

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-504420

(P2021-504420A)

(43) 公表日 令和3年2月15日 (2021.2.15)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/702 (2006.01)	A 6 1 K 31/702	4 B 0 1 8
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	4 C 0 8 6
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-529534 (P2020-529534)	(71) 出願人	508278309
(86) (22) 出願日	平成30年11月30日 (2018.11.30)		グリコム・アクティーゼルスカブ
(85) 翻訳文提出日	令和2年7月28日 (2020.7.28)		G l y c o m A / S
(86) 国際出願番号	PCT/IB2018/059501		デンマーク 2 9 7 0 ヘアスホルム、コウレ
(87) 国際公開番号	W02019/106620		・アレ4番
(87) 国際公開日	令和1年6月6日 (2019.6.6)	(74) 代理人	100145403
(31) 優先権主張番号	PA201700680		弁理士 山尾 憲人
(32) 優先日	平成29年11月30日 (2017.11.30)	(74) 代理人	100126778
(33) 優先権主張国・地域又は機関	デンマーク (DK)		弁理士 品川 永敏
(31) 優先権主張番号	PA201700690	(74) 代理人	100162684
(32) 優先日	平成29年12月5日 (2017.12.5)		弁理士 呉 英燦
(33) 優先権主張国・地域又は機関	デンマーク (DK)	(72) 発明者	ルイーセ・クリスティーネ・ヴィクスネス
			デンマーク 2 4 0 0 コペンハーゲン・エン
			ヴェー、ラウンホルムズヴァイ 2 0 番
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微生物叢調節のためのヒトミルクオリゴ糖およびその合成組成物

(57) 【要約】

本発明は、ヒトの胃腸管内の微生物叢を調節するための、具体的にはヒトの消化管微生物叢におけるアッカマンシアの存在量を増加させるための方法、化合物および組成物に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用するためのヒトミルクオリゴ糖（HMO）。

【請求項 2】

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用するための合成組成物であって、少なくとも 1 つのヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む該組成物。

【請求項 3】

1 g ～ 15 g、好ましくは 2 g ～ 10 g、より好ましくは 3 g ～ 7 g の量の少なくとも 1 つの HMO を含む、請求項 2 に記載の使用のための合成組成物。

10

【請求項 4】

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用するための少なくとも 1 つのヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量の個別の 1 日用量の少なくとも 14 日分を含むパック。

【請求項 5】

各 1 日用量が 1 g ～ 15 g、好ましくは 2 g ～ 10 g、より好ましくは 3 g ～ 7 g の少なくとも 1 つの HMO を含む、請求項 4 に記載の使用のためのパック。

【請求項 6】

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の損傷、
- －非セリアック小麦過敏症などの食物不耐症／過敏症、
- －ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または
- －胃腸の状態に関連する炎症

20

を、ヒトにおいて処置または予防するための、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の使用のための HMO、使用のための合成組成物、または使用のためのパック。

【請求項 7】

以下の 1 つまたはそれ以上：

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の損傷、
- －非セリアック小麦過敏症などの食物不耐症／過敏症、
- －ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または
- －胃腸の状態に関連する炎症

30

に罹患している患者の食事管理における、

- －1 つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、
- －1 つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む合成組成物、または
- －少なくとも 1 つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖の有効量の個別の 1 日用量の

40

少なくとも 14 日分を含むパックの使用。

【請求項 8】

ヒトミルクオリゴ糖が 2'-FL、3-FL、DFL、LNT、LNnT、3'-SL、6'-SL、LNFP-I またはこれらの混合物を含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の使用のための HMO、使用のための合成組成物、使用のためのパック、または使用。

【請求項 9】

ヒトミルクオリゴ糖が少なくとも 1 つの中性 HMO を含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 1 もしくは 6 に記載の使用のための HMO、請求項 2、3 もしくは 6 のいずれかに記載の使用のための合成組成物、請求項 4 ～ 6 のいずれかに記載の使用のため

50

のバック、または請求項 7 に記載の使用。

【請求項 1 0】

中性 HMO が、フコシル化 HMO および非フコシル化 HMO の混合物である、請求項 9 に記載の使用のための HMO、使用のための合成組成物、使用のためのバック、または使用。

【請求項 1 1】

混合物が、2'-FL および DFL のうちの少なくとも 1 つ、ならびに LNnT および LNT のうちの少なくとも 1 つを含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 1 0 に記載の使用のための HMO、使用のための合成組成物、使用のためのバック、または使用。

10

【請求項 1 2】

混合物が、2'-FL および LNnT を、好ましくは約 4 : 1 ~ 1 : 1 の質量比で含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 1 1 に記載の使用のためのヒトミルクオリゴ糖、使用のための合成組成物、使用のためのバック、または使用。

【請求項 1 3】

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させる方法であって、ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) の有効量をヒトに経口もしくは腸内投与することを含む方法。

【請求項 1 4】

胃腸管の粘膜層においてアッカーマンシアの存在量を増加させる、請求項 1 3 に記載の方法。

20

【請求項 1 5】

結腸においてアッカーマンシアの存在量を増加させる、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

ビフィドバクテリウムの存在量も増加させる、請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 7】

ヒトにおける腸病原性感染症を予防または処置する、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 8】

2 型糖尿病、肥満および／または肝疾患を有するヒトを予防または治療する、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 1 9】

投与される量が、腸透過性を改善する、および／またはインスリン感受性を高めるのに十分である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

胃腸の状態に関連する炎症を有するヒトを予防または治療する、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 2 1】

胃腸の状態が腸内腸疾患または過敏性腸症候群であり、好ましくは HMO の量が抗炎症性免疫応答を誘発するのに十分である、請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 2】

消化管脳障害を有するヒトを予防または治療する、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 2 3】

消化管脳障害がストレス、不安またはうつ病様行動である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

食物不耐症および／または過敏症を有するヒトを予防または治療する、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 2 5】

食物不耐症および／または過敏症が非セリアック小麦過敏症である、請求項 2 4 に記載

50

の方法。

【請求項 26】

消化管のバリア機能が損なわれたヒトを予防または治療する、請求項 13～16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 27】

自閉症様行動があるヒトを予防または治療する、請求項 13～16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 28】

HMO を少なくとも 14 日間ヒトに投与する、請求項 1～27 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 29】

1 日あたり 1 g～15 g、好ましくは 2 g～10 g、より好ましくは 3 g～7 g の量の少なくとも 1 つの HMO をヒトに投与する、請求項 1～28 のいずれかに記載の方法。

【請求項 30】

少なくとも 14 日間、HMO をヒトに投与する、請求項 1～29 のいずれかに記載の方法。

【請求項 31】

HMO が、2'-FL、3-FL、DFL、LNnT、LNnT、3'-SL、6'-SL、LNFP-I またはこれらの混合物を含む、前記請求項 12 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 32】

ヒトミルクオリゴ糖が少なくとも 1 つの中性 HMO を含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 13～30 のいずれかに記載の方法。

【請求項 33】

中性 HMO がフコシル化 HMO および非フコシル化 HMO の混合物である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

混合物が、2'-FL および DFL のうちの少なくとも 1 つ、ならびに LNnT および LNnT のうちの少なくとも 1 つを含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 33 に記載の方法。

30

【請求項 35】

混合物が、2'-FL および LNnT を、好ましくは約 4:1～1:1 の質量比で含む、からなる、またはから本質的になる、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

—第 1 工程で少なくとも 7 日間、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な第 1 の量のヒトミルクオリゴ糖、もしくは第 1 の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物を、および

—第 2 工程で少なくとも 7 日間、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を維持するのに有効な第 2 の量のヒトミルクオリゴ糖、もしくは第 2 の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物を、

40

ヒトに腸内投与することを含む請求項 13 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒトの胃腸管内の微生物叢を調節するための、具体的にはヒトの消化管微生物叢におけるアッカーマンシアの存在量を増加させるための方法、化合物および組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

人間の腸には 10^{13} から 10^{14} 個の細菌細胞が潜んでおり、細菌の数は体内の細胞

50

の総数よりも10倍多いと推定されている。ヒトの腸の微生物叢は、複雑で非常に動的な微生物生態系であり、病原体からの保護、免疫調節機能の誘導、栄養素の処理および代謝機能など、ヒト宿主にとって多くの重要な機能を果たす。腸内微生物叢は、ヒトの健康を保つために重要な様々な個体群で構成されており、最近の研究では、腸内細菌個体群の不均衡と、腸および腸外両方の炎症性疾患とを関連付けることができている。

【0003】

腸の粘液は2つの層で構成され、それらは、細菌が存在しない内層および共生細菌がコロニー化し分解する比較的厚い外層である。結腸粘液は、ゲル形成ムチンが豊富な複雑な流体を構成する。ムチンは、ヒドロキシアミノ酸クラスターに結合する豊富で多様なO結合型グリカンの特徴とする大きな糖タンパク質である。特定の腸内細菌（粘液-コロニー化細菌）のみがムチングリカンの分解に必要な酵素機構を持っているため、ムチンを栄養源として用いることができる。粘液コロニー化細菌は、腸内病原体から宿主を保護し、微生物叢の回復に寄与し、そして宿主の応答に影響を与えることができる。アッカーマンシア（タイプ細菌種Akk. Muciniphila（アッカーマンシア・ムシニフィア）を含む）は、ヒトの腸内微生物叢で最も豊富な粘液-コロニー化細菌の1つであり、ヒトにおいて同定されている数少ないコア微生物の1つある。アッカーマンシアは、酵素群：シアリダーゼ、フコシダーゼ、N-アセチル-β-グルコサミニダーゼおよびGlcNAc-スルファターゼをコードする遺伝子の存在により、粘液を唯一の炭素および窒素源として利用することができる。ルミノコッカス・グナプス（炎症性腸疾患に関連する別の粘液-コロニー化細菌）およびアッカーマンシアのムチン-分解酵素の生化学的分析により、それらの表現型における顕著な違いが明らかになった。R.グナプスについては、利己的表現型が明らかになったが、アッカーマンシアは、栄養連鎖を刺激する表現型に対応していた。これは、アッカーマンシアが粘膜コミュニティの生存を活発にすることに参与していることを示唆している。

