

(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2014-509656

(P2014-509656A)

(43) 公表日 平成26年4月21日 (2014. 4. 21)

|                                     |                |             |
|-------------------------------------|----------------|-------------|
| (51) Int. Cl.                       | F I            | テーマコード (参考) |
| <b>A 6 1 K 31/353 (2006. 01)</b>    | A 6 1 K 31/353 | 4 C 0 8 4   |
| <b>A 6 1 P 29/00 (2006. 01)</b>     | A 6 1 P 29/00  | 4 C 0 8 6   |
| <b>A 6 1 P 31/04 (2006. 01)</b>     | A 6 1 P 31/04  |             |
| <b>A 6 1 P 31/12 (2006. 01)</b>     | A 6 1 P 31/12  |             |
| <b>A 6 1 P 37/04 (2006. 01)</b>     | A 6 1 P 37/04  |             |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 26 頁) 最終頁に続く |                |             |

|               |                              |          |                         |
|---------------|------------------------------|----------|-------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2014-502855 (P2014-502855) | (71) 出願人 | 505224798               |
| (86) (22) 出願日 | 平成24年3月30日 (2012. 3. 30)     |          | オーシャン スプレー クランベリーズ      |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成25年11月14日 (2013. 11. 14)   |          | インコーポレイテッド              |
| (86) 国際出願番号   | PCT/US2012/031581            |          | アメリカ合衆国 0 2 3 4 9 マサチュー |
| (87) 国際公開番号   | W02012/135702                |          | セッツ州 レイクビルーミドルボロ オー     |
| (87) 国際公開日    | 平成24年10月4日 (2012. 10. 4)     |          | シャン スプレー ドライブ 1         |
| (31) 優先権主張番号  | 61/471, 073                  | (71) 出願人 | 507371168               |
| (32) 優先日      | 平成23年4月1日 (2011. 4. 1)       |          | ユニバーシティ オブ フロリダ リサー     |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                      |          | チ ファンデーション インコーポレーテ     |
|               |                              |          | ッド                      |
|               |                              |          | アメリカ合衆国 フロリダ州 ゲーンズビ     |
|               |                              |          | ル グリントー ホール 2 2 3       |
|               |                              | (74) 代理人 | 100102978               |
|               |                              |          | 弁理士 清水 初志               |
|               |                              |          | 最終頁に続く                  |

(54) 【発明の名称】 炎症および免疫の治療

## (57) 【要約】

障害（例えば炎症性障害、例えば炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、および過敏性腸症候群）を治療することを含む、プロアントシアニジンを含む抽出物の治療的使用を開示する。感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させる方法および／または感染症を治療する方法を開示する。当該感染症は、例えば細菌性、ウイルス性、または真菌性の感染症であってもよい。当該方法は、例えば、感染症（例えば細菌性、ウイルス性、もしくは真菌性の感染症、またはそれらの組み合わせ）を有するかまたは発症する危険性がある対象を選択する工程；少なくとも約10重量％のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する工程；ならびにある量の当該組成物を対象に投与して、それによって感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させる工程および／または感染症を治療する工程を含んでもよい。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

以下の工程を含む、対象における炎症性障害を治療する方法：

炎症性障害を有する対象を選択する工程；

少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する工程；および  
該対象における炎症を低下させるのに治療上有効な量の該組成物を該対象に投与して、  
それによって該対象における炎症性障害を治療する工程。

**【請求項 2】**

以下の工程を含む、細菌性またはウイルス性の感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させる方法：

細菌性またはウイルス性の感染症を有する対象を選択する工程；

少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する工程；および  
治療上有効な量の該組成物を該対象に投与して、それによって細菌性またはウイルス性の  
感染症に対する該対象の免疫抵抗を増大させる工程。

**【請求項 3】**

以下の工程を含む、対象における胃腸管細菌叢レベルを調節する方法：

胃腸管における片利共生細菌の数を増大させるか、胃腸管における病原性細菌の数を減少させるか、または胃腸管における片利共生細菌の数を増大させかつ病原性細菌の数を減少させるのに有効な量の、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を  
該対象に投与して、それによって該対象における胃腸管細菌叢レベルを調節する工程。

**【請求項 4】**

前記炎症性障害が、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、および過敏性腸症候群からなる群より選択される、請求項1記載の方法。

**【請求項 5】**

前記対象に抗炎症薬を投与する工程をさらに含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 6】**

前記組成物が、少なくとも約50重量%のプロアントシアニジンを含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 7】**

前記組成物が、少なくとも約1重量%のフラボノールを含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 8】**

前記組成物が、約70重量%のプロアントシアニジンおよび約10重量%のフラボノールを含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 9】**

前記対象が24時間で20～500mgのプロアントシアニジンを受けるような量の前記組成物を該対象に投与する、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 10】**

前記組成物を、経口で、静脈内に、または直腸に投与する、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 11】**

前記治療が、前記対象に抗生物質を投与する工程をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 12】**

前記対象が哺乳類である、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 13】**

前記対象がヒトである、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

**【請求項 14】**

対象における炎症性障害の治療において使用するための、少なくとも約10重量%のプロ

10

20

30

40

50

アントシアニジンを含む組成物。

【請求項 15】

細菌性またはウイルス性の感染症に対する対象の免疫抵抗の増大において使用するための、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物。

【請求項 16】

対象における胃腸管細菌叢レベルの調節において使用するための、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物であって、対象への該組成物の投与が、胃腸管における片利共生細菌の数を増大させるか、胃腸管における病原性細菌の数を減少させるか、または胃腸管における片利共生細菌の数を増大させかつ病原性細菌の数を減少させる、組成物。

10

【請求項 17】

前記炎症性障害が、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、および過敏性腸症候群からなる群より選択される、請求項14記載の組成物。

【請求項 18】

抗炎症薬とともに前記対象に投与される、請求項14記載の組成物。

【請求項 19】

少なくとも約50重量%のプロアントシアニジンを含む、請求項14～16のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 20】

少なくとも約1重量%のフラボノールを含む、請求項14～16のいずれか一項記載の組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本出願の一部として組み入れられる、2011年4月1日に提出された米国仮出願第61/471,073号の出願日の恩典を主張するものである。

【0002】

技術分野

30

本発明は、先天性および適応性の免疫を特徴とする免疫応答に関連した炎症性障害の治療に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

炎症は、病原体、損傷を受けた細胞、および刺激物等の有害な刺激に対する、血管組織の複雑な生物学的応答の一部である。炎症性腸疾患（IBD）は、典型的には、下痢、痙攣、腹痛、体重減少、直腸出血、疲労感、貧血、腸の瘻孔、穿孔、閉塞、および/または外科的介入の頻繁な必要性を特徴とする病因不明の障害である。それは、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、およびコラーゲン性大腸炎を含む、多数の障害を包含する。そのような障害は、時々、過敏性腸症候群（IBS）に類似した、臨床的により良性またはより軽度の提示から始まり得、IBSを伴う炎症の増大へ進行し得、かつ最終的に本格的なIBDに発展し得る。IBDおよびIBSの正確な原因は、依然として不明である。上記の望まれない相互作用および所望されない結果を考慮すると、これらの欠陥に対処するために、IBDを治療するための改良された方法が所望された。

40

【発明の概要】

【0004】

概要

一局面において、本出願は、対象、例えば炎症性障害を有するまたはその危険性がある対象を治療する方法を提供する。本明細書は、対象における炎症性障害を治療する方法を

50

提供するものであって、該方法は、炎症性障害を有するまたはそれを発症する危険性がある対象を選択する工程；少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する工程；および該対象に治療上有効な量の該組成物を投与して、それによって該対象における炎症性障害を治療する工程を含む。

【0005】

いくつかの態様において、炎症性障害は、例えば炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、および/または過敏性腸症候群であってもよい。

【0006】

いくつかの態様において、方法は、対象に第二の治療を施すこと、例えば対象に抗炎症薬、例えばコルチコステロイド薬を投与する工程をさらに含む。

10

【0007】

別の局面において、本出願は、感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させる方法および/または感染症を治療する方法を提供する。感染症は、例えば細菌性、ウイルス性、または真菌性の感染症であってもよい。方法は、例えば、感染症、例えば細菌性、ウイルス性、もしくは真菌性の感染症、またはそれらの組み合わせを有するまたはそれを発症する危険性がある対象を選択する工程；少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する工程；ならびに該対象にある量の該組成物を該対象に投与して、それによって感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させる工程および/または感染症を治療する工程を含んでもよい。

20

【0008】

さらに別の局面において、本出願は、対象における胃腸管細菌叢レベルを調節する方法を提供する。方法は、例えば胃腸管における片利共生細菌の数を増大させるか、胃腸管における病原性細菌の数を減少させるか、または胃腸管における片利共生細菌の数を増大させかつ病原性細菌の数を減少させるのに有効な量の、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を対象に投与して、それによって該対象における胃腸管細菌叢レベルを調節する工程を含んでもよい。

【0009】

記載される方法のいくつかの態様において、組成物は、少なくとも約50重量%のプロアントシアニジンを含む。記載される方法のいくつかの態様において、組成物は、少なくとも約1重量%のフラボノールを含む。いくつかの態様において、組成物は、約70重量%のプロアントシアニジンおよび約10重量%のフラボノールを含む。

30

【0010】

いくつかの態様において、対象が24時間で20~500mgのプロアントシアニジンを受けるような量の組成物を対象に投与する。

【0011】

いくつかの態様において、組成物を、経口で、静脈内に、および/または直腸に投与する。

【0012】

いくつかの態様において、本明細書において記載される方法は、障害に対する既知の治療を施す工程をさらに含む。例えば、本明細書において記載される方法は、対象に抗生物質および/または抗炎症薬を投与する工程をさらに含んでもよい。

40

【0013】

本明細書において記載される治療を、ヒトまたはヒト以外の任意の対象に施してもよい。いくつかの態様において、対象は、哺乳類、例えばヒトである。

【0014】

一局面において、本出願は、対象における炎症性障害の治療において使用するための、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する。

【0015】

いくつかの態様において、炎症性障害は、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、

50

分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、および過敏性腸症候群からなる群より選択される。

【0016】

いくつかの態様において、組成物を抗炎症薬とともに対象に投与する。

【0017】

別の局面において、本出願は、細菌性またはウイルス性の感染症に対する対象の免疫抵抗を増大させることにおいて使用するための、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供する。

【0018】

さらに別の局面において、本出願は、対象における胃腸管細菌叢レベルを調節することにおいて使用するための、少なくとも約10重量%のプロアントシアニジンを含む組成物を提供するものであって、対象への該組成物の投与は、胃腸管における片利共生細菌の数を増大させるか、胃腸管における病原性細菌の数を減少させるか、または胃腸管における片利共生細菌の数を増大させかつ病原性細菌の数を減少させる。

