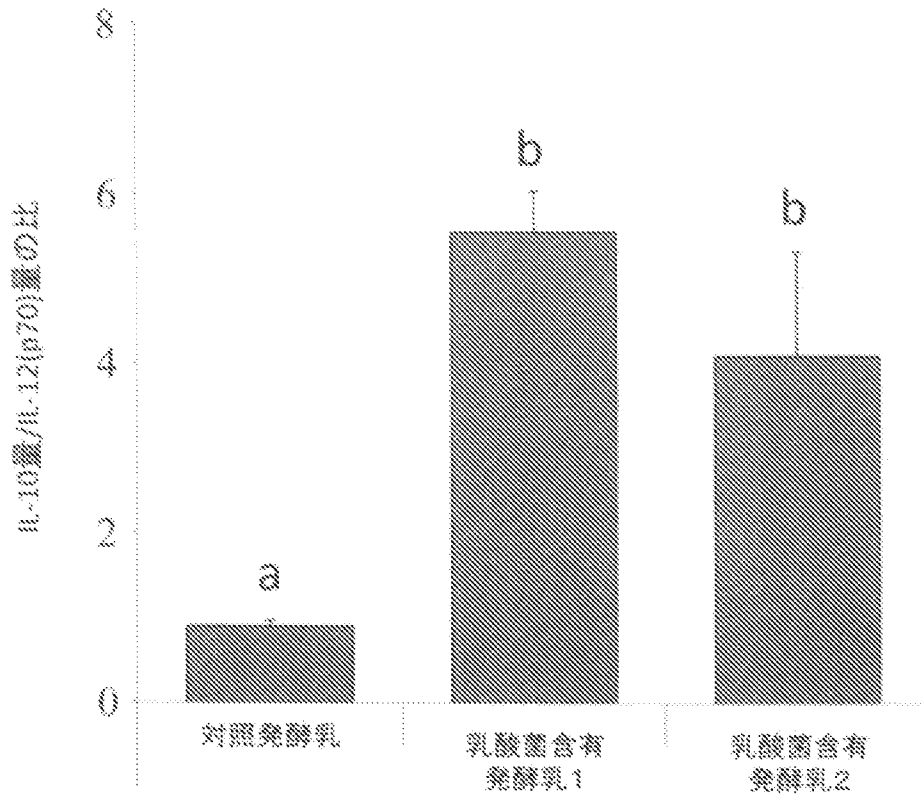


図中、a, b, cはそれぞれ異符合間に有意差 ($P < 0.05$) があることを意味する。



図中、a, bはそれぞれ異符合間に有意差 ($P < 0.05$) があることを意味する。

[図9]



图中a, bはそれぞれ異符号間に有意差($P < 0.05$)があることを意味する。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/023326

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 35/747(2015.01)i; A23C 9/123(2006.01)i; A23L 33/135(2016.01)i; A61K 35/20(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i FI: A61K35/747; A61K35/20; A61P29/00; A61P43/00 121; A61P43/00 107; A61P43/00 111; A23L33/135; A23C9/123; C12N1/20 E According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>																							
<p>B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K35/747; A23C9/123; A23L33/135; A61K35/20; A61P29/00; A61P43/00; C12N1/20 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>																							
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">Category*</th> <th style="width:70%;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width:20%;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>JP 2007-269737 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.)</td> <td>1-10, 16-19</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>18 October 2007 (2007-10-18) claims, tables 1, 2,</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>paragraphs [0043], [0060]</td> <td>12-15</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>TOSHIMITSU, T. et al., "Identification of a Lactobacillus plantarum strain that ameliorates chronic inflammation and metabolic disorders in obese and type 2 diabetic mice", Journal of Dairy Science, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 933-946, fig. 1</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018/038004 A1 (MEIJI CO., LTD.) 01 March 2018 (2018-03-01) claims, examples, paragraphs [0024], [0026], tables 1, 3</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2017-85975 A (KIRIN COMPANY, LIMITED) 25 May 2017 (2017-05-25) claims, examples</td> <td>1-19</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	JP 2007-269737 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.)	1-10, 16-19	Y	18 October 2007 (2007-10-18) claims, tables 1, 2,	11	A	paragraphs [0043], [0060]	12-15	Y	TOSHIMITSU, T. et al., "Identification of a Lactobacillus plantarum strain that ameliorates chronic inflammation and metabolic disorders in obese and type 2 diabetic mice", Journal of Dairy Science, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 933-946, fig. 1	11	A	WO 2018/038004 A1 (MEIJI CO., LTD.) 01 March 2018 (2018-03-01) claims, examples, paragraphs [0024], [0026], tables 1, 3	1-19	A	JP 2017-85975 A (KIRIN COMPANY, LIMITED) 25 May 2017 (2017-05-25) claims, examples	1-19
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																					
X	JP 2007-269737 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.)	1-10, 16-19																					
Y	18 October 2007 (2007-10-18) claims, tables 1, 2,	11																					
A	paragraphs [0043], [0060]	12-15																					
Y	TOSHIMITSU, T. et al., "Identification of a Lactobacillus plantarum strain that ameliorates chronic inflammation and metabolic disorders in obese and type 2 diabetic mice", Journal of Dairy Science, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 933-946, fig. 1	11																					
A	WO 2018/038004 A1 (MEIJI CO., LTD.) 01 March 2018 (2018-03-01) claims, examples, paragraphs [0024], [0026], tables 1, 3	1-19																					
A	JP 2017-85975 A (KIRIN COMPANY, LIMITED) 25 May 2017 (2017-05-25) claims, examples	1-19																					
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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 12 August 2021 (12.08.2021)		Date of mailing of the international search report 24 August 2021 (24.08.2021)																					
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.																					