【0004】

いくつかの研究では、ヒトの様々な障害や疾患におけるアッカーマンシアの存在量の減少が報告されている。これらの大部分には、炎症性腸疾患などの腸疾患だけでなく、アトピー、肥満、2型糖尿病、高血圧、肝疾患および自閉症などの腸外疾患も含まれる。これは、アッカーマンシアが、上述の疾患では失われる防御的および／または抗炎症的役割に関連していることを示している。

【0005】

いくつかの前臨床研究では、アッカーマンシア・ムシニフィラは、げっ歯類における高脂肪食の有害な代謝特性に抵抗できることが示されており、これには上皮の完全性（粘膜厚さ）の回復、代謝内毒素血症（血清LPS）の減少、耐糖能などの代謝プロファイルの改善が挙げられる。このことは、肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝症状の改善を示している。アッカーマンシア・ムシニフィラは、また、腸内の制御性T細胞と杯細胞の数を増やし、免疫シグナル伝達および粘液産生を導くことができることも示されている。さらにアッカーマンシア・ムシニフィラは、そのヌクレオチドオリゴマー化ドメイン様受容体やトール様受容体（TLR）に影響を与える能力について研究されている。これらの受容体は、免疫調節に重要な役割を果たす膜および細胞内タンパク質の特別なグループであり、免疫系による細菌成分の認識に直接関与している。研究によると、アッカーマンシア・ムシニフィラはTLR2と特異的に相互作用することが示されている。この受容体は、腸の恒常性および宿主代謝を調節する上で重要であり、この機能障害は、非セリアック小麦過敏症、IBDおよびIBSなどの疾患に関連付けられている。このことは、アッカーマンシアが、ムチン産生を刺激すること（例えば、粘液の厚さに応じて）および調節性免疫応答を誘導することの両方によって、宿主と活発にコミュニケーションしていることを示している。

【0006】

特定の腸内細菌を選択的に刺激し、その増殖と代謝活性（SCFAの生成など）を促進することは、免疫機能と代謝機能を調節できる有益な腸内微生物コミュニティを作成す

る上で有用なアプローチである可能性がある。例えば、ある研究では、フルクトオリゴ糖の摂取により、アッカーマンシア個体群が増加し、宿主の健康が改善したと示されている。しかし、一部の個人はフルクトオリゴ糖に過敏であり、膨満、腹痛、鼓腸増加などの副作用が発生する。

【0007】

アッカーマンシアを繰り返し投与すると、肥満および関係障害に関連するいくつかの根本的な機能障害、すなわち代謝機能障害、高血中リポ多糖（LPS）レベルに関連する低グレードの炎症状態、および消化管バリア機能の損傷に影響を与えることも記載されている（特許文献1）。従って、プロバイオティクスのサプリメントとしてアッカーマンシアを投与することは、アプローチになる可能性がある。しかしながら、アッカーマンシアプロバイオティクスは食品への使用が承認されておらず、外因性微生物の添加は、有益な効果を完全に促進するには十分ではない可能性がある。

10

【0008】

ヒトミルクオリゴ糖（HMO）は、母乳に含まれる可溶性グリカンの不均一な混合物である。これは、母乳中のラクトースと脂質に次いで3番目に豊富な固形成分であり、5～25 g/Lの濃度で存在する（非特許文献1）。HMOの構造は、粘液に含まれるO-グリカンとヒト細胞に含まれるN-グリカンに類似している。HMOは小腸での酵素による加水分解に耐性があるため、大部分は未消化・未吸収である。結腸に到達したHMOの大部分は、特定の細菌の増殖を選択的に刺激することにより、腸の生態系を形成する基質として機能する。HMOは実質的に乳児の消化管微生物叢を調節し、人工栄養児と母乳栄養児の微生物叢の違いにおける決定的な役割を果たすと考えられている。しかし、HMOがアッカーマンシアの増殖を刺激する成人の微生物コミュニティに影響を与えることができるかどうかは不明である。

20

【0009】

炭水化物発酵中に生成される短鎖脂肪酸（アセテート、プロピオネート、ブチレート）などの代謝最終産物も、アッカーマンシアの腸の機能性と有益な特性に寄与する。アッカーマンシアはムチン分解の結果としてアセテートおよびプロピオネートを生成する。これらの代謝産物は、微生物叢の相互作用と宿主の応答に影響を与えることができる。アセテートは、他の粘膜細菌の増殖と代謝活性を刺激し、粘液層を通過して腸細胞に到達する病原菌に対するコロニー化抵抗を提供することができる。プロピオネートはGpr43およびGpr41受容体を介して宿主にシグナル伝達することができる。これによって、宿主発現機構における一連の応答のカスケードを誘引でき、他のシグナル伝達経路と共に、免疫調節および代謝シグナル伝達をもたらすことができる。さらに、アッカーマンシアはムチン分解の最終産物としてのブチレートを産生しないが、腸内のブチレート産生細菌によるアセテートの代謝栄養共生の重要性が実証されている。ブチレートは結腸細胞の主要なエネルギー源であり、ムチン遺伝子およびタイトジャンクション発現を変化させることにより、正常な結腸粘膜の物理的および機能的完全性を調節すると報告されている。さらに、ブチレートは免疫細胞のバランスを保つ免疫調節効果があり、脳の神経栄養因子とグリア由来の神経栄養因子の発現に影響を与え、ニューロンの調節につながる。

30

【0010】

従って、ヒト、好ましくは非乳児のヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を効果的に増加させるための手段、好ましくはそのための経口または腸内投与手段、より好ましくはそのための食事療法手段が必要である。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】国際公開第2014/076246号パンフレット

【特許文献2】国際公開第2016/138911号パンフレット

【特許文献3】国際公開第2011/100980号パンフレット

【特許文献4】国際公開第2013/044928号パンフレット

50

- 【特許文献 5】国際公開第 2012/155916 号パンフレット
- 【特許文献 6】国際公開第 2013/044928 号パンフレット
- 【特許文献 7】国際公開第 2013/091660 号パンフレット
- 【特許文献 8】国際公開第 2010/115934 号パンフレット
- 【特許文献 9】国際公開第 2010/115935 号パンフレット
- 【特許文献 10】国際公開第 2013/139344 号パンフレット
- 【特許文献 11】国際公開第 2010/100979 号パンフレット
- 【特許文献 12】国際公開第 2012/113404 号パンフレット
- 【特許文献 13】国際公開第 2012/113405 号パンフレット
- 【特許文献 14】国際公開第 2012/007588 号パンフレット
- 【特許文献 15】国際公開第 2012/127410 号パンフレット
- 【特許文献 16】国際公開第 2012/156897 号パンフレット
- 【特許文献 17】国際公開第 2012/156898 号パンフレット
- 【特許文献 18】国際公開第 01/04341 号パンフレット
- 【特許文献 19】国際公開第 2007/101862 号パンフレット
- 【非特許文献】

【0012】

【非特許文献 1】Bode: Human milk oligosaccharides and their beneficial effects, in: Handbook of dietary and nutritional aspects of human breast milk (Zibadi et al., eds.), pp. 515-31, Wageningen Academic Publishers (2013)

【非特許文献 2】Urashima et al.: Milk Oligosaccharides. Nova Science Publisher (2011)

【非特許文献 3】Chen Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 72, 113 (2015)

【非特許文献 4】Duranti et al. Appl. Environ. Microbiol. 79, 336 (2013)

【非特許文献 5】Bottacini et al. Microbial Cell Fact. 13:S4 (2014)

【非特許文献 6】Commission Notice on the classification of Food for Special Medical Purposes of the European Commission, Official Journal of the European Union C 401, 25.11.2017, p. 10-11

【非特許文献 7】Klindworth et al. Nucleic Acids Res. 41, e1 (2013)

【発明の概要】

【0013】

本発明の第 1 の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用するヒトミルクオリゴ糖（HMO）に関する。好ましくは、HMOは、

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の損傷、
- －非セリアック小麦過敏症などの食物不耐症／過敏症、
- －ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または
- －胃腸の状態に関連する炎症

を、ヒトにおいて処置または予防するために、

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用する。

【0014】

本発明の第 2 の態様は、好ましくは、

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の損傷、
- －非セリアック小麦過敏症などの食物不耐症／過敏症、
- －ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または

－胃腸の状態に関連する炎症
を、ヒトにおいて処置または予防するために、
ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用する合成組成物に関する。

【0015】

合成組成物は、栄養または医薬組成物であり得る。

【0016】

HMOは中性HMOまたは酸性HMOであり得る。中性HMOは、1つもしくはそれ以上のフコシル化HMOまたは1つもしくはそれ以上の非フコシル化HMOであり得る。好ましくは、HMOは、2'-FL、3'-FL、DFL、LNT、LNnT、3'-SL、6'-SL、LNFPIまたはそれらの混合物である。好ましくは、HMOは、2'-FLならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つを含む、からなる、またはから本質的になる。好ましくは、HMOは2'-FLならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ；2'-FLおよびDFLのうちの少なくとも1つ、ならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ（例えば、2'-FL、DFLならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ）；2'-FLおよび6'-SL；DFLおよび6'-SL；2'-FL、DFLおよび6'-SL；2'-FL、6'-SL、ならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ；および2'-FL、DFL、6'-SL、ならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つを含む、からなる、またはから本質的になる。

