(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7184805号
(P7184805)

(45)発行日　令和4年12月6日(2022.12.6)

(24)登録日　令和4年11月28日(2022.11.28)

(51)国際特許分類

Ａ６１Ｋ	*31/205(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/205
Ａ２３Ｃ	*9/152(2006.01)*	Ａ２３Ｃ	9/152
Ａ２３Ｌ	*33/17 (2016.01)*	Ａ２３Ｌ	33/17
Ａ６１Ｐ	*3/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00
Ａ６１Ｐ	*3/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/04

ＦＩ

請求項の数　12　（全30頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-562641(P2019-562641)
(86)(22)出願日　平成30年5月11日(2018.5.11)
(65)公表番号　特表2020-519650(P2020-519650A)
(43)公表日　令和2年7月2日(2020.7.2)
(86)国際出願番号　PCT/EP2018/062203
(87)国際公開番号　WO2018/206763
(87)国際公開日　平成30年11月15日(2018.11.15)
審査請求日　令和3年4月28日(2021.4.28)
(31)優先権主張番号　17382270.1
(32)優先日　平成29年5月12日(2017.5.12)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

(73)特許権者　519397781
オスピタル サン ジュアン ダ デウ
スペイン国，アスプルガズ ダ リュブラガート ０８９５０，パセジ サン ジュアン ダ デウ，２
(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　レリン マルティネス，カルロス
スペイン国，アスプルガズ ダ リュブラ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　肥満症の予防のためのベタイン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

対象において肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を予防するのに使用するための組成物であって、ベタイン化合物を含み、

前記前述のもののいずれかに関連する代謝障害が、冠動脈心疾患、インスリン抵抗性、２型糖尿病、高血圧症、脂質異常症および睡眠時無呼吸から選択され、

前記ベタイン化合物がグリシンベタインであり、

前記組成物が乳児期に前記対象に直接投与されるか、或いは授乳期に前記対象の母親に投与される、組成物。

【請求項２】

肥満症の予防のためのものである、請求項１に記載の組成物。

【請求項３】

前記肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の予防が、前記対象の小児期、前記対象の青年期及び／又は前記対象の成人期における予防を含む、請求項１または２に記載の組成物。

【請求項４】

前記対象が、前記肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を患うリスクがある、請求項１～３のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項５】

前記対象が肥満症の母親を有する、請求項４に記載の組成物。

【請求項６】
前記組成物が授乳期に前記対象の母親に投与される、請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７】
前記母親に投与されるベタイン化合物の量が１～１０ｇ／日である、請求項６に記載の組成物。
【請求項８】
前記組成物が乳児期に前記対象に直接投与される、請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項９】
乳児期に前記対象に直接投与されるベタイン化合物の量が４～１００ｍｇ／ｋｇ／日である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１０】
前記組成物が、医薬組成物である、請求項１～９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１１】
前記組成物が、栄養補助食品である、請求項１～９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２】
前記組成物が、乳児用調合乳である、請求項１～９のいずれか一項に記載の組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０１７年５月１２日に出願された欧州特許出願第１７３８２２７０．１号の利益を主張する。
【０００２】
技術分野
本発明は栄養及び疾患の分野に関し、より具体的には、肥満症及び関連疾患の予防及び処置に関する。
【背景技術】
【０００３】
背景技術
肥満症は、２型糖尿病、心血管疾患、高血圧症、及び少なくとも１２種類の癌を含む多数の重大な健康問題に関連する慢性疾患として広く認識されている。過去３０年間、肥満症及び過体重の有病率は実質的に上昇しており、世界的に６億を超える人々に影響を与えている。当局は世界中でこれを２１世紀の最も重大な公衆衛生問題の１つと見なしている。
【０００４】
過剰な体重増加は、遺伝的素因、不適切な栄養、個々の行動、並びに環境的及び社会的要因を含む広範な因子によって影響を受ける。肥満症における食物栄養素の役割は長い間議論されており、肥満症の予防及び処置において有用な化合物を見出すために多くの研究が実施されてきたが、成功は限られている。治療薬及び栄養補助食品に関する徹底的な研究にもかかわらず、肥満症の予防及び処置のためのゴールドスタンダードは、ダイエット及び身体運動である。しかしながら、ダイエットプログラムは通常短期的には体重減少をもたらすが、この体重減少を維持するのは困難であり、多くの場合、継続的な運動と、永久的な低食物エネルギー食とが必要とされる。この管理体制に対する違反及びそれに続く体重増加は、肥満症及び過体重集団では特に多い。
【０００５】
外科的介入は肥満症の処置に有効であり、一部の国では、重症の肥満症患者において日常的に実施される。手順の種類としては、腹腔鏡下調節性胃バンディング術、ルーワイ胃バイパス術、垂直スリーブ状胃切除術、及び胆膵バイパス術がある。重症の肥満症の手術は、長期的な体重減少、肥満症に関係する状態の改善、及び全死亡率の低下に関連する。しかしながら、公衆衛生への関連コストが高く、約１７％の症例で合併症が起こる（７％

の症例では再手術が必要である）。そのコスト及びリスクのために、研究者らは、この状態のために有効であるが侵襲性の低い他の処置を探索している。

【０００６】

小児肥満症は先進国において着実に増加しており、主要な（mayor）社会的関心事になっている。この問題点に関する自覚を促すために、政府は世界中で戦略計画を立て、公式の広報プログラムに着手している。しかし、持続するダイエットを小児が順守するのは難しく、且つ外科的介入は適用されないので、小児肥満症は対処が容易でない。予防戦略において大きな努力が成されているが、これらは、ライフスタイル及び食習慣の前では失敗することが多い

【０００７】

小児肥満症を発症するリスクがある集団に対する予防戦略に特に重点を置くべきであることは一般的な合意である。リスク因子の中でも母体の過体重は加速的成長につながり、小児肥満症の主要な予測因子である。小児過体重は成人期まで追跡されることが多く、肥満症及び代謝リスクを次の世代まで持続させる肥満症誘発サイクルにつながるので、これは、肥満症の蔓延に対して重大な結果を有する。出生後の栄養も、成長及び肥満症リスクを決定するのに重要な役割を果たすとされている。母乳育児と比較して、調合乳の使用、一貫して小児過体重と関連しており、その組成は肥満症リスクに影響する。母乳育児の期間は肥満症リスクと逆に関連し、オリゴ糖の多様性及びホルモンレベルを含む乳組成の違いは、乳児の成長、脂肪症、及び細菌叢の組成と相関関係がある。しかしながら、一部の報告では、母体肥満症により誘発される乳組成の変化（より高いレプチン、インスリン、ＩＬ－６、ＴＮＦ－ａ）が同定されているが、これらは乳児の加速的体重増加とは無関係であり、保護因子であることでさえ示唆されている。従って、特定の乳成分がどのようにして肥満症リスクの母親から子供への伝播の一因となるのかはほとんど理解されていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

肥満症の高い有病率及びそれに関連する健康への影響に起因して、肥満症の発生率を低減するため、特に、リスクのある個人においてこの不健康な状態を世代にわたって持続させる肥満症誘発サイクルを終わらせるために有効な戦略が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

発明の概要

本発明者らは、驚くことに、ベタインを乳児に投与すると、補給が実施されている間だけでなく、ベタイン補給が停止されたはるか後の前記乳児のその後の人生においても、肥満症及び関連障害の発生率が低下することを見出した。

【００１０】

この驚くべき効果は、以下の実施例において実証される。実施例で示されるように、本発明者らは、肥満症のリスクがある乳児において、より低い乳ベタイン含有量と、加速的初期成長との間の強い関連性を見出した。さらに、マウスでの母体補給実験は、乳汁分泌期間のベタイン摂取の増大は、成人期を通じて脂肪症を低減し、全身代謝を改善することを示した。

【００１１】

従って、本発明の第１の態様は、対象において肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を予防するのに使用するためのベタイン化合物を提供し、ここで、予防は、ベタイン化合物を乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。

【００１２】

上記の態様は、対象における肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の予防のための組成物を調製するためのベタイン化合物の使用として再構築することができ、ここで、予防は、ベタイン化合物を乳児期に対象に直接投与する

か、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。また本発明は、対象において肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を予防するための方法にも関し、本方法は、有効量のベタイン化合物を薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に、乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。

【００１３】

第２の態様では、本発明は、上記で定義されるような使用のために有効量のベタイン化合物を１つ又は複数の薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に含む組成物を提供する。本組成物は、医薬組成物（すなわち、薬剤）であっても、食用組成物、例えば、食品又は栄養補助食品などの非医薬組成物であってもよい。

【図面の簡単な説明】

【００１４】

図面の簡単な説明

【図１】Ａ）任意単位でのベタインの相対レベル。Ｂ）ｇ／１００ｍＬ単位での乳の主要栄養素成分（ｎ＝５／群）；Ｃｈ，炭水化物；Ｐｒｏｔ，タンパク質。Ｃ）Ｋｃａｌ／ｍＬ単位の乳のエネルギー含有量（ｎ＝５／群）。Ｄ）２週齢の雄における任意単位での血漿中ベタインレベル（ｎ＝６／群）。Ｅ）乳汁分期間の子孫の体重（左のグラフは雄を表す（ｎ＝１８）；右のグラフは雌を表す（ｎ＝１２））；Ｙ軸はｇ単位での体重を表す；Ｘ軸は週齢を表す。Ｆ）体重％で表される１週齢における乳の摂取（ｎ＝４同腹仔／群）。）。データは平均±標準誤差である。＊，ｔ－検定ｐ＜０．０５；＊＊，ｐ＜０．０００１。全ての棒の図について：白色の棒は対照の雌親からの乳を表し（ｎ＝８）、黒色の棒はベタイン処置した雌親からの乳を表す（ｎ＝８）。

【図２】Ａ）対照（白色の棒、ｎ＝７）又はベタイン処置した雌親（黒色、ｎ＝９）からの６週齢の雄マウスにおいてｇ（右）及び％（左）で表された脂肪量。Ｂ）肥満症対照（ＭＯ－Ｃ、ｎ＝１９）又はベタイン処置（ＭＯ－Ｂ、ｎ＝２１）雌親からの雄の子孫の体重；Ｙ軸は体重（ｇ）を表す；Ｘ軸は週齢を表す。Ｃ）体重の％で表される１週齢における乳の摂取（ｎ＝３同腹仔／群）。Ｄ）６週齢の雄マウスにおいてｇで表される脂肪量（ｎ＝８／群）。データは平均±標準誤差である。＊，ｔ－検定ｐ＜０．０５；＊＊，ｐ＜０．０００１。

【図３】２週齢（Ａ）及び６週齢（Ｂ）のベタイン処置（Ｂ、ｎ＝１０）又は対照の雌親（Ｃ、ｎ＝１０）の雄の子孫においてＬＥｆＳｅにより同定された、差別的に増強された属の相対存在量（％）。

【図４】Ａ）６週齢における回腸切片中の杯細胞／１００μｍで表された杯細胞数（ｎ＝１６／群）。Ｂ）６週齢の雄マウスからのｅＷＡＴにおける炎症マーカーＣｃｌ２ｍ　Ｔｌｒ４及びＣｄ１１ｃのｍＲＮＡの相対発現（ｎ＝８～１０／群）。Ｃ）６週齢の雄マウスからのｐｇ／ｍＬで表される炎症マーカーＭＣＰ１、ＩＬ－６及びＰａｉ－１の循環レベル（ｎ＝１０／群）。Ｄ）６週齢のＭｕｃ２の相対的な回腸ｍＲＮＡレベル（ｎ＝８／群）。データは平均±標準誤差である。＊，ｔ－検定ｐ＜０．０５；＃，マン・ホイットニーのＵ検定ｐ＜０．０５。全ての図面について：白色の棒は対照マウスを表し（Ｃ、ｎ＝１０）、黒色の棒はベタイン処置マウスを表す（Ｂ、ｎ＝１０）。

