(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-515358
(P2025-515358A)
(43)公表日　令和7年5月14日(2025.5.14)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/4172(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4172	４Ｂ０１８
Ａ６１Ｋ	*31/198(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/198	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*38/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/02	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*1/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/16	４Ｃ２０６
Ａ６１Ｐ	*3/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/04	４Ｈ０４５

審査請求　未請求　予備審査請求　有　（全60頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-563636(P2024-563636)
(86)(22)出願日　令和5年4月25日(2023.4.25)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月10日(2024.12.10)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/060827
(87)国際公開番号　WO2023/208944
(87)国際公開日　令和5年11月2日(2023.11.2)
(31)優先権主張番号　22382390.7
(32)優先日　令和4年4月25日(2022.4.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,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
最終頁に続く

(71)出願人　518421418
ファンダシオ ユーレキャット
スペイン ０８２９０ セルダニオーラ デル ヴァレス バルセロナ，アヴィングダ ウニヴェルディテート アウトノマ，２３，パルク テクノロジー デル ヴァレス
(71)出願人　524393615
ファンダシオ インスティチュート デ インベスティゲーシオ バイオメディカ デ ジローナ ドクター ジョゼップ トゥルエータ
スペイン国，１７１９０ ソルト，エディフィシ デ ラ マンコムニタ ２－パルク ホスピタラリ マルチ イ ジュリア，
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　アミノ酸の組合せを有する医薬組成物および栄養補助組成物ならびに組織への脂質蓄積を特徴とする疾患におけるその使用

(57)【要約】
本発明は、ヒスチジン、セリン、システインおよびカルノシンを含む化合物の特定の組合せを含む医薬組成物または栄養補助食品組成物を開示する。組成物は食品中の成分として提案されており、脂肪肝疾患、肥満、およびアテローム性動脈硬化症などの組織中の脂肪の蓄積を特徴とする疾患の治療に有効であることが証明されている。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、
（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システインならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、
（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド
を含む、医薬組成物または栄養補助食品組成物。
【請求項２】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、
（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システイン、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、
（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣ、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含むペプチド
を含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、
（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ
を含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、
（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは、
（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物
を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項５】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つを含む、請求項１または３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６】
１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７】
システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ

当たり１．３～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～２００ｍｇの用量を与えるものである、請求項１～４のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項８】

システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり３０～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２００ｍｇの用量を与えるものである、請求項７に記載の組成物。

【請求項９】

ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１．３～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～２００ｍｇの用量を与えるものである、請求項１～６のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１０】

ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり３０～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の前記治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２００ｍｇの用量を与えるものである、請求項９に記載の組成物。

【請求項１１】

ヒスチジンの前記薬学的または栄養補助的に許容される塩がＬ－ヒスチジンの塩酸塩である、請求項１～１０のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１２】

ヒスチジンの前記薬学的に許容される塩がＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物である、請求項１～１１のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１３】

システインの前記薬学的または栄養補助的に許容される塩がＬ－システインの塩酸塩である、請求項１～４、７、８、１１または１２のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１４】

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；

－治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣ；

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む、請求項１～６または９～１２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１５】
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－システイン塩酸塩；
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む、請求項１～４および７、８、１１～１３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１６】
請求項１～１５のいずれか一項に記載の医薬または栄養補助食品組成物を含む、固体または液体形態の食品。
【請求項１７】
飲料である、請求項１６に記載の食品。
【請求項１８】
治療における使用のための、請求項１～１５のいずれか一項に記載の医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物、または請求項１６～１７のいずれか一項に記載の食品。
【請求項１９】
脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシス、およびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療における使用のための、請求項１８に記載の使用のための医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物または食品。
【請求項２０】
非アルコール性脂肪性肝疾患およびアルコール性脂肪性肝疾患から選択される脂肪性肝疾患の予防および／または治療における使用のための、請求項１８～１９のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物または食品。
【請求項２１】
前記非アルコール性脂肪性肝疾患が、単純性脂肪症および非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）を含む非アルコール性脂肪肝（ＮＡＦＬＤ）から選択される、請求項２０に記載の使用のための医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物または食品。
【請求項２２】
雌性哺乳動物、特に女性における閉経関連症状の予防および／または治療における使用のための、請求項１８に記載の使用のための医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物または食品。
【請求項２３】
前記閉経関連症状が、雌性哺乳動物、特に女性における閉経に関連する代謝変化である、請求項２２に記載の使用のための医薬組成物もしくは栄養補助食品組成物または食品。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０２２年４月２５日に出願された欧州特許出願第２２３８２３９０．７号の利益を主張する。
【０００２】
本発明は、脂肪組織沈着に関連するリスクを低減するため、または脂肪組織沈着に関連する疾患を治療するための栄養補助食品および医薬組成物の分野に関する。したがって、本発明は栄養および医学の分野に関する。
【背景技術】
【０００３】
加工食品および脂肪に富む食品を含む「西洋食」として知られる食事の消費の増加およ

び世界的な広がりのために、内臓、血管および皮下組織を含む身体のいくつかの部分内の脂肪組織の沈着に関連する疾患または障害は、医療制度のための高いコストのみならず、対象における最も重要な健康問題も含む傾向である。これらの障害の例は、関連する内臓脂肪蓄積を伴う肥満、アテローム性動脈硬化症および脂肪肝疾患である。

【０００４】

つまり、肥満は、過剰な体脂肪が健康に悪影響を及ぼし得る程度まで蓄積した状態である。

【０００５】

アテローム性動脈硬化症は、動脈の壁が病変と呼ばれる異常を発症する疾患である動脈硬化症の１パターンである。これらの病変は、アテローム性プラークの蓄積による狭窄をもたらし得る。重度の場合、どの動脈が影響を受けるかに応じて、冠動脈疾患、脳卒中、末梢動脈疾患、または腎臓の問題を引き起こす可能性がある。

【０００６】

一般に肝脂肪症（ＨＳ）としても知られる、脂肪肝疾患（ＦＬＤ）は、過剰な脂肪が肝臓に蓄積する状態である。脂肪肝疾患は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）およびアルコール性肝疾患に代表される。食事および生活習慣の西洋化された変化は、肥満、レプチンまたはインスリン抵抗性（ＩＲ）、脂質異常症およびメタボリックシンドロームなどの、ＮＡＦＬＤの発症に関連するいくつかの重要なリスク因子の進行をもたらし得る。ＮＡＦＬＤは、今日では世界人口のほぼ１／３に影響を及ぼす有病率の高いヒト疾患の１つである。この疾患は、肝臓における脂肪の過剰な蓄積および低グレードの炎症を特徴とする。この異常な脂質代謝は、より進行した段階では酸化還元ホメオスタシスを乱す脂質酸化に影響を及ぼし得る。したがって、酸素の活性種（ＲＯＳ）の蓄積、ひいては脂質過酸化の増加は、肝細胞損傷および線維症を誘発し得る。ＮＡＦＬＤは、重症度およびその健康状態を回復する能力に従って異なるグレードに分類される：単純な脂肪症を伴う非アルコール性脂肪肝（ＮＡＦＬ）；進行した脂肪症および炎症を伴う非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）。さらに、ＮＡＳＨは、進行した段階で線維症を発症し、最終的に肝硬変または肝細胞癌のような不可逆的な段階に進行する可能性がある。ＮＡＦＬＤの治療は、一般に、重度の進行により肝臓移植が必須とならない限り、体重を減少させるための食事内容の変更および運動の促進によって行われる。