【0017】

本発明の第3の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させる方法であって、ヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。好ましくは、アッカーマンシアの存在量は、胃腸管の粘膜層、より好ましくは結腸、例えば遠位結腸で増加する。好ましくは、少なくとも約14日間、より好ましくは少なくとも約21日間、HMOをヒトに投与する。また、好ましくは、1日あたり約1g～約15gの量のHMO、より好ましくは約2g～約10gをヒトに投与する。例えば、1日あたり約3g～約7gをヒトに投与し得る。「約」は+/-5%を意味する。

【0018】

第3の態様の1実施形態において、前記方法は、

a) 第1工程で少なくとも約7日間（処置または最初の段階ともいう）、

－第1の量のヒトミルクオリゴ糖、もしくは

－第1の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物

（第1の量はヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効である）、および

b) 第2工程で少なくとも追加の期間、好ましくは約7日間（維持段階ともいう）、

－第2の量のヒトミルクオリゴ糖、もしくは

－第2の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物

（ここに、第2の量はヒトの胃腸管内アッカーマンシアの存在量を維持するのに有効である）

をヒトに、好ましくは非乳児のヒトに、腸内、好ましくは経口投与することを含む。好ましくは、第1工程で少なくとも約14日間、より好ましくは少なくとも約21日間、例えば最長約28日間、HMOを投与する。また好ましくは、第2工程における追加の期間は、少なくとも約21日、例えば少なくとも約28日である。第1工程に高用量、第2工程に低用量を患者に投与できる。第1工程に投与される用量は、好ましくは1日あたり約3g～約10g（例えば、1日あたり約4g～約7.5g）であり、第2工程に投与される用量は、好ましくは1日あたり約2g～約7.5g（例えば、1日あたり約2g～約5g）である。

【0019】

本発明の第４の態様は、ヒトの腸病原性感染症の予防または処置方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【００２０】

本発明の第５の態様は、２型糖尿病、肥満および／または肝疾患を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【００２１】

本発明の第６の態様は、炎症に関連した胃腸状態を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。胃腸の状態は、腸内腸疾患または過敏性腸症候群であり得る。好ましくは、ＨＭＯの量は抗炎症免疫応答を引き起こすのに十分である。

【００２２】

本発明の第７の態様は、消化管能障害を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。脳消化管障害は、ストレス、不安およびうつ病様行動であり得る。

【００２３】

本発明の第８の態様は、食物不耐症／過敏症を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。一実施形態では、食物不耐症／過敏症は非セリアック小麦過敏症であり得る。

【００２４】

本発明の第９の態様は、消化管バリア機能が損なわれたヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【００２５】

本発明の第１０の態様は、自閉症様行動を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な１つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【００２６】

本発明の第４～第１０の態様のいずれにおいても、好ましくは少なくとも約１４日間、より好ましくは少なくとも約２１日間ＨＭＯをヒトに投与する。

【００２７】

本発明の第４～第１０の態様のいずれにおいても、好ましくは１日あたり１ｇ～１５ｇ、より好ましくは２ｇ～１０ｇの量の少なくとも１つのＨＭＯをヒトに投与する。例えば、１日あたり３ｇ～７ｇをヒトに投与することができる。

【００２８】

本発明の第１１の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用する、好ましくは、

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の損傷、
- －非セリアック病小麦感受性などの食物不耐症/感受性
- －ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または
- －胃腸の状態に関連する炎症

10

20

30

40

50

を、ヒトにおいて治療または予防するために使用する、
少なくとも1つのヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量の個別の1日用量の少なくとも
14日分を含むパックに関する。

【0029】

好ましくは、各用量が約1g～約15g、より好ましくは約2g～約10g、例えば約
3g～約7gのヒトミルクオリゴ糖を含む。好ましくは、パックが少なくとも21日分の
個別の1日用量を含み、より好ましくは、少なくとも28日分の1日用量、例えば、少な
くとも35日分の1日用量を含む。パックは使用説明書を含むことができる。

【0030】

本発明の第12の態様は、

10

—1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、
—1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む合成組成物、または
—1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量の個別の1日用量の
少なくとも14日分を含むパックの以下の1つもしくはそれ以上の患者の食事管理におけ
る使用に関する：

- 腸病原性感染症、
- 肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- 損なわれた消化管バリア機能、
- 非セリアック病小麦感受性などの食物不耐症/感受性
- ストレス、不安およびうつ病様行動などの脳消化管障害、
- 自閉症様行動、および／または
- 胃腸の状態に関連する炎症。

20

【0031】

本発明の全ての態様において、ヒトは、好ましくは非乳児のヒトである。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】図1は、ヒトの臨床試験においてプラセボ群と比較した9つの処治群のアカー
マンシア存在量の変化のパーセンテージを示している（実施例1を参照）。

【図2】図2は、3週間の処置期間にHMOを供給した場合のインビトロ腸モデルにおけ
るアカーマンシアの変化のパーセンテージを示している。

30

【発明を実施するための形態】

【0033】

驚くべきことに、ヒトへのヒトミルクオリゴ糖（HMO）の投与により、胃腸管内の微
生物叢においてアカーマンシアの存在量が優先的に増加することがわかった。ヒト被験
者へのHMOの投与によってB.アドレセンティス系統発生グループのビフィズス菌、特
にビフィドバクテリウム・アドレセンティスおよび／またはビフィドバクテリウム・シュ
ードカテヌラタムの存在量を増加させることが特許文献2で先に報告されている。B.ア
ドレセンティス系統発生グループのビフィズス菌のこの増加は一時的であり、約14日間
続く。その後、ビフィドバクテリウム・ロングムおよび／またはビフィドバクテリウム・
ビフィダムの存在量が増加する。ここに、驚くべきことに、ヒトへのHMOの投与によっ
て、ヒトの胃腸管内のアカーマンシアの増殖を刺激し、アカーマンシアのレベルを、
HMOの投与開始前のアカーマンシアのレベルと比較して2～10倍、例えば3～5倍
に上昇させることがわかった。

40

【0034】

このように、ヒトミルクオリゴ糖は、経口または腸内投与によってヒト腸内のビフィズ
ス菌に加えてアカーマンシアの増殖を優先的に促進することにより、ヒト腸内微生物叢
を動的に調節することが発見された。結果として、より有益な腸内微生物コミュニティ
および腸内環境を形作り、維持することができ、アカーマンシアの存在量を増やすこと
により、病原性感染を抑制し、腸および腸管外の疾患を予防または改善することができる。
アカーマンシアの増加は、腸の内腔だけでなく、粘膜層でも発生する。

50

【0035】

本明細書中で、次の用語は次の意味を有する。

【0036】

「非乳児のヒト」または「非乳児」とは、3歳およびそれ以上の年齢のヒトを意味する。非乳児のヒトは子供、ティーンエイジャー、大人、または高齢者であり得る。

【0037】

「ヒトミルクオリゴ糖」または「HMO」は、ヒト母乳に含まれる複合炭水化物を意味する（非特許文献2、非特許文献3）。HMOは、1つもしくはそれ以上の β -N-アセチル-ラクトサミニルおよび／または1つもしくはそれ以上の β -ラクト-N-ビオシル単位によって伸長できる還元末端にラクトース単位を含むコア構造を有し、そのコア構造は α -L-フコピラノシルおよび／または α -N-アセチル-ノイラミニル（シアリル）部分で置換されていることがある。これに関して、非酸性（または中性）HMOはシアリル残基を欠いており、酸性HMOはその構造中に少なくとも1つのシアリル残基を有する。非酸性（または中性）HMOは、フコシル化または非フコシル化できる。そのような中性の非フコシル化HMOの例としては、ラクト-N-テトラオース（LNT）、ラクト-N-ネオテトラオース（LNnT）、ラクト-N-ネオヘキサオース（LNnH）、パラ-ラクト-N-ネオヘキサオース（pLNnH）、パラ-ラクト-N-ヘキサオース（pLNH）およびラクト-N-ヘキサオース（LNH）が挙げられる。中性フコシル化HMOの例としては、2'-フコシルラクトース（2'-FL）、ラクト-N-フコペンタオースI（LNFPI）、ラクト-N-ジフコヘキサオースI（LNDFI）、3'-フコシルラクトース（3'-FL）、ジフコシルラクトース（DFL）、ラクト-N-フコペンタオースII（LNFPII）、ラクト-N-フコペンタオースIII（LNFPIII）、ラクト-N-ジフコヘキサオースIII（LNDFIII）、フコシル-ラクト-N-ヘキサオースII（FLNHI）、ラクト-N-フコペンタオースV（LNFPIV）、ラクト-N-フコペンタオースVI（LNFPIVI）、ラクト-N-ジフコヘキサオースII（LNDFI）、フコシル-ラクト-N-ヘキサオースI（FLNHI）、フコシル-パラ-ラクト-N-ヘキサオースI（FpLNHI）、フコシル-パラ-ラクト-N-ネオヘキサオースII（FpLNnHI）およびフコシル-ラクト-N-ネオヘキサオース（FLNnH）が挙げられる。酸性HMOの例としては、3'-シアリルラクトース（3'-SL）、6'-シアリルラクトース（6'-SL）、3-フコシル-3'-シアリルラクトース（FSL）、LST_a、フコシル-LST_a（FLST_a）、LST_b、フコシル-LST_b（FLST_b）、LST_c、フコシル-LST_c（FLST_c）、シアリル-LNH（SLNH）、シアリル-ラクト-N-ヘキサオース（SLNH）、シアリル-ラクト-N-ネオヘキサオースI（SLNHI）、シアリル-ラクト-N-ネオヘキサオースII（SLNHI）およびジシアリル-ラクト-N-テトラオース（DSLNT）が挙げられる。