【図５】Ａ）対照（白色の棒／円、ｎ＝１６）又はベタイン処置した雌親（黒色の棒／円、ｎ＝１６）からの雄の子孫に、離乳後に固形飼料を与え、体重（ｇで表す；Ｙ軸）を２４週齢までモニターした（Ｘ軸に週齢）。Ｂ）　殺後のｇで表される肝臓（Ｌ）及びｅＷＡＴ重量；Ｙ軸は、ｇ単位での組織重量を表す。Ｃ）２０週目の耐糖能；Ｙ軸は、ｍｇ／ｄＬ単位のグルコース濃度を表す；Ｘ軸は分単位での時間を表す。Ｄ）グルコース負荷の０及び１５分後の時点のインスリンレベル；Ｙ軸は、ｐｍｏｌ／Ｌ単位でのインスリン濃度を表す。Ｅ）肥満症対照（ＭＯ－Ｃ、ｎ＝１１）及びベタイン処置（ＭＯ－Ｂ、ｎ＝１３）雌親からの雄の子孫を離乳の後に固形飼料の上に保持し、体重（ｇで表す；Ｙ軸）を２４週齢までモニターした（Ｘ軸に週齢）。Ｆ）　殺後の肝臓（Ｌ）及びｅＷＡＴ重量；Ｙ軸は、ｇ単位の組織重量を表す。Ｇ）２０週目の耐糖能；Ｙ軸は、ｍｇ／ｄＬ単位での

グルコース濃度を表す；Ｘ軸は分単位での時間を表す。Ｈ）グルコース負荷の０及び１５分後の時点のインスリンレベル；Ｙ軸は、ｐｍｏｌ／Ｌ単位でのインスリン濃度を表す。データは平均±標準誤差である。＊，ｔ－検定ｐ＜０．０５；＊＊，ｐ＜０．０１；＊＊＊，ｐ＜０．００１。

【図６】Ａ）対照（白色の棒／円）及びベタイン処置した雌親（黒色の棒／円）から生まれた６週齢のマウスにＨＦＤを４か月間与えた（雄（Ｍ）：ＨＦ－Ｃ及びＨＦ－ｂについてｎ＝１４及びｎ＝２０；雌（Ｆ）：ｎ＝１４／群）；高脂肪給餌の間の体重増加（ｇで表す；Ｙ軸）を計算した。Ｂ）１８週齢の雄マウスにおける耐糖能；Ｙ軸は、ｍｇ／ｄＬ単位でのグルコース濃度を表す；Ｘ軸は分単位での時間を表す。Ｃ）グルコース負荷の０及び１５分後の時点の１８週齢の雄マウスのインスリンレベル；Ｙ軸は、ｐｍｏｌ／Ｌ単位でのインスリン濃度を表す。Ｄ）雄マウスにおける肝臓トリグリセリドレベル（ｎ＝８／群）；Ｙ軸は、μｇＴＡＧ／ｍｇタンパク質を表す。データは平均±標準誤差である。＊，ｔ－検定ｐ＜０．０５；＊＊，ｐ＜０．０１；＊＊＊，ｐ＜０．００１。

【図７】ベタイン（Ｂ群、黒色円／棒）、抗生物質（ＡＢ群、白色三角／斜線棒）、抗生物質及びベタイン（ＡＢ－Ｂ群、黒色三角／ドット棒）で処置した雌親、又はサプリメントなしの雌親（Ｃ群、白色円／棒）雌親からの雄の子孫を分析した（３同腹仔／群から、ｎ＝１２）。Ａ）２４週齢まで体重をモニターした；Ｙ軸は、ｇ単位での体重を表す；Ｘ軸は週齢を表す。Ｂ）　殺後の肝臓（Ｌ）及びｅＷＡＴ貯蔵重量；Ｙ軸は、ｇ単位での組織重量を表す。Ｃ）２２週齢の耐糖能；Ｙ軸は、ｍｇ／ｄＬ単位でのグルコース濃度を表す；Ｘ軸は分単位での時間を表す。Ｄ）ｅＷＡＴにおける炎症マーカーＣｃｌ２ｍ及びＣｄ１１ＣのｍＲＮＡの相対発現（ｎ＝８～１２／群）。データは平均±標準誤差である。＊，対照と比較した事後テューキー検定による一元配置ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０５。

【発明を実施するための形態】

【００１５】

発明の詳細な説明

本発明は、ベタイン化合物を乳児に投与することによる、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び関連障害の予防に関する。

【００１６】

「肥満症」は、動物、特にヒト及び他の哺乳類の脂肪組織に貯蔵された天然エネルギーの貯蔵量が、特定の健康状態又は死亡率の増大に関連する程度まで増大した状態である。「過剰な脂肪蓄積」という語句は、最適に健康であるよりも多い体脂肪を有すると理解される。「過剰な脂肪蓄積」は、「過体重」と呼ばれることもある。肥満症及び過剰な脂肪蓄積は、通常、個人の肥満度指数によって定義される。「肥満度指数」又は「ＢＭＩ」は、体重（ｋｇ）を身長（メートル）の二乗で割った比を意味する。「肥満症」は、通常、成人の場合、３０を超えるＢＭＩを有すると定義される。「過体重」は、ヒト成人では通常、２５～３０のＢＭＩと考えられる。２歳を超えるヒト小児の場合、ＢＭＩは、パーセンタイル順位を得るために、ＢＭＩ対年齢成長チャート（女児用又は男児用のいずれか）上にプロットされる。２歳未満の小児（乳児）の場合、プロットされるのは、ＢＭＩの代わりに体重身長比である。パーセンタイル及びｚスコアは、個々の小児のサイズ及び成長パターンを評価するために最も一般的に使用される指標である。パーセンタイルは、同じ性別及び年齢を有する個体集団における小児のＢＭＩ又は体重身長比の相対位置を示す。ｚスコアは、１人の個人が同じ性別及び年齢を有する集団の平均から逸脱する標準偏差（ＳＤＳ）の数を示す。ヒト小児は、そのＢＭＩ又は体重身長比パーセンタイルが８５パーセンタイルと９５パーセンタイルの間に位置するか、或いはｚスコアが１ＳＤＳと２ＳＤＳとの間である場合に過体重と考えられる。ヒト小児は、そのＢＭＩ又は体重身長比パーセンタイルが９５パーセンタイル以上であるか、或いはｚスコアが２ＳＤＳ以上である場合に肥満症と考えられる。

【００１７】

「低栄養」という用語は「栄養不良」とも呼ばれ、不十分な食物、バランスの悪い食餌、又は不完全な同化作用から生じる、適切な栄養の欠如と理解される。栄養不良は、特定

の疾患又は遺伝子状態の結果としても起こり得る。ヒト乳児は、通常、そのＢＭＩ又は体重身長比が１０パーセンタイル以下に位置する場合に栄養不良と呼ばれる。ＢＭＩ又は体重身長比が３パーセンタイル以下に位置する場合、通常、ヒト乳児における重症の栄養不良が考えられる。

【００１８】

過体重、肥満症及び／又は過剰な脂肪蓄積に関連する代謝障害は当業者によく知られている。例えば、これらの障害には、冠動脈心疾患などの心血管疾患；インスリン抵抗性；２型糖尿病；高血圧症；睡眠時無呼吸、呼吸器系問題及び／又は脂質異常症が含まれるが、子宮内膜癌、乳癌、及び／又は結腸癌などのいくつかの癌；脳卒中；肝臓及び胆嚢疾患；変形性関節炎；及び／又は婦人科的問題も含まれる。特に、本発明の実施形態では、肥満症及び／又は過剰な脂肪蓄積に関連する代謝障害は、冠動脈心疾患、インスリン抵抗性、２型糖尿病、高血圧症、脂質異常症、及び睡眠時無呼吸から選択され、さらに具体的には、冠動脈心疾患、高血圧症、脂質異常症、及び睡眠時無呼吸から選択される。

【００１９】

本発明の意味において、「乳児期」という用語は、単独の摂食手段として、或いは乳児用調合乳及び／又固形食と組み合わせて、母乳育児が推奨される年齢を対象が有する期間と理解される。ヒトでは、乳児期は、通常、０～約２歳、すなわち生まれたときから約２歳までと考えられる。しかしながら、「乳児期」という用語は、「小児期」、「青年期」及び「成人期」という用語と同じく各個人の成熟に依存するので、当業者は、それが絶対的な用語ではないことを理解するであろう。従って、これらの用語のそれぞれは、正確な年齢幅よりも、平均の年齢幅に関連している。

【００２０】

「小児期」は、本発明の意味では、乳児期と、思春期の始まりとの間の期間と理解される。「思春期」は、通常、小児の体が有性生殖の能力のある成人の体に成熟する間の物理的変化のプロセスと定義される。「思春期」及び「青年期」という用語は互換的に使用される。ヒトの平均では、女児は約１０～１１歳で思春期が始まり、男児は約１１～１２歳で始まる。従って、ヒトでは、「小児期」は平均して約３歳から約１２歳まで広がる。「思春期」はヒトでは平均して約１３歳から約１８歳まで広がる。

【００２１】

「成人期」は、通常、思春期の終わりから始まり、個人が完全に成長して性的に成熟している期間と定義される。ヒトに関しては、成人という用語は付加的に、社会的及び法的概念に関連する意味を有する。本発明の意味において、「成人期」という用語は、好ましくは、生物学的な成人期を指し、ヒトでは、約１８歳で始まり、個人の死亡までである。

【００２２】

「予防」は、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の発症を回避するという意味、並びに、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を発症する可能性を低減するという意味で理解される。

【００２３】

本発明の意味において、「母親」は、乳児としての対象に授乳している女性である。母親は通常、対象の女性の親であるが、必ずしもそうではない。

【００２４】

「感染症」は、疾患原因物質（病原体と呼ばれることが多い）による生物の生体組織の侵襲、その増殖、並びにこれらの生物及びそれらが産生する毒素に対する宿主組織の反応であると理解される。感染症は多数の疾患の原因である。

【００２５】

本明細書で使用される「有効量」という語句は、投与されたときに、対処される状態の発症を予防、或いはその症状の１つ又は複数をある程度軽減するのに十分である化合物の量を指す。本発明に従って投与される化合物の特定の用量は、当然ながら、投与される化合物、投与経路、処置されている特定の状態、及び同様の考慮事項を含む、その事例を取り巻く特定の状況によって決定されるであろう。本発明の組成物が医薬組成物である場合

、「有効量」は「治療的に有効な量」である。

【００２６】

「薬学的に許容できる賦形剤及び／又は担体」という用語は、薬学的に許容できる材料、組成物又は媒体を指す。各成分は、医薬組成物の他の成分と適合性であるという意味で、薬学的に許容できなければならない。また、妥当な損益比に見合って、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答、免疫原性又は他の問題若しくは合併症を起こさずに、ヒト及び動物の組織又は臓器と接触して使用するのにも適していなければならない。同様に、「食用として許容できる賦形剤及び／又は担体」という語句は、食品、機能性食品又は栄養補助食品などの食用組成物のために許容できる成分、材料、組成物又は媒体を指す。「食用として許容できる賦形剤及び／又は担体」は、食物グレードの成分でなければならない。各成分は、食用組成物の他の成分と適合性であるという意味で、食用として許容できなければならない。また、摂取されたときに、妥当な損益比に見合って、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答、免疫原性又は他の問題若しくは合併症を起こさずに使用するのにも適していなければならない。

【００２７】

本明細書で使用される「栄養補助食品」、「食品サプリメント」又は「栄養サプリメント」又は「機能性食品」という用語は互換的に、食餌を補給し、且つ人の食餌に含まれていない可能性のある栄養素、又は人の食餌では十分な量で消費されない可能性のある栄養素を提供することが意図された調製物を指す。

【００２８】

「乳児用調合乳」は、当該技術分野において一般的であるように、乳児に与えるために設計及び販売され、且つ通常、粉末（水と混合）又は液体（付加的な水を用いて、又は用いずに）からボトルで供給又はカップで供給するように調製された加工食品と理解される。

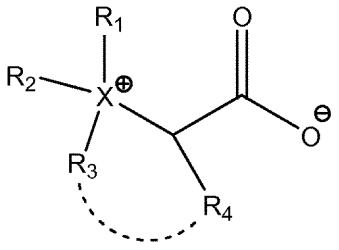
【００２９】

本発明の意味での「ベタイン化合物」は、グリシンベタイン（Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニオアセタート又はＮ，Ｎ，Ｎ－トリメチルグリシンとも呼ばれる）及び他のアミノ酸に由来するグリシンベタインに類似した化合物のような両性イオン化合物と理解される。