【０００７】

特定の化合物のカクテルは、脂肪の酸化およびグルタチオン（ＧＳＨ）の合成を促進するために、食事中のサプリメントとしてインビボで試験されている。ＧＳＨは、脂肪酸酸化の不完全な生成物の蓄積を防ぐために必要である。一例は、Ｍａｒｄｉｎｏｇｌｕ ｅｔ ａｌ．の文献“Ｐｅｒｓｏｎａｌ ｍｏｄｅｌ－ａｓｓｉｓｔｅｄ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ＮＡＤ＋ ａｎｄ ｇｌｕｔａｔｈｉｏｎｅ ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｓ ｉｎｔｅｒｖｅｎｔｉｏｎ ｔａｒｇｅｔ ｉｎ ＮＡＦＬＤ”，Ｍｏｌ Ｓｙｓｔ Ｂｉｏｌ－２０１７，ｖｏｌ．ｎｏ．１３：９１６である。これらの著者らは、高レベルの脂肪およびスクロース、セリン、ＮＡＣ（Ｎ－アセチル－Ｌ－システイン）およびニコチンアミドリボシド（ＮＲ）からなるカクテルを含む西洋食を与えたマウスで試験した。セリンはグリシンに容易に変換することができるので、セリンをカクテルに含め、システインがＧＳＨの合成におけるグリシンの補充後の制限代謝物であり得るので、ＮＡＣを含めた。このアッセイの目的は、ＧＳＨおよびＮＡＤ＋の合成の促進に基づき、いくつかの程度の肝脂肪症を有するヒトコホートの個別化ゲノムスケール代謝モデリングによる分析から得られた可能な治療戦略の概念実証を提供することであった。背後にある理論的根拠は、脂質代謝における酸化ストレスを軽減することであった。ヒトコホートのＧＥＭ分析から、著者らはまた、セリンおよびグリシンの血漿レベルがＨＳと負に相関し、ＨＳとシステインおよびグルタミンの血漿レベルとの間に有意な相関は存在しないと結論付けた。

【０００８】

高脂肪食誘発性肝脂肪症を軽減するための食事の補充を提案する別の文献は、Ｍｏｎｇ

et al.,“Histidine and carnosine alleviated hepatic steatosis in mice consumed high saturated fat diet”,European Journal of Pharmacology 653(2011)82-88のものである。著者らは、これらのサプリメントを与えたマウスで体重、精巣上体脂肪ならびに肝臓のトリグリセリドおよびコレステロールレベルが低下したことを観察し、同時にインスリン感受性の改善および高インスリン血症の減弱が観察された後に、脂肪肝を減少させるためにヒスチジンおよびジペプチドカルノシンを使用することを提案している。

【0009】

とりわけ、ヒスチジンに起因する役割のいくつかは、抗炎症剤および抗酸化剤であること、したがって肝臓に対する保護剤として作用する役割である。第1に、ヒスチジン補充のこの抗炎症特性は、TNFα、IL6およびC反応性タンパク質の血漿濃度および肝臓レベルも低下させる、NF-kBおよびPPARα誘導経路の調節に関連している。さらに、ヒスチジンは、低下したインフラマソーム活性化に関連する抗糖化作用を有する。一方、ヒスチジン処理の抗酸化特性は、このアミノ酸がフリーラジカルスカベンジャであり、二価の金属イオンに結合する能力を有することに起因する。

【0010】

フリーラジカルスカベンジャとしてのこの後者の能力に基づいて、一部の著者らは、非アルコール性肝損傷（NLI）および他のフリーラジカル誘発性疾患を治療するために、新たに合成された二量体ヒスチジン（H-ビヒスチジン）を使用することを提案している（Zhao,Z.;Fu,C.;Zhang,Y.;Fu,A.Dimeric Histidine as a Novel Free Radical Scavenger Alleviates Non-Alcoholic Liver Injury.Antioxidants 2021,10,1529.https://doi.org/10.3390/antiox10101529参照）。これは良好なアプローチであるが、合成化合物を使用する複雑さは常に難点である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】Mardinoglu et al.,“Personal model-assisted identification of NAD+ and glutathione metabolism as intervention target in NAFLD”,Mol Syst Biol-2017,vol.no.13:916

【非特許文献2】Mong et al.,“Histidine and carnosine allikated hepatic steatosis in mice consumed high saturated fat diet”,European Journal of Pharmacology 653(2011)82-88

【非特許文献3】Zhao,Z.;Fu,C.;Zhang,Y.;Fu,A.Dimeric Histidine as a Novel Free Radical Scavenger Alleviates Non-Alcoholic Liver Injury.Antioxidants 2021,10,1529.https://doi.org/10.3390/antiox10101529

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

したがって、組織内の脂肪沈着に関連するこれらのすべての疾患または障害に対処するための代替アプローチが依然として必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明者らは、驚くべきことに、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンの３つ以上の特定の組合せが、ＮＡＦＬＤの肝損傷および肝臓の特徴を軽減することができることを見出し、損傷は、肝臓重量、白っぽい脂肪肝に関して肉眼的に見られ、ならびにアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）のレベルの分析による生化学的レベルで見られた。化合物の組合せはまた、肝臓の脂質含有量および脂肪肝を減少させた。化合物の組合せによる食事の補充は、ＮＡＦＬＤに関連する肝臓炎症を減少させ、抗酸化防御および抗腫瘍活性を増加させ、インスリンに対する抵抗性を減少させた。手短に言えば、これらの化合物の３つ以上の組合せは、疾患の動物モデルにおいてＮＡＦＬＤの症状を回復させることを可能にした。

【００１４】

さらに、本発明者らは、化合物の組合せがまた、卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットの閉経に関連する脂肪量増加を防ぎ、ＯＶＸラットの除脂肪量の損失を減少させ、身体組成のより健康的なプロファイルに寄与することを見出した。これらの化合物はまた、この動物モデルにおいてインスリン抵抗性を改善する。したがって、著者らは、化合物の組合せが、卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける閉経に関連する代謝変化の回復に寄与することを見出した。

【００１５】

いかなる理論にも拘束されるものではないが、本発明者らは、栄養補助組成物、食品サプリメント中の成分としての、または医薬組成物中の活性成分としてのこれらの化合物の組合せが最終的に血漿ヒスチジンレベルの増加をもたらし、これが、最後にはおよび因子の複雑さのために脂肪蓄積の減少を可能にすることを提案する。これは、先に開示されたように、ラジカルスカベンジャとして、または脂肪蓄積を伴う疾患における抗炎症剤としてのヒスチジンの提案された使用に関連する新しいアプローチを想定している。さらに、ヒスチジンはこれらの疾患すべてに対して中程度の効果を有するとして提案されたにすぎず、先行技術における処置は脂肪の酸化およびグルタチオン（ＧＳＨ）の合成の促進により焦点を当てていたので、このアプローチは驚くべきものである。さらに、本発明者らによってなされた純粋な観察から得られた提案されるアプローチは、脂肪の酸化能力の制御が損なわれてはいないが、最終的にヒスチジン循環レベルを低下させる他の機構のために臨床症状にも悩まされている対象において、いくつかの身体組織における脂肪蓄積に関連するこれらの障害に安全に対処することを可能にする。

【００１６】

この理論的根拠はまた、肥満対象における内臓脂肪の減少、およびアテローム性動脈硬化症のモデルにおけるＬＤＬ－コレステロールの減少の背後にある可能性がある。

【００１７】

したがって、本発明の第１の態様は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも３つを含むアミノ酸の配列を含むペプチドを含む医薬組成物または栄養補助食品組成物であり、特に、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的もしくは栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的

に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システインならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド。

【００１８】

医薬または栄養補助食品組成物は、これらの種類の食品の一般的な成分と共に、飲料（すなわち、ソーダ）、乳製品（すなわち、ヨーグルト）、パン・菓子類などの一般的な用途の食品の成分として使用することができる。したがって、本発明の第２の態様は、第１の態様で定義された医薬または栄養補助食品組成物を含む固体または液体形態の食品である。

【００１９】

実施例において例示されるように、および先に示されたように、列挙される化合物のうちの少なくとも３つを含む組成物または食品は、ＮＡＦＬＤの動物モデルおよび閉経動物モデルにおいていくつかの有益な効果をもたらした。したがって、本発明の別の態様は、治療に（すなわち、薬剤として）使用するための、第１の態様で定義された組成物または第２の態様の食品である。