【0038】

「合成組成物」は、人工的に調製された組成物を意味し、好ましくは、例えば化学反応、酵素反応または組換え法により、生体外で化学的および／または生物学的に生成される少なくとも1つの化合物を含む組成物を意味する。いくつかの実施形態では、本発明の合成組成物は、天然に存在する組成物と同一であってもよいが、好ましくは同一ではないものである。合成組成物は、典型的には、1つもしくはそれ以上のHMOを含む、1つもしくはそれ以上の化合物を含み、ヒトにおける小麦および／またはグルテン過敏症の症状を軽減するか、または耐性を誘導できる。また、いくつかの実施形態では、合成組成物は、上記の化合物の効力に悪影響を及ぼさない栄養的または薬学的に活性な成分を1つもしくはそれ以上含んでもよい。本発明の合成組成物のいくつかの実施形態をさらに以下に説明するが、これらは限定を意図するものではない。

【0039】

「微生物叢」、「マイクロフローラ」および「マイクロバイオーーム」は、身体器官または部分、特にヒトの胃腸器官に通常生息している微生物の群集（コミュニティ）を意味

する。胃腸器官微生物叢の最も優勢なメンバーとしては、ファーミキューテス、バクテロイデス、アクチノバクテリア、プロテオバクテリア、シネルギステス、ウェルコミクロビア、フソバクテリア、およびユーリアーキオータ門の微生物；属レベルではバクテロイデス、フィーカリバクテリウム、ビフィドバクテリウム、ローズブリア、アリスティペス、コリンセラ、ブラウティア、コプロコッカス、ルミノコッカス、ユーバクテリウム、およびドレア；種レベルではバクテロイデス・ユニフォルミス、アリスティペス・ピュトレディニス、パラバクテロイデス・メルダエ、ルミノコッカス・プロミイ、ルミノコッカス・プロミイ、ドレア・ロンギカテナ、バクテロイデス・カッカエ、バクテロイデス・テタイオタオミクロン、ユーバクテリウム・ハリー、ルミノコッカス・トルケス、フィーカリバクテリウム・ブラウスニッツィ、ルミノコッカス・ラクタリス、コリンセラ・アエルファシエンス、ドレア・フォルミシゲネランス、バクテロイデス・ブルガタス、およびローズブリアインテスティナリスが挙げられる。胃腸内微生物叢としては、胃腸管の上皮を覆う粘膜層に位置するかまたは付着している粘膜関連微生物叢と、胃腸管の内腔に見られる管腔関連微生物叢が挙げられる。

10

【0040】

「腸内投与」とは、消化管（胃を含む）に組成物の堆積を引き起こす、ヒトへの組成物の従来からの供給形態を意味する。腸内投与の方法には、経鼻胃管または空腸管、経口、舌下および直腸を通しての投与が挙げられる。

【0041】

「経口投与」とは、口を通してのヒトへの組成物の従来からの供給形態を意味する。従って、経口投与は腸内投与の一形態である。

20

【0042】

有効量とは、ヒトにおいて所望の処置結果をもたらすのに十分な量のHMOを提供する組成物の量を意味する。所望の処置結果を達成するために、有効量を1回もしくはそれ以上の用量で投与することができる。

【0043】

細菌種の「相対存在量」とは、ヒトの胃腸管の微生物叢における他の細菌と比較したその種の存在量を意味する。

【0044】

細菌種の「相対増殖」とは、ヒトの胃腸管内の微生物叢における他の細菌と比較したその種の増殖を意味する。

30

【0045】

「B. アドレセンティス系統発生グループのビフィドバクテリウム属」とは、ビフィドバクテリウム・アドレセンティス、ビフィドバクテリウム・アングラタム、ビフィドバクテリウム・カテヌラタム、ビフィドバクテリウム・シュードカテヌラタム、ビフィドバクテリウム・カシワノヘンス、ビフィドバクテリウム・デンタムおよびビフィドバクテリウム・ステルコリスからなる群から選択される細菌である（非特許文献4、非特許文献5）。好ましくは、B. アドレセンティス系統発生グループのビフィドバクテリウム属はビフィドバクテリウム・アドレセンティスおよび／またはビフィドバクテリウム・シュードカテヌラタムである。

40

【0046】

「処置」とは、処置を受けているヒトの結果を改善もしくは安定させること、もしくは根本的な栄養ニーズに対処することを目的として、医学的状态または疾患に対処することを意味する。従って、処置には、処置を受けるヒトの栄養ニーズに対処することによる、医学的状态または疾患の食事もしくは栄養管理が含まれる。「処置する」と「処置」は文法的に対応する意味を有する。

【0047】

「微生物叢の調節」とは、微生物叢に変更または制御する影響、例えばビフィドバクテリウム、バルネシエラ、フィーカリバクテリウムおよび／または他のブチレート産生細菌の固有の腸内存在量の増加につながる影響を与えることを意味する。別の例では、その影

50

響は、ルミノコッカス・グナプスおよび／またはプロテオバクテリアの腸内存在量の減少につながる可能性がある。「プロテオバクテリア」はグラム陰性菌の門であり、エシェリヒア、サルモネラ、ビブリオ、ヘリコバクター、エルシニア、および他の多くの注目すべき属などの様々な病原菌が含まれる。

【0048】

「治療」とは、疾患もしくは病的状態の症状を軽減もしくは排除するために行われる処置またはなされる行為を意味する。

【0049】

「予防的処置」または「予防」は、疾患の発症もしくは再発のリスクを減少させるために施される処置もしくはなされる行為を意味する。

10

【0050】

「二次予防」とは、リスクの高い患者におけるその状態の発症の予防、またはすでにその状態を有する患者における症状の再発の予防を意味する。「リスクの高い」患者とは、その状態を発症する素因がある個人、例えば、その状態の家族歴があるヒトである。

【0051】

「食事管理」とは、疾患、障害または医学的状态のため、

一通常の食品もしくはその中に含まれる特定の栄養素、もしくは代謝産物を摂取、消化、吸収、代謝もしくは排泄する能力が制限された、損なわれた、もしくは乱れている、または

一他の医学的に決定された栄養要件を有する

20

患者における、専らまたは部分的な栄養補給を意味する（参照：非特許文献6）。

【0052】

本発明によれば、HMOはヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を、具体的には数日にわたって、例えば少なくとも約14日間ヒトに投与した場合、刺激できることが発見された。この理由から、HMOはヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるために使用できる。

【0053】

従って、HMOは、ウイルスおよび／または細菌感染症（特に腸病原性感染症）、腸の炎症性疾患（特にIBD）、IBS、消化管能障害、ならびに腸外疾患：代謝障害（例えば、肥満および2型糖尿病、ならびに関連する共病的状態、例えば耐糖能異常、脂質代謝異常、アテローム性動脈硬化症、高血圧、心臓病、脳卒中、免疫系の機能障害、高コレステロール、高トリグリセリドなど）；肝疾患（例えば、非アルコール性脂肪肝疾患、高血糖症、肝臓脂肪症、脂質異常症など）；喘息；睡眠時無呼吸；変形性関節症；神経変性；胆嚢疾患；シンドロームX；炎症性および免疫障害；アテローム発生性脂質異常症；がん、特に消化管、腸および結腸がん；ヒトの自閉症および食物不耐症／過敏症の治療または予防に使用できる。

30

【0054】

従って、本発明の第1の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるために使用し、それによってウイルスおよび／または細菌感染症（特に腸病原性感染症）、腸の炎症性疾患（特にIBD）、IBSおよび消化管能障害および腸外疾患（特に肥満および2型糖尿病、肝疾患、自閉症および食物不耐症／過敏症）を処置および／または予防するためのHMOに関する。

40

【0055】

本発明の第2の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用し、それによってウイルスおよび／または細菌感染症（特に腸病原性感染症）、腸の炎症性疾患（特にIBD）、IBSおよび消化管能障害、腸外疾患（特に肥満および2型糖尿病、肝疾患、自閉症および食物不耐症／過敏症）を処置および／または予防するHMOを含む合成組成物である。

【0056】

本発明の第3の態様は、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させる方法

50

であって、ヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【0057】

本発明の第4の態様は、ヒトの腸病原性感染症の予防または処置方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【0058】

本発明の第5の態様は、2型糖尿病、肥満および／または肝疾患を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

10

【0059】

本発明の第6の態様は、炎症に関連した胃腸状態を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。胃腸の状態は、腸内腸疾患または過敏性腸症候群であり得る。好ましくは、HMOの量は

【0060】

本発明の第7の態様は、消化管能障害を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。脳消化管障害は、ストレス、不安およびうつ病様行動であり得る。

20

【0061】

本発明の第8の態様は、食物不耐症／過敏症を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。一実施形態では、食物不耐症／過敏症は非セリアック小麦過敏症であり得る。

【0062】

本発明の第9の態様は、消化管バリア機能が損なわれたヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

30

【0063】

本発明の第10の態様は、自閉症様行動を有するヒトを予防または治療する方法であって、ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに有効な1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖量をヒトに経口または腸内投与することを含む方法である。

【0064】

本発明の第11の態様は、好ましくはヒトの

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の障害、
- －非セリアック病小麦感受性などの食物不耐症/感受性
- －ストレス、不安、行動のような抑うつなどの脳消化管障害、
- －自閉症様行動、および／または
- －胃腸の状態に関連する炎症

40

を治療または予防するために、

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を増加させるのに使用する少なくとも1つのヒトミルクオリゴ糖（HMO）の有効量の個別の1日用量の少なくとも14日分を含むパックに関する。

【0065】

50

本発明の第12の態様は、
以下の1つまたはそれ以上：

- －腸病原性感染症、
- －肥満、糖尿病および肝疾患に関連する代謝障害、
- －消化管バリア機能の障害、
- －非セリアック病小麦感受性などの食物不耐症/感受性
- －ストレス、不安および行動のような抑うつなどの脳消化管障害、
- －自閉症様行動
- －胃腸の状態に関連する炎症