【００３０】

一実施形態では、ベタイン化合物は、式（Ｉ）：

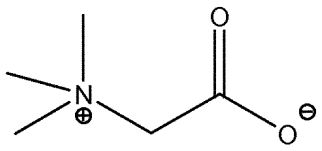
【化１】



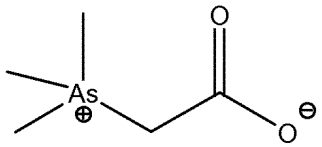
(I)

（式中、
ＸはＮ又はＡｓであり；
Ｒ１及びＲ２は独立して、１つ又は複数のハロゲン原子によって任意選択的に置換された（Ｃ１～Ｃ６）アルキルであり；並びに
Ｒ３及びＲ４は、これらが結合する原子と一緒に５員～６員環を形成し、この環が、ＯＨ、ハロゲン、及び１つ又は複数のハロゲン原子によって任意選択的に置換された（Ｃ１～Ｃ３）アルキルから選択される１つ又は複数の置換基によって任意選択的に置換されているか；或いは、
Ｒ３は（Ｃ１～Ｃ６）アルキルであり；且つ

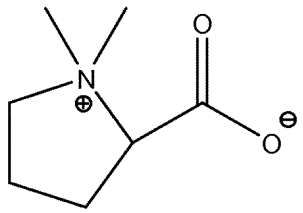
Ｒ４は、Ｈ又は（１Ｈ－インドール－３－イル）メチルである）
を有する。
【００３１】
本明細書で使用される「（Ｃ１～Ｃｎ）－アルキル」という用語は、１～ｎ個の炭素原子を有する飽和分枝状又は線状炭化水素側鎖を指す。
【００３２】
本発明の特定の実施形態では、ベタイン化合物は、式ＩＩ～ＶＩ：
【化２】



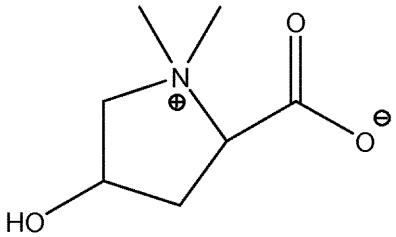
式ＩＩ（グリシンベタイン）
【化３】



式ＩＩＩ（アルセノベタイン）
【化４】

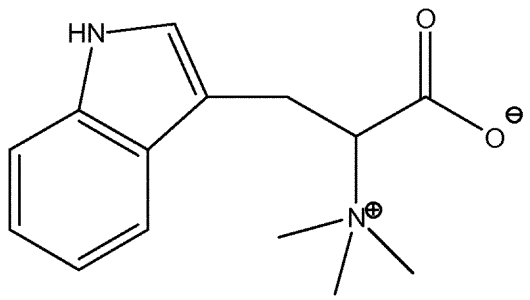


式ＩＶ（プロリンベタイン）
【化５】



式Ｖ（４－ヒドロキシプロリンベタイン）

【化６】



式ＶＩ（トリプトファンベタイン）
によってそれぞれ表される、グリシンベタイン、アルセノベタイン、プロリンベタイン、４－ヒドロキシプロリンベタイン及びトリプトファンベタインから選択される。

【００３３】

別の特定の実施形態では、ベタイン化合物は、グリシンベタイン、アルセノベタイン及びプロリンベタインから選択される。さらに別の実施形態では、ベタイン化合物はグリシンベタインである。

【００３４】

本発明は、哺乳類において、獣医学又は医薬分野の用途を見出す。本発明は、特に、ペットの健康、家畜の健康及びヒトの健康の分野で有用である。好ましくは、本発明は、ヒトの健康において用途を見出す。従って、本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、ベタイン化合物は、ヒトに投与するためのものである。

【００３５】

本発明の第１の態様の好ましい実施形態では、ベタイン化合物は肥満症の予防のためのものである。

【００３６】

興味深いことに、本発明者らは、乳児期にベタイン化合物を投与するだけで、脂肪蓄積の低減を含む、持続する有益な代謝結果を見出した。実験データは、若年期（乳児期）にベタイン化合物への曝露を増大させることは、脂肪症を低減し、以後の人生での代謝的健康を改善するために十分であり得ることを強く示す。この知見は、肥満症及び関連障害の予防のため、特に、小児肥満症の予防のために長い間探索されている戦略を最終的に提供するために有利である。従って、本発明の一実施形態では、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の予防は、乳児期の後、すなわち、対象の小児期、対象の青年期及び／又は対象の成人期における予防を含む。別の実施形態では、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の予防は、３歳から開始する、１３歳から開始する及び／又は１８歳から開始する予防を含む。

【００３７】

一部の対象は、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を発症するリスクがより高い。このようなリスクのある集団においてこれらの状態を発症する可能性を低減するための介入は、特に有益である。従って、本発明の第１の態様の特定の実施形態では、対象は、肥満症、過剰な脂肪蓄積、及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を患うリスクがある。

【００３８】

いくつかの若年期因子は、以後の人生、すなわち小児期、青年期及び／又は成人期における過体重、肥満症及び関連障害と明白に関連している。それらの中でも、母体の肥満症及び糖尿病、胎児の低栄養、過剰な妊娠性体重増加、授乳の欠如、母体の喫煙、並びに急速な乳児の成長は、特に代表的なものである。これらのリスク因子は、ライフスタイル又は遺伝的理由に起因し得る。リスク因子のそれぞれに対する関連性は中程度であり得るが、そのリスク因子が集団において非常に多くみられれば、小さい寄与リスクに作用すると

きに大きな効果が達成され得る。また、一部の可能性のある決定因子は、有効な介入の実施を通してより容易に対処されるので、他のものよりも重要になり得る。本発明の第１の態様の特定の実施形態では、対象は、肥満症の母親から生まれる、子宮内発育遅延を受けている、低出生体重（特に、３パーセンタイル以下に位置する体重身長比）を有する、出生後の急速な体重増加を有する、及びこれらの組み合わせから選択される状態を有する。

【００３９】

本発明者らの知見によると、乳汁分泌期間のベタイン摂取の増大は、脂肪症を低減し、成人期を通して全身代謝を改善した。従って、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は関連障害を予防するために有効な戦略は、授乳期の母親にベタイン化合物を供給することであり得る。本発明の第１の態様の特定の実施形態では、ベタイン化合物は、授乳期に対象の母親に投与される。しかしながら、一部の乳児は、主に乳児用調合乳で、又は乳児用調合乳だけで育てられるので、この戦略は常に可能とは限らない。さらに、調合乳で育てられた乳児は、加速的成長及び肥満症のリスクがより高い。これらの乳児へのベタイン化合物の投与による肥満症の予防は望ましい。従って、本発明の第１の態様の別の実施形態では、ベタイン化合物は、乳児期に対象に直接投与される。乳児期の対象への直接投与は、例えば、乳児用調合乳、乳児用食品又は乳児用の栄養補助食品中にベタイン化合物を包含させることによって達成され得る。また乳児期の対象への直接投与は、例えば注射器又は点滴器を用いる経口投与のために、ベタイン化合物、並びに適切な賦形剤及び／又は担体を含有する溶液の形態であってもよい。本発明の第１の態様の別の実施形態では、ベタイン化合物は、乳児期に男性ヒト対象に投与される。発明の第１の態様の別の実施形態では、ベタイン化合物は、乳児期に女性ヒト対象に投与される。

【００４０】

本発明者らは、肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害を予防する効果を得るために必要とされるベタイン化合物の量が自然の食餌で得ることができる量よりもはるかに多く、また天然のベタイン源の摂取を増やすことで得られる可能性のある量よりもはるかに多いことを見出した。一般に、本発明者らは、求められる効果を達成するために乳児期に対象に直接投与される必要があるベタイン化合物の量が２～５００ｍｇ／Ｋｇ／日、特に４～１００ｍｇ／Ｋｇ／日、より具体的には４～５０ｍｇ／Ｋｇ／日であり得ることを見出した。従って、本発明の別の実施形態は、上記で定義されるような使用のためのベタイン化合物に関し、ここで、予防及び／又は処置は、４～１００ｍｇのベタイン化合物／Ｋｇ／日を、乳児期に対象に直接投与することを含む。これは、一般に、「１日用量」とも呼ばれる。ベタイン化合物が授乳期に対象の母親に投与される場合、母親に投与される１日用量は、５００ｍｇ～２０ｇ／日、特に１～１０ｇ／日、より具体的には２～６ｇ／日であり得る。従って、本発明の別の実施形態は、上記で定義されるような使用のためのベタイン化合物に関し、ここで、予防及び／又は処置は、１～１０ｇのベタイン化合物／日を、授乳期に対象の母親に投与することを含む。

【００４１】

本発明は、ベタイン化合物を純粋なベタイン化合物として、例えば、直接又は液体に溶解して摂取される粉末の形態で投与することを企図する。しかしながら、本発明は付加的に、有効量のベタイン化合物を賦形剤及び／又は担体などの他の成分と一緒に含む組成物として、ベタイン化合物を処方することを企図する。

【００４２】

従って、本発明の第２の態様は、上記で定義されるような使用のために、有効量のベタイン化合物を１つ又は複数の薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に含む組成物を提供する。組成物中の有効量は、投与される化合物、１日用量、投与経路、対象の年齢、対象の体重、及び他の考慮事項を考慮して、当業者によって決定することができる。本発明の組成物は、１日１回、１週間に１回、１週間に数日、又は１日数回投与することができる。

【００４３】

本発明の第２の態様の一実施形態では、上記で定義されるような使用のための組成物は

医薬組成物であり、賦形剤は薬学的に許容できる賦形剤である。

【００４４】

別の実施形態では、上記で定義されるような使用のための組成物は栄養補助食品であり、賦形剤は食用として許容できる賦形剤である。特定の実施形態では、組成物は、授乳期の女性のための栄養補助食品である。別の特定の実施形態では、組成物は、乳児のための栄養補助食品である。

【００４５】

本発明の医薬組成物及び栄養補助食品は、溶液、錠剤、カプセル、顆粒、懸濁液、分散系、粉末、ロゼンジ、チュアブルキャンディ、キャンディバー、濃縮物、ドロップ、エリキシル剤、エマルション、フィルム、ゲル、顆粒、チューインガム、ゼリー、油、ペースト、香錠、ペレット、シロップ、チュアブルゼラチン形態、又は咀嚼錠を含むがこれらに限定されない、いくつかの形態で処方することができる。本組成物の特定の目的を考慮して、賦形剤の選択及び処方に最も適した方法は当業者の範囲内に含まれる。例えば、ドロップ、溶液、シロップ及び懸濁液は、ベタイン化合物を乳児に直接投与するためにより適切であり得るが、粉末、錠剤及びカプセルは、ベタイン化合物を授乳期の母親に投与するためにより適切であり得る。一般に、経口投与のための医薬組成物及び栄養補助食品が好ましい。

【００４６】

本発明の第２の態様のさらなる実施形態は、上記で定義されるような使用のために、有効量のベタイン化合物を食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に含む組成物を提供し、ここで、組成物は食用製品である。特定の実施形態では、組成物は、食用の乳児用製品である。別の実施形態では、食用組成物は乳児用調合乳である。

【００４７】

以下の実施例は、乳汁分泌期間のベタイン摂取がより多いと、脂肪症が低減し、以後の人生での全身代謝が改善されたことを実証する。理論により束縛されることを望まないが、本発明者らは、ベタインに誘発される子孫の代謝的健康の改善が、乳児の腸内細菌叢の調節によって媒介され得ると考える。この理論は、ベタインが特定の有益な腸管細菌群集の成長を促進する能力に関連して得られた証拠と、連続抗生物質処置によるベタインの効果の攪乱とによって支持される。