10

【0019】

記載される組成物のいくつかの態様において、組成物は、少なくとも約50重量%のプロアントシアニジンを含む。いくつかの態様において、組成物は、少なくとも約1重量%のフラボノールを含む。いくつかの態様において、組成物は、約70重量%のプロアントシアニジンおよび約10重量%のフラボノールを含む。いくつかの態様において、対象が24時間にわたって20~500mgのプロアントシアニジンを受けるように、組成物を対象に投与する。いくつかの態様において、組成物を、経口で、静脈内に、または直腸に投与する。いくつかの態様において、組成物を抗生物質とともに対象に投与する。

20

【0020】

別様に定義されていない限り、本明細書において用いられるすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野における当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。本発明の実践または試験において、本明細書において記載されるものと同様または同等の方法および材料を用いることができるが、例示的な方法および材料を以下に記載する。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、それらの全体が参照により組み入れられる。矛盾する場合、定義を含めて、本出願が支配的であるとする。材料、方法、および実施例は、例証にすぎず、限定することを意図するものではない。

30

【0021】

本明細書において使用するとき、「有効な量」および「治療するのに有効な」という用語は、意図される効果または生理的成果をもたらすためのその投与の状況の中で有効である、緊急的または慢性的な投与および周期的または連続的な投与を含む、量または濃度のおよび期間の、本明細書において記載される薬学的組成物の投与を表す。本明細書において、「治療する」または「治療」という用語は、障害または症状、例えば本明細書において記載される障害または症状の影響または症候の発生を遅らせる、阻害する、または軽減することを記載するために用いられる。

40

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】図1Aおよび図1Bは、型T細胞に対する、PAC濃縮画分EおよびFの刺激効果を示す折れ線グラフである。

【図2】THP-1単球におけるCD14およびCD49aの発現に対する、克蘭ベリー画分A、E、およびFの刺激効果を示す棒グラフである。

【図3】THP-1単球において、克蘭ベリー画分A、E、およびFにより誘導されたCD49aの発現を表す棒グラフである。

【図4】克蘭ベリー画分Eで処理された細胞における活性酸素種の産生の、用量に応じた低下を示す折れ線グラフである。

【図5】総IKBタンパク質レベルが、LPS対照と比較して、CFとともにインキュベートし

50

た細胞においてより高かったことより低かったことを示す棒グラフおよびマイクロ写真である。

【図6】リン酸化IKB タンパク質レベルが、LPS対照と比較して、CFとともにインキュベートした細胞においてより低かったことを示す棒グラフおよびマイクロ写真である。

【図7】IRAK4タンパク質レベルが、LPS対照と比較して、CFとともにインキュベートした細胞においてより低かったことを示す棒グラフおよびマイクロ写真である。

【図8】CFとともにインキュベートした細胞からのTNF 分泌が、LPS対照よりも何倍も高かったことを示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0023】

10

詳細な説明

本出願は、抽出物を含有しているプロアントシアニジン等のクランベリー抽出物を用いた種々の治療方法を提供する。例示的な抽出物およびそのような抽出物を作製する方法は、本明細書において記載されており、かつ例えば、その全体が本明細書に組み入れられる、WO 2010/121203として刊行されている特許協力条約（PCT）出願番号PCT/US2010/031492においても記載されている。方法は、例えば治療を必要としている対象を同定する工程、および該対象に薬学上有効量の抽出物を投与する工程を含んでもよい。例えば、方法は、炎症（例えば、全身性または限局性の炎症）を伴う障害を有するまたはその危険性がある対象を同定するおよび治療する工程を伴ってもよい。例えば、方法は、IBD（例えば、IBS、クローン病、潰瘍性大腸炎、分類不能大腸炎、顕微鏡的大腸炎、および/またはコラーゲン性大腸炎）を有するまたは発症する危険性がある対象を治療する工程を伴ってもよい。別の例として、方法は、感染症、例えばウイルス性、細菌性、および/または真菌性の感染症を有するまたはその危険性がある対象を同定するおよび治療する工程を伴ってもよい。

20

【0024】

抽出物

本明細書において開示される方法を用いて得られる抽出物（例えば、PAC含有抽出物およびフェノール類濃縮抽出物）は、少なくともプロアントシアニジン（PAC）を含有している、液体の、乾燥した、半乾性の、または粉末の抽出物（例えば、粉末の、脱水した、または凍結乾燥した抽出物）であってもよい。HPLCを用いて査定される（例えば、定量化される）、総量が少なくとも約1%（容量に対する重量（w/v）、重量に対する重量（w/w）、または容量に対する容量（v/v））のプロアントシアニジンを有するまたは含有しているとして、そのような抽出物をさらに特徴付けすることができる。例えば、抽出物は、HPLCによって査定される、少なくとも約10%、例えば少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは少なくとも約95%（w/v、w/w、もしくはv/v）、またはこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲のプロアントシアニジン含有量であってもよい。そのような抽出物は、例えばHPLCを用いて査定される（例えば、定量化される）、少なくとも約1%（w/v、w/w、またはv/v）のフラボノール含有量であってもよい。例えば、抽出物は、HPLCによって査定される、少なくとも約2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%（w/v、w/w、もしくはv/v）、61%を上回る、65%を上回る、70%を上回る、75%を上回る、もしくは少なくとも約80%（w/v、w/w、もしくはv/v）、またはこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲のフラボノール含有量であってもよい。

30

40

【0025】

抽出物中のPACのレベルを、DMAC（DMAC法は、参照により本明細書に組み入れられる、Cunningham et al., Analysis and Standardization of Cranberry Products, Quality Management of Nutraceuticals, ACS Symposium Series, 803ed., American Chemical Society, Washington D.C., pages 151-166, 2002において開示されている）を用いて査定または定量化することができる。そのような場合、少なくともプロアントシアニジン含有している抽出物は、例えばDMACを用いて査定される（例えば、定量化される）、少なくと

50

も約40% (w/v、w/w、またはv/v) のPACを含有していてもよい。例えば、抽出物は、DMACによって査定される、少なくとも約40%、50%、55%、60%、70%、80% (w/v、w/w、もしくはv/v)、80% (w/v、w/w、もしくはv/v) を上回る、またはこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲のPAC; および / あるいは

PACに対するフラボノールの比率が約1:5 (例えば、約1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、1:5、1:5.5、1:6、1.6.5、1:7、1:7.5、1:8、1:8.5、1:9、1:9.5、または約1:10) であって、フラボノールは、例えばHPLCを用いて査定され (例えば、定量化され)、かつPACは、例えばHPLCまたはDMACを用いて査定される (例えば、定量化される); および / あるいは

クランベリージュース原料に存在するPACオリゴマープロファイルと実質的に同じまたは同様である (例えば、実質的に同様である) PACオリゴマープロファイルを含有していてもよい。あるいはまたは加えて、PACオリゴマープロファイルは、他のPACオリゴマよりも、より多くの量の2量体および10量体を超えるものを含んでもよい。あるいはまたは加えて、PACオリゴマープロファイルは、約6 (1量体) : 28 (2量体) : 11 (3量体) : 8 (4量体) : 6 (5量体) : 7 (6量体) : 3 (7量体) : 4 (8量体) : 2 (9量体) : 26 (10量体を上回る) の比率のPACオリゴマー; ならびに / あるいは

クランベリーもしくはフェノール類が抽出された果実に存在する、例えばクランベリーもしくはクランベリージュースに存在する総フェノール類に対するPACの比率と実質的に同じである (例えば、ほぼ匹敵する)、総フェノール類に対するPACの比率; ならびに / あるいは

クランベリージュースに存在するケルセチン、ケルクガラク (quercgalac)、ケルシトリン、ミリセチン、および / もしくはケルクアラバン (quercaraban) に対するPACの比率と同じ (例えば、実質的に同じ) もしくは同様 (例えば、実質的に同様) である、ケルセチン、ケルクガラク、ケルシトリン、ミリセチン、および / もしくはケルクアラバンに対するPACの比率; ならびに / あるいは

クランベリーもしくはフェノール類が抽出された果実中の、例えばクランベリーもしくはクランベリージュースに存在する総アントシアニンに対するPACの比率とは同じでない、総アントシアニンに対するPACの比率; ならびに / あるいは

14,000ダルトン未満の分子量 (例えば、平均分子量) を有するフェノール類 (例えば、ポリマー型フェノール); ならびに / あるいは

1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個、もしくは10個を上回る、またはそれらの組み合わせのポリマー鎖長を有するPAC (例えば、抽出物中の総PACの10%以上); ならびに / あるいは

クランベリーもしくはフェノール類が抽出された果実 (例えば、クランベリーもしくはクランベリージュース原料) に存在するよりも高濃度 (例えば、より高い乾燥重量濃度) のアントシアニンおよびPACを含んでもよい。

【0026】

少なくともPACおよびフラボノールを含有している抽出物を、抽出物中の有機酸 (例えば、総有機酸) および糖類 (例えば、総糖類) のレベルに基づいて任意でさらに特徴付けることができる。例えば、抽出物は、5% (w/v、w/w、またはv/v) 未満の有機酸 (例えば、約5%、もしくは約5%、4%、3%、2%、1%未満の有機酸、1%未満の有機酸、有機酸なし (例えば、抽出物は有機酸を含んでいない (例えば、実質的に含んでいない))、またはこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲)、および / あるいは5%未満の糖類 (例えば、約5%、もしくは約5%、4%、3%、2%、1%未満の糖類、1%未満の糖類、糖類なし (例えば、抽出物は糖類を含んでいない (例えば、実質的に含んでいない))、またはこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲) を含有していてもよい。PACを定量化するための別の方法、例えばPriorら (2010) を参照するBL DMAC法を用いる事象では、同等の比較のために、適切な応答因子がPAC値に適用される。

【0027】

本明細書において記載される方法を用いて抽出されたフェノール類は、水性溶媒に可溶であってもよい。

【0028】

動物（例えば、ヒトおよび／またはヒト以外の動物）において使用するための、例えば動物（例えば、ヒトおよび／またはヒト以外の動物）による摂取または消費のための組成物として、抽出物を調合してもよい。そのような組成物は、例えば安定性、溶解性、保存期間、味を向上させるための、組成物中の特定の化合物のレベル、および／または抽出物の生体吸収を標準化するための賦形剤を含んでもよい。含有可能な賦形剤の例には、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、種々の糖類およびタイプのデンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ならびにポリフェノールオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、グリコシダーゼ、デカルボキシラーゼ、およびエステラーゼの阻害剤等の、フェノール類を分解および／または修飾する酵素の阻害剤が含まれるが、これらに限定されるわけではない。あるいはまたは加えて、抽出物を、それらを酸化反応から保護する作用物質（例えば、抗酸化物質）と組み合わせてもよい。異なるダイアフィльтраーション溶媒（例えば、酸性水）を利用して、抽出物の色を安定化および／または調整することができる。