【図面の簡単な説明】

【００２０】

【図１】図１Ａは、肝臓重量に対する処置の効果を示す。図１Ｂは、肝臓の代表的な肉眼的外観に対する処置の効果を示す。図１Ｃは、血清ＡＬＴ（アラニンアミノトランスフェラーゼ）に対する処置の効果を示す。図１Ｄは、血清ＡＳＴ（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）に対する処置の効果を示す。データは平均±ＳＥＭである；ｎ＝１６匹の動物／群。対照マウスに対して＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１；ＨＦＨＦｒマウスに対して＃ｐ＜０．０５、＃＃ｐ＜０．０１、＃＃＃ｐ＜０．００１。

【図２】図２Ａは、総肝臓脂質含有量に対する処置の効果を示す。図２Ｂは、総肝トリグリセリド（ＴＧ）含有量に対する処置の効果を示す。図２Ｃは、総肝コレステロール含有量に対する処置の効果を示す。データは平均±ＳＥＭである；ｎ＝１６匹の動物／群。対照マウスに対して＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１；ＨＦＨＦｒマウスに対して＃ｐ＜０．０５、＃＃＃＃ｐ＜０．０００１。

【図３】図３Ａは、Ｈ＆Ｅ（ヘマトキシリン－エオシン染色）によって決定された肝臓の病理組織学および画像分析、ならびに下側パネルには拡大領域を示す選択された領域の増幅を示す。図３Ｂは、脂肪滴数を示す。図３Ｃは、脂肪滴表面場を示す。図３Ｄは、ＮＡＦＬＤ／ＮＡＳＨスコア表を示す。ｓｔ．、脂肪症。バー＝１００μｍ。データは平均±ＳＥＭである；ｎ＝６匹の動物／群。対照マウス（Ｃ）に対して＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１；ＨＦＨＦｒマウスに対して＃＃＃ｐ＜０．００１；＃＃＃＃ｐ＜０．０００１。ＡＡマウスは処置マウスである。

【図４】図４は、肝臓インスリン抵抗性に対する処置の効果を示す。図４Ａは、Ａｋｔ活性化（ｐＡｋｔＳ４７３）、総Ａｋｔタンパク質レベル（Ｔ－Ａｋｔ）、ハウスキーピングβ－アクチンレベルおよびポンソーＳ膜染色によるタンパク質負荷を用いた代表的なウエスタンブロット分析を示す。図４Ｂは、リン酸化Ａｋｔ対総Ａｋｔ比のデンシトメトリ

分析を示す。データは平均±ＳＥＭである。ｎ＝５～６匹の動物／群。＊対照マウスに対してｐ＜０．０５。図４Ｃは、脂肪酸β酸化（カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、Ｃｐｔ１ａ）、炎症（ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド２、ＣＣＬ２）、脂肪分解（ホルモン感受性、ＨＳＬ；およびリピン、Ｐｌｉｎ）および脂肪生成（脂肪酸シンターゼ、ＦＡＳＮ）の四元処理後の重要な遺伝子の肝臓発現の分析を示す。データを平均±ＳＥＭとして表す；１条件当たりｎ＝１０～１２。＊ｐ＜０．０５。

【図５】図５は、循環コレステロールのレベルに対する処置の効果を示す。図５Ａには、循環ＨＤＬのレベルが示されている。図５Ｂには、循環低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）のレベルが示されている。図５Ｃには、ＬＤＬ／ＨＤＬ比が示されている。データは平均±ＳＥＭである。ｎ＝１６匹の動物／群。＊ｐ＜０．０５　＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【図６】図６Ａは、処置後の体重変化に対する処置の効果を示す。図６Ｂは、処置後の主要な内臓デポ、精巣上体白色脂肪組織（ＥＷＡＴ）、後腹膜白色脂肪組織（ＲＷＡＴ）および腸間膜白色脂肪組織（ＭＷＡＴ）の重量に対する処置の効果を示す。図６Ｃは、成長曲線を示す。丸は「痩せ」、四角形は「肥満」、三角形は「肥満＋４ＡＡ」を表す。図６Ｄは、Ｈ＆Ｅ（ヘマトキシリン－エオシン染色）によって決定された内臓脂肪組織病理学および画像分析を示す。図６Ｅは、ＢＡＴ重量を示す。図６Ｆは、ＢＡＴ組織病理学および画像解析を示す。図６Ｇは、ＢＡＴにおける示された遺伝子の遺伝子発現分析を示す。図６Ｈは、ＢＡＴ中の示されたタンパク質の代表的なウエスタンブロット分析および定量化を示す。図６Ｉは、マウスのサーモグラフィ分析および定量化を示す。図６Ｄ～６Ｉにおいて、左の欄は「痩せ」、中央の欄は「肥満」、右の欄は「肥満＋４ＡＡ」を示す。データは平均±ＳＥＭである。ｎ＝１６匹の動物／群。＊ｐ＜０．０５　＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【図７】図７は、以下の濃度：ヒスチジン１０ｍＭ、カルノシン５ｍＭ、システイン５ｍＭおよびセリン５ｍＭを用いた、ヒト肝細胞（ＨｅｐＧ２）におけるＣｐｔ１ａ、Ｃｃｌ２、Ｈｓｌ、ＰｌｉｎおよびＦａｓｎ　ｍＲＮＡ発現に対する示されたアミノ酸単独または組合せでの２４時間の処理の効果を示す。これらの濃度を異なる組合せで保存した。データを平均±ＳＥＭとして表す；１条件当たりｎ＝３～４。ビヒクルに対して＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１。

【図８】図８Ａは、５７日間の処置後の偽手術（ＳＨ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける体重の変化に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図８Ｂは、５７日間の処置後の偽手術（ＳＨ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける脂肪量の変化に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図８Ｃは、５７日間の処置後の偽手術（ＳＨ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける除脂肪量の変化に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。体重を７日ごとに記録し、脂肪量および除脂肪量を２８日ごとに記録した。図８Ｄは、グラムで表した体重増加を、研究を通して毎週累積した最終体重の比率として計算した。脂肪量と除脂肪量の増加を、実験終了時の脂肪量とベースライン時点の脂肪量との間の百分率の差として計算した。データを平均±ＳＥＭとして示す（ｎ＝１０）。各パネルにおいて、異なる上付き小文字（ａ、ｂ、ｃ、ｄ）は、群間で有意に異なる平均値を示す（一元配置分散分析およびダンカンの事後検定、ウェルチ検定およびゲームス－ハウエル事後検定またはクラスカル・ワリス検定およびマン・ホイットニーＵ事後検定、ｐ＜０．０５）。Ｉ：介入の効果、ｔ：時間の効果、Ｉｘｔ：介入の種類と時間との間の相互作用（ＲＭ－ＡＮＯＶＡ、ｐ＜０．０５）。ＳＨ：偽手術ラット、ＯＶＸ：卵巣摘出ラット、ＯＶＸ－Ｅ２：１７β－エストラジオールで処置したＯＶＸラット、ＯＶＸ－４ＡＡ：四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）