【００４８】

腸内細菌叢は、健康（heath）及び疾患において重要な役割を果たす。腸内細菌叢は、他の点では不消化食物である難消化性デンプンなどの多糖及び食物繊維からエネルギーを取り出すことによって、重要な代謝活性を発揮する。これらの代謝活性は、短鎖脂肪酸（ＳＣＦＡ）、ビタミン（例えば、ビタミンＫ、ビタミンＢ１２及び葉酸）及びアミノ酸などの、ヒトが自身では産生することができない重要な栄養素の産生も引き起こす。加えて、腸内細菌叢は、コロニー形成抵抗性及び抗菌化合物の産生などのメカニズムによって、病原体に対する防御に参加する。さらに、腸内細菌叢は、胃腸管の感覚及び運動機能、腸管バリア及び粘膜免疫系の発達、成熟及び維持に関与する。腸内細菌叢のディスバイオシスが腸管内障害及び腸管外障害の両方の病態形成に関連するという証拠が増加している。「ディスバイオシス」は、腸内細菌叢の不均衡又は適応不全に対する用語である。

【００４９】

ベタインの補給により提供される腸内細菌叢の有益な調節は、従って、付加的な利益をもたらし得る。本開示は、腸内細菌叢の有益な調節において使用するためのベタイン化合物にも関する。有益な調節は、有益な腸内微生物群集の成長を増強させると理解される。また本記載は、対象の腸内細菌叢のディスバイオシスに関連する障害の予防及び／又は処置において使用するためのベタイン化合物にも関し、ここで、予防及び／又は処置は、ベタイン化合物を乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。これは、対象の腸内細菌叢のディスバイオシスに関連する障害の予防及び／又は処置のための組成物を調製するためのベタイン化合物の使用として再構築することができ、ここで、組成物は、乳児期に対象に直接投与されるか、或いは授乳期に対象の母親に

投与される。また本開示は、腸内細菌叢のディスバイオシスに関連する障害を予防及び／又は処置するための方法にも関し、本方法は、有効量のベタイン化合物を薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に、乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。前記障害には、栄養不良、感染症、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）、セリアック病、アレルギー、喘息、並びに肥満症及び関連障害、例えば、心血管疾患、インスリン抵抗性、２型糖尿病；高血圧症、睡眠時無呼吸、呼吸器系問題、脂質異常症及び癌が含まれる。

【００５０】

ベタイン補給により提供される利益との関連で、本発明者らは、ベタインが腸管バリアの完全性を促進することも見出した（実施例２．４及び図４を参照）。本開示は、対象における腸管バリア機能の維持又は改善において使用するためのベタイン化合物にも関し、ここで、腸管バリア機能の維持又は改善は、ベタイン化合物を乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。これは、対象における腸管バリア機能の維持又は改善のための組成物を調製するためのベタイン化合物の使用として再構築することができ、ここで、組成物は、乳児期に対象に直接投与されるか、或いは授乳期に対象の母親に投与される。また本開示は、対象において腸管バリア機能を維持又は改善するための方法にも関し、本方法は、有効量のベタイン化合物を薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に、乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。特定の実施形態では、対象はヒトである。別の特定の実施形態では、対象は動物である。

【００５１】

乳児の栄養不良は、腸管ディスバイオシス及び腸管バリア機能障害をもたらし、これは、小児に対して、栄養吸収不良、成長及び認知発達障害、細菌移行（内毒血症）並びに全身性炎症を含む多数の結果を有する。これは、発育阻害から腹膜炎まで、重大な結果を有し得る。従って、栄養不良乳児における腸管バリア機能の改善又は維持は、潜在的に、アミノ酸、タンパク質、脂質、炭水化物、及び他の栄養素の吸収及び代謝に影響を与え得る。

【００５２】

腸管バリア機能の維持又は改善は、子孫の代謝的健康の改善に寄与するだけでなく、特に内毒血症及び感染症の予防においてさらなる利益も有する。これは、特に、頻繁な感染症を患うリスクがある乳児、例えば、栄養不良乳児に関連する。

【００５３】

本開示は、さらに、対象における感染症の予防において使用するためのベタイン化合物に関し、ここで、予防は、ベタイン化合物を乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。これは、対象における感染症の予防のための組成物を調製するためのベタイン化合物の使用として再構築することができ、ここで、組成物は、乳児期に対象に直接投与されるか、或いは授乳期に対象の母親に投与される。また本開示は、対象において感染症を予防する方法にも関し、本方法は、有効量のベタイン化合物を薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に、乳児期に対象に直接投与するか、或いは授乳期に対象の母親に投与することを含む。特定の実施形態では、対象はヒトである。別の特定の実施形態では、対象は動物である。

【００５４】

肥満症、過剰な脂肪蓄積及び／又は前述のもののいずれかに関連する代謝障害の予防についての上記の全ての実施形態は、腸内細菌叢のディスバイオシスに関連する障害の予防及び／又は処置、腸管バリア機能の維持又は改善、並びに感染症の予防にも適用される。上記で定義されるようなベタイン化合物は、好ましくは、グリシンベタイン、アルセノベタイン、プロリンベタイン、４－ヒドロキシプロリンベタイン及びトリプトファンベタインから選択され、より好ましくは、グリシンベタイン、アルセノベタイン及びプロリンベタインから選択され、さらにより好ましくは、グリシンベタインである。

【００５５】

上記に開示されるように、ベタイン化合物は、母乳を通して、すなわちベタイン化合物

を授乳期に対象の母親に与えることによって乳児に投与されてもよいし、或いは例えば、栄養補助食品として、又は乳児用調合乳若しくは乳児用食品に包含させて、乳児期に対象に直接投与されてもよい。上記の利益を得るために乳児に直接投与されるベタイン化合物の１日用量は、２～５００ｍｇ／Ｋｇ／日、特に４～１００ｍｇ／Ｋｇ／日、より具体的には４～５０ｍｇ／Ｋｇ／日であり得る。ベタイン化合物が対象の母親に投与される場合、１日用量は５００ｍｇ～２０ｇ／日、特に１～１０ｇ／日、より具体的には２～６ｇ／日であり得る。

【００５６】

本開示に従って有効な１日用量のベタイン化合物は、例えば、直接又は液体に溶解して摂取される粉末の形態で、純粋なベタイン化合物を直接摂取することによって投与され得る、しかしながら、本開示は、上記で定義されるように、腸内細菌叢のディスバイオシスに関連する障害の予防及び／又は処置、腸管バリア機能の維持又は改善、並びに感染症の予防において使用するために、有効量のベタイン化合物を１つ又は複数の薬学的に又は食用として許容できる賦形剤及び／又は担体と一緒に含む組成物にも関する。組成物は、薬学的に許容できる賦形剤及び／又は担体を含む医薬組成物であってもよいし、或いは食用として許容できる賦形剤及び／又は担体を含む栄養補助食品であってもよいし、或いは食用として許容できる賦形剤及び／又は担体を含む食用製品であってもよい。組成物が食用製品である場合、それは、例えば、乳児用調合乳であり得る。

【００５７】

感染症の予防を考慮する際、感染症は、特に、腸内感染症、例えば、腸管病原体などの胃腸炎を引き起こす感染症である。さらに、感染症、好ましくは腸内感染症の予防は、乳児期及び／又は小児期における予防を含み得る。また本開示は、特に、低栄養にかかっているため、及び／又は抗生物質処置を受けているために、対象が感染症を患うリスクのある対象であることも企図する。

【００５８】

説明及び特許請求の範囲を通して、「含む（comprise）」という語及びその語の変化形は、他の技術的特徴、添加剤、成分、又はステップを排除することは意図されない。さらに、「含む（comprise）」という語は、「からなる（consisting of）」の場合も包含する。本発明の付加的な目的、利点及び特徴は、説明を調査することで当業者に明らかになるか、又は本発明の実施によって学習され得る。以下の実施例及び図面は説明のために提供されており、本発明を限定することは意図されない。さらに、本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態及び好ましい実施形態の可能性のある全ての組み合せを網羅する。

【実施例】

【００５９】

実施例

全ての実施例におけるベタインは、グリシンベタインである。

【００６０】

１．材料及び方法

１．１．ヒト研究設計

簡潔に、授乳期の母親及び乳児だけが午前８：００～１０：００にOklahoma Health Sciences大学（Oklahoma City, OK, USA）のキャンパスに到着した。母親に、病院グレードの搾乳器を用いて乳房全体を空にするように促した。本研究のための我々の主要結果変数は、出生時のＷＬＺ（及び他の共変量）で調整された月齢１カ月の体重身長比のｚスコア（ＷＬＺ）であった。これは、代数的に、出生時のＷＬＺと、出生時ＷＬＺで調整された生後１カ月のＷＬＺとの差異と同一であり、従って、生後１カ月間のＷＬＺの変化を反映する。

【００６１】

１．２．乳のメタボロミクス解析

一炭素代謝産物のｓ－アデノシルメチオニン（ＳＡＭ）、ｓ－アデノシルホモシステイ

ン（ＳＡＨ）、メチオニン、シスタチオニン、コリン、及びベタインは、既に記載されている（M. Inoue-Choi, et al, One-carbon metabolism nutrient status and plasma s-adenosylmethionine concentrations in middle-aged and older Chinese in Singapore. Int J Mol Epidemiol Genet 3, 160-173 (2012)）ように、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳにより決定した。５－メチルテトラヒドロ葉酸は、既に記載されている（E. Arning, et al, Quantitation of 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Methods Mol Biol 1378, 175-182 (2016)）ように、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳにより測定した。総ホモシステインをＬＣ－ＭＳ／ＭＳにより測定した。この解析のために、１０μＬの母乳又は標準物を１２０μＬの内部標準溶液（蒸留水に溶解した４ｍＭのジチオスレイトール中にｄ４－ホモシステインを含有する）に添加することによってサンプルを調製した。室温で３０分間のインキュベーションの後、サンプルを２００μＬのアセトニトリル及び０．１％のギ酸により除タンパクし、１４００ｒｐｍで５分間遠心分離した。３０℃に保持したSynergi Hydro 4μ 150x3mm（Phenomenex）に１０μＬの抽出物を注入し、緩衝液Ａ（１００％の水、０．５％のギ酸及び０．２５％のヘプタフルオロ酪酸）及び緩衝液Ｂ（１００％のアセトニトリル、０．５％のギ酸　０．２５％のヘプタフルオロ酪酸）を用いる勾配で溶出させた後に、サンプルを解析した。流速は０．５ｍＬ／分であり、１０分間の総ランタイムにわたって段階的な勾配を用いた。質量分析を4000 QTrap（Sciex, Framingham, MA）において実施し、フラグメントイオンの観察された（ｍ／ｚ）値は、ホモシステイン（ｍ／ｚ１３６→９０）及びｄ４－ホモシステイン（ｍ／ｚ１４０→９４）であった。全てのデータを収集し、Analystソフトウェアｖ１．４．２（Sciex, Framingham, MA）を用いて処理した。

【００６２】

１．３．動物の世話及び処置

全ての動物プロトコルは、バルセロナ大学のInstitutional Animal Care and Use Committee（スペイン）により承認を受けた。マウスを１２時間の明暗サイクルで収容し、食物及び水を自由に入手できるようにした。雄及び雌のＩＣＲ－ＣＤ１マウス（Envigo）を交配して子孫を得た。成長のばらつきを最小限にするために、出生時に最も重いマウス及び最も軽いマウスを除いて同腹仔を雌親１匹につき８匹に調整した。グリシンベタイン（１％ｗｔ／ｖｏｌ）、アンピシリン（１ｇ／Ｌ）、及びネオマイシン（０．５ｇ／Ｌ）（Sigma-Aldrich）を乳汁分泌期間に水中で投与した。離乳の後、マウスを１つのケージにつき４匹収容し、2014 Teklad食（Envigo）を与えた。食餌性肥満症については、高脂肪食（ＨＦＤ、４５％ｋｃａｌの脂肪）を提供した（D12451, Research Diets）。母体肥満症の研究については、交配する前に、６週齢の雌にＨＦＤを８週間与え、妊娠及び乳汁分泌期間中はこの同じ食餌を維持した。乳の摂取を評価するために、仔を雌親から２時間離し、そのケージに１時間戻し、給餌の前後の体重の差異を１時間における初期体重当たりのグラム数で表した。乳の回収のために、生後１４日目に麻酔（ペントバルビタール、４０ｍｇ／ｋｇ）下でサンプルを手作業により採取した；乳の採取後に雌親及び仔を　殺し、マイクロバイオーム研究のために盲腸内容物を得た。7.0T Bruker Biospect MRIシステム（Bruker Medical Gmbh, Germany）を用いることにより、体組成を決定した。代謝ケージ（PhenoMaster/LabMaster, TSE Systems GmbH, Germany）において間接熱量測定を行った；O_2、CO_2、食物摂取、及び自発運動活性を４８時間モニターし、反復測定に対して二元配置ＡＮＯＶＡを用いてデータを解析した。１６時間又は４時間の断食の後に、それぞれ、腹腔内の糖（１．５ｇ／ｋｇ）及びインスリン（０．６Ｕ／ｋｇ）負荷試験を実施した。マウスを麻酔（腹腔内ペントバルビタール、５０ｍｇ／ｋｇ）し、午前９～１１時に　殺した。