10

【0029】

PAC含有溶液を、1回のボラス投与として、あるいは1時間もしくはそれを上回る時間にわたる、または1日もしくはそれを上回る日数にわたる注入として投与することができる。さらに、PAC含有溶液を、対象（例えば、炎症性障害を有する対象、それを有する疑いがある対象、またはそれを発症する危険性がある対象）に対して、抗生物質治療と同じ時間および長さで、または毎日投与することができる。任意の投薬レベルが、医師等の熟練した実践者（例えば胃腸科専門医）によって容易に決定され得る。PACの例示的な投薬量には、例えば1日約40mg、1日約50mg、1日約80mg、1日約100mg、1日約120mg、1日約150mg、1日約160mg、1日約200mg、1日約240mg、1日約250mg、1日約280mg、1日約300mg、1日約320mg、1日約400mg、1日約500mg、1日約600mg、および1日約1000mg、ならびにこれらの値のうちの任意の2つの間の範囲内に入る投薬量が含まれる。

20

【0030】

いくつかの態様において、本明細書において記載される方法のいずれかは、対象を、炎症性障害を有する、有する疑いがある、または有する危険性がある対象と特定する初期工程を含んでもよい。

30

【0031】

炎症性障害

本発明の方法を用いて、炎症性障害を治療することができる。「炎症性障害」および「炎症」という用語は、局所的反応および結果として生じる形態学的変化、障害性物質の破壊または除去、ならびに修復および治癒につながる応答を含む、物理的、化学的、または生物学的作用物質によって引き起こされる損傷または異常刺激に応答して影響を受けた血管および隣接組織で起こる反応（細胞学的および組織学的な調査に基づいて認識され得る）の動的複合体からなる基本的な病的プロセスを記載するために用いられる。炎症は、ある場合には、組織の領域内への単球／マクロファージ、ナチュラルキラー細胞、および／またはリンパ球（例えば、BおよびTリンパ球）等の免疫細胞の侵入によって特徴付けされる。加えて、炎症を起こした組織は、領域内へ侵入している細胞によって産生されるサイトカインおよびケモカインを含有し得る。炎症は、凝血および血小板凝集の両方を含む血栓症を付随し得る。炎症という用語には、急性、慢性、アレルギー性（肥満細胞を伴う症状を含む）、代替的（退行性）、萎縮性、カタル性（気道において最も高頻度）、クループ性、線維素膿性、線維索性、免疫性、過形成性または増殖性、亜急性、漿液性、および漿液線維索性等の様々なタイプの炎症が含まれる。胃腸管またはその任意の部分、腎臓、肝臓、心臓、皮膚、脾臓、脳、腎臓、肺気道（pulmonary tract）、および肺に局在する炎症は、本発明の方法を用いて好ましく治療され得る。ショック、例えば敗血性ショック、任意のタイプの外傷によって引き起こされる出血性ショック、およびアナフィラキシー

40

50



性ショックに関連した全身性炎症は、本発明の方法を用いて好ましく治療され得る。さらに、本発明の方法を用いて、関節リウマチ、狼瘡、ならびに他の炎症性および/または自己免疫性の疾患、免疫不全、例えばHIVの感染によっておよび過敏症によって亢進した炎症状態を治療することができると考えられる。

#### 【0032】

##### 炎症性腸疾患

本発明の方法を用いて、対象におけるIBDを治療してもよい。IBDは、結腸および小腸の炎症性症状の一つの群である。IBDの主要なタイプは、クローン病および潰瘍性大腸炎(UC)である。クローン病とUCとの間の主な違いは、炎症性変化の位置および性質である。クローン病は、口から肛門まで胃腸管の任意の部分に影響を及ぼし得る(飛び越し病変)が、大多数の症例は回腸末端から始まる。対照的に、UCは、結腸および直腸に限定される。非常に異なる疾患であるが、両者は以下の症候のいずれかを呈し得る: 腹痛、嘔吐、下痢、直腸出血、骨盤の領域における重度の内部痙攣/筋肉の痙攣、体重減少、ならびに関節炎、壊疽性膿皮症、および原発性硬化性胆管炎のような様々な関連する病状または疾患。診断は、一般に、病理学的病変の生検とともに大腸内視鏡検査によるものである。IBDは、抗炎症薬、例えばメサラジンをを用いてしばしば治療されるが、それはクローン病よりもUCにおいてより有用である。一般に、重症度のレベルに応じて、IBDは、症候を制御するために、プレドニゾン、TNF阻害、アザチオプリン、メトトレキサート、または6-メルカプトプリン等の免疫抑制を必要とし得る。しばしば、ステロイドは、疾患の再燃を制御するのに用いられ、かつて維持薬(maintenance drug)として許容されていた。重度の症例は、腸切除、狭窄形成術、または一時的もしくは恒久的な人工肛門造設術もしくは回腸人工肛門造設術等の手術を必要とし得る。本明細書において記載される治療を、そのような既知の治療のうちの任意の1つまたは複数と組み合わせてもよい。

10

20

#### 【0033】

##### 潰瘍性大腸炎

本発明の方法を用いて、対象におけるUCを治療してもよい。UCは、大腸(結腸)および直腸の内膜に影響を及ぼすIBDの一種である。UCの原因は不明である。この症状を有する人は免疫システムに問題を有するが、免疫の問題がこの病気を引き起こすのかどうかは明確ではない。ストレスおよびある特定の食物は症候の引き金となり得るが、それらはUCを引き起こすわけではない。UCは、任意の年齢群に影響を及ぼし得るが、15~30歳に、次いで50~70歳に再びピークがある。疾患は、通常、直腸領域から始まり、時間とともに大腸全体に関与し得る。危険因子には、UCの家族歴、つまりユダヤ系の家系が含まれる。症候は、重症度に違いがあり、徐々にまたは突然に開始し得る。約半分の人々は、軽度の症候を有するのみである。他は、より頻繁に起こるより重度の発作を有する。多くの因子が、呼吸器感染症または身体的ストレスを含む発作につながり得る。症候には、便通後に通常消失する腹部の痛みおよび痙攣、腹部音(腸中にわたって聞こえるゴボゴボまたはバシャバシャという音)、排泄物中の血液および膿、下痢(ほんのわずかな発現から、一日を通して非常に頻繁なものまで)、発熱、テネスマス(直腸痛)、ならびに体重減少が含まれる。

30

40

#### 【0034】

##### 胃腸管細菌叢

胃腸管細菌叢は、通常動物の消化管に住む微生物からなる。研究により、胃腸細菌叢とヒトとの間の関係は、片利共生的なものだけではなく、相利共生的な共生関係でもあることが示唆されている(Sears, Anaerobe, 11: 247, 2005)。微生物は、有害な種の増殖を予防すること(Guarner and Malagelada, Lancet, 361: 512, 2003)、未使用のエネルギー基質を発酵すること、免疫システムを訓練すること、胃腸の発達を調節すること、宿主のためにビタミンを産生すること(ビオチンおよびビタミンK等)、および宿主が脂肪を蓄えるように指揮するホルモンを産生することを含む、多くの有用な機能を果たす。しかしながら、ある特定の条件において、いくつかの細菌種は、疾患を引き起こし得ると考えられている。

50

## 【0035】

対象における胃腸管細菌叢を調節するための方法が本明細書において提供される。本発明は、片利共生細菌の数および腸微生物叢の組成を増大させるまたは保存するのに有効な量でPAC含有抽出物を投与することによって、胃腸管細菌叢のレベルおよび/または機能が低下した対象を治療する方法に関する。本発明は、また、病原性細菌による感染症を治療するために、および/または胃腸管における病原性細菌の増殖を阻害するもしくはその数を減少させるために、PAC含有抽出物を用いて対象を治療する方法に関する。記載される方法を用いて、片利共生細菌レベルの低下および/または胃腸管細菌叢の機能低下に関連した症候、例えば抗生物質に関連した下痢（AAD）、クロストリジウム・ディフィシル（*Clostridium difficile*）関連疾患（CDAD）、後天性免疫不全症候群（AIDS）、甲状腺機能低下症、結腸直腸癌腫、肥満、関節リウマチ、湿疹、アレルギー、放射線療法、化学療法、ストレス、および食中毒を治療することができる。

10

## 【0036】

正常なヒトの胃腸管には、およそ $10^{14}$ 個の細菌を見出すことができる（Kullberg, *Nature*, 453:602, 2008 ; Baba et al., *J Leukoc Biol*, 84:468, 2008）。排泄物サンプル中の細菌の数を測定することによって、胃腸管細菌叢のレベルを判定することができる。排泄物サンプル中に見出される通常の細菌レベルは、1gの乾燥排泄物あたり $10^9 \sim 10^{13}$ CFUに及ぶ（Chen et al., *J Dairy Sci*, 82:2308, 1999）。あるいは、細菌叢レベルの変化に関連した胃腸の問題（例えば、AAD、CDAD、AIDS、甲状腺機能低下症、食中毒、肥満、IBD、IBS、結腸直腸癌腫、肥満、関節リウマチ、湿疹、アレルギー、放射線療法もしくは化学療法の治療を受けること、またはストレス下にあることによって引き起こされる）を有しない少なくとも20名の対象からの排泄物サンプルを検査することによって、排泄物サンプル中に見出される通常の細菌レベルを判定することができる。

20

## 【0037】

## 一般的方法論

方法を、炎症性腸疾患、例えばクローン病、UC、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、過敏性腸症候群に対する治療、または例えば診断されたAAD等の、正常な胃腸細菌叢のレベルおよび/もしくは機能の任意の診断された低下に対する治療として用いることができ、あるいは、例えば、すべての対象においてまたはある特定の対象集団、例えば60歳の年齢を超えた対象および欠陥のある免疫システムを有する対象（例えば、後天性免疫不全症候群（AIDS）の対象など）において、抗生物質の任意の投与とともに予防的に用いることができる。より高い危険性がある他の集団は、腹部手術を受けたことがある対象、長期の抗生物質の使用を処方されている対象、または2、3、もしくは4週間を上回る間入院している対象である。方法は、単純かつ有効であり、有効量のPAC含有抽出物を投与する工程を伴う。