を補充したＯＶＸラット。図８Ａ～８Ｃにおいて、丸は「ＳＨ」、三角形は「ＯＶＸ」、ひし形は「ＯＶＸ－Ｅ２」、四角形は「ＯＶＸ－４ＡＡ」を表す。
【図９】図９Ａは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおけるＲＷＡＴデポ重量に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図９Ｂは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおけるＭＷＡＴデポ重量に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図９Ｃは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおけるＩＷＡＴデポ重量に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図９Ｄは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける肥満度指数に対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。図９Ｅは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおけるレプチンの循環レベルに対する卵巣摘出、１７β－Ｅ２注射および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）処置の効果を示す。データを平均±ＳＥＭとして示す（ｎ＝９～１０）。肥満度指数は、ＩＷＡＴ、ＭＷＡＴおよびＲＷＡＴデポ重量（グラム）の合計として計算し、体重のパーセンテージとして表している。各図において、異なる上付き小文字（ａ、ｂ、ｃ）は、群間で有意に異なる平均値を示す（一元配置分散分析およびダンカンの事後検定、ｐ＜０．０５）。Ｉ：介入の効果。ＳＨ：偽手術ラット、ＯＶＸ：卵巣摘出ラット、ＯＶＸ－Ｅ２：１７β－エストラジオールで処置したＯＶＸラット、ＯＶＸ－４ＡＡ：４つのヒスチジン関連アミノ酸（４ＡＡ）を補充したＯＶＸラット。ＭＷＡＴ：腸間膜白色脂肪組織；ＲＷＡＴ：後腹膜白色脂肪組織；ＩＷＡＴ：鼠径部白色脂肪組織。
【図１０】図１０ａは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける研究終了時のインスリンの血漿レベルを示す。図１０ｂは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける研究終了時のグルコースの血漿レベルを示す。図１０ｃは、５７日間の介入後の偽手術（ＳＨ）ラットおよび卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける研究終了時のＨＯＭＡ－ＩＲの血漿レベルを示す。データを平均±ＳＥＭとして示す（ｎ＝９～１０）。上付き小文字（ａ、ｂ、ｃ）は、群間で有意に異なる平均値を示す（一元配置分散分析およびダンカンの事後検定、ｐ＜０．０５）。Ｉ：介入の効果。ＳＨ：偽手術ラット、ＯＶＸ：卵巣摘出ラット、ＯＶＸ－Ｅ２：１７β－エストラジオールで処置したＯＶＸラット、ＯＶＸ－４ＡＡ：四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）を補充したＯＶＸラット。ＨＯＭＡ－ＩＲ：恒常性モデル評価推定インスリン抵抗性。
【図１１】図１１は、ヒトにおける腸内微生物叢およびＨｕｔ遺伝子との血漿ヒスチジンおよび脂肪症の程度の関連を示す。図１１ａは、年齢、ＢＭＩ、性別および国について制御するバイアス補正による微生物叢解析（ＡＮＣＯＭ－ＢＣ）を用いて同定された発見コホート（ｎ＝７３）における循環ヒスチジンレベルに関連する異なる細菌ファミリーのボルケーノプロットを示す。図１１ｂは、年齢、ＢＭＩ、性別および国について制御するバイアス補正による微生物叢解析（ＡＮＣＯＭ－ＢＣ）を用いて同定された発見コホート（ｎ＝７３）における脂肪肝の程度（肝生検）に関連する異なる細菌ファミリーのボルケーノプロットを示す。血漿ヒスチジンレベルの単位変化に関連するｌｏｇ２（倍数変化）および複数の試験について調整された－ｌｏｇ１０（ｐ値）を各分類群についてプロットする。有意に異なる分類群を門に従って着色している。図１１ｃは、ヒスチジン利用経路を示す。最初の３つの経路は普遍的であるようである。ホルムイミノグルタミン酸には、属に応じて２つの異なる分解経路がある：ホルムアミドおよびグルタミン酸への加水分解またはホルミルグルタミン酸への加水分解ならびにその後のギ酸およびグルタミン酸への加水分解。図１１ｄは、３３％より低いまたは高い脂肪症程度を有する対象におけるヒスチジン利用にそれぞれ関与する中心対数変換微生物遺伝子ｈｕｔＨ、ｈｕｔＵ、ｈｕｔＩお

よびｈｕｔＧのバイオリンプロットを示す。図１１ｅは、ヒスチジン利用に関与する微生物遺伝子発現（ｈｕｔＨおよびｈｕｔＧ）のｑＰＣＲを示す。データは平均±ＳＥＭである。ＮＡＦＬＤマウスに対して＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。

【発明を実施するための形態】

【００２１】

本出願において本明細書で使用されるすべての用語は、特に明記しない限り、当技術分野で公知の通常の意味で理解されるものとする。本出願で使用される特定の用語の他のより具体的な定義は、以下に示されるとおりであり、特に明示的に記載された定義がより広い定義を提供しない限り、明細書および特許請求の範囲を通して均一に適用されることを意図している。

【００２２】

本明細書で使用される場合、不定冠詞「１つの」は、「少なくとも１つ」または「１つ以上」と同義である。特に指示しない限り、本明細書で使用される「その」などの定冠詞は、名詞の複数形も含む。

【００２３】

本発明の目的のために、与えられる任意の範囲は、範囲の下端点および上端点の両方を含む。

【００２４】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応などを伴わずにヒトおよび下等動物の組織と接触して使用するのに適しており、妥当な利益／リスク比に見合った塩を指す。薬学的に許容される塩は、当技術分野で周知である。薬学的に許容される非毒性の酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸および過塩素酸などの無機酸、または酢酸、トリフルオロ酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸もしくはマロン酸などの有機酸を用いて、またはイオン交換などの当技術分野で使用される他の方法を使用することによって形成されるアミノ基の塩である。他の薬学的に許容される塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。適切な塩基から誘導される塩には、アルカリ金属、アルカリ土類金属、およびアンモニウムが含まれる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩には、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが含まれる。さらなる薬学的に許容される塩としては、適切な場合、ハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩およびアリールスルホン酸塩などの対イオンを使用して形成される非毒性アンモニウム、第四級アンモニウムおよびアミンカチオンが挙げられる。

【００２５】

「溶媒和物」という用語は、目的の化合物（すなわち、Ｌ－ヒスチジン、Ｌ－システイン、Ｌ－セリンおよびＬ－カルノシンまたはその薬学的に許容される塩）と、非共有結合分子間力によって結合した化学量論量または非化学量論量の１つ以上の溶媒分子（例えば、水）とを含む分子複合体を指す。分子複合体の一部を形成する１つ以上の溶媒分子が水である場合、溶媒和物は水和物である。溶媒和の方法は、当技術分野において一般に公知

である。
【００２６】
「医薬」という用語は、「獣医学組成物」の概念も包含する。したがって、それらは、ヒトを含む任意の動物に任意の所望のまたは適用可能な経路によって投与された場合に治療上有効な組成物に関する。
【００２７】
本明細書で使用される「治療的有効量」という表現は、投与された場合、対処される疾患の症状の１つ以上の発症を予防するか、またはある程度緩和するのに十分な化合物の量を指す。本発明に従って投与される化合物の特定の用量は、当然のことながら、投与される化合物、投与経路、治療される特定の状態、および同様の考慮事項を含む、症例を取り巻く特定の状況によって決定される。
【００２８】
「薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体」という表現は、薬学的に許容される材料、組成物、またはビヒクルを指す。各成分は、医薬組成物の他の成分と適合性であるという意味で薬学的に許容されなければならない。それはまた、妥当な利益／リスク比に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、免疫原性もしくは他の問題または合併症を伴わずに、ヒトおよび動物の組織または器官と接触して使用するのに適していなければならない。適切な許容される賦形剤の例は、溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散もしくは懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、防腐剤、固体結合剤、潤滑剤などである。任意の従来の賦形剤媒体が、何らかの望ましくない生物学的効果を生じること、またはそうでなければ医薬組成物の任意の他の１つ以上の成分と有害な方法で相互作用することなどによって、物質またはその誘導体と不適合である場合を除いて、その使用は本発明の範囲内であることが企図される。
【００２９】
本明細書で使用される「栄養補助的有効量」という表現は、投与された場合、ある特定の代謝局面において対象に生理学的利益を提供するのに十分な化合物の量を指す。本発明に従って投与される化合物の特定の用量は、当然のことながら、投与される化合物、投与経路、治療される特定の状態、および同様の考慮事項を含む、症例を取り巻く特定の状況によって決定される。
【００３０】
本明細書では「栄養補助組成物」または「栄養補助食品」とも呼ばれる「栄養補助食品組成物」は、ある特定の代謝局面において対象に生理学的利益を提供する組成物である。それらは薬物の強調表示をラベル付けすることはできないが、保健機関の規制に従って、健康強調表示および栄養強調表示を有することができる。このカテゴリには、国の規制に応じて異なるいくつかの組成物が含まれる。一般に、それは、食事を補完することを目的とした「食事成分」を含む、経口摂取される製品である。これらの製品中の「食事成分」には、ビタミン、ミネラル、ハーブまたは他の植物、アミノ酸、ならびに酵素、器官組織、腺および代謝物などの物質が含まれ得る。食事補助食品はまた、抽出物または濃縮物であってもよく、錠剤、カプセル、ソフトゲル、ゲルキャップ、液体または粉末などの多くの形態で見出され得る。
【００３１】
本明細書では「食品」とも呼ばれる「機能性食品」は、加工中に栄養を高められるかまたは強化され、次いで消費者に何らかの利益を提供するものとして市販される。
【００３２】
本明細書で使用される「ＮＡＣ」または「Ｎ－アセチルシステイン」または「アセチルシステイン」という用語は、アミノ酸Ｌ－システインのアセチル化形態を指し、ＩＵＰＡＣ名（２Ｒ）－２－アセトアミド－３－スルファニルプロパン酸を有する。当業者には理解されるように、ＮＡＣは十分に確立されたシステインプロドラッグであり、したがってシステインおよびＮＡＣは、本発明の組成物において交換可能に使用することができる。
【００３３】