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/023326

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2016-106528 A (KEWPIE CORPORATION) 20 June 2016 (2016-06-20) claims, examples, preparation examples 1, 2	1-19
A	JP 5-244936 A (BECTON, DICKINSON AND COMPANY) 24 September 1993 (1993-09-24) claims, examples	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application no.
PCT/JP2021/023326

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2007-269737 A WO 2018/038004 A1	18 Oct. 2007 01 Mar. 2018	(Family: none) US 2020/0016221 A1 claims, examples, paragraphs [0088], [0101], tables 1, 3 CN 109153967 A JP 2018-29491 A	
JP 2017-85975 A	25 May 2017	US 2018/0312799 A1 claims, examples WO 2017/082181 A1	
JP 2016-106528 A JP 5-244936 A	20 Jun. 2016 24 Sep. 1993	(Family: none) US 6010896 A claims, examples EP 520757 A2	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 35/747(2015.01)i; A23C 9/123(2006.01)i; A23L 33/135(2016.01)i; A61K 35/20(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i FI: A61K35/747; A61K35/20; A61P29/00; A61P43/00 121; A61P43/00 107; A61P43/00 111; A23L33/135; A23C9/123; C12N1/20 E</p>										
<p>B. 調査を行った分野</p>										
<p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K35/747; A23C9/123; A23L33/135; A61K35/20; A61P29/00; A61P43/00; C12N1/20</p>										
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年
日本国実用新案公報	1922-1996年									
日本国公開実用新案公報	1971-2021年									
日本国実用新案登録公報	1996-2021年									
日本国登録実用新案公報	1994-2021年									
<p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>										
<p>C. 関連すると認められる文献</p>										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号								
X Y A	JP 2007-269737 A (森永乳業株式会社) 18.10.2007 (2007-10-18) 特許請求の範囲、表1、表2、[0043]、[0060]	1-10, 16-19 11 12-15								
Y	TOSHIMITSU, T. et al., Identification of a Lactobacillus plantarum strain that ameliorates chronic inflammation and metabolic disorders in obese and type 2 diabetic mice, Journal of Dairy Science, 2016, Vol. 99, No. 2, pp. 933-946 図1	11								
A	WO 2018/038004 A1 (株式会社明治) 01.03.2018 (2018-03-01) 特許請求の範囲、実施例、[0024]、[0026]、表1、表3	1-19								
A	JP 2017-85975 A (キリン株式会社) 25.05.2017 (2017-05-25) 特許請求の範囲、実施例	1-19								
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>										
* 引用文献のカテゴリー	<p>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</p> <p>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p> <p>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p>									
国際調査を完了した日	12.08.2021	国際調査報告の発送日 24.08.2021								
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 原口 美和 4U 3844 電話番号 03-3581-1101 内線 3452									

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2016-106528 A (キュービー株式会社) 20.06.2016 (2016 - 06 - 20) 特許請求の範囲、実施例、調製例 1、調製例 2	1-19
A	JP 5-244936 A (ベクトン・ディッキンソン・アンド・カンパニー) 24.09.1993 (1993 - 09 - 24) 特許請求の範囲、実施例	1-19

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/023326

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2007-269737 A	18.10.2007	(ファミリーなし)	
WO 2018/038004 A1	01.03.2018	US 2020/0016221 A1 claims, examples, [0088], [0101], TABLE 1, TABLE 3 CN 109153967 A JP 2018-29491 A	
JP 2017-85975 A	25.05.2017	US 2018/0312799 A1 claims, examples WO 2017/082181 A1	
JP 2016-106528 A	20.06.2016	(ファミリーなし)	
JP 5-244936 A	24.09.1993	US 6010896 A claims, examples EP 520757 A2	