に罹患している患者の食事管理における、

10

- －1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、
- －1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む合成組成物、または
- －1つもしくはそれ以上のヒトミルクオリゴ糖の有効量の個別の1日用量の少なくとも14日分を含むパックの使用である。

【0066】

各態様に関して、ヒトの胃腸管内のアカーマンシアの存在量を増加させるのに使用するのに適したHMOは、ヒト、ウシ、ヒツジ、ブタ、またはヤギ種を含むがこれらに限定されない哺乳動物から分泌された乳から周知の方法によって単離または濃縮できる。HMOは、微生物発酵、酵素プロセス、化学合成、またはこれらの技術の組み合わせを使用した周知の方法によっても調製することができる。例えば、化学的方法を使用して、LNnTは特許文献3および特許文献4に記載されているように製造することができ、LNTは特許文献5および特許文献6に記載されているように合成することができ、LNTとLNnTの混合物は特許文献7に記載されているように製造することができ、2'-FLは特許文献8および特許文献9に記載されているように製造することができ、3-FLは特許文献10に記載されているように製造することができ、6'-SLおよびその塩は特許文献11に記載されているように製造でき、シアリル化オリゴ糖は特許文献12に記載されているように製造することができ、ヒトミルクオリゴ糖の混合物は特許文献13に記載されているように製造することができる。酵素生産の例として、シアリル化オリゴ糖は特許文献14に記載されているように製造することができ、フコシル化オリゴ糖は、特許文献15に記載されているように製造することができ、ヒトミルクオリゴ糖の多様なブレンドは特許文献16および特許文献17に記載されているように有利に製造することができる。遺伝子組み換え大腸菌を使用して、フコースまたはシアル酸で任意に置換されたコアヒトミルクオリゴ糖を製造する方法を説明するバイオテクノロジー法は、特許文献18および特許文献19で見つけることができる。

20

30

【0067】

上記の態様のいずれかにおけるHMOは、本発明の目的に適した単一のHMOまたは任意のHMOの混合物であってよい。HMOは中性HMOまたは酸性HMOであり得る。中性HMOは、一実施形態では、1つもしくはそれ以上のフコシル化HMOであり、別の実施形態では、中性HMOは1つもしくはそれ以上の非フコシル化HMOである。特に、フコシル化中性HMOは、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP-I、LNFP-II、LNFP-III、LNFP-V、LNFP-VI、LNDFH-I、LNDFH-II、LNDFH-III、FLNH-I、FLNH-II、FLNnH、FpLNH-IおよびFpLNnH-Iからなるリストから選択され、好ましくは2'-FLであり、非フコシル化中性HMOは、LNT、LNnT、LNH、LNnH、pLNHおよびpLNnHからなるリストから選択され、例えばLNnTである。1つもしくはそれ以上のフコシル化HMOは、例えば、2'-FLおよびDFLを含む、からなる、またはから本質的になる混合物であり得る。

40

【0068】

一実施形態では、混合物は、中性HMO、好ましくは少なくとも第1中性HMOおよび少なくとも第2中性HMOを含み、からなり、またはから本質的になり、第1中性HMO

50

はフコシル化中性HMOであり、第2中性HMOは非フコシル化中性HMOである。フコシル化中性HMOおよび非フコシル化中性HMOは、約4:1~1:1の質量比で存在し得る。特に、HMOの混合物は、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP-I、LNFP-II、LNFP-III、LNFP-V、LNDFH-I、LNDFH-II、LNDFH-III、FLNH-I、FLNH-II、FLNnH、FpLNH-IおよびFpLNnH-I-Iからなるリストから選択されるフコシル化HMO、ならびにLNT、LNnT、LNH、LNnH、pLNHおよびpLNnHからなるリストから選択される非フコシル化中性HMOを含む、からなる、またはから本質的になる。より好ましくは、中性HMOの混合物は2'-FL、3-FLおよびDFLからなるリストから選択されるフコシル化HMO、ならびにLNTおよびLNnTからなるリストから選択される非フコシル化中性HMOを含み、からなり、またはから本質的になる。有利には、混合物は、2'-FLならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ；もしくは2'-FLおよびDFLのうちの少なくとも1つならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ；もしくは2'-FL、DFL、ならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つを含む、からなる、またはから本質的になる。

10

【0069】

他の実施形態では、混合物は少なくとも第1（酸性）HMOおよび少なくとも第2（中性）HMOを含み、からなり、またはから本質的になり、第1（酸性）HMOは3'-SL、6'-SLおよびFSLからなるリストから選択され、第2（中性）HMOは2'-FL、3-FL、DFL、LNTおよびLNnTからなるリストから選択される。有利には、混合物は2'-FLおよび6'-SL、もしくは6'-SLならびに2'-FLおよびDFLのうちの少なくとも1つ；もしくは2'-FL、6'-SL、ならびにLNnTおよびLNTのうちの少なくとも1つ；もしくは2'-FL、DFL、6'-SL、ならびにLNnTおよび／またはLNTのうちの少なくとも1つを含む、からなる、またはから本質的になる。

20

【0070】

合成組成物は医薬組成物であり得る。医薬組成は、薬学的に許容される担体、例えばリン酸緩衝生理食塩水、水中エタノール混合物、水および油／水もしくは水／油エマルジョンなどのエマルジョン、ならびに様々な湿潤剤または賦形剤を含むことができる。医薬組成物はまた、ヒトに投与した時、有害な、アレルギー性の、またはそうでなければ望ましくない反応を引き起こさない他の物質を含むこともできる。担体および他の材料としては、溶媒、分散剤、コーティング、吸収促進剤、制御放出剤、およびデンプン、ポリオール、造粒剤、微結晶性セルロース、希釈剤、潤滑剤、結合剤、および崩壊剤などの1つもしくはそれ以上の不活性賦形剤を挙げることができる。必要に応じて、抗感染性組成物の錠剤調剤は、標準的な水性または非水性技術によってコーティングできる。

30

【0071】

医薬組成物は、例えば、所定量を含む錠剤、カプセル、もしくはペレットとして、もしくは所定濃度を含む粉末もしくは顆粒として、もしくは所定濃度を含むゲル、ペースト、溶液、懸濁液、エマルジョン、シロップ、巨丸薬、舐剤、もしくは、所定濃度を含む水性または非水性液体中のスラリーとして経口投与できる。経口投与される組成物は、結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、香味剤、および保湿剤を含むことができる。錠剤などの経口投与組成物は、場合によりコーティングでき、その中の混合物の持続放出、遅延放出または制御放出を提供するように製剤化できる。

40

【0072】

医薬組成物はまた、直腸坐剤、エアロゾル管、経鼻胃管または直接注入によって胃腸管もしくは胃へ投与できる。

【0073】

医薬組成物はまた、抗ウイルス剤、抗生物質、プロバイオティクス、鎮痛剤、および抗炎症剤などの治療剤を含むことができる。ヒトに対するこれらの組成物の適切な投与量は、免疫状態、体重および年齢などの要因に基づいて、従来の方法で決定できる。場合によ

50

っては、投与量はヒトの母乳中のHMOに見られる濃度と同様の濃度である。所要量は一般に、1日あたり約200mg～約20g、ある実施形態では1日あたり約300mg～約15g、1日あたり約400mg～約10g、ある実施形態では1日あたり約400mg～約10g、ある実施形態では1日あたり約500mg～約10gの範囲である。適切な用法は、当業者に知られている方法によって決定できる。

【0074】

合成組成物は、栄養組成物でもあり得る。それは、タンパク質、脂質および／または消化可能な炭水化物の供給源を含むことができ、粉末または液体の形態であり得る。組成物は、唯一の栄養供給源または栄養補助食品となるように設計できる。

【0075】

適当なタンパク質の供給源としては乳タンパク質、大豆タンパク質、米タンパク質、エンドウ豆タンパク質およびオート麦タンパク質、またはこれらの混合物が挙げられる。乳タンパク質は、乳タンパク質濃縮物、乳タンパク質分離物、乳清タンパク質もしくはカゼイン、または両方の混合物の形態であり得る。タンパク質は、総タンパク質、または部分的に加水分解されたもしくは広範囲に加水分解された加水分解タンパク質であり得る。加水分解されたタンパク質は、消化がよりよいという利点を提供し、これは、胃腸管が炎症を起こしたまたは損傷したヒトにとって重要であり得る。タンパク質は遊離アミノ酸の形で提供することもできる。タンパク質は、栄養組成物のエネルギーの約5%～約30%、通常は約10%～20%を構成することができる。

【0076】

タンパク質源は、グルタミン、スレオニン、システイン、セリン、プロリン、またはこれらのアミノ酸の組み合わせの供給源であり得る。グルタミン供給源は、グルタミンジペプチドおよび／またはグルタミン濃縮タンパク質であり得る。腸細胞がエネルギー源としてグルタミンを使用することに起因して、グルタミンを含めることができる。スレオニン、セリン、プロリンはムチンの産生に重要なアミノ酸である。ムチンは胃腸管を覆い粘膜の治癒を改善する。システインはグルタチオンの重要な前駆体であり、体の抗酸化防御の鍵となる。

【0077】

適当な消化可能な炭水化物としては、マルトデキストリン、加水分解もしくは加工デンプンもしくはコーンスターチ、グルコースポリマー、コーンシロップ、コーンシロップ固形物、高フルクトースコーンシロップ、米由来炭水化物、エンドウ由来炭水化物、ジャガイモ由来炭水化物、タピオカ、スクロース、グルコース、フルクトース、スクロース、ラクトース、ハチミツ、糖アルコール（例えばマルチトール、エリスリトール、ソルビトール）、またはこれらの混合物が挙げられる。一般に、消化可能な炭水化物は、栄養組成物のエネルギーの約35%から約55%を提供する。好ましくは栄養組成物はラクトースを含まない。特に適当な消化可能な炭水化物は、低デキストロース当量（DE）マルトデキストリンである。