前述のように、本発明の第１の態様は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンからなる化合物の群より選択される少なくとも３つを含むアミノ酸の配列を含むペプチドを含む医薬または栄養補助食品組成物であり、特に、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的もしくは栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システインならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド。

【００３４】

特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つを含む。

【００３５】

特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システインならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含むペプチド。

【００３６】

別の特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ。

【００３７】

別の特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、システイン、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含むペプチド；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ＮＡＣ、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含むペプチド。

【００３８】

別の特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量の

ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物。

【００３９】

より特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つを含む。

【００４０】

より特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的または栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を含む。

【００４１】

特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１．３～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～２００ｍｇの用量を与えるものである。

【００４２】

特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり３０～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的も

しくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２００ｍｇの用量を与えるものである。

【００４３】

別の特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１．３～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～２００ｍｇの用量を与えるものである。

【００４４】

別の特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり３０～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２００ｍｇの用量を与えるものである。

【００４５】

示されている治療的または栄養補助的有効量は、動物、特にマウスおよびヒトを含む哺乳動物の重量に関する量である。実際に、量および用量は、当業者がヒトの値を見出すことができるヒト等価用量（ＨＥＤ）計算により、当業者によって一般的に決定される（Ｇｕｉｄａｎｃｅ ｆｏｒ Ｉｎｄｕｓｔｒｙ Ｅｓｔｉｍａｔｉｎｇ Ｍａｘｉｍｕｍ Ｓａｆｅ Ｓｔａｒｔｉｎｇ Ｄｏｓｅ ｉｎ Ｉｎｉｔｉａｌ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｔｒｉａｌｓ ｆｏｒ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ ｉｎ Ａｄｕｌｔ Ｈｅａｌｔｈｙ Ｖｏｌｕｎｔｅｅｒｓ、米国保健福祉省食品医薬品局医薬品評価研究センター（ＣＤＥＲ）Ｊｕｌｙ ２００５ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ）。

【００４６】

例えば、２１０ｍｇ／Ｋｇのヒスチジン、セリンおよびカルノシンのマウスにおける用量は、１７．０２７ｍｇ／Ｋｇ（７０ｋｇのヒトの体重の中央値）のＨＥＤを想定している。同様に、４９０ｍｇ／Ｋｇの用量は、３９．７３０ｍｇ／ＫｇのＨＥＤを想定している。対象のＫｇ当たりの量は、本発明の特定の実施形態では、１日当たりの用量（すなわち、量）を計算するために使用される量である。ヒトにおける特定の１日用量は、ヒスチジン、セリンおよびカルノシン（またはその任意の塩もしくは溶媒和物）については６６０ｍｇ／日～１５００ｍｇ／日であり、システイン（またはその任意の塩もしくは溶媒和物）については１７００ｍｇ／日～３０００ｍｇ／日である。

【００４７】

特定の実施形態では、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンのいずれか１つまたはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、１２～２３０ｍｇ／Ｋｇ、またはさらにより具体的には１７～２１０ｍｇ／Ｋｇの用量を与えるものである。

【００４８】

特定の実施形態では、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンまたはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて１２～２５ｍ

ｇ／Ｋｇの用量、または０．５、１、１．５、２、２．５、３、３．５、４、４．５、５、５．５、６、６．５、７、７．５、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４および２５ｍｇ／Ｋｇから選択される量を与えるものである。マウスでは、これは２００ｍｇ／Ｋｇ～２３０ｍｇ／Ｋｇであり、より具体的には２１０ｍｇ／Ｋｇである。

【００４９】

特定の実施形態では、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンまたはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて０．５～２５、１～２５、１．３～２５、１．５～２５、２．５～２５、４～２５、５～２５、６～２５、７．５～２５、８～２５、９～２５、１０～２５、１２～２５、１５～２５、１７～２５、または２０～２５ｍｇ／ｋｇ、特にヒトにおいて１５～２５ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。別の特定の実施形態では、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンまたはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて１０～２５、１２～２２、１５～２０、または１６～１８ｍｇ／ｋｇ、特に１５～２０ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。

【００５０】

別のより特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、３５ｍｇ／Ｋｇ～５００ｍｇ／Ｋｇの用量を与えるものである。別のより特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて３５～５０ｍｇ／Ｋｇの用量、または０．５、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、３６、３７、３８、３９、３９．５、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９および５０ｍｇ／Ｋｇから選択される量を与えるものである。マウスでは、これは４８０ｍｇ／Ｋｇ～５００ｍｇ／Ｋｇであり、より具体的には４９０ｍｇ／Ｋｇである。

【００５１】

別の特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて１～１０、１．５～７．５、または２～５ｍｇ／ｋｇ、特にヒトにおいて２～５ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。

【００５２】

別の特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて２０～５５、２５～５０、３０～４５、または３５～４０、特に３５～４０ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。

【００５３】

別のより特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、３５ｍｇ／Ｋｇ～５００ｍｇ／Ｋｇの用量を与えるものである。別のより特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて３５～５０ｍｇ／Ｋｇの用量、または０．５、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、３６、３７、３８、３９、３９．５、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９および５０ｍｇ／Ｋｇから選択される量を与えるものである。マウスでは、これは４８０ｍｇ／Ｋｇ～５００ｍｇ／Ｋｇであり、より具体的には４９０ｍｇ／Ｋｇである。

【００５４】

別の特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて１～１０、１．５～７．５、または２～５ｍｇ／ｋｇ、特にヒトにおいて２～５ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。

【００５５】

別の特定の実施形態では、任意に上記または下記の実施形態のいずれかと組み合わせて、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩もしくは溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量は、ヒトにおいて２０～５５、２５～５０、３０～４５、または３５～４０、特に３５～４０ｍｇ／ｋｇの用量を与えるものである。

【００５６】

より特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１～７．５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり５ｍｇ～２５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１～５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～１５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００５７】

さらにより特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５～２０ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１．３～３．３ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～１０ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００５８】

より特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１～７．５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり５ｍｇ～２５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１～５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～１５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００５９】

なおさらなる特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり２～５ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩また

はそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり７．５ｍｇ～２０ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１．３～３．３ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり４．５～１０ｍｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００６０】

より特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、３５～４０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００６１】

より特定の実施形態では、医薬組成物または栄養補助食品組成物は、ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、３５～４０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、１５～２０ｍｇ／対象のｋｇの用量を与えるものであって、対象は好ましくはヒトである。

【００６２】

第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量の、Ｌ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つを含む。

【００６３】

実際に、組成物中のアミノ酸は、ＤまたはＬエナンチオマのいずれかであり得るが、特定の実施形態ではＬ－アミノ酸である。同様に、ジペプチドカルノシンは、Ｌ－カルノシンまたはＤ－カルノシンの形態であり得るが、特定の実施形態ではＬ－カルノシンである。一実施形態では、本発明の組成物は、Ｌ型またはＤ型の化合物のいずれかの任意の組合せを含む。別の実施形態では、本発明の組成物は、Ｌ型またはＤ型のアミノ酸ヒスチジン、セリン、カルノシンおよび／またはシステインのいずれかの任意の組合せを含む。

【００６４】

第１の態様の特定の実施形態では、組成物は以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のＬ－システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補

助的有効量の、Ｌ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮ－アセチルシステイン（ＮＡＣ）またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、ならびに治療的または栄養補助的有効量の、Ｌ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも２つ。