【００６３】

１．４．生化学的分析

Miris Analyzer（Miris AB）における中赤外分光法による主要栄養素分析の前に、マウスの乳サンプルを１：３に希釈した。質量分析（QqQ/MS 6490, Agilent）と結合し

た液体クロマトグラフィ（Acquity UPLC BEH HILIC column, Waters）により、相対ベタイン濃度を決定した。血漿中インスリンをＥＬＩＳＡ（Millipore）により決定した。血漿中ＭＣＰ－１、ＩＬ－６及びＰＡＩ－１は、Milliplex Map（EMD Millipore, Merck）を用いて測定した。Triglyceride Assay Kit（Sigma-Aldrich）を用いて、肝臓又は糞便（５０ｍｇ）からのクロロホルム－メタノール抽出物中の肝臓及び糞便トリグリセリドを定量化した。

【００６４】

１．５．遺伝子発現解析

ＴＲＩ試薬（Sigma-Aldrich）を用いて組織からの全ＲＮＡを単離し、高容量ｃＤＮＡキット（Applied Biosystems）を用いてｃＤＮＡを得た。ハウスキーピング遺伝子としてＨｐｒｔを用いて、SybrGreen（Takara Bio）によりｑＰＣＲを実施した。プライマー配列は以下の通りである：

Ｃｃｌ２順方向：５’－ＣＡＡＧＡＴＧＡＴＣＣＣＡＡＴＧＡＧＴＡＧ－３’（配列番号１）
Ｃｃｌ２逆方向：５’－ＴＴＧＧＴＧＡＣＡＡＡＡＡＣＴＡＣＡＧＣ－３’（配列番号２）
Ｔｌｒ４順方向：５’－ＧＣＣＴＣＣＣＴＧＧＣＴＣＣＴＧＧＣＴＡ－３’（配列番号３）
Ｔｌｒ４逆方向：５’－ＣＡＧＧＧＡＣＴＴＴＧＣＴＧＡＧＴＴＴＣＴＧＡＴＣＣＡ－３’（配列番号４）
Ｃｄ１１ｃ順方向：５’－ＡＧＴＣＴＧＴＴＧＧＧＴＴＣＴＧＴＡＡＧ－３’（配列番号５）
Ｃｄ１１ｃ逆方向：５’－ＡＣＡＧＴＴＣＴＧＴＴＡＴＧＡＣＡＴＧＣ－３’（配列番号６）
Ｈｐｒｔ順方向：５’－ＧＣＣＣＣＡＡＡＡＴＧＧＴＴＡＡＧＧＴＴＧ－３’（配列番号７）
Ｈｐｒｔ逆方向：５’－ＧＴＣＡＡＧＧＧＣＡＴＡＴＣＣＡＡＣＡＡＣ－３’（配列番号８）
Ｍｕｃ２順方向：５’－ＣＴＧＡＣＣＡＡＧＡＧＣＧＡＡＣＡＣＡＡ－３’（配列番号９）
Ｍｕｃ２逆方向：５’－ＣＡＴＧＡＣＴＧＧＡＡＧＣＡＡＣＴＧＧＡ－３’（配列番号１０）

【００６５】

１．６．組織学的分析

ホルマリン浸漬により組織を固定し、パラフィン包埋し、ヘマトキシリン／エオシンにより切片を染色した。ＷＡＴについては、動物１匹につき３０のランダムな顕微鏡視野において脂肪細胞領域を測定した（１０～２０細胞／視野）。回腸については、Periodic acid-Schiff（ＰＡＳ）法により断面カットを染色した。５～６の切片からマウス１匹につき１０本の絨毛を分析した。絨毛１本当たりの杯細胞の数を決定し、細胞数／１００μｍで表した。サンプルＩＤが見えない研究者によりImageJを用いて分析を実施した。

【００６６】

１．７．腸内マイクロバイオーム分析

痩せた対照及びベタイン処置した雌親からの２週齢及び６週齢の雄マウスからの盲腸内容物を採取し、PowerSoil（登録商標）ＤＮＡ単離キット（MOBIO Laboratories）を用いて細菌ＤＮＡを単離するまで－８０℃で貯蔵した。Illumina MiSeq Systemを用いて微生物構成を分析し、１６Ｓ　ｒＲＮＡ遺伝子のＶ３～Ｖ４領域を配列決定した。ペアードエンド読取りデータをQIIME v1.9で処理し、門、綱、目、科、属及び種レベルに割り当てた。サンプル当たり４８２７の読取りデータのレアファクション深度において、サンプル内多様性を評価し、系統的多様性を配列深度の関数として表した。重みなしUniFrac距離を使用して、主座標分析（ＰＣｏＡ）を実施した。ＬＥｆＳｅ（N. Segata, et al, Metagenomic biomarker discovery and explanation. Genome Biol 12, R60 (2011)）を用いて、相対存在量の差異を決定した。

【００６７】

１．８．統計分析

他に記載されない限り、データは平均±標準誤差で表される。ヒト乳代謝産物データを対数変換し、ＳＰＳＳ１９．０（Armonk, NY: IBM Corp.）において多変量回帰を行った。両側ｔ検定、非正規分布データに対するマン・ホイットニーのＵ検定、又は３群以上のテューキーの事後検定による一元配置ＡＮＯＶＡを適用して、統計的有意性を決定した。全ての分析についてＰ＜０．０５を有意と考えた。

【００６８】

２．結果

２．１．母乳ベタインレベルは、ヒトにおいて乳児の初期成長と逆に関連する

乳の一炭素代謝産物が母体過体重及び乳児成長と関連するかどうかを決定するために、ある範囲の母体ＢＭＩ（１８．５～４７．２ｋｇ／ｍ^2）にわたって、母乳だけで育てられている３４組の母親－乳児を研究した（表１）。母体の過体重又は肥満症（ＯＷＯ）は、標準体重（ＮＷ）の母親と比べて１カ月でより高い乳児体重身長比のｚスコア（ＷＬＺ）、脂肪量、及び除脂肪量をもたらした（表１）。

【００６９】

【表１】

表 1.参加者の人口学的及び代謝的特徴。

	全て n=34	NW n=15	OWO n=19	p val[a]
母親				
年齢 (歳)	29.1 (5.1)	27.7 (5.5)	30.1 (4.7)	0.182
妊娠前 BMI (kg/m^2)	27.3 (7.1)	21.6 (1.8)	31.8 (6.4)	**<0.001**
乳児				
出生時				
性別 (女/男)	19 / 15	9 / 6	10 / 9	0.668
妊娠期間 (週)	39.6 (1.2)	39.4 (1.1)	39.8 (1.2)	0.295
体重 (kg)	3.53 (0.48)	3.39 (0.51)	3.64 (0.45)	0.148
身長 (cm)	51.6 (2.3)	51.6 (2.3)	51.6 (2.3)	0.989
WLZ	-0.59 (1.20)	-1.07 (1.30)	-0.21 (1.00)	**0.035**
1 カ月				
体重 (kg)	4.67 (0.71)	4.45 (0.63)	4.84 (0.73)	0.115
身長 (cm)	55.8 (2.1)	55.8 (2.1)	55.8 (2.2)	0.955
WLZ	-0.36 (1.04)	-0.87 (0.91)	0.05 (0.98)	**0.008**
頭囲 (cm)	38.3 (1.3)	38.4 (1.4)	38.2 (1.3)	0.676
DXA-脂肪量 (%)	24.1 (2.8)	22.9 (3.0)	25.0 (2.4)	**0.027**
DXA-脂肪量 (kg)	1.19 (0.29)	1.06 (0.27)	1.30 (0.26)	**0.013**
DXA-除脂肪量 (kg)	3.64 (0.50)	3.45 (0.46)	3.78 (0.48)	**0.050**
母乳				
コリン (μmol/L)	96.8 (49.0)	96.3 (61.4)	97.1 (38.2)	0.541
ベタイン (μmol/L)	3.12 (2.65)	3.34 (3.30)	2.95 (2.09)	0.951
メチオニン (μmol/L)	4.39 (2.69)	4.70 (3.51)	4.15 (1.89)	0.732
SAM (nmol/L)	1469 (436)	1427 (483)	1503 (406)	0.542
SAH (nmol/L)	216 (81)	201 (83)	227 (80)	0.279
シスタチオニン (nmol/L)	44.9 (34.3)	44.0 (35.4)	45.7 (34.3)	0.896
5-メチルテトラヒドロ葉酸 (nmol/L)	29.5 (15.9)	27.0 (16.5)	31.5 (15.6)	0.420
ホモシステイン (nmol/L)	207 (68)	215 (55)	201 (77)	0.529

値は平均(SD)を示す。太字フォントは p<0.05 を示す。NW 群と OWO 群との間の連続変数に対する両側 t 検定; カテゴリー変数(性別)に対するピアソンのカイ二乗検定. NW,標準体重; OWO, 過体重又は肥満症; WLZ, 体重身長比の z-スコア。

【００７０】
出生後１カ月の乳サンプルを分析して、コリン、ベタイン、メチオニン、ＳＡＭ、ＳＡＨ、シスタチオニン、５－メチルテトラヒドロ葉酸（５－ＭＴＨＦ）、及び総ホモシステイン（ｔＨｃｙ）を定量化し、代謝産物間の有意な相関関係を見出した。ＮＷ母親とＯＷＯ母親との間のカテゴリー比較により、乳の代謝産物レベルに差異がないことが明らかになった（表１）。我々は次に、乳分析物と乳児ＷＬＺとの間の潜在的な関連性を調査した。全ての代謝産物の中で、ベタインは、生後１カ月のＷＬＺと有意に相関する唯一の変数であり（ｒ＝－０．４０、ｐ＝０．０１８）、ＳＡＨ及びシスタチオニンについてわずかな傾向が観察されただけであった（表２）。
【００７１】

【表２】

表 2.乳代謝産物と生後 1 カ月の乳児の WLZ との間の多変量相関。

	全ての対象				標準体重			
	未調整		調整 [a]		未調整		調整 [a]	
	r	p val	ßstd	p val	r	p val	ßstd	p val
CHO	-0.09	0.593	-0.07	0.666	0.01	0.981	0.05	0.890
BET	**-0.40**	**0.018**	**-0.37**	**0.041**	-0.09	0.759	0.07	0.904
MET	0.08	0.649	0.15	0.441	0.16	0.557	0.11	0.760
SAM	0.04	0.822	-0.06	0.755	-0.10	0.716	0.16	0.720
SAH	-0.29	0.094	-0.31	0.068	-0.14	0.609	0.07	0.854
CYSTA	-0.34	0.050	-0.33	0.062	-0.34	0.216	-0.15	0.693
5-MTHF	0.13	0.449	0.10	0.568	0.32	0.248	0.17	0.614
tHCY	-0.00	0.996	0.09	0.629	0.13	0.643	0.15	0.650

	過体重及び肥満症			
	未調整		調整 [a]	
	r	p val	ßstd	p val
CHO	-0.35	0.142	-0.38	0.200
BET	**-0.78**	**<0.001**	**-0.80**	**<0.001**
MET	0.09	0.718	0.18	0.664
SAM	0.07	0.772	0.09	0.776
SAH	**-0.66**	**0.002**	**-0.83**	**0.001**
CYSTA	-0.43	0.070	**-0.64**	**0.042**
5-MTHF	-0.21	0.394	-0.18	0.577
tHCY	0.05	0.836	0.08	0.797