【0078】

適当な脂質としては中鎖トリグリセリド（MCT）および長鎖トリグリセリド（LCT）が挙げられる。好ましくは、脂質は、MCTとLCTの混合物である。例えば、MCTは、約30重量%～約70重量%の脂質を構成することができ、より具体的には約50重量%～約60重量%を構成することができる。MCTは、消化がより容易であるという利点を提供し、これは胃腸管が炎症を起こしたまたは損傷したヒトにとって重要であり得る。一般的に、脂質は栄養組成物のエネルギーの約35%～約50%を提供する。脂質は必須脂肪酸（オメガ3およびオメガ6脂肪酸）を含むことができる。好ましくは、これらの多価不飽和脂肪酸は、脂質供給源の総エネルギーの約30%未満を提供する。

【0079】

長鎖トリグリセリドの適当な供給源は、菜種油、ヒマワリ油、ヤシ油、大豆油、乳脂肪、トウモロコシ油、高オレイン油、および大豆レシチンである。分画ココナッツオイルは中鎖トリグリセリドの適当な供給源である。栄養組成物の脂質プロファイルは、好ましく

10

20

30

40

50

は、約 4 : 1 ~ 約 10 : 1 の多価不飽和脂肪酸オメガー 6 (n - 6) 対オメガー 3 (n - 3) 比を有するように設計される。例えば、n - 6 対 n - 3 脂肪酸比は、約 6 : 1 ~ 約 9 : 1 であり得る。

【0080】

栄養組成物は、ビタミンおよびミネラルも含み得る。栄養組成物が唯一の栄養源であることを意図する場合、それは好ましくは完全なビタミンおよびミネラルプロファイルを含む。ビタミンの例としては、ビタミン A、B 複合体 (B 1、B 2、B 6、および B 12 など)、C、D、E、K、ナイアシン、ならびにパントテン酸、葉酸、およびビオチンなどの酸性ビタミンが挙げられる。ミネラルの例としては、カルシウム、鉄、亜鉛、マグネシウム、ヨウ素、銅、リン、マンガン、カリウム、クロム、モリブデン、セレン、ニッケル、スズ、シリコン、バナジウムおよびホウ素が挙げられる。

10

【0081】

栄養組成物は、ルテイン、リコピン、ゼアキサントシン、およびベータカロテンなどのカロテノイドも含有することができる。含まれるカロテノイドの総量は、約 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで変動し得る。ルテインは、約 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、好ましくは約 0.044 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の量のルテインを含有することができる。リコピンは、約 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、好ましくは約 0.0185 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の量のリコピンを含有することができる。ベータカロテンは、約 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 10 mg/mL 、例えば約 0.034 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 約 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のベータカロテンを含有することができる。

20

【0082】

栄養組成物は、好ましくは、濃度を低くしたナトリウムも、例えば、約 300 mg/L ~ 約 400 mg/L 含む。残りの電解質は、腎機能に過度の腎溶質負荷を与えることなく、ニーズを満たすように設定された濃度で存在し得る。例えば、カリウムは、好ましくは約 1180 ~ 約 1300 mg/L の範囲で存在し、塩化物は、好ましくは約 680 ~ 約 800 mg/L の範囲で存在する

【0083】

栄養組成物はまた他の様々な従来の成分、例えば、防腐剤、乳化剤、増粘剤、緩衝液、繊維およびプレバイオティクス (例えば、フルクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖)、プロバイオティクス (例えば、B. アニマリス亜種ラクティス BB-12、B. ラクティス HN019、B. ラクティス Bi07、B. インファンティス ATCC 15697、L. ラムノサス GG、L. ラムノサス HN001、L. アシドフィルス LA-5、L. アシドフィルス NCFM、L. ファーメンタム CECT5716、B. ロングム BB536、B. ロングム AH1205、B. ロングム AH1206、B. プレヴェ M-16V、L. レウテリ ATCC 55730、L. レウテリ ATCC PTA-6485、L. レウテリ DSM 17938)、トコフェロール、カロテノイド、アスコルベート/ビタミン C、パルミチン酸アスコルビル、ポリフェノール、グルタチオン、およびスーパーオキシドジスムターゼ (メロン) などの抗酸化/抗炎症化合物、その他の生物活性因子 (例えば、成長ホルモン、サイトカイン、TFG- β)、着色剤、香料、および安定剤、潤滑剤などを含むことができる。

30

40

【0084】

栄養組成物は、可溶性粉末、液体濃縮物、またはすぐに使える製剤の形態であり得る。組成物は、経鼻胃管を介して、または経口で、必要とするヒトに与えることができる。様々なフレーバー、繊維および他の添加剤が存在することもできる。

【0085】

栄養組成物は、固体または液体の形態の栄養組成物を調製するために一般的に使用される任意の製造技術によって調製できる。例えば、当該組成物は、様々な摂食溶液を混ぜ合わせるによって調製できる。脂質源を加熱および混合し、次に加熱および攪拌しながら乳化剤 (例えばレシチン)、脂溶性ビタミン、およびタンパク質源の少なくとも一部を添加することにより、脂肪中タンパク質摂食溶液を調製できる。次に、炭水化物摂食溶

50

液は、ミネラル、微量ミネラルおよび超微量ミネラル、増粘剤または懸濁剤を加熱および攪拌しながら水に添加することによって調製される。得られた溶液は炭水化物（例えば、HMOおよび消化可能な炭水化物源）を追加する前に加熱と攪拌を継続しながら10分間保持される。次に、得られた摂食溶液を加熱および攪拌しながら一緒にブレンドし、pHを6.6～7.0に調整し、その後、組成物を高温短時間処理にかけ、その間に組成物を熱処理し、乳化し、均質化し、その後、放冷する。水溶性ビタミンとアスコルビン酸を加え、必要に応じてpHを所望の範囲に調整し、フレーバーを加え、水を加えて、所望の全固体濃度を達成する。

【0086】

液体製品の場合、得られた溶液を無菌で包装して、無菌包装された栄養組成物を形成できる。この形態では、栄養組成物は、すぐに食べられる形態または濃縮された液体形態であり得る。あるいは、組成物を噴霧乾燥し、処理し、再構成可能な粉末として包装できる。

10

【0087】

栄養製品がすぐに食べられる栄養液である場合、液体中のHMOの総濃度は、液体の重量で約0.001%～約1.5%を含む、約0.01%～約1.0%を含む、約0.0001%～約2.0%である。栄養製品が濃縮栄養液体である場合、液体中のHMOの総濃度は、液体の重量で約0.002%～約3.0%を含む、約0.4%～約2.0%を含む、約0.02%～約2.0%である。

【0088】

栄養組成物はまた、カプセル、錠剤または小袋などの単位投与剤型であり得る。例えば、合成組成物は、HMO、ならびに希釈剤、賦形剤、抗酸化剤、潤滑剤、着色剤、結合剤、崩壊剤などの製剤および投与を補助する1つもしくはそれ以上の成分を含む錠剤形態であり得る。

20

【0089】

適当な希釈剤、賦形剤、潤滑剤、着色剤、結合剤、および崩壊剤としては、ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、エチルセルロース、アクリレートポリマーおよびそれらのコポリマー、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリヒドロキシエチルメチルアクリレート（PHEMA）、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリビニルピロリドン（PVP）、ポリエチレンオキシド（PEO）、またはポリアクリルアミド（PA）、カラギーナン、アルギン酸ナトリウム、ポリカルボフィル、ポリアクリル酸、トラガカント、メチルセルロース、ベクチン、天然ガム、キサントガム、グアーガム、カラヤガム、ヒプロメロース、ステアリン酸マグネシウム、微結晶性セルロース、およびコロイド状二酸化ケイ素が挙げられる。適当な抗酸化物質は、ビタミンA、カロテノイド、ビタミンC、ビタミンE、セレン、フラボノイド、ポリフェノール、リコピン、ルテイン、リグナン、コエンザイムQ10（「CoQ10」）およびグルタチオンである。

30

【0090】

単位投与剤型、特に小袋形のものは、主要栄養素などの様々な栄養素を含むこともできる。

40

【0091】

本発明の第1の標的群には、健康なヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することで健康なヒトの胃腸管内のアカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させる。

【0092】

本発明の第2の標的群には、腸病原性感染症を有するヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することでヒトの胃腸管内のアカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させ、結果として、腸内病原性微生物に対して好ましい免疫応答を誘発し、感染を阻

50

害または処置する。

【0093】

本発明の第3の標的群には、肥満のヒト、および／または2型糖尿病と診断された、痩せたもしくは肥満のヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することでヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させ、結果として、腸の透過性が向上し、インスリン感受性が高まるため、2型糖尿病や肥満の病的状態を緩和する。

【0094】

本発明の第4の標的群には、腸の炎症ならびにIBDおよびIBSなどの関連疾患と診断されたヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することでヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させ、結果として、抗炎症免疫応答を引き起こすことにより免疫調節に寄与するので、症状を改善する。

【0095】

胃腸の状態は、好ましくは腸内腸疾患または過敏性腸症候群である。

【0096】

本発明の第5の標的群には、食物不耐症／過敏症と診断されたヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することでヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させ、結果として、免疫調節および消化管のバリア特性の改善に寄与するので、症状を改善する。

【0097】

本発明の第6の標的群には、消化管能障害、例えば、ストレス、不安症もしくはうつ病様行動、または自閉症を有するヒトが含まれる。1つもしくはそれ以上のHMOを摂取することでヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を刺激し、胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を最大100～1000%（すなわち2～11倍）に増加させ、結果として症状を改善する。

【0098】

HMOはヒトに投与することができる。

（a）第1工程に、最長約14日間：

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの存在量を、投与開始前のアッカーマンシアの存在量と比較して最大100%以上、例えば200～500%高いレベルまで増加させるための、第1の量のヒトミルクオリゴ糖、または第1の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物、および