【００６５】

第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は以下を含む：

（ｉ）治療的または栄養補助的有効量のＬ－システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは、

（ｉｉ）治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物。

【００６６】

第１の態様による医薬組成物の別の特定の実施形態では、ヒスチジンおよびシステインの薬学的または栄養補助的に許容される塩は、塩酸塩、より具体的にはＬ－ヒスチジンおよびＬ－システインの塩酸塩である。さらにより具体的には、Ｌ－ヒスチジンの薬学的に許容される塩はＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物であり、Ｌ－システインの薬学的に許容される塩はＬ－システイン塩酸塩である。

【００６７】

第１の態様による医薬組成物の別の特定の実施形態では、ヒスチジンの薬学的または栄養補助的に許容される塩は、塩酸塩、より具体的にはＬ－ヒスチジンの塩酸塩である。さらにより具体的には、Ｌ－ヒスチジンの薬学的に許容される塩は、Ｌ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物である。

【００６８】

第１の態様による医薬組成物の別の特定の実施形態では、システインの薬学的または栄養補助的に許容される塩は、塩酸塩、より具体的にはＬ－システインの塩酸塩である。さらにより具体的には、Ｌ－システインの薬学的に許容される塩は、Ｌ－システイン塩酸塩である。

【００６９】

第１の態様の医薬および栄養補助食品のより特定の実施形態では、これらは、指示された成分のうちの少なくとも３つを含み、それらのうちの少なくとも１つはヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジンまたはそれらのいずれかの塩もしくは溶媒和物である。実際に、以下の実施例に示すように、ヒスチジンを含む三元の組合せは、酵素カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼＩによる脂肪酸β酸化の速度の改善に関して良好な効果を提

供した。少なくともヒスチジンを含むこれらの三元組成物は、実際には、対象におけるヒスチジン血漿レベルの上昇を最終的に可能にする化合物のカクテルである。セリンおよびシステインは、いくつかの経路によって代謝されてヒスチジンを与え、カルノシンは、アミノ酸β－アラニンおよびヒスチジンで構成されるジペプチドであるためのヒスチジンの供給源である。ＮＡＣはＬ－システインの前駆体であり、摂取後にＬ－システインに変換される。

【００７０】

第１の態様による医薬または栄養補助食品組成物の別の特定の実施形態では、医薬または栄養補助食品組成物は、治療的または栄養補助的有効量の以下を含む：

（ａ）ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびセリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｂ）ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｃ）システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；セリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｄ）ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；セリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物。

【００７１】

第１の態様による医薬または栄養補助食品組成物の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量の以下を含む：

（ａ）システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびセリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｂ）システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｃ）システイン、より具体的にはＬ－システイン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；セリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物。

【００７２】

第１の態様による医薬または栄養補助食品組成物の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量の以下を含む：

（ａ）ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびセリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｂ）ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；ヒスチジン、より具体的にはＬ－ヒスチジン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；あるいは

（ｃ）ＮＡＣまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物；セリン、より具体的にはＬ－セリン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシン、より具体的にはＬ－カルノシン、またはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物。

【００７３】

本発明の第１の態様のより特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む。

【００７４】

より具体的には、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－システインまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。

【００７５】

別のより特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシンまたはその薬学的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。

【００７６】

さらにより特定の実施形態では、組成物は、

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－システイン塩酸塩；

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン

を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む。

【００７７】

別のさらにより特定の実施形態では、組成物は、

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；

－治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣ；
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む。
【００７８】
特定の治療量または栄養補助量が前の段落に開示されている。
【００７９】
特定の実施形態では、ヒト摂取用組成物は、
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；
－ヒトにおいて３９．７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－システイン塩酸塩；
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。
【００８０】
別の特定の実施形態では、ヒト摂取用組成物は、
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；
－ヒトにおいて３９．７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣ；
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－ヒトにおいて１７ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。
【００８１】
別の特定の実施形態では、ヒト摂取用組成物は、
－ヒトにおいて７．５～２０ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；
－ヒトにおいて２～５ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－システイン塩酸塩；
－ヒトにおいて１．３～３．３ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－ヒトにおいて４．５～１０ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。
【００８２】
別の特定の実施形態では、ヒト摂取用組成物は、
－ヒトにおいて７．５～２０ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；
－ヒトにおいて２～５ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＮＡＣ；
－ヒトにおいて１．３～３．３ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および
－ヒトにおいて４．５～１０ｍｇ／Ｋｇの用量を与える治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン
を、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤または担体と共に含む。

【００８３】
第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のペプチドを含み、ペプチドは、ＬまたはＤ配置およびそれらの組合せ（すなわち、ある化合物はＤ異性体形態であり、別の化合物はＬ異性体形態である）のいずれかの、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも３つを含むアミノ酸の配列を含む。
【００８４】
第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のペプチドを含み、ペプチドは、システイン、ならびにＬまたはＤ配置およびそれらの組合せ（すなわち、ある化合物はＤ－異性体形態であり、別の化合物はＬ－異性体形態である）のいずれかのヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含む。第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のペプチドを含み、ペプチドは、ＬまたはＤ配置およびそれらの組合せ（すなわち、ある化合物はＤ異性体形態であり、別の化合物はＬ異性体形態である）のいずれかのシステイン、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含む。
【００８５】
第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のペプチドを含み、ペプチドは、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも２つを含むアミノ酸の配列を含み、ヒスチジン、セリンおよび／またはカルノシンのうちの少なくとも２つは、ＬまたはＤ配置およびそれらの組合せ（すなわち、ある化合物はＤ異性体形態であり、別の化合物はＬ異性体形態である）のいずれかである。第１の態様の別の特定の実施形態では、組成物は、治療的または栄養補助的有効量のペプチドを含み、ペプチドは、ＮＡＣ、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンを含むアミノ酸の配列を含み、ヒスチジン、セリンおよびカルノシンは、ＬまたはＤ配置およびそれらの組合せ（すなわち、ある化合物はＤ異性体形態であり、別の化合物はＬ異性体形態である）のいずれかである。
【００８６】
示された化合物の少なくとも３つを含む配列を有するこれらのペプチドは、別の特定の実施形態では、３～５０アミノ酸、より具体的には３～１０アミノ酸、さらにより具体的には３、４、５、６、７、８、９、および１０アミノ酸から選択される長さを有する。
【００８７】
より特定の実施形態では、ペプチドは、トリペプチド、テトラペプチドおよびペンタペプチドから選択される。
【００８８】
好ましい実施形態では、組成物中のペプチドは、少なくとも１つのヒスチジン残基を含むものである。別の好ましい実施形態では、組成物中のペプチドは、少なくとも１つのシステインまたはＮＡＣ残基を含むものである。別の好ましい実施形態では、組成物中のペプチドは、少なくとも１つのヒスチジン残基および少なくとも１つのシステイン残基、より好ましくは少なくとも１つのヒスチジン残基および少なくとも１つのＮＡＣ残基を含むものである。
【００８９】
別の特定の実施形態では、テトラペプチドは、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンから選択される少なくとも３つを含み、これらは、すべての天然に存在するアミノ酸、特に真核生物に見出される２１個のタンパク質原性α－アミノ酸から選択される任意のアミノ酸を含む、当業者に公知の任意のさらなるアミノ酸である。
【００９０】
別の特定の実施形態では、テトラペプチドは、システインならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンから選択される少なくとも２つを含み、これらは、すべての天然に存在するアミノ酸、特に真核生物に見出される２１個のタンパク質原性α－アミノ酸から選択される任意のアミノ酸を含む、当業者に公知の任意のさらなるアミノ酸である。別の特定

の実施形態では、テトラペプチドは、ＮＡＣならびにヒスチジン、セリンおよびカルノシンから選択される少なくとも２つを含み、これらは、すべての天然に存在するアミノ酸、特に真核生物に見出される２１個のタンパク質原性α－アミノ酸から選択される任意のアミノ酸を含む、当業者に公知の任意のさらなるアミノ酸である。