30

## 【0038】

## 本方法によって治療される対象

いくつかの態様において、対象は、自己免疫疾患を有する疑いがある、有する危険性がある、または有する対象であって、自己免疫疾患は、例えば多発性硬化症（MS）、関節リウマチ（RA）、インスリン依存性糖尿病（IDDM）、クローン病、乾癬、ベーチェット病、強直性脊椎炎、全身性エリテマトーデス、または筋ジストロフィーであってもよい。「自己免疫疾患を有する疑いがある」対象とは、症状の1つまたは複数の症候を有する者である。症状の症候は、極めて多様であり、当技術分野において周知である。それらには、例えば熱の上昇、脱毛症、色素沈着過度、皮膚発疹、皮膚潰瘍、ドライアイ、視覚のぼやけ、口渇、慢性疲労、不眠症、筋力低下、関節の硬直、吐き気、嘔吐、息切れ、および低血糖が含まれる。「自己免疫疾患を有する危険性がある」対象とは、(i)そのような障害の家族歴（その遺伝的素因）を有する者、または(ii)自己免疫疾患を有する1つもしくは複数の危険因子を有する者である。危険因子には、例えば、自己成分に対して病理学的に不適切な免疫応答の引き金となる因子への曝露が含まれる。そのような因子には、例えば感染性作用物質（例えば、酵母、微生物を含む、ウイルス性、細菌性、または真菌性の

40

50

もの)またはそれらによって産生される抗原性物質が含まれる。上記から、「自己免疫疾患を有する疑いがある」対象も「自己免疫疾患を有する危険性がある」対象も、関心対象の種の範囲内にある対象のすべてではないことは明白であろう。

#### 【0039】

本明細書において記載される方法の一面において、対象は、癌、またはウイルス性、細菌性、もしくは真菌性の感染症を有するまたはそれを発症する危険性がある。本明細書において記載される方法のいくつかの態様において、対象は、癌(例えば白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、肺癌、乳癌、結腸癌、膵臓癌、腎臓癌、胃癌、肝臓癌、骨癌、血液癌、神経組織の癌、黒色腫、甲状腺癌、卵巣癌、精巣癌、前立腺癌、子宮頸癌、陰癌、または膀胱癌)を有するまたはそれを発症する危険性がある。「癌を有するまたはそれを発症する危険性がある」対象とは、医療提供者によって同定される、癌の1つもしくは複数の症候および/または癌の既知の危険因子を有する者である。癌の症候は、極めて多様であり、当業者に周知であり、乳房のしこり、乳頭の変化、乳房痛、体重減少、衰弱、過度の疲労、摂食困難、食欲不振、慢性の咳、悪化する息切れ、喀血、血尿、血便、吐き気、嘔吐、肝転移、肺転移、骨転移、腹部膨満、腫脹、腹腔内の体液、膣からの出血、便秘、腹部膨張、結腸の穿孔、急性腹膜炎(感染症、発熱、または疼痛)、疼痛、吐血、大量の発汗、発熱、高血圧、貧血、下痢、黄疸、眩暈、悪寒、筋肉の痙攣、結腸転移、肺転移、膀胱転移、肝転移、骨転移、腎転移、膵臓転移、嚥下困難などが含まれるが、これらに限定されるわけではない。「癌を発症する危険性がある」対象とは、癌を発症する素因(すなわち、腫瘍抑制遺伝子、例えばBRCA1、p53、RB、またはAPCにおける突然変異等の癌を発症する遺伝的素因)を有する者または癌をもたらし得る条件に曝露されている者である。ゆえに、「癌を発症する危険性がある」対象とは、変異原性または発癌性のレベルのある特定の化合物(例えば、アクロレイン、ヒ素、ベンゼン、ベンズ(a)アントラセン、ベンゾ(a)ピレン、ポロニウム-210(ラドン)、ウレタン、または塩化ビニル等のタバコの煙の中の発癌性化合物)に曝露されている者であってもよい。さらに、対象が、例えば多量の紫外線もしくはX線照射に曝露されている場合、またはパピローマウイルス、エプスタイン・バールウイルス、B型肝炎ウイルス、もしくはヒトT細胞白血病・リンパ腫ウイルス等の腫瘍を引き起こす/腫瘍関連のウイルスに曝露されている(例えば、感染している)場合、対象は「癌を発症する危険性があり」得る。医療提供者は、上記の因子および/または当技術分野における一般知識に基づいて、癌を発症する危険性がある対象を同定することができる。

#### 【0040】

本明細書において記載される方法のいくつかの態様において、対象は、ウイルス性感染症、例えばインフルエンザウイルス、ライノウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルス、単純ヘルペスウイルス、A/B/C/D/E/F/G型肝炎ウイルス、出血性熱ウイルス、コロナウイルス、SARSウイルス、天然痘ウイルス、ワクシニアウイルス、痘瘡ウイルス、ウエストナイルウイルス、エボラウイルス、牛痘ウイルス、サル痘ウイルス、またはサル免疫不全ウイルスを有するまたはそれを発症する危険性がある。「ウイルス性感染症を有するまたはそれを発症する危険性がある」対象とは、症状の1つまたは複数の症候を有する者である。ウイルス性感染症の症候は、極めて多様であり、当業者に既知であり、不快感、発熱、悪寒、食欲減退、脱水症、頭痛、多呼吸、低酸素血症、および発汗が含まれるが、これらに限定されるわけではない。一般的なウイルス性感染症は、症候に基づいて診断され得る。ウイルスに対する抗体または抗原について、血液を試験することができる。ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術を用いて、多コピーのウイルス遺伝物質を作り出すことができ、医者がウイルスを迅速かつ正確に同定することを可能にしている。「ウイルス性感染症を発症する危険性がある」対象とは、ウイルス性感染症をもたらし得る状況に曝露されている者または免疫欠陥のある者である。免疫欠陥のある対象は、正常な免疫システムを有する対象に影響を及ぼす感染症に加えて、日和見感染症にとくにかかりやすい可能性がある。

#### 【0041】

10

20

30

40

50

本明細書において記載される方法の一面において、対象は、細菌性感染症、例えば炭疽菌 (*Bacillus anthracis*)、枯草菌 (*Bacillus subtilis*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、カンピロバクター・ジェジュニ菌 (*Campylobacter jejuni*)、カンピロバクター・ピロリ菌 (*Campylobacter pylori*)、クラミジア・トラコマチス (*Chlamydia trachomatis*)、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)、破傷風菌 (*Clostridium tetani*)、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、コリネバクテリウム・フシフォルメ (*Corynebacterium fusiforme*)、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、病原性大腸菌 (*Escherichia coli*)、インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*)、ヘリコバクター・ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、リステリア・モノサイトジェネス (*Listeria monocytogenes*)、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、リケッチア・リケッチイ (*Rickettsia rickettsii*)、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)、志賀赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大便連鎖球菌 (*Streptococcus faecalis*)、肺炎レンサ球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、化膿レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、またはペスト菌 (*Yersinia pestis*) を有するまたはそれを発症する危険性がある。「細菌性感染症を有するまたはそれを発症する危険性がある」対象とは、症状の1つまたは複数の症候を有する者である。細菌性感染症の症候は、極めて多様であり、当業者に既知であり、不快感、発熱、悪寒、食欲減退、脱水症、頭痛、多呼吸、低酸素血症、および発汗が含まれるが、これらに限定されるわけではない。サンプル (例えば、血液または尿) を培養して、サンプル中に存在する細菌種を判定することによって、細菌性感染症を診断することができる。「細菌性感染症を発症する危険性がある」対象とは、開放創を有する者または免疫欠陥のある者である。免疫欠陥のある対象は、正常な免疫システムを有する対象に影響を及ぼす感染症に加えて、日和見感染症にとくにかかりやすい可能性がある。

10

20

30

40

50

#### 【0042】

本明細書において記載される方法のいくつかの態様において、対象は、真菌性感染症、例えばカンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*)、カンジダ・グラブラタ (*Candida glabrata*)、カンジダ・パラシローシス (*Candida parapsilosis*)、カンジダ・ユチリス (*Candida utilis*)、アスペルギルス・フミガーツス (*Aspergillus fumigatus*)、アスペルギルス・フラブス (*Aspergillus flavus*)、クリプトコッカス・ネオフォルマンس (*Cryptococcus neoformans*)、ヒストプラズマ・カプスラーツム (*Histoplasma capsulatum*)、ニューモシスチス・イロヴェチ (*Pneumocystis jirovecii*)、またはスタキボトリス・チャータラム (*Stachybotrys chartarum*) を有するまたはそれを発症する危険性がある。「真菌性感染症を有するまたはそれを発症する危険性がある」対象とは、症状の1つまたは複数の症候を有する者である。真菌性感染症の症候は、極めて多様であり、当業者に既知であり、発熱、咳、胸痛、重度の頭痛、および息切れが含まれるが、これらに限定されるわけではない。サンプル (例えば、血液または尿) を培養して、サンプル中に存在する真菌種を判定することによって、真菌性感染症を診断することができる。「真菌性感染症を発症する危険性がある」対象とは、開放創を有する者または免疫欠陥のある者である。免疫欠陥のある対象は、正常な免疫システムを有する対象に影響を及ぼす感染症に加えて、日和見感染症にとくにかかりやすい可能性がある。

#### 【0043】

対象をプロファイリングおよび特徴付けした後、医療実践者 (例えば、医師) は、対象に対する適切な治療様式 (例えば、PAC含有抽出物) を選択することができる。対象に対する治療の選択は、例えば (i) 医薬の処方を書くこと; (ii) 対象に医薬を与えること (しかしながら、必ずしも投与する必要はない) (例えば、対象が診療室にいる間に、対象に処方薬のサンプルを手渡すこと); (iii) 提案されるまたは推奨される治療様式 (例えば、PAC含有抽出物) についての患者への情報伝達 (口頭の、書面による (処方以

外の)、または電子通信による(電子メール、安全サイトへの掲載));あるいは(iv)対象に対する適切な治療様式を同定すること、および例えば対象の記録によって他の医療関係者へ情報を広めることであってもよい。(iv)の後者は、例えば異なる医療実践者によって、対象に複数種の治療薬が投与される予定である場合に有用であり得る。

#### 【0044】

方法は、哺乳類、例えばヒトおよび他の動物を含む多様な対象に対して有効である。実験動物、例えばマウス、ラット、ウサギ、もしくはサル、または飼いならされた動物および家畜、例えばネコ、イヌ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、もしくはウマ等、獣医学的適用が検討される。

#### 【0045】

投与の方法

概して、標準的な薬学的に許容される賦形剤の有無にかかわらず、PAC含有抽出物を経口で、静脈内に、または直腸に投与することができる。これらの投薬量を、1回のボーラス投与として、あるいは1時間以上、または1日以上にわたる注入として投与することができる。さらに、PAC含有抽出物を、後天性免疫不全症候群(AIDS)、甲状腺機能低下症、結腸直腸癌腫、肥満、関節リウマチ、湿疹、アレルギー、ストレス、食中毒、または放射線療法もしくは化学療法の治療の経験を有するまたはそれを発症する危険性がある対象に対して、炎症性障害に対する別個の治療と同じ時間および長さで、または毎日投与することができる。