（b）第2工程に、さらなる期間：

第1工程後に達成されたヒトの胃腸管内のアッカーマンシアのレベルを維持するための第2の量のヒトミルクオリゴ糖、または第2の量のヒトミルクオリゴ糖を含む合成組成物。

【0099】

ヒトの胃腸管内のアッカーマンシアの増殖を刺激するために、投与に必要なHMOの量は、肥満のリスクおよび重症度、2型糖尿病、炎症性の胃腸の状態、食物不耐症／過敏症、消化管能障害または腸病原性感染症、年齢、組成物の形態、および投与されている他の薬物などの要因によって異なる。しかしながら、必要な量は、医師によって容易に設定でき、一般に1日あたり約10mg～約20g、ある実施形態では1日あたり約10mg～約15g、1日あたり約100mg～約10g、ある実施形態では1日あたり約500mg～約10g、ある実施形態では1日あたり約1g～約7.5gの範囲である。適切な用量は、例えば、体重および／または状態、2型糖尿病の重症度、炎症性の胃腸の状態、または処置もしくは予防されている腸病原性感染症、他の病気および／または疾患、副作用の発生率および／または重症度、ならびに投与方法などのいくつかの要因に基づいて決定できる。

【0100】

適切な用量範囲は、当業者に既知の方法により決定され得る。

【0101】

初期処置段階（第1工程）の間、投与量より高くなり得（例えば、1日あたり200mg～20g、好ましくは1日あたり500mg～15g、より好ましくは1日あたり1g～10g、ある実施形態では、1日あたり2.5g～7.5g）。維持段階（第2工程）の間、投与量を減らすことができる（例えば、1日あたり10mg～10g、好ましくは1日あたり100mg～7.5g、より好ましくは1日あたり500mg～5g、ある実施形態では1日あたり1g～2.5g）。

【0102】

本発明を好ましい実施形態を参照して説明してきたが、本発明の範囲内で様々な変更が可能であることが理解されるであろう。

【実施例】

【0103】

本明細書に記載されている実施例は、例示のみを目的としており、限定的であると見なされるべきではない。

【0104】

実施例 1

合計100人の男女の健康な成人を本試験参加のために採用する。スクリーニング訪問と1～2週間のすり合わせ期間の後、参加者を選択し、各10人の被験者の10グループに無作為に分ける。1つの群には、2グラムのグルコースを含むプラセボ製品を投与する。残りの9群には、a) 2'-FL 20g、b) 2'-FL 10g、c) 2'-FL 5g、d) LNnT 20g、e) LNnT 10g、f) LNnT 5g、g) 2'-FLおよびLNnTの2:1混合物20g、h) 2'-FLおよびLNnTの2:1（重量で）混合物10g、およびi) 2'-FLおよびLNnTの2:1（重量で）混合物を含む処理製品を、4週間投与する。プラセボおよび処置製品は、単位投与容器に入れた粉末形態である。

【0105】

健康な成人は、18歳から60歳までの年齢であれば参加する資格がある。採用された参加者はすべて、試験手順を理解し、遵守することができ、進んでこれらに取り組む意思がある。以下の場合、参加者を除外する：スクリーニング訪問の1か月前に臨床試験に参加していた；試験参加のために臨床的に妥当するスクリーニング検査で異常な結果を示した；悪性腫瘍、糖尿病、重度の冠状動脈性心臓病、腎臓病、神経系疾患もしくは重度の精神疾患、または試験結果を混乱させる可能性のある状態などの重篤な疾患を患っている；試験前の3ヶ月間、高用量のプロバイオティックサプリメント（ヨーグルトは可）を使用した；試験の6ヶ月前に抗生物質を摂取した；試験の2週間前に症状の評価を妨げる可能性のある薬剤を定期的に摂取した；および妊娠中または授乳中である。

【0106】

スクリーニング訪問時に、病歴と併用薬を登録し、安全分析のための血液試料を採取する。糞便試料キットを配布する。参加者には次の訪問まで試料を冷凍庫に保管するように指示する。

【0107】

2回目の訪問時に、適格基準を確認し、適格被験者を本試験の10の群（処置群とプラセボ群）に無作為に分ける。糞便試料を回収し、新しい試料のための機器を配布する。参加者は、毎日データを記録するインタラクティブなインターネット対応システムに慣れ親しんでいる。処置または対照製品のいずれかを提供する。被験者には試験中に通常の食事を変えないように念を押す。バイオマーカー試験のために血液試料を収集する。糞便試料を分析まで-80℃で保存する。

【0108】

参加者がプラセボまたは処置製品のいずれかを毎日摂取しながら、2週間試験を行う。

参加者には朝、朝食とともに製品を摂取するように指示する。インタラクティブなインターネット対応システムを通じてコンプライアンスを監視する。

【0109】

参加者はまた、システムを使用して以下を記録する：

- －ブリストル糞便形状スケール（BSFS）情報。
- －腹痛、腹部不快感、腹部けいれん、腹部腫脹、腹部膨満などの症状情報。
- －追加の胃腸症状評価尺度（GSR S）情報。

【0110】

このアンケートには、5つの側面（腹痛、消化不良、逆流、下痢、便秘）を網羅する15の項目が含まれており、7段階のリッカート尺度を使用する。

10

【0111】

2週間後、各参加者は医療チームを訪問する。糞便試料および血液試料を回収する。糞便試料を分析まで -80°C で保存する。新しい試料の機器を配布する。被験者は試験中に通常の食事を変えないように念を押す。

【0112】

血液試料を電気化学発光プラットフォームで多重化フォーマットで同時に分析する。パネルには以下の被検物質が含まれる：BUN、LDLコレステロール、HDLコレステロール、鉄、トリグリセリド、ApoA1、ApoB、インスリン、FFA、グルカゴン、IL-10、IL-6、およびTNF- α 。

【0113】

微生物叢のプロファイルを評価するために、96ウェルPower Soil DNA単離キット（MO-BIO）を使用して、糞便試料からDNAを抽出する。PCR中の陰性対照になるように、プレートあたり最低1つの試料ウェルを空にしておく。PCRは、フォワードプライマーSD-Bact-0341-bS-17およびリバースプライマーSD-Bact-0785-aA-21をイルミナアダプターに取り付けて行う（非特許文献7）。これらは、V3-V4領域を標的としたユニバーサル細菌16S rDNAプライマーである。以下のPCRプログラムを使用する： 98°C で30秒、 $25\times$ （ 98°C で10秒、 55°C で20秒、 72°C で20秒）、 72°C で5分。増幅は、1%アガロースゲル上で産物を流すことにより確認する。以下のPCRプログラムでNextera Index Kit V2（Illumina）を使用するネスト化PCRにバーコードを加える： 98°C で30秒、 $8\times$ （ 98°C で10秒、 55°C で20秒、 72°C で20秒）、 72°C で5分間。プライマーの付着は、1%アガロースゲル上で産物を流すことにより確認する。ネスト化PCRの産物を、Sequal Prep正規化プレートキットを使用して正規化し、プールする。プールしたライブラリを蒸発によって濃縮し、プールしたライブラリのDNA濃度をQubit高感度アッセイキット（Thermo Fisher Scientific）を使用したQubit蛍光光度計で測定する。シーケンシングは、MiSeqデスクトップシーケンサーで、MiSeq Reagent Kit V3（Illumina）を使用して $2\times 300\text{bp}$ ペアエンドシーケンスで行う。USEARCHの64ビットバージョンをシーケンスデータの生体情報分析に使用する。

20

30

【0114】

図1に示すように、微生物コミュニティのプロファイリングの結果は、HMOを摂取するとアッカマンシアの存在量が増加したが、一方、プラセボ群では、HMOは変化しないままであったことを示している（値は $t = 0$ 値と比較したパーセントの変化として計算する）。これは、HMOの経口摂取により、健康な成人の腸内微生物叢内のアッカマンシアの存在量が明らかに増加することを意味する。

40

【0115】

実施例 2

微生物叢に対するHMOの影響を、M-Triple SHIMETMインビトロ胃腸モデル(Prodigest)で調査する。M-Triple SHIMETMの典型的なリアクターの装備は、ヒトの消化管の様々な部分をシミュレートする4つのリアクターの連続からなる

50

。最初の2つの反応器は、食物摂取および消化の様々な段階をシミュレートするフィル・アンド・ドロー法であり、蠕動ポンプが所定量のSHIME供給材料（140 mL 3×/日）ならびに膵液および胆汁液（60 mL 3×/日）を、それぞれ、胃と小腸の区画に加え、特定の間隔後にそれぞれの装置を空にする。最後の2つの区画は、一定体積でpH制御した、連続的に攪拌されるリアクターである。結腸の様々な部分のインビボ条件に類似するように様々な容器の保持時間およびpHを選択する。近位結腸はpH 5.4～5.6、保持時間＝12時間に設定し、遠位結腸はpH 6.0～6.5、保持時間＝20時間に設定する。2'-FL、LNnT、または4：1の質量比の2'-FLおよびLNnTの混合物を、1日あたり10グラムに相当する濃度でSHIME供給材料に加える。

【0116】

便の微生物叢を接種すると、これらのリアクターは近位、横行、および遠位結腸をシミュレートする。結腸の様々な領域での微生物コミュニティの2週間の適応後、代表的な微生物コミュニティが3つの結腸区画で確立されるが、コミュニティは異なる直腸領域で組成および機能性の両方が異なる。

【0117】

さらに、粘液層のコロニー形成を考慮に入れるために、結腸をシミュレートするリアクターにはブタのムチンが含まれる。従って、M-TripLe SHIMETMによって、管腔および粘膜関連の微生物コミュニティの両方を数週間にわたって培養することが可能になる。