代謝産物レベルを対数変換し、1-カ月 WLZ に対する相関関係を評価した。太字フォントは $p<0.05$ を示す。ßstd, 回帰モデルからの標準化β係数; CHO, コリン; BET, ベタイン; MET, メチオニン; SAM, s-アデノシルメチオニン; SAH, s-アデノシルホモシステイン; CYSTA, シスタチオニン; 5-MTHF, 5-メチルテトラヒドロ葉酸; tHCY, 総ホモシステイン。 母体年齢, 妊娠前 BMI, 妊娠期間, 及び出生時 WLZ について調整されたモデル。

【００７２】

母体年齢、妊娠前ＢＭＩ、妊娠期間、及び出生時ＷＬＺの調整は、未調整推定値を実質的に変更しなかった。（β_{std}＝－０．３７、ｐ＝０．０４１、表２）。ベタインとＷＬＺとの間の相関関係はＯＷＯ母親からの乳児では特に強かったが（β_{std}＝－０．８０、ｐ＜０．００１）、ＮＷ母親では関連性は観察されなかった（β_{std}＝０．０７、ｐ＝０．９０４；表２）。ＳＡＨについて同様の肥満症依存効果が観察された（表２）。乳ベタイン含有量はポンデラル指数を含む他の成長パラメータにも相関し、頭囲又は体組成測定値との相関関係は観察されなかった（データは示さず）。

【００７３】

まとめると、これらの結果は、肥満症の母親から生まれたが、より高い乳ベタイン含有量に曝露された乳児が、ベタイン曝露がより少ない乳児と比べて、１カ月における成長の減少を示したことを示す。

【００７４】

２．２．マウスにおいて食餌ベタインは母乳に移行し、子孫の脂肪症を低減する

乳ベタインが成長及び肥満症リスクを調節するかどうかを研究するために、我々は、乳汁分泌期間のマウスだけにおいて母体補給実験を実施した。分娩後１日目に雌親をランダムに対照群（Ｃ）又は処置群（Ｂ、水中に１％のベタイン）に割り当てた。出生後１４日目に雌親のサブセットから乳サンプルを採取し、ベタインレベルを決定した。補給により、主要栄養素組成又はエネルギー含有量を変更することなく（図１Ｂ～２Ｃ）、乳ベタイン含有量が５倍増大した（ｐ＜０．０００１、図１Ａ）。１４日齢の子孫は、血漿中ベタインの増大を示した（１．８倍、ｐ＜０．０５、図１Ｄ）。補給は、乳汁分泌期間の子孫の成長パターン（図１Ｅ）又は乳摂取（図１Ｆ）を調節しなかった。しかしながら、６週齢における体組成分析により、対照雄マウスと比べてベタイン処置雄マウスにおける脂肪量の低下が明らかにされた（ｐ＜０．０５、図２Ａ）。耐糖能、食物摂取、エネルギー消費量、呼吸交換率、及び活性レベルを含む他の代謝パラメータは、若いマウスにおいて群間で異ならなかった（データは示さず）。

【００７５】

ベタインが母体肥満症と相互作用をするかどうかを試験するために、母体肥満症のマウスモデルにおいて乳汁分泌期間にベタイン補給を実施した。交配の前に８週間、雌親に高脂肪食（ＨＦＤ）を与え、分娩時にランダムに対照（ＭＯ－Ｃ）群又はベタイン処置（ＭＯ－Ｂ）群に割り当てた。補給は上記のように実施した。母体肥満症は、痩せた母親の子孫と比べて、乳汁分泌期間に子孫の体重増加の増大をもたらした（図１Ｅ及び２Ｂを比較）。これに関連して、ベタイン補給は、対照と比べて子孫の成長を緩和し（図２Ｂ）、乳摂取の差はなく（図２Ｃ）、６週齢において脂肪量の低下の傾向を誘発した（図２Ｄ）。

【００７６】

若いマウスにおいて母体ベタインに誘発される変化は、雄の子孫における長期的な代謝効果につながり、また雄マウス及び雌マウスの両方において食餌性肥満症を防いだ。これらのデータは、若年期のベタイン曝露の増大が、脂肪症を低下するのに十分であり得ることを示す。また処置は、高脂肪給餌後の肝臓脂質の蓄積を防いだ。

【００７７】

２．３．母体のベタイン補給は子孫の若年期腸内細菌叢を調節する

腸内マイクロバイオームは出生後の栄養によって影響を受けるので、マイクロバイオームの変更がベタインの効果を媒介し得るかどうかを考慮した。痩せた対照及びベタイン処置した雌親からの２週齢及び６週齢の雄マウスからの盲腸内容物を分析した。同腹仔間のばらつきを説明するために、生後２及び６週間に、１群当たり８匹及び６匹の同腹仔をそれぞれ分析した。重みなしUniFrac距離の主座標分析は、母体ベタインが２週齢の微生物群集の組成を調節し、６週間では違いが観察されないことを示した。系統的多様性は、群間で異ならなかった。線形判別分析エフェクトサイズ（ＬＥｆＳｅ）分析により、群間で有意に異なるいくつかの細菌群が同定され、例えば、２週間でアクチノバクテリア（Actinobacteria）種、アッケルマンシア（Akkermansia）種、及びシュードモナス（Pseudomonas）種が同定され、６週間でアッケルマンシア（Akkermansia）種、オドリバクター（Odoribacter）種、オシロスピラ科（Oscillospiraceae）種、及びロゼブリア（Roseburia）種が同定された（図３Ａ～３Ｂ）。これらの細菌群の中で、アッケルマンシア（Akkermansia）種のレベルの違いだけが、ＬＥｆＳｅの前に非常に少量の配列読取りデータをトリミングすることにより、より厳しい生物情報学的分析を持続した。

【００７８】

ロゼブリア（Roseburia）種は既知の酪酸産生株であり、宿主において有益な代謝効果を誘発することができる。特に、アッケルマンシア・ムシニフィラ（Akkermansia muciniphila）は、２週齢及び６週齢の両方で変更される唯一の種であり、より厳しい生物情

報学的分析を持続する唯一の細菌群であった。いくつかの研究は、アッケルマンシア・ムシニフィラ（Akkermansia muciniphila）と、代謝的健康の改善との間の関連性を報告している。興味深いことに、アッケルマンシア（Akkermansia）種集団の増大は、近年、出生後の低栄養のマウスモデルにおけるより緩やかな体重増加と関連されている。さらに、アッケルマンシア・ムシニフィラ（Akkermansia muciniphila）のこれまでの研究は、成体マウスへの投与が回腸杯細胞数を増大させ、且つ腸のバリア機能を改善し、全身性炎症の低減及び代謝的健康の改善につながることを実証する。

【００７９】

６週齢において盲腸の短鎖脂肪酸の違いは見出されなかった。さらに、ベタイン補給は、母体腸内マイクロバイオームを修正しなかった。

【００８０】

２．４．母体のベタイン補給は腸上皮機能、軽度の全身性炎症、及び代謝機能不全を改善する。

ベタイン処置した雌親からの６週齢の子孫は回腸絨毛長さの違いを示さなかったが、杯細胞数（１．３倍、ｐ＜０．０５、図４Ａ）及びＭｕｃ２　ｍＲＮＡ発現（図４Ｄ）を増大させた。これらの変化は、精巣上体の白色脂肪組織（ｅＷＡＴ、図４Ｂ）における炎症マーカー（Ｃｃｌ２、Ｔｌｒ４、Ｃｄ１１ｃ）のｍＲＮＡレベルの低下を伴う。Ｃｃｌ２（又は単球走化性タンパク質１、ＭＣＰ－１）の発現は、褐色脂肪、肝臓、及び骨格筋においても低下した。さらに、補給は、炎症促進性マーカーのインターロイキン－６（ＩＬ－６、ｐ＜０．０５）の循環レベルも低下させたが、ＭＣＰ－１及びプラスミノーゲン活性化因子阻害剤－１（ＰＡＩ－１）は数値低下を示しただけである（それぞれ、ｐ＝０．０８及びｐ＝０．２５、図４Ｃ）。

【００８１】

２．５．母体のベタイン補給は成人期を通して子孫の代謝的健康を改善する。

また、上記の若年期の変化が長期的な代謝改善につながるかどうかについても調査した。子孫を離乳の後に固形飼料の上に保持し、２４週齢までモニターした。ベタイン処置した雌親に生まれた雄マウスは、成人期を通して体重増加の低下及びｅＷＡＴ重量の低下を示した（図５Ａ～Ｂ）が、雌では効果は観察されなかった。脂肪症の低下と一致して、ベタイン処置した雌親からの雄の子孫では脂肪細胞サイズ及び炎症マーカーが低下した。雄マウスは、耐糖能の顕著な改善を示し（図５Ｃ）、雌子孫では効果はなかった。さらに、対照群と比較して処置群では、基礎インスリンレベルは４０％低下した（ｐ＜０．０５、図５Ｄ）。インスリン負荷試験により、処置群からの雄では、各時点の血糖が著しく低くなることが明らかにされたが、インスリン投与への応答の違いはなかった。補給は、肝臓トリグリセリドの蓄積に対する有意な影響を有さなかった。母体肥満症のマウスモデルにおいて同様の表現型が観察され、成体の雄子孫は、対照群と比べてベタイン処置群において、より低い体重及び脂肪症（図５Ｅ～４Ｆ）、改善された耐糖能（図５Ｇ）、及び低下した基礎インスリンレベル（図５Ｈ）を示した。

【００８２】

次に、この若年期の介入が食餌性肥満症を防ぐかどうかを試験した。この目的に向けて、痩せた対照又はベタイン処置した雌親の６週齢の子孫にＨＦＤを１６週間与えた（それぞれ、ＨＦ－Ｃ群及びＨＦ－Ｂ群）。ＨＦＤを負荷すると、ベタイン処置群からの雄及び雌の子孫はいずれも、対照群と比べて体重増加の低下を示した（図６Ａ）。我々は、累積的な食物摂取における中程度の数値低下を観察し、これは、統計的有意性に達せず、糞便脂質含有量の違いはなかった。補給は耐糖能を改善し（図６Ｂ）、空腹時グルコース（時間０、図６Ｂ）及びインスリンレベル（図６Ｃ）を低下させた。肝臓のトリグリセリド蓄積は、ＨＦ－Ｂ群において３０％低減された（ｐ＜０．０５、図６Ｄ）。

【００８３】

２．６．乳汁分泌期間の抗生物質の同時投与は、ベタインの長期的な代謝効果を鈍らせる

若年期の母体の抗生物質投与は、子孫の腸内細菌叢組成を破壊する。母体のアンピシリン及びネオマイシン投与は、２週齢の子孫において盲腸重量を増加させ、盲腸の細菌含有

量を低下させることがこれまでに観察されている。若年期の腸内マイクロバイオームがベタインの長期的に有益な代謝効果に寄与するかどうかを試験するために、分娩後１日目に開始して、ベタイン（Ｂ群）、抗生物質（ＡＢ群、飲料水中に１ｇ／Ｌのアンピシリン及び０．５ｇ／Ｌのネオマイシン）、抗生物質及びベタイン（ＡＢ－Ｂ群）のいずれかを受けるか、又はサプリメント（Ｃ群）を受けない４つの群に、雌親をランダムに割り当てた。子孫を成人期までモニターした。抗生物質処置は、ベタインに誘発される体重及び脂肪貯蔵重量に対する長期的な効果（図７Ａ）を完全に無効にしたが、肝臓重量は、いずれの処置による影響も受けなかった（図７Ｂ）。さらに、耐糖能は、抗生物質の存在下では、母体ベタイン処置によってもはや改善されなかった（図７Ｃ）。同様に、ｅＷＡＴ炎症マーカーは、抗生物質の存在下ではベタインによって低減されなかった（図７Ｄ）。

【００８４】

引用リスト

非特許文献

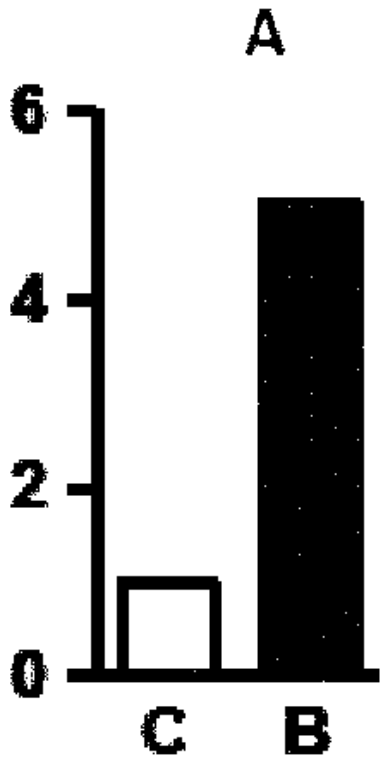
M. Inoue-Choi, et al, One-carbon metabolism nutrient status and plasma s-adenosylmethionine concentrations in middle-aged and older chinese in singapore. Int J Mol Epidemiol Genet 3, 160-173 (2012).