#### 【0046】

有効性に関する限り、経口投与が適切であり得る。例えば、PAC含有抽出物を、飲料(例えば、水、牛乳、ジュース、炭酸水、および他の風味付けされた液体)、ヨーグルト(例えば、プレーンまたは風味付けされたヨーグルト、ヨーグルトの飲み物、およびフローズンヨーグルト)、および食料(例えば、シリアル、シリアルバー、エネルギーバー、およびアイスクリーム)で投与することができる。液体または粉末形態のPAC含有抽出物を、必要であれば、甘味料等の添加物を添加することによって摂取することができる。結合剤、形成剤、潤滑剤、光沢剤、甘味料、および香味等の多様な周知の物質を用いることができる。これらの付加的方法によって、制限されるものではない。加えて、PAC含有抽出物を従来の飲料および食物と組み合わせる場合、種々の方法を用いることができる。そのような場合、用いられるPAC含有抽出物の量を、個々の飲食習慣に従って適切に調整することができる。

#### 【0047】

投与形態

組成物は、粉末形態のPAC含有抽出物を含有している錠剤の形態で利用可能であり得る。あるいは、組成物は、マイクロカプセル化した形態のPAC含有抽出物を含有している錠剤カプセルの形態であってもよい。さらなる可能性として、本組成物は、微粒化した形態のPAC含有抽出物を含有している錠剤カプセルの形態であってもよい。さらなる可能性では、本組成物は、カプセル内にPAC含有抽出物を含有している錠剤、錠剤内にPAC含有抽出物を含有しているカプセル、または上記の任意の組み合わせの形態であってもよい。

#### 【0048】

上記のPAC含有抽出物を含有している1つまたは複数の錠剤/カプセルの投与によって、本方法を実施してもよい。本組成物を、混和、粉碎、均質化、懸濁、溶解、乳化、分散、ならびに適切な場合には、クランベリーと、選択された賦形剤、希釈剤、キャリア、およびアジュバントとの混合を含む、薬学的組成物の調製のための当技術分野において既知の手段によって調製してもよい。

#### 【0049】

経口投与のために、本組成物は、錠剤、ドロップ、丸薬、トローチ、カプセル、エリキシル剤、凍結乾燥粉末を含む粉末、溶液、顆粒、懸濁液、乳濁液、シロップ、およびチンキ剤の形態であってもよい。徐放型または遅延放出型の形態を、例えば被覆粒子、多層錠剤、または微粒剤の形態で調製してもよい。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 0 】

経口投与のための固体形態は、薬学的に許容される結合剤、甘味料、崩壊剤、希釈剤、香味料、コーティング剤、防腐剤、潤滑剤、および／または時間遅延剤（time delay agent）を含有していてもよい。適切な結合剤には、アカシアゴム、ゼラチン、コーンスターチ、トラガカントゴム、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、またはポリエチレングリコール（PEG）が含まれる。適切な甘味料には、スクロース、ラクトース、グルコース、アスパルテーム、サッカリン、またはReb Aなどの植物由来の天然甘味料が含まれる。適切な崩壊剤には、コーンスターチ、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、キサンタンガム、ベントナイト、アルギン酸、または寒天が含まれる。適切な希釈剤には、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、デキストロース、カオリン、セルロース、炭酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、またはリン酸二カルシウムが含まれる。適切な香味剤には、ペパーミント油、ウィンターグリーンの油、サクランボ、オレンジ、またはラズベリーの香味料が含まれる。適切なコーティング剤には、アクリル酸および／もしくはメタクリル酸および／もしくはそれらのエステル、ポリマーもしくはコポリマー、ワックス、脂肪アルコール、ゼイン、セラック、またはグルテンが含まれる。適切な防腐剤には、安息香酸ナトリウム、ビタミンE、-トコフェロール、アスコルビン酸、メチルパラベン、プロピルパラベン、または重亜硫酸ナトリウムが含まれる。適切な潤滑剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、オレイン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、またはタルクが含まれる。適切な時間遅延剤には、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルが含まれる。

10

20

## 【 0 0 5 1 】

経口投与のための液体形態は、上記の作用物質に加えて、液体キャリアを含有していてもよい。適切な液体キャリアには、水、オリーブ油、ピーナッツ油、ゴマ油、ヒマワリ油、サフラワー油、ラッカセイ油、ヤシ油、液体パラフィン、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、グリセロール、脂肪アルコール、トリグリセリド、またはそれらの混合物等の油が含まれる。

## 【 0 0 5 2 】

経口投与のための懸濁液は、分散剤および／または懸濁化剤をさらに含んでもよい。適切な懸濁化剤には、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、アルギン酸ナトリウム、またはセリルアルコールが含まれる。適切な分散剤には、レシチン、ステアリン酸等の脂肪酸のポリオキシエチレンエステル、ポリオキシエチレンソルビトール・モノ-もしくはジ-オレエート、-ステアレート、または-ラウレート、ポリオキシエチレンソルビタン・モノ-もしくはジ-オレエート、-ステアレート、または-ラウレートなどが含まれる。

30

## 【 0 0 5 3 】

経口投与のための乳濁液は、1種または複数種の乳化剤をさらに含んでもよい。適切な乳化剤には、上記に例示される分散剤、またはアカシアゴムもしくはトラガカントゴム等の天然ゴムが含まれる。

## 【 0 0 5 4 】

本開示の精神および範囲から逸脱することなく、本明細書において記載されるものの変動、修正、および他の遂行が当業者に思い当たるであろう。したがって、これらは、先行する例証的記載にのみ限定されるべきではない。

40

## 【 0 0 5 5 】

本明細書において記載される態様を含む本組成物および本方法とともに用いられ得るさらなる例証的特質のために、それらの全体が参照により組み入れられる、本明細書において挙げられている文書を参照されたい。上記の例証的態様と本明細書において引用される文書および参考文献に記載されるそれらの特質との間のすべての機能的組み合わせは、潜在的に特許性のある態様であると考えられる。

## 【 実施例 】

50

## 【 0 0 5 6 】

特許請求の範囲において記載される本発明の範囲を限定するものではない以下の実施例において、本発明をさらに記載する。

## 【 0 0 5 7 】

## 実施例1：クランベリー の分画

## C18 Flash chromatographyを用いた水性クランベリー 溶液の調製

1Lの蒸留水を有する2Lビーカーにクランベリー 濃縮粉末（60g）を添加した。混合物をC18 Flash Chromatographyカラムに載せ、500mlの蒸留水および500mlの15%メタノール：蒸留水で連続的に洗浄した。溶出液は廃棄した。500mlのメタノール中1%酢酸で溶出し、溶出液を回収した。

10

## 【 0 0 5 8 】

## LH20 Gel Chromatography

カラムを500mlの蒸留水で事前に洗い流した。C18カラムからのメタノール流出液をLH20カラムに載せた（約150ml）。カラムを500mlの蒸留水で洗浄した。次いで、500mlの50%エタノール：蒸留水を用いて、画分BおよびCを溶出した。分液漏斗での酢酸エチル液体分離によって、画分BおよびCをさらに分離した。画分Bを水相に単離し、画分Cを溶媒相に単離した。LH20カラムを500mlの70%アセトン：蒸留水でさらに溶出し、溶出液を回収して画分Aを得た。画分Fを画分Aと同様に得た。溶媒を真空下（Bucchi-P3）で蒸発させ、液体を-80℃で凍結させることができる（約150ml）。

20

## 【 0 0 5 9 】

例示的な方法において、その全体が参照により本明細書に組み入れられるWO 2010/121203に記載されているように、画分Eを得ることができる。

## 【 0 0 6 0 】

（表1）PAC含有抽出物、画分A、B、C、E、およびFの特性

| 画分        | A     | B     | C     | E     | F     |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 総重量(mg)   | 1000  | 86    | 115   | 5000  | 1000  |
| PACS %    | 80-95 |       | 40-55 | 55-85 | 80-95 |
| 有機酸 %     |       |       |       | 1     |       |
| 糖質 %      |       | 67.5  |       | 1     |       |
| フェノール酸 %  | 6.4   | 21.06 | 1     | 6     | 2.7   |
| アントシアニン % | 1     | 10.8  | 14    | 13    | 15.5  |
| フラボノール %  | 2     | 0.27  | 34    | 10    |       |
| 合計        | 99.4  | 99.63 | 100   | 101   | 100.2 |

30

## 【 0 0 6 1 】

## 実施例2：クランベリー PACは病原性細菌を減少させる

内在性細菌叢を反映する、複雑な「混合」培養物に関するインピトロバッチアッセイを用いて、クランベリー 粉末および画分を糞便細菌とインキュベートした。クランベリー 物質との8時間のインキュベーション後のプレートカウントによって、細菌培養物を評価した。物質を査定しており、結果を以下の表2に示す。結果は、クランベリー が、有益な細菌に影響を及ぼすことなく、推定病原性細菌を減少させることによって胃腸の健康を支援し得ることを示している。胃腸細菌叢に対するより選択的な効果のために、PAC濃縮画分を利用することができる。

40

## 【 0 0 6 2 】

（表2）細菌の数を減少させるクランベリー 粉末および画分Fの効果

|                         | 総嫌気性菌 | クロストリジウム属 | エンテロコッカス属 | ラクトバチルス属 |
|-------------------------|-------|-----------|-----------|----------|
| 全果実からの<br>クランベリー<br>濃縮物 | 減少    | 減少        | 減少        | 変化なし     |
| PAC濃縮物(F)               |       |           | 減少        | 変化なし     |

## 【 0 0 6 3 】

実施例3：PAC含有抽出物は  $\gamma$  型T細胞の増殖を増大させる

PBMC取得用のクエン酸デキストロース (citrate dextrose) チューブ、および血清用の1本の10mL SST (商標) チューブ (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) に、滅菌条件下で、断食中の対象から血液を回収した。血清を、遠心分離 (2000 × g、10分間、4℃) 後に取り出し、各採血の日に準備されたアッセイにおける自己血清として用いた。

## 【 0 0 6 4 】

PBMCを得るために、全血液を1:1生理食塩水に希釈し、20℃にて20分間800 gで遠心分離し、Lympholyte H (登録商標) Cell Separation Media (Cedarlane Laboratories Ltd., Hornby, Ontario) 上に層状に重ねた。単核細胞の層を取り出し、RPMI-1640 (Cellgro; Mediatech, Herndon, VA) 完全培地 (complete) で2回洗浄した。細胞ペレットを2mLのRPMI-1640完全培地に再懸濁し、血球計算板でカウントした。