【００９１】

本発明の意味におけるアミノ酸には、アラニン（Ａ）、アルギニン（Ｒ）、アスパラギン（Ｎ）、アスパラギン酸（アスパルテート、Ｄ）、システイン（Ｃ）、グルタミン（Ｑ）、グルタミン酸（Ｅ）、グリシン（Ｇ）、ヒスチジン（Ｈ）、イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）が含まれる。リジン（Ｋ）、メチオニン（Ｍ）、フェニルアラニン（Ｆ）、プロリン（Ｐ）、ピロリジン（Ｏ）、セリン（Ｓ）、セレノシステイン（Ｕ）、トレオニン（Ｔ）、トリプトファン（Ｗ）、チロシン（Ｙ）およびバリン（Ｖ）。修飾アミノ酸としては、２－アミノアジピン酸（Ａａｄ）、３－アミノアジピン酸（ｂＡａｄ）、β－アラニン（ｂＡｌａ）、２－アミノブチル酸（Ａｂｕ）、６－アミノカプロン酸（Ａｃｐ）、２－アミノヘプタン酸（Ａｈｅ）、２－アミノイソ酪酸（Ａｉｂ）、２－アミノピメリン酸（Ａｐｍ）、２，４－ジアミノ酪酸（Ｄｂｕ）、デスモシン、２，２’－ジアミノピメリン酸（Ｄｐｍ）、２，３－ジアミノプロピオン酸（Ｄｐｒ）、Ｎ－エチルグリシン（ＥｔＧｌｙ）、Ｎ－エチルアスパラギン（ＥｔＡｓｎ）、ヒドロキシリジン（Ｈｙｌ）、アロ－ヒドロキシリジン（ａＨｙｌ）、３－ヒドロキシプロリン（３Ｈｙｐ）、４－ヒドロキシプロリン（４Ｈｙｐ）、イソデスモシン（Ｉｄｅ）、アロ－イソロイシン（ａｌｌｅ）、Ｎ－メチルイソロイシン（ＭｅＩｌｅ）、６－Ｎ－メチルリジン（ＭｅＬｙｓ）、Ｎ－メチルバリン（Ｍｅｖａｌ）、ノルバリン（Ｎｖａ）、ノルロイシン（Ｎｌｅ）およびオルニチン（Ｏｒｎ）が挙げられる。いくつかの実施形態では、各選択された位置で疎水性、芳香族性および塩基性を維持しながら、１つのアミノ酸を別のアミノ酸に置き換えてもよい。

【００９２】

別の特定の実施形態では、ペプチドは、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンを含み、少なくともペンタペプチドであり、好ましくはペンタペプチドである。別の特定の実施形態では、ペプチドは、ヒスチジン、ＮＡＣ、セリンおよびカルノシンを含み、少なくともペンタペプチドであり、好ましくはペンタペプチドである。

【００９３】

組成物のこれらすべての可能なペプチドでは、アミノ酸残基は、Ｎ末端からＣ末端に読み取られる配列において任意の順序である。

【００９４】

組成物が投与されると、その中に含まれるペプチドは、一般的な細胞および身体プロセス（すなわち、ヒドロラーゼ、プロテアーゼなど）によって自然に加水分解され、単一単位が送達される。

【００９５】

これらのペプチドの用量の調整は様々であるが、特定の実施形態では、先に開示された単一化合物について上記の指示された用量を与えるように調整される。

【００９６】

これらすべてのペプチドの調製は、当業者に公知の一般的な慣行に従う。

【００９７】

本発明のすべての医薬または栄養補助食品組成物は、一般的な賦形剤および／または担体を含む。

【００９８】

適切な薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤の例は、溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散または懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、防腐剤、固体結合剤、潤滑剤などである。任意の従来の賦形剤媒体が、何らかの望ましくない生物学的効果を生じること、またはそうでなければ医薬組成物の任意の他の１つ以上の成分と有害な方法で相互作用することなどによって、物質またはその誘導体と不適合

である場合を除いて、その使用は本発明の範囲内であることが企図される。

【００９９】

本発明の医薬組成物または栄養補助組成物中の活性成分、薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤、および／または任意のさらなる成分の相対量は、治療される対象の同一性、サイズ、および／または状態に応じて、さらに組成物が投与される経路に応じて変化する。

【０１００】

医薬組成物の製造に使用される薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤には、不活性希釈剤、分散剤および／もしくは造粒剤、界面活性剤および／もしくは乳化剤、崩壊剤、結合剤、防腐剤、緩衝剤、潤滑剤、ならびに／または油が含まれるが、これらに限定されない。着色料、コーティング剤、甘味料、および香味料などの賦形剤は、処方者の判断に従って、組成物中に存在することができる。

【０１０１】

ヒスチジン、カルノシン、セリンおよびシステインのうちの少なくとも３つの組合せを含有する医薬組成物または栄養補助食品組成物は、例えば、固体または液体であり、任意の適切な経路、例えば、経口、非経口、直腸、局所、鼻腔内、眼内、腹腔内または舌下経路によって投与することができ、そのために、所望の剤形の製剤に必要な薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤を含む。より具体的には、本発明の第１の態様の医薬または栄養補助食品組成物は、例えば、固体または液体であり、任意の適切な経路、例えば、経口、非経口、直腸、局所、鼻腔内、眼内、腹腔内または舌下経路によって投与することができ、そのために、所望の剤形の製剤に必要な薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤を含む。

【０１０２】

例示的な希釈剤には、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウム、ラクトース、スクロース、セルロース、微結晶セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉砂糖、およびそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されない。

【０１０３】

例示的な造粒剤および／または分散剤には、ジャガイモデンプン、コーンスターチ、タピオカデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、粘土、アルギン酸、グアーガム、柑橘類パルプ、寒天、ベントナイト、セルロースおよび木材製品、天然スポンジ、カチオン交換樹脂、炭酸カルシウム、ケイ酸塩、炭酸ナトリウム、架橋ポリビニルピロリドン）（クロスポビドン）、カルボキシメチルスターチナトリウム（デンプングリコール酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム（クロスカルメロース）、メチルセルロース、アルファ化デンプン（デンプン１５００）、微結晶デンプン、水不溶性デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（Ｖｅｅｇｕｍ）、ラウリル硫酸ナトリウム、第四級アンモニウム化合物、およびそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されない。

【０１０４】

例示的な結合剤には、デンプン（例えば、コーンスターチおよびデンプンペースト）；ゼラチン；糖（例えば、スクロース、グルコース、デキストロース、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール）；天然および合成ゴム（例えば、アカシア、アルギン酸ナトリウム、アイリッシュモスの抽出物、パンワールガム、ガティガム、イサポールハスクの粘液、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶セルロース、酢酸セルロース、ポリビニルピロリドン）、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（Ｖｅｅｇｕｍ）、およびカラマツアラビノガラクタン）；アルギネート；ポリエチレンオキシド；ポリエチレングリコール；無機カルシウム塩；ケイ酸；ポリメタクリレート；ワックス；水；アルコール；ならびにそれらの組合せが含

まれるが、これらに限定されない。

【０１０５】

例示的な防腐剤としては、酸化防止剤、キレート剤、抗菌防腐剤、抗真菌防腐剤、アルコール防腐剤、酸性防腐剤、および他の防腐剤が挙げられ得る。例示的な酸化防止剤には、アルファトコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコルビル、ステアリン酸アスコルビル、オレイン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウムおよび亜硫酸ナトリウムが含まれるが、これらに限定されない。例示的なキレート剤としては、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸およびエデト酸三ナトリウムが挙げられる。

【０１０６】

例示的な緩衝剤には、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプチン酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、Ｄ－グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、二塩基性リン酸カルシウム、リン酸、三塩基性リン酸カルシウム、水酸化リン酸カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、二塩基性リン酸カリウム、一塩基性リン酸カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、二塩基性リン酸ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、パイロジェンフリー水、等張食塩水、リンゲル液、エチルアルコール、およびそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されない。

【０１０７】

例示的な潤滑剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸グリセリル、水素化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびそれらの組合せが含まれるが、これらに限定されない。