E. Arning, et al, Quantitation of 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Methods Mol Biol 1378, 175-182 (2016).

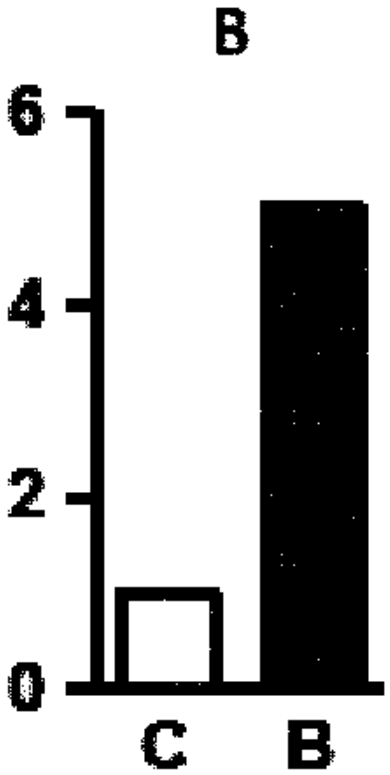
N. Segata, et al, Metagenomic biomarker discovery and explanation. Genome Biol 12, R60 (2011).

【図面】

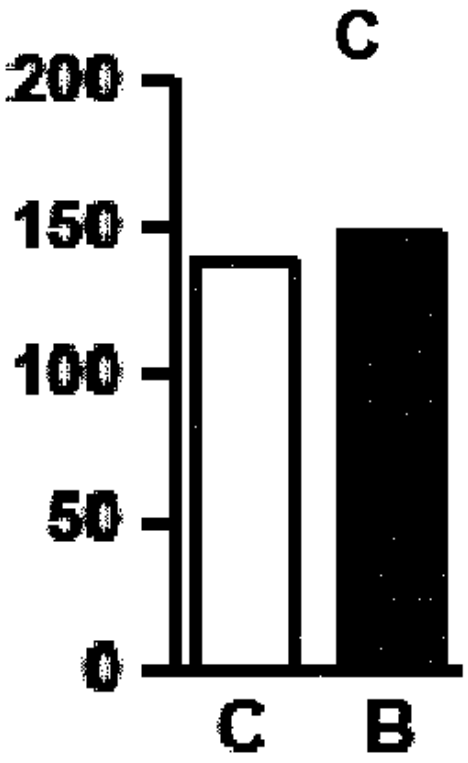
【図１Ａ】



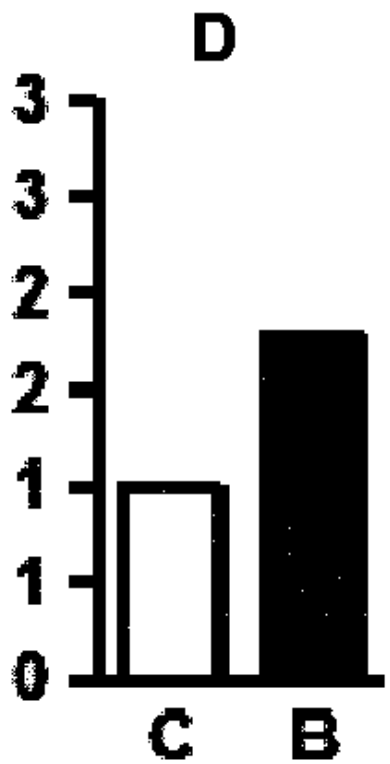
【図１Ｂ】



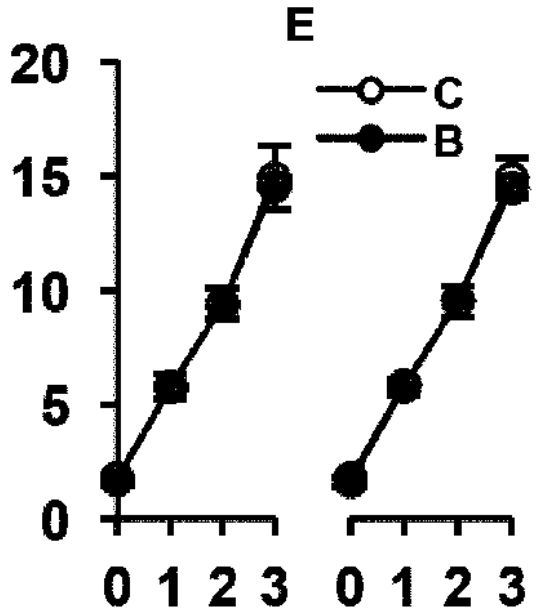
【図１Ｃ】



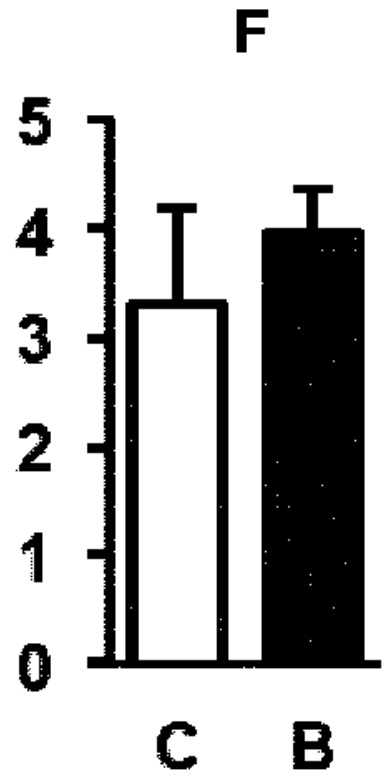
【図１Ｄ】



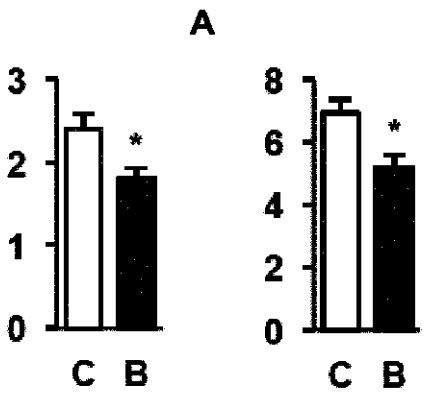
【図１Ｅ】



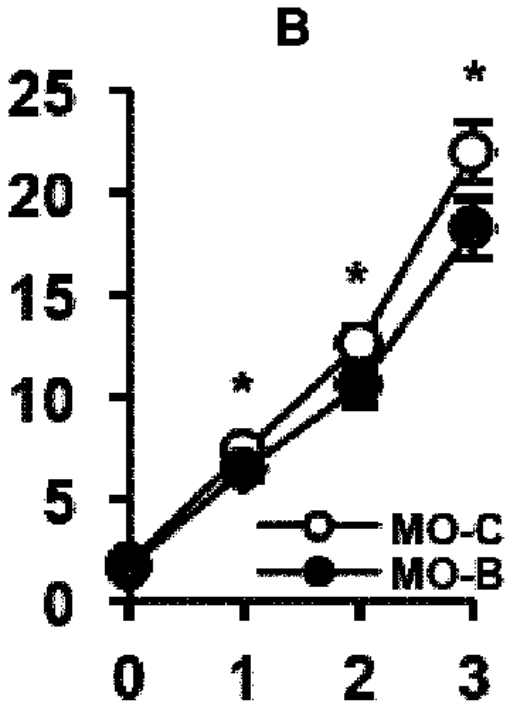
【図１Ｆ】



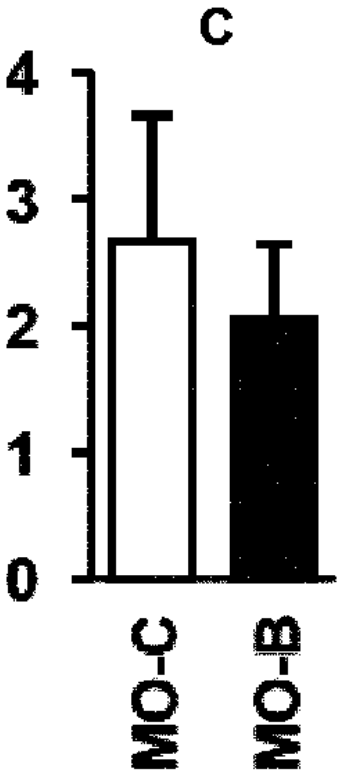
【図２Ａ】



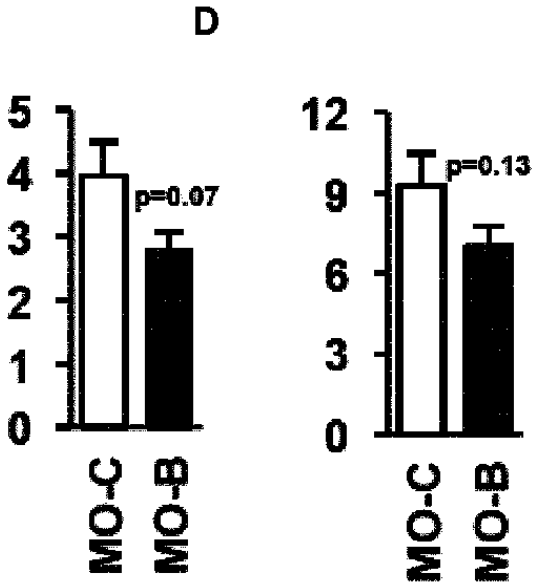
【図２Ｂ】



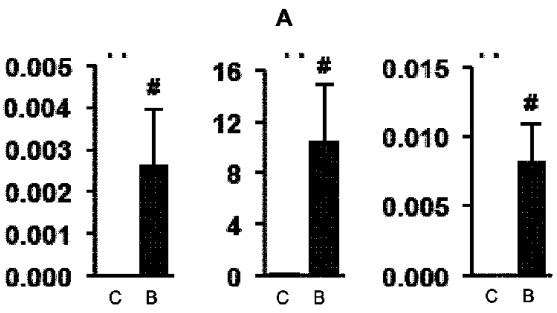
【図２Ｃ】



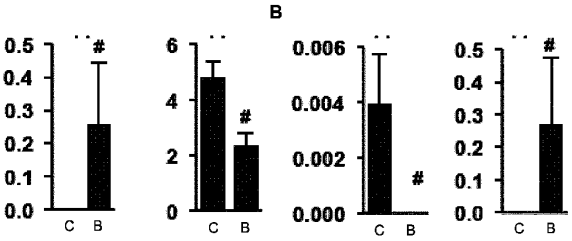
【図２Ｄ】



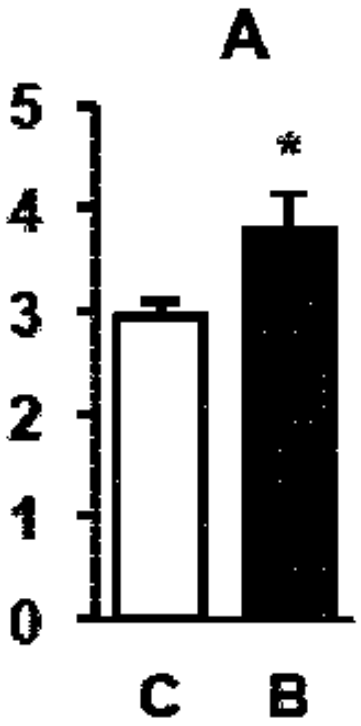
【図３Ａ】



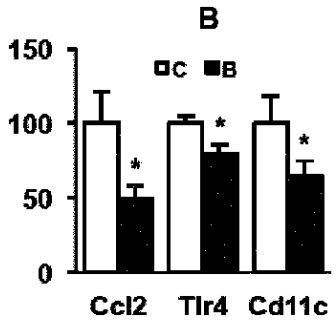
【図３Ｂ】



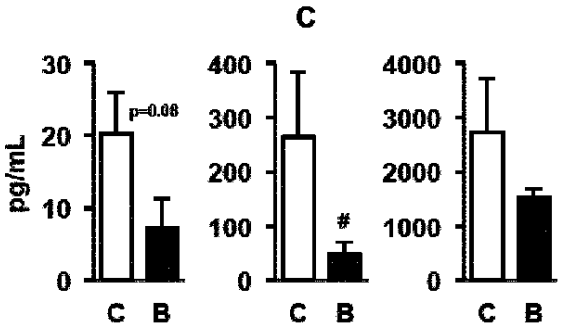
【図４Ａ】



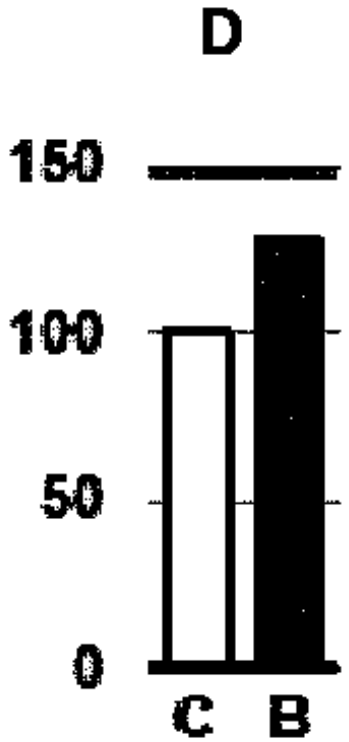
【図４Ｂ】



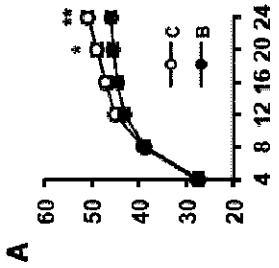
【図４Ｃ】



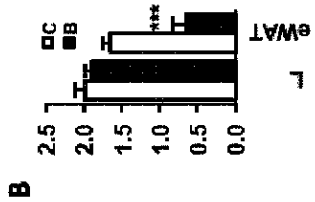
【図４Ｄ】



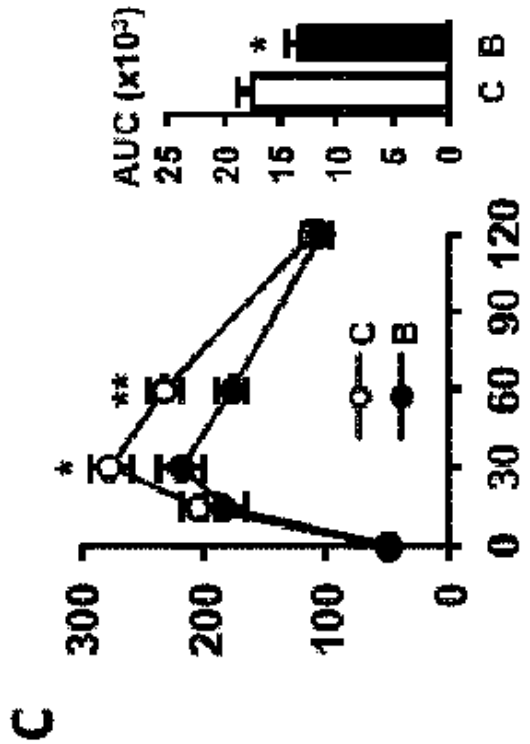
【図５Ａ】



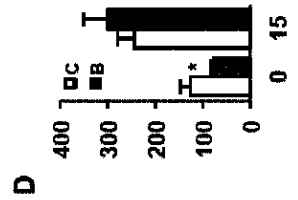
【図５Ｂ】



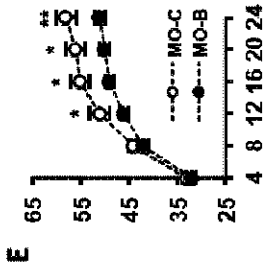
【図５Ｃ】



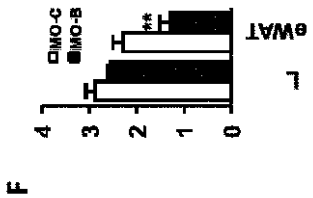
【図５Ｄ】



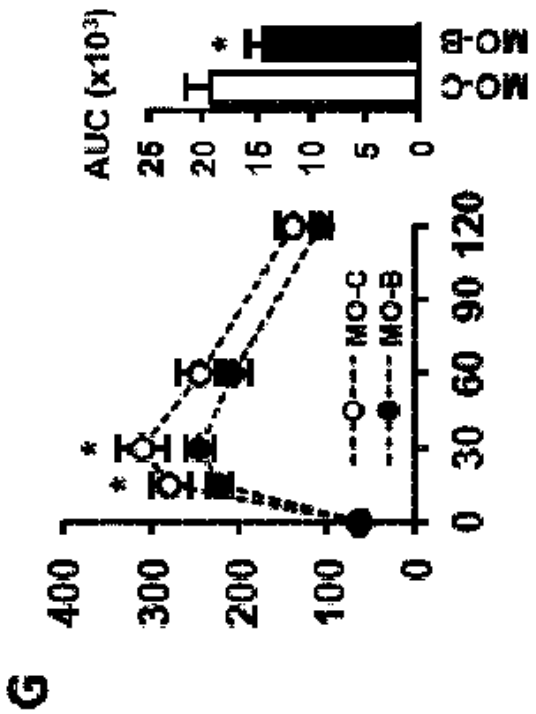
【図５Ｅ】



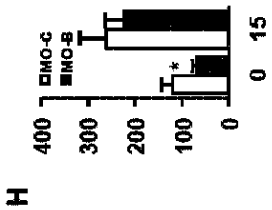
【図５Ｆ】



【図５Ｇ】

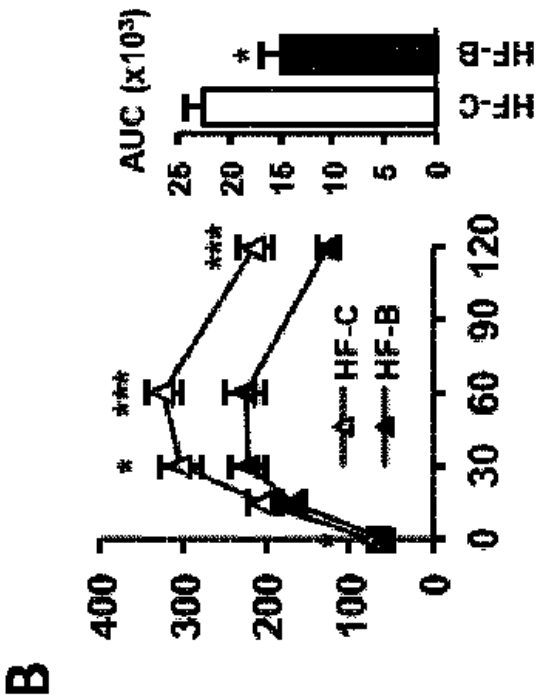


【図５Ｈ】

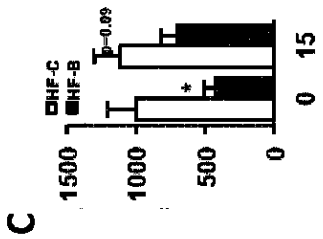


【図６Ａ】