## 【 0 0 6 5 】

血液回収の日に、 $0.5 \times 10^6$  個のPBMCを細胞表面マーカーで染色して、PBMC懸濁液中の特異的細胞集団のパーセンテージを判定し、10%自己血清および32.5U/mLの組換えヒトIL-2 (BD Biosciences, San Diego, CA) を含有している1mL RPMI-1640完全培地中の $1.0 \times 10^6$  個のPBMCを、24ウェル組織培養プレート (Costar, Corning, NY) に2ウェルずつ入れた。PAC含有抽出物を種々の濃度で用いて、細胞の増殖を活性化または引き起こした。24時間または48時間または5日間、37℃の加湿した5% CO<sub>2</sub> 雰囲気下でプレートをインキュベートした。最終的に、最も有用である濃度は有意な細胞死をもたらさず、細胞は刺激されて増殖しまたは表面マーカーを発現した。

## 【 0 0 6 6 】

培養細胞を収集し、30分間染色し、1%パラホルムアルデヒドで固定し、3色蛍光のFACS sort Flow Cytometer (Becton Dickinson) で読み取った。四分円のドットプロットから、細胞のパーセンテージとしてデータを回収し、一方で、ゲートをかけた集団における蛍光の強度から、活性化のマーカーを判定した。画分Aでラベルした抽出物は、 $\gamma$  型T細胞の増殖を刺激したが、一方で、画分BおよびCは同じ効果を有しないようであった。

## 【 0 0 6 7 】

(表3) 5日間での  $\gamma$  型細胞の増殖および活性化のパーセント

| 処理                | $\gamma$ $\delta$ 型T細胞の増殖の% | $\gamma$ $\delta$ 型T細胞の活性化<br>(蛍光強度) |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| 陽性対照              | 5                           | 1000                                 |
| 陰性対照              | 2.5                         | 200                                  |
| 画分A (100 $\mu$ g) | 9                           | 3400                                 |
| 画分B (100 $\mu$ g) | 3                           | 600                                  |
| 画分C (100 $\mu$ g) | 3                           | 200                                  |



## 【0068】

抽出物の組成によれば、PACおよびフラボノールの両方が活性に重要であるが、他の成分の存在は活性化合物の活性を弱体化させないことが示唆される。同じプロトコールを用いて、分離調査によって画分EおよびFを試験した。画分Eは、10日間のインキュベーション後に T細胞を刺激した。結果は、PAC濃縮画分EおよびFは、 T細胞を刺激することを示した（図1Aおよび1B）。

## 【0069】

実施例4：THP-1単球のCD14およびCD49発現に対するPAC含有抽出物A、E、およびFの効果  
0.5mLのTHP-1単球を、 $1 \times 10^6$ 細胞/mLで24ウェルプレートにプレートした。次いで、各抽出物をDMSOに溶解して、5mg/mL、25mg/mL、および100mg/mLの最終濃度をもたらすこと  
10  
によって、PAC含有抽出物A、E、およびFの連続希釈液を作製した。次いで、各処理物および対照をRPMI 1640培地に、1  $\mu$ Lの処理物または対照あたり0.5mLの培地にて、さらに希釈した。0.5mLの処理物/培地または対照/培地の希釈液を、24ウェルプレートのそれぞれのウェルに2ウェルずつ添加した。それぞれのウェルにおける処理物の最終濃度は、各クランベリー画分に対して5  $\mu$ g/mL、25  $\mu$ g/mL、および100  $\mu$ g/mLであった。DMSO対照ウェルおよびクランベリー画分ウェルにおけるDMSOの最終パーセンテージは0.1%であった。処理した細胞を、6時間および48時間の期間インキュベートした。各時点において、細胞を収集し、CD14-PEおよびCD49a-FITC抗体で染色し、かつフローサイトメトリー分析のために固定した。画分A、E、およびFは、CD14およびCD49a発現を刺激し得、THP-1単球の活性化を示唆した（図2および3）。

20

## 【0070】

実施例5：PAC含有抽出物は、炎症性遺伝子を低下させかつ免疫機能を改善する

ヒト単球系細胞株を2種のPAC含有抽出物、画分Eおよびクランベリー濃縮粉末（100mg/mL）で処理し、続いてリポ多糖（LPS、100ng/mL）を負荷した。3つの異なる用量（25、50、および100mg/mL）を試験した。GENECHIP（登録商標） Human Genome U133A 2.0 Arrayは、14,500ウェルの特徴付けされたヒト遺伝子を提示している単一アレイである。結果は、556個の遺伝子の一覧（ $p < 0.05$ ）が処理によって有意に影響を受けたことを示唆している。遺伝子発現マイクロアレイによって、PAC含有抽出物（画分Eおよびクランベリー濃縮粉末）に反応するいくつかの免疫関連遺伝子が同定された。遺伝子の部分集合をより詳細に調べた。画分Eは、MSR1（マクロファージのスカルビン受容体）およびMTF1（メタロチオネイン1F）を有意に増大させた。これらのタンパク質は、酸化ストレスから身を守る宿主の反応に関与する。活性は、クランベリー粉末全体よりも抽出物に関してより顕著である。

30

## 【0071】

画分Eに最も感受性がある遺伝子は、CSF2、OAS1、MT1F、およびCCNL2であった。濃縮粉末全体は、有意により低い効果を有する。これらの遺伝子は、サイトカインおよび他の炎症性マーカーによって修飾され、クランベリーおよびその成分が、炎症および免疫機能に対する治療効果を持つことを示している。これらの知見は、クランベリーポリフェノールの補給が、炎症および免疫のプロセスを調節し得ることを示唆している。

## 【0072】

（表4）マイクロアレイおよびRT-PCR分析は、抽出物および濃縮粉末に反応した変化を裏付ける

40

| 遺伝子   | 抽出物E | 濃縮粉末 |
|-------|------|------|
| 免疫応答  |      |      |
| MSR1  | 上昇   | 変化なし |
| MT1F  | 上昇   | 変化なし |
| CSF2  | 低下   | 低下   |
| HerC5 | 低下   | 変化なし |
| IFIT3 | 低下   | 変化なし |
| OAS1  | 低下   | 変化なし |
| IFIT1 | 低下   | 変化なし |
| CCLN2 | 低下   | 低下   |

10

## 【 0 0 7 3 】

実施例6：LPS誘導性一酸化窒素合成酵素に対するクランベリーフェノール類の効果  
マクロファージの細胞培養：

DMEM（フェノールレッドを含む）、10%FBS、1%ペニシリン/ストレプトマイシン、および1%L-アラニル-L-グルタミンを用いて、RAW 264.7マウスマクロファージを24ウェル培養プレートで増殖させた。細胞がコンフルエントに達した時点で、クランベリー粉末由来のクランベリーフェノール類（事前に条件付けした逆相カラム（C18、Waters Sep-Pak）、水でのすすぎ、次いでメタノールでの溶出によって精製された）を、DMEM培地（フェノールレッドを含まない、0.5%FBS、1%ペニシリン/ストレプトマイシン、および1%L-アラニル-L-グルタミン）に、25、50、100、および200 μg没食子酸相当量のクランベリーポリフェノール（GAE）/ml培地で添加した（n=4）。リポ多糖（LPS）を含有していない培地、100ng LPS/mlの培地（大腸菌055:B5、Sigma L6529）、または0~200 μg GAE/ml培地（上記）を含む100ng LPS/mlの培地で置換し、4時間インキュベートした。培地を除去し、細胞をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で洗浄し、かつプロテアーゼ阻害剤を含む融解バッファーを添加して、細胞を溶解した。ホモジナイズ後、1サンプルにつき分析される50 μgのタンパク質を、5%アクリルアミド・スタッキングゲルを有する7.5%アクリルアミドSDS-PAGEゲルに載せた。分離後、タンパク質をポリフッ化ビニリデン（PVDF）膜に転写した。5%ミルクでのブロッキング後、COX-2/iNOSタンパク質を、COX-2/iNOS特異的抗体と、続いて西洋ワサビペルオキシダーゼ結合二次抗体と結合させた。タンパク質COX-2、iNOS、および-アクチン（処理によって影響を受けない構成的に発現しているタンパク質）を、Pierce Super Signal PICO West Chemiluminescent Substrateで検出した。膜をX線フィルムに曝露し、暗室法で現像した。BioRad Quantity Oneソフトウェアを用いて、タンパク質のバンドを定量化した。結果は、陽性LPS対照と比較して、クランベリーポリフェノールがiNOS発現を阻害し得る能力を有することを示した。

20

30

## 【 0 0 7 4 】

（表5）

40

| 処理                   | LPS対照に対する%   |
|----------------------|--------------|
| 陰性対照 LPSなし           | 0            |
| 陽性対照 LPS             | 100          |
| LPS + 25 $\mu$ g 粉末  | 106 $\pm$ 13 |
| LPS + 50 $\mu$ g 粉末  | 108 $\pm$ 17 |
| LPS + 100 $\mu$ g 粉末 | 33 $\pm$ 6   |
| LPS + 200 $\mu$ g 粉末 | 4.0 $\pm$ 6  |

10

## 【 0 0 7 5 】

## 実施例7：酸化ストレスの低下

HepG2細胞における活性酸素種の産出およびそれらの効果に対するアッセイを用いて、同じ物質であるクランベリー濃縮粉末および画分Eを試験した。本調査のために、2つの異なるタイプの実験：A) 試験した抽出物の直接的効果について試験するための、クランベリー濃縮粉末および画分Eを用いて細胞を単純に24時間処理する実験、ならびにB) 酸化傷害に対する抽出物の保護効果について試験するために、細胞をt-ブチル-ヒドロペルオキシド (t-BOOH) による酸化ストレスにかける前に、クランベリー濃縮粉末および画分Eを用いて細胞を20時間前処理する実験を設計した。第一の実験において、細胞を、24ウェルプレート中で異なる濃度のクランベリー濃縮粉末および画分Eとともに24時間培養し、蒸留水に溶解し、次いで無血清培養培地に溶解し、ジクロロフルオレセイン (DCFH) プロブを30分間添加し、次いでそれらを2回洗浄した後、400  $\mu$ Mのt-BOOHを含む (t-BOOHウェル) または含まない (残りのウェル) 単純な無血清培地で90分間処理した。第二の実験において、異なる濃度のクランベリー濃縮粉末および画分Eを細胞プレートに20時間添加し、DCFHプロブを30分間添加し、次いで細胞プレートをPBSで2回洗浄し、対照以外のすべての培養物に、400  $\mu$ Mのt-BOOHを含有している新たな無血清培地をアッセイの90分間添加した。