【0118】

M-TripLe SHIMETMを4段階で操作する。

1. 安定化：健康な成人から採取した新鮮な糞便試料をリアクターに接種した後、2週間の安定化期間によって、微生物コミュニティを局所環境条件に応じて異なるリアクターで区別することが可能になる。この期間中、便の接種材料に元々存在していた消化管微生物叢の最大多様性を支えるために、基本的な栄養素マトリックスを提供する。

【0119】

2. 対照：この2週間で、標準的な栄養素マトリックスを14日間モデルに投与する。異なるリアクターにおけるベースラインの微生物コミュニティの組成および活性を試料の分析によって決定し、参照として使用する。

【0120】

3. 処置：SHIMEシステムを通常の条件下で3週間操作するが、HMOを補充した標準的な栄養素マトリックスを使用する。試験したHMOは、2'-FL、LNnT、ならびに2'-FLおよびLNnTの4：1混合物である。

【0121】

4. ウォッシュアウト：この2週間で、SHIMEシステムを標準の栄養素マトリックスのみで再び操作する。

【0122】

各リアクター内の液体試料を定期的に収集し、16S rRNAシーケンスを使用して微生物代謝産物および居住微生物コミュニティの組成を分析する。

【0123】

発酵システムの結果は、HMOが塩基-酸の消費に影響を与えることを示している。これは、HMOが近位結腸および程度は低い遠位結腸の両方で発酵していることを意味する。細菌の代謝産物の分析ではHMO処理によって主にアセテートおよびプロピオネートの生成の増加により、両方の結腸領域での総SCFA生成の即時の増加を誘導することを示している。HMO処置の3週目には、ブチレートが増加する。

【0124】

微生物コミュニティのプロファイリングにより、3週間の処置期間中に、結腸領域の遠位部でアッカーマンシアの存在量が増加することがわかった。近位部では、そのような変化は実際には発生しなかった。図2は、処置期間中の遠位部におけるアッカーマンシアの存在量の変化を示している（値を対照期間と比較したパーセントの変化として計算する

10

20

30

40

50

）。

【0125】

M-TripLeSHIMETMにHMOを供給すると、SCFAの産生に影響を与え、処置によって結腸領域の遠位部のアッカーマンシアの存在量が増加することがわかる。

【0126】

実施例 3

HMO 2'-FLおよびLNnTを、4：1の質量比でロータリーブレンダーに導入する。0.25質量%のステアリン酸マグネシウム量をブレンダーに導入し、混合物を10分間混ぜる。次に、この混合物を流動床で凝集塊にし、5グラムのスティック包装に充填し、包装を密封する。

10

【図 1】

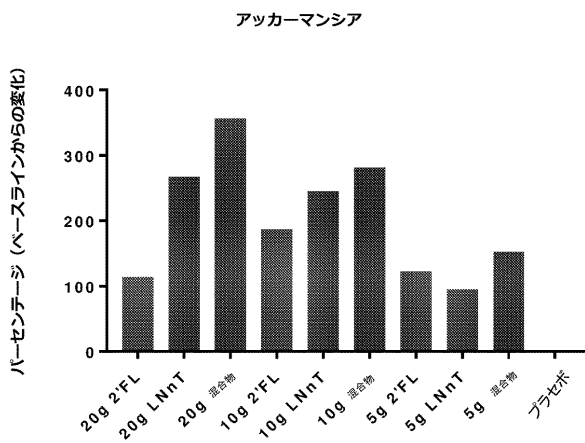


Figure 1.

【図 2】

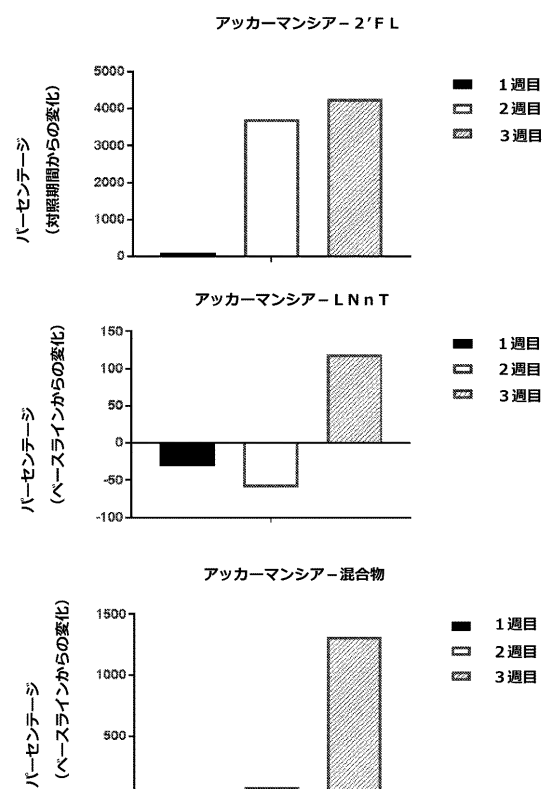


Figure 2.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2018/059501

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: see extra sheet According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: A61K, A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched SE, DK, FI, NO classes as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI data, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, MEDLINE, PUBCHEM		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Tarr, A. J. et al. 'The prebiotics 3'sialyllactose and 6'sialyllactose diminish stressor-induced anxiety-like behavior and colonic microbiota alterations: Evidence for effects on the gut-brain axis' In: Brain, Behavior, and Immunity 2015, Vol 50, pp. 166-177.; see Abstract, p. 170 column 1 lines 11-14, Table 1, Figure 6, p. 173 section Discussion --	1-7, 13-30
X	Elison, E. et al. 'Oral supplementaion of healty adults with 2'-O-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota' In: Brit. J. Nutr. 2016, Vol 116, pp. 1356-1368.; see p. 1357 Study design and Study Products; p. 1360 Figure 1; 1365 column 2, lines 30-31 --	1-35
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "g" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22-03-2019		Date of mailing of the international search report 22-03-2019
Name and mailing address of the ISA/SE Patent- och registreringsverket Box 5055 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. + 46 8 666 02 86		Authorized officer Karin Leijondahl Telephone No. + 46 8 782 28 00

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (revised January 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2018/059501

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017046711 A1 (GLYCOM AS), 23 March 2017 (2017-03-23); see Abstract, p. 1, lines 4-11; p. 4, line 32-p. 5, line 5; p. 5, lines 5-23; p. 5, line 30-p. 6, line 4; Example 1 --	1-35
X	US 20160367577 A1 (MCCONNELL BRUCE ET AL), 22 December 2016 (2016-12-22); see Abstract, [0015], [0016], [0017], [0020], [0021], [0027], [0028] and [00303] --	1-3, 6-36
X	US 20160287637 A1 (MCCONNELL BRUCE ET AL), 6 October 2016 (2016-10-06); see [0013], [0014], [0016], [0019], [0020], [0053] --	1-3, 6-36
X	Hippe, B. et al. 'Abundance and Diversity of GI Microbiota Rather than IgG4 Levels Correlate with Abdominal Inconvenience and Gut Permeability in Consumers Claiming Food Intolerances' In: Endocr. Metab. Immune. 2014, Vol 14, No 1, pp. 67-75.; Abstract; p. 70 Discomfort; p. 72-73 Discussion --	24-25
X	Wang, L. et al. 'Low Relative Abundances of the Mucolytic Bacterium Akkermansia muciniphila and Bifidobacterium spp. in Feces of Children with Autism' In: Appl. Environ. Microbiol. 2011, Vol 77, pp. 6718-6721.; whole document --	26
X	WO 2013154725 A1 (TRUSTEES BOSTON COLLEGE), 17 October 2013 (2013-10-17); see p. 1-3; claims 12, 18-24 --	1-2, 6-7, 13-27
A	WO 2014201037 A2 (UNIV NEW YORK), 18 December 2014 (2014-12-18); whole document --	1-36
P, X	WO 2018157900 A1 (GLYCOM AS), 7 September 2018 (2018-09-07); whole document --	1-23, 28-36
P, X	WO 2018207110 A1 (GLYCOM AS), 15 November 2018 (2018-11-15); whole document --	1-23, 27-36

International application No.
PCT/IB2018/059501

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2018215961 A1 (GLYCOM AS), 29 November 2018 (2018-11-29); whole document -- -----	1-11, 13-16, 27-30, 32-34, 36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2018/059501

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **7-36**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 7-36 relate to a method for treatment of the human or animal body by therapy, see PCT rule 39.1(iv). Nevertheless, a search has been made for these claims. The search has been directed to the technical content of the claims.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2018/059501

Continuation of: second sheet

International Patent Classification (IPC)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IB2018/059501

WO	2017046711 A1	23/03/2017	EP	3349763 A1	25/07/2018
US	20160367577 A1	22/12/2016	NONE		
US	20160287637 A1	06/10/2016	NONE		
WO	2013154725 A1	17/10/2013	CN	104507483 A	08/04/2015
			EP	2836218 A4	21/10/2015
			JP	2015512936 A	30/04/2015
			MX	2014012362 A	07/05/2015
			US	20150265661 A1	24/09/2015
WO	2014201037 A2	18/12/2014	US	20160120915 A1	05/05/2016
WO	2018157900 A1	07/09/2018	NONE		
WO	2018207110 A1	15/11/2018	NONE		
WO	2018215961 A1	29/11/2018	NONE		

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P 1/00
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P 25/24
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00
A 2 3 L	33/125	(2016.01)	A 2 3 L 33/125

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 ブルース・マコンネル

スイス1814ラ・トゥール・ドゥ・ペ、シュマン・デュ・クレ・ア・レーグル2番

Fターム(参考) 4B018 MD31 MD71 ME14

4C086 AA01 AA02 EA01 EA02 MA01 MA04 MA52 MA60 NA14 ZA02
ZA66 ZA70 ZA75 ZB11 ZB35 ZC35