【０１０８】

これらすべての医薬組成物または栄養補助組成物の調製は、当業者に公知の一般的な慣行に従う。

【０１０９】

前述のように、本発明の別の態様は、第１の態様で定義された医薬または栄養補助食品組成物を含む固体または液体形態の食品である。より特定の実施形態では、食品は飲料である。これらの食品または栄養補助食品は、実際には、病変が存在しない場合でも健康上の利益を提供する機能性食品またはサプリメントである。したがって、それらは、組織内の脂肪沈着に関連する疾患などの疾患に罹患するリスクを予防または低減することができる組成物と考えられる。

【０１１０】

第１の態様または第２の態様およびそれらの実施形態に開示されるような食品または組成物を、ＮＡＦＬＤを有するマウスに投与した場合、動物を有効に治療し、肝臓に蓄積した脂肪を減少させた。同様に、脂肪量に起因して体重も減少させた。さらに、アテローム性動脈硬化症のリスクの分析のためのアッセイでは、動物に本発明の組成物を与えた場合、リスクが低下することが観察された。さらに、本発明の組成物を、閉経に関連する代謝変化を示す卵巣摘出ラットに投与した場合、対応する代謝パラメータの値は対照ラットの値に近づいた。ＮＡＦＬＤ誘発マウスへの本発明の組成物の投与は、ＮＡＦＬＤを有する患者において増加することが見出された細菌ヒスチジン利用遺伝子の発現を減少させ、したがって、微生物叢の調節不全またはディスバイオシスを軽減する。

【０１１１】
したがって、第３の態様として、この医薬もしくは栄養補助食品組成物、または食品は、治療に使用するために提案される。
【０１１２】
本発明の第３の態様の特定の実施形態では、第１の態様の組成物または第２の態様の食品は、脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシスおよびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療に使用するためのものである。
【０１１３】
これはまた、脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシスおよびそれらの組合せからなる群より選択される障害または疾患の予防および／または治療のための薬剤を製造するための本発明の組成物または食品の使用として処方することができる。本発明はまた、脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシスおよびそれらの組合せからなる群より選択される障害または疾患の予防および／または治療のための方法であって、ヒトを含む、それを必要とする対象に、治療的または栄養補助的有効量の組成物または食品を、薬学的もしくは栄養補助的に許容される賦形剤および／または担体と共に投与することを含む方法に関する。
【０１１４】
本明細書で使用される「肥満」という用語は、健康に対するリスクを呈する対象、特に哺乳動物、より具体的にはヒトにおける異常なまたは過剰な脂肪蓄積を指す。ヒト、特に成人の肥満に関連するＢＭＩは、３０以上である。肥満はしばしば３つのカテゴリに細分される。
クラス１肥満：ＢＭＩ３０以上３５未満
クラス２肥満：ＢＭＩ３５以上４０未満
クラス３肥満：ＢＭＩ４０以上。クラス３の肥満は、時に「重度」の肥満に分類される。
【０１１５】
小児および１０代のＢＭＩカテゴリは、性別および年齢特異的なＢＭＩパーセンタイルに基づくことが多く、成人のＢＭＩカテゴリは、ＢＭＩのみに基づく。小児および１０代の肥満は２つのカテゴリに細分される：
・クラス２肥満：９５パーセンタイルのＢＭＩ≧１２０％～＜１４０％またはＢＭＩ≧３５～＜４０ｋｇ／ｍ２
・クラス３肥満：９５パーセンタイルのＢＭＩ≧１４０％またはＢＭＩ≧４０ｋｇ／ｍ２
【０１１６】
本明細書で使用される「ボディマスインデックス」または「ＢＭＩ」という用語は、キログラム（またはポンド）単位の対象の体重をメートル（またはフィート）単位の身長の二乗で割ったものを指す。
【０１１７】
本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、成人における肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。本発明の第３の態様の別の特定の実施形態では、組成物または食品は、非成人における肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。当業者に周知のように、非成人は１８歳未満のヒトであり、成人は１８歳以上のヒトである。
【０１１８】
本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、特に成人におけるクラス１肥満、クラス２肥満および／またはクラス３肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。特定の実施形態では、特に成人におけるクラス１の肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。別の実施形態では、特に成人におけるクラス２の肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。別の実施形態では

、特に成人におけるクラス３の肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。別の実施形態では、特に成人におけるクラス１またはクラス２の肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。別の実施形態では、特に成人におけるクラス２またはクラス３の肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１１９】

本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、特に非成人におけるクラス２肥満および／またはクラス３肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。特定の実施形態では、特に非成人におけるクラス２肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。別の実施形態では、特に非成人におけるクラス３肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、特に非成人におけるクラス２肥満およびクラス３肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、特に非成人におけるクラス２肥満またはクラス３肥満の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２０】

本明細書で使用される「過体重」という用語は、ヒトにおいて、特に成人では２５～３０、ならびに小児および１０代についはて８５パーセンタイル～９５パーセンタイル未満の上記で定義したＢＭＩに関連する健康に対するリスクを呈する対象、特に哺乳動物、より具体的にはヒトにおける異常なまたは過剰な脂肪蓄積を指す。

【０１２１】

本発明の第３の態様の特定の実施形態では、組成物または食品は、特に成人における過体重の予防および／または治療に使用するためのものである。本発明の第３の態様の別の特定の実施形態では、組成物または食品は、非成人の過体重の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２２】

「ディスバイオシス」という用語は、身体の微生物叢、特に腸の微生物叢の通常の多様性または機能が破壊される任意の状態を指す。

【０１２３】

より特定の実施形態では、第１の態様の組成物または第２の態様の食品は、非アルコール性脂肪性肝疾患およびアルコール性脂肪性肝疾患から選択される脂肪性肝疾患の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２４】

より特定の実施形態では、これは、単純性脂肪症および非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）を含む非アルコール性脂肪肝（ＮＡＦＬ）から選択される非アルコール性脂肪性肝疾患の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２５】

本発明の第３の態様の別の特定の実施形態では、組成物または食品は、雌性哺乳動物、特に女性における閉経関連症状、特に閉経に関連する代謝変化の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２６】

これはまた、閉経関連症状、特に、雌性哺乳動物、特に女性における閉経に関連する代謝変化の予防および／または治療のための薬剤を製造するための本発明の組成物または食品の使用として処方することができる。本発明はまた、閉経関連症状、特に閉経に関連する代謝変化の予防および／または治療のための方法であって、治療的または栄養補助的有効量の組成物または食品を、薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤および／または担体と共に、女性を含む、それを必要とする雌性哺乳動物に投与することを含む方法に関する。

【０１２７】

本発明の第３の態様の別の特定の実施形態では、組成物または食品は、雌性哺乳動物、特に女性において、閉経関連症状、特に閉経に関連する代謝変化の予防および／または治

療、ならびに脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシス、およびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療に使用するためのものである。

【０１２８】

これはまた、雌性哺乳動物、特に女性における、閉経関連症状、特に閉経に関連する代謝変化の予防および／または治療のための、ならびに脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシスおよびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療のための薬剤を製造するための、本発明の組成物または食品の使用として処方することができる。本発明はまた、閉経関連症状、特に閉経に関連する代謝変化の予防および／または治療のための、ならびに脂肪肝疾患、肥満、過体重、アテローム性動脈硬化症、ディスバイオシス、およびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療のための方法であって、治療的または栄養補助的有効量の組成物または食品を、薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤および／または担体と共に、女性を含む、それを必要とする雌性哺乳動物に投与することを含む方法に関する。

【０１２９】

本明細書で使用される「閉経関連症状」という用語は、代謝、体重、心血管および筋骨格の変化、泌尿生殖器および皮膚の萎縮、性機能障害、ならびに一般に雌性哺乳動物、特に女性において閉経の結果として生じる中枢神経系関連障害を指す。本明細書で使用される「閉経に関連する代謝変化」という用語は、雌性哺乳動物、特に女性において閉経の結果として生じる代謝に関連するパラメータの変化を指す。パラメータの非限定的な例としては、体重、肥満度、およびインスリン抵抗性が挙げられる。より具体的には、パラメータは、体重、脂肪量、除脂肪量、脂肪蓄積、脂肪度指数、インスリン抵抗性を含む。

【０１３０】

特定の実施形態では、閉経に関連する代謝変化は