20

## 【 0 0 7 6 】

マイクロプレートリーダーを用いたジクロロフルオレセインアッセイによって、細胞の酸化ストレスを定量化した (Wang et al, Free Rad. Biol. Med. 1999, 27, 612-616; Le Bel et al, Chem. Res. Toxicol. 1992, 5, 227-231)。条件を加えた後、蛍光マイクロプレートリーダーで485nmの励起波長および530nmの発光波長において、マルチウェルプレートを直ちに測定した (時間 = 0)。細胞内の酸化剤によって酸化された後、DCFHはジクロロフルオレセイン (DCF) になり、蛍光を放つ。蛍光を定量化することによって、異なる条件下で産出された酸素種全体の正しい概算が得られた (11-12)。

30

## 【 0 0 7 7 】

クランベリー濃縮粉末および画分Eに対する結果は、90分間の400  $\mu$ Mのt-BOOHと比較して、0.5 ~ 10  $\mu$ g/mlの濃度における両方での処理によって産出されたROSは、ストレスを受けていない対照細胞のものより明確に下回るROSレベルを産出したことを示した。画分Eを用いた細胞の20時間の前処理は、t-BOOHによって誘導されるROSの過剰産生に対する有意な保護を惹起した。この保護は用量反応パターンに従い、より高用量 (5 ~ 10  $\mu$ g/mL) では、より低用量 (0.5 ~ 1  $\mu$ g/mL) よりも傷害に対するより高い保護を示した。これらのデータは、ストレス期間の間に産出された高レベルのROSが、細胞損傷の低下をもたらす画分Eで前処理された細胞において、より効率的に抑制されることを示唆している (図4)。

40

## 【 0 0 7 8 】

## 実施例8：臨床試験

対象は、最初の採血 (d = 0) に到達し、実験的処理群 (クランベリー飲料) およびプラセボ群に無作為に割り振られた。処理に関して、対象および調査員の両方ともに盲検であった。Ocean Spray, Inc. (Middleboro, MA) によって、クランベリー飲料 (CB) および

50

プラセボ飲料（PB）が提供され、未開封および開封済みの飲料のボトルを2～7 で冷蔵保存するように推奨された。クランベリー飲料は、濾過された水、濃縮物由来のクランベリー成分、糖類、天然香料、赤色40号および青色1号（色素）、クエン酸、ならびにスクラロースを含有していた。プラセボ飲料は、クランベリー成分なしの、色素、カロリー、および甘味料を合わせた飲料であった。すべての参加者は、それぞれ450mL（15oz）の飲料を含有している72本のボトルを与えられ、1日を通して1本のボトルを70日間（10週間）毎日飲むように指示された。参加者は、調査の最後にいかなる残っているボトルも返却するように指示された。

#### 【0079】

対象は、10週間の実験期間の間のいかなる風邪およびインフルエンザの症候も記録するために病気日誌を与えられた。主要アウトカムを、発生数（病気の回数、期間（日数）、および重症度（総発生数当たりの総症候数））として予め定義した。査定された症候は、鼻水もしくは鼻づまり、咳、くしゃみ、発熱および／もしくは悪寒、喉の痛み、頭痛、喘鳴、ならびに腸の苦痛（吐き気、嘔吐、下痢、および／または腹部の痙攣を含む）であった。アレルギーの症候は、分析に含まれなかった。対象は、彼らが授業または仕事を休んだかどうか、彼らが医学的治療を求め、求めた結果としていずれかの医薬を処方されたかどうか、彼らが受けた市販の医薬は何であったか、および病気の症候のために彼らが活動の相当な低下を有したかどうかについて報告することも要求された（表6）。

#### 【0080】

（表6）

|                           | プラセボ    | クランベリー飲料 |
|---------------------------|---------|----------|
| n=                        | 23      | 22       |
| 報告された<br>総発生数             | 26 (14) | 19 (15)  |
| 風邪および<br>インフルエンザの<br>総症候数 | 292     | 213      |
| 仕事／授業を<br>休んだ総日数          | 29      | 22       |
| 活動の低下が<br>報告された総時間        | 25      | 17       |

#### 【0081】

10週目に、調査参加者は、最後の採血のためおよび終了アンケートを完了させるために戻った。終了アンケートには、対象が飲料の任意の副作用を経験したかどうか、任意のビタミン／ミネラルもしくは栄養補助食品を摂取したかどうか、またはタバコを吸ったかどうかを判定する質問が含まれた。盲検の有効性を判定するために、対象は、彼らが研究用飲料を受けているかまたはプラセボ飲料を受けているかを彼らは考えたかどうか、および彼らがなぜそう考えたかを報告した。全体的な調査の順守を、彼らが調査の期間に飲料を飲み損なったかどうかについての参加者の自己報告によって、および調査の最後に返却された飲料のボトルの数によって査定した。

#### 【0082】

本実験において、インビトロの抽出物の試験に対して同じプロトコールが実行されたが、画分Eまたはプラセボから作られた飲料を10週間消費している対象からのPBMCを用いた。対象から血液を採取し、PBMCを単離した。上記のインビトロの節で記述されているように、PBMCを処理した。表7に示される結果は、10週間の補給後、画分Eを含有している飲料を消費している対象は、型T細胞の増殖が5倍増大したことを示した。同時に、増殖の

増大は、IL-17およびTNF 等の炎症性マーカーの増大をもたらさなかったことが示された。

### 【 0 0 8 3 】

(表7) プラセボと比較した、画分Eから作られた試験飲料を消費している対象由来の型T細胞の増殖

| γ δ 型T細胞の増殖          | プラセボ                | クランベリー飲料          |
|----------------------|---------------------|-------------------|
|                      | 比率：0日間の培養に対する6日間の培養 |                   |
| ベースライン               | $1.03 \pm 0.28^C$   | $0.94 \pm 0.28^C$ |
| 10週間                 | $2.23 \pm 0.27^B$   | $4.80 \pm 0.28^A$ |
| 処理                   | $p < 0.001$         |                   |
| 時間                   | $p < 0.001$         |                   |
| 相互作用                 | $p < 0.001$         |                   |
| TNF-α                |                     |                   |
|                      | pg/ml 培養上清          |                   |
| ベースライン               | $717.3 \pm 94.7$    | $881.9 \pm 94.7$  |
| 10週間                 | $610.7 \pm 90.5$    | $591.7 \pm 90.1$  |
| 培養されたPBMCによるIL-17の分泌 |                     |                   |
|                      | pg/ml 培養上清          |                   |
| ベースライン               | $147.2 \pm 9.3^B$   | $175.6 \pm 9.6^A$ |
| 10週間                 | $129.4 \pm 9.3^B$   | $142.6 \pm 9.6^B$ |
| 処理                   | $p = 0.428$         |                   |
| 時間                   | $p = 0.010$         |                   |
| 相互作用                 | $p = 0.425$         |                   |

10

20

30

### 【 0 0 8 4 】

実施例9：クランベリーポリフェノールは、tolI様受容体4の経路およびNF-KBの活性化を下方制御し、一方で腫瘍壊死因子の分泌を依然として増強する

植物由来のポリフェノール（PP）は、抗炎症特性を有することが示されている。クランベリー由来のPPの抗炎症性質を調査するために、3つのクランベリー画分（CF）をヒト前骨髄球性白血病細胞株のHL60細胞とともにインキュベートした。1つのCFはクランベリープレスケーキ由来のPACを含有しており、1つはクランベリージュース由来のPACが豊富であり、もう1つはPACを含むジュース由来のPPを含有していた。分化させたHL60細胞を、各CFおよびリポ多糖（LPS）とともに培養した。リン酸化IKB およびIRAK4タンパク質のレベルは、LPS対照と比較して、CFとともに培養した細胞においてより低く、一方で総IKBは、LPS対照と比較して、CFによって増大した（図5～7）。CFとともにインキュベートした細胞からのTNF 分泌は、LPS対照よりもより高かった（図8）。クランベリーPPは、シグナル伝達中間タンパク質としてIRAK4を用いるToII様受容体4シグナル伝達経路を介したLPS活性化から好中球を保護する。IKB は、リン酸化されずかつ分解されず、ゆえにNF-KBを放出しない。しかしながら、TNF 発現は、画分で処理した細胞において依然として上方制御され、それゆえその産生および分泌は、代替的経路を介してこれらの画分によって刺激される。

40

50

## 【 0 0 8 5 】

実施例10：無作為化プラセボ対照治療介入における、ヒトの胃腸微生物群および尿代謝産物に対するクランベリージュース摂取の効果

クランベリーポリフェノールは、病原性細菌の接着および増殖を低下させることによって健康を支援する。この無作為の二重盲検の横断的な予備調査では、糞便微生物群および尿代謝産物に対する、ライトな27%クランベリージュース飲料（LCB）対プラセボ飲料（LPB）を消費することの効果と比較した。20～40歳の健常な対象（ $n=5$ ）は、1ヶ月のウォッシュアウトを含む、2回の6週間の治療介入期間に、480ml/d LPBまたはLCBを受けた。糞便サンプルを、ベースライン、3週間、および6週間の時点で、かつ24時間尿を、ベースラインおよび6週間の時点で回収した。16S rRNA遺伝子の末端制限酵素断片長多型および定量的PCR（QPCR）によって測定される微生物群構成は、6週間の時点において処理間で有意に違っていた（MRBP； $p=0.036$ ）。対象がLCBを受けた場合、ビフィドバクテリウム属（*Bifidobacteria*）（総真正細菌に対する%として）は有意に増大し（ $F=6.19$ 、 $p<0.015$ ）、バクテロイデス門（*Bacteroidetes*）、ラクトバチルス属（*Lactobacillus* sp.）、腸内細菌（*Enterobacteria*）、または*C. コッコイデス*（*C. coccoides*）/*E. レクタレ*（*E. rectale*）群に対して有意な効果はなかった（qPCRによるおよび時期効果を調整することによる）。LCB摂取は、49種の尿代謝産物、とりわけヌクレオチド代謝産物、およびクランベリー健康研究を導くのに役立つ、プロトカテク酸-3-グルコシド（Metabolon, Inc, NC）を含む潜在的摂取マーカーを有意に変化させた。結果は、クランベリージュース摂取が、いくつかの有益な片利共生細菌のパーセンテージを減少させることなく、ヒト胃腸微生物群を調節し得ることを示唆している。