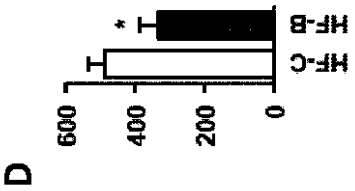
【図６Ｂ】



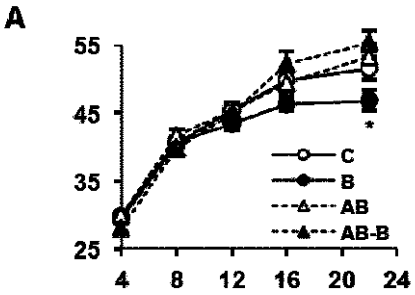
【図６Ｃ】



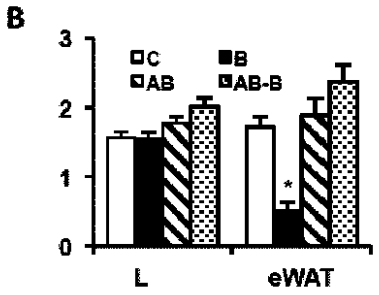
【図６Ｄ】



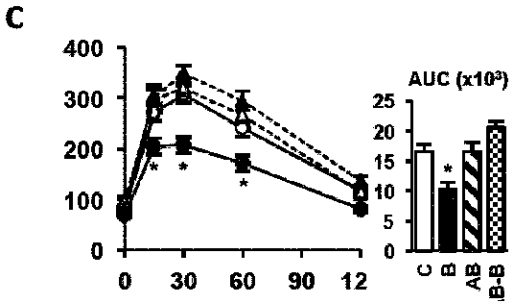
【図７Ａ】



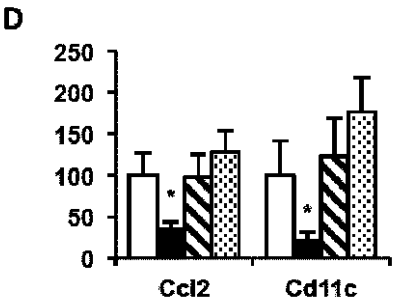
【図７Ｂ】



【図７Ｃ】



【図７Ｄ】



【配列表】

0007184805000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
A61P	***3/06***	***(2006.01)***	A61P	3/06	
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	3/10	
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	9/10	
A61P	*9/12*	*(2006.01)*	A61P	9/12	
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00	
C12N	*15/09*	*(2006.01)*	C12N	15/09	Z ZNA

ガート ０８９５０，３エー プランタ，３９－５７，エディフィシ ドーセント サン ジュアン ダ デウ，シー．サンタ ロサ
(72)発明者 ヒメネス チジャロン，ホセ カルロス
スペイン国，アスプルガズ ダ リュブラガート ０８９５０，３エー プランタ，３９－５７，エディフィシ ドーセント サン ジュアン ダ デウ，シー．サンタ ロサ
(72)発明者 ラモン クラウエル，マルタ
スペイン国，アスプルガズ ダ リュブラガート ０８９５０，パセジ サン ジュアン ダ デウ，２，オスピタル サン ジュアン ダ デウ

審査官 薄井 慎矢

(56)参考文献
米国特許出願公開第２００８／００３１９６４（ＵＳ，Ａ１）
国際公開第２００７／１０７３１９（WO，Ａ１）
Chem. Biodiversity，2017年04月，Vol.14，e1700038(pp.1-9)
J Nutr Sci Vitaminol，2012年，Vol.58，pp.371-375
British Journal of Nutrition，2015年，Vol.113，pp.1835-1843
J. Agric. Food Chem.，2016年，Vol.64，pp.6819-6825
Biochimica et Biophysica Acta，1995年，Vol.1245，pp.116-120
Am J Clin Nutr，2016年，Vol.104，pp.1327-1333
Pediatric RESEARCH，2013年，Vol.73, No.6，pp.783-787
British Journal of Nutrition，2014年，Vol.112，pp.1459-1468

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ
Ａ６１Ｐ
Ａ２３Ｌ
Ａ２３Ｃ
Ｃ０７Ｃ
Ｃ０７Ｄ
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）