10

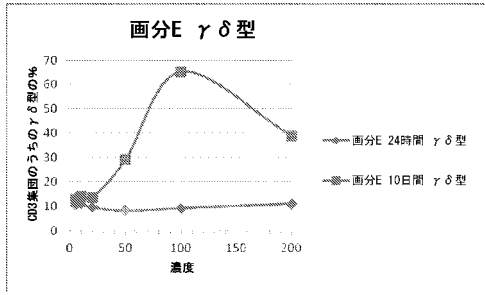
20

## 【 0 0 8 6 】

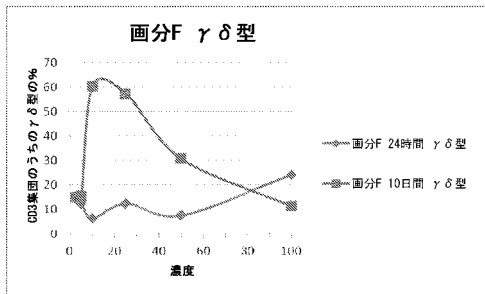
他の態様

本発明は、その詳細な説明とともに記載されているが、上述の説明は、例証することを意図するものであって、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を限定するものではないと理解されるべきである。他の局面、利点、および修正は、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。

【 図 1 】

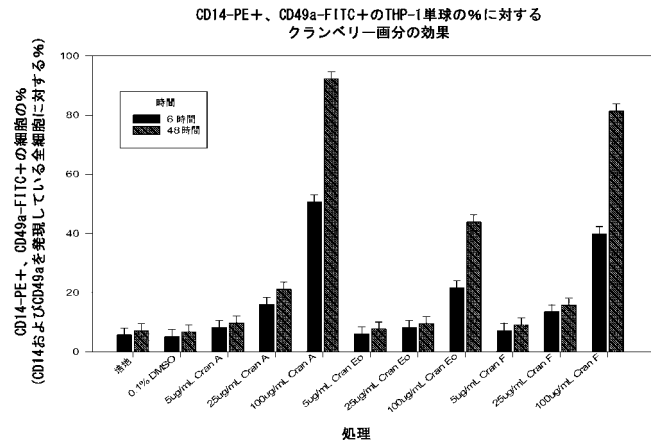


A



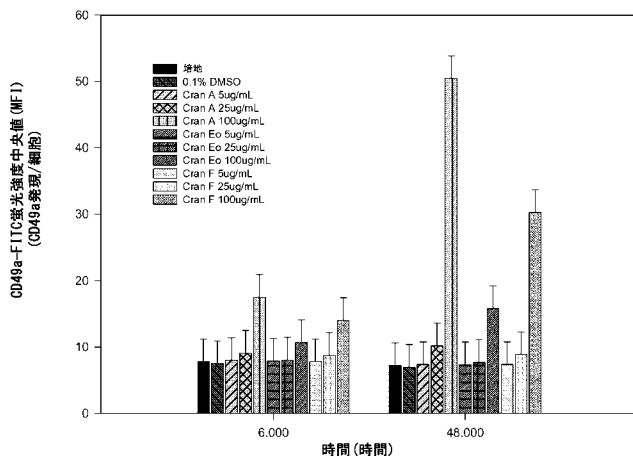
B

【 図 2 】



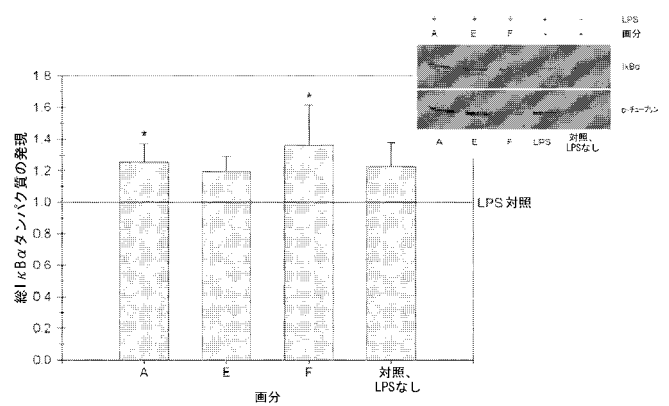
【 図 3 】

クランベリー抽出物で処理した  
THP-1単球におけるCD49aの発現

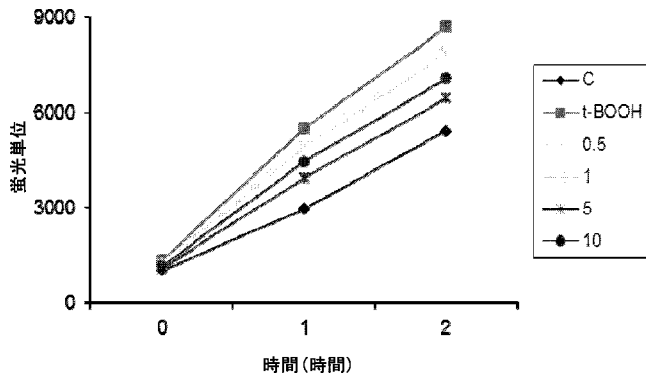


【 図 5 】

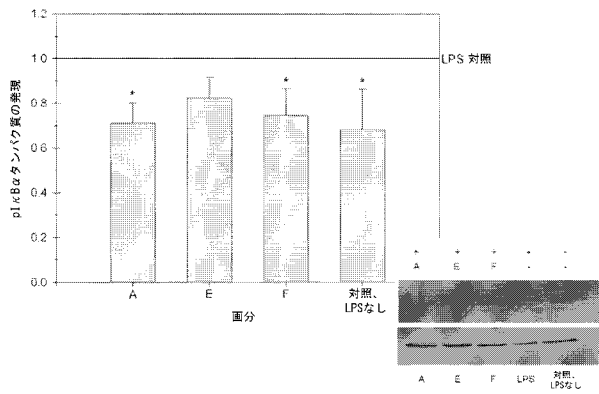
総 $I\kappa B\alpha$ タンパク質の結果



【 図 4 】

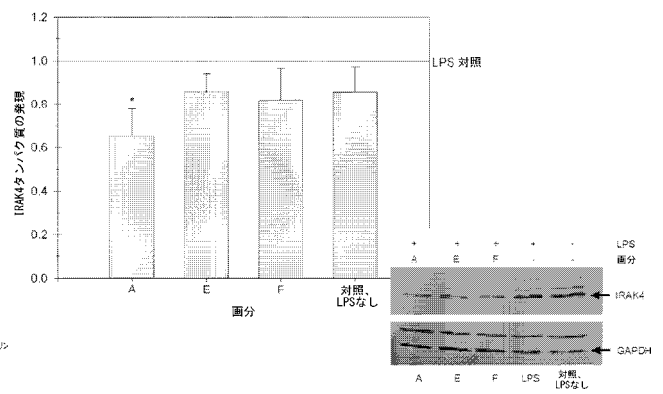


【図 6】

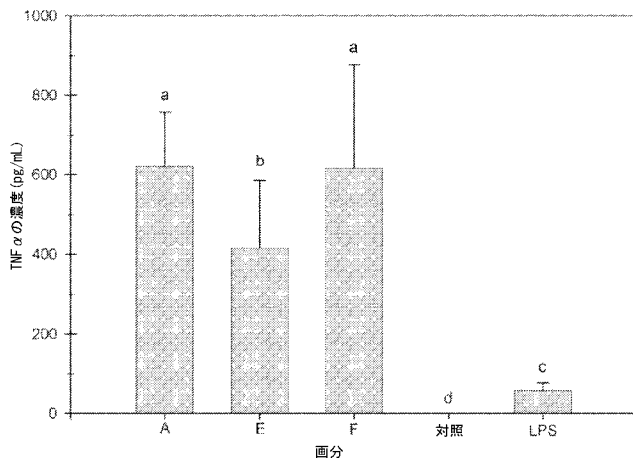
リン酸化I $\kappa$ B $\alpha$ タンパク質の結果

【図 7】

## IRAK4タンパク質の結果



【図 8】

TNF $\alpha$ 分泌の結果



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/31581

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A01N 65/00; A61K 36/87 (2012.01)

USPC - 424/766

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)  
USPC- 424/766Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
USPC- 514/15.1, 21.91 (see search terms below)Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
PubWest (US Pat, PgPub, EPO, JPO), GoogleScholar (PL, NPL), FreePatentsOnline (US Pat, PgPub, EPO, JPO, WIPO, NPL);  
search terms: proanthocyanidine, epicatechine, cranberry, inflammation, auto-inflammatory, immunological, infection, bacterial, viral

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                      | Relevant to claim No.      |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| X         | US 2009/0226548 A1 (MINATELLI et al.) 10 September 2009 (10.09.2009) para [0007], [0012], [0015], [0019], [0026]-[0032] | 1-3, 5-8, 10, 12-16, 18-20 |
| Y         |                                                                                                                         | 4, 9, 11, 17               |
| Y         | US 2005/0019389 A1 (ROZHON et al.) 27 January 2005 (27.01.2005) para [0020], [0028]-[0034], [0083], [0087], [0091]      | 4, 9, 11, 17               |
| Y         | WO 2008/004224 A2 (LEVINE) 10 January 2008 (10.01.2008) pg 6-27                                                         | 1-20                       |
| Y         | US 2002/0054924 A1 (LEAHY et al.) 09 May 2002 (09.05.2002) para [0007]-[0080]                                           | 1-20                       |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

## \* 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 June 2012 (13.06.2012)

Date of mailing of the international search report

28 JUN 2012

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450  
Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300  
PCT OSP: 571-272-7774

## フロントページの続き

|                                 |  |                |             |
|---------------------------------|--|----------------|-------------|
| (51) Int.Cl.                    |  | F I            | テーマコード (参考) |
| <b>A 6 1 P 1/04 (2006.01)</b>   |  | A 6 1 P 1/04   |             |
| <b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>  |  | A 6 1 K 45/00  |             |
| <b>A 6 1 K 31/352 (2006.01)</b> |  | A 6 1 K 31/352 |             |

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

(74) 代理人 100102118  
弁理士 春名 雅夫

(74) 代理人 100160923  
弁理士 山口 裕孝

(74) 代理人 100119507  
弁理士 刑部 俊

(74) 代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100130845  
弁理士 渡邊 伸一

(74) 代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74) 代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 クー クリスティーナ  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 レイクビル - ミドルボロ オーシャン スプレー ドライブ 1

(72) 発明者 リスカ ディアン  
アメリカ合衆国 ミシガン州 バトル クリーク ハンブリン アベニュー イースト 2

(72) 発明者 パーシバル スーザン エス.  
アメリカ合衆国 フロリダ州 ゲーンズビル ノースウェスト 第27 テラス 3225

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 NA05 NA14 ZA661 ZB111 ZB112 ZB331 ZB351

4C086 AA01 AA02 BA08 GA17 MA01 MA02 MA04 NA14 ZA66 ZB09

ZB11 ZB33 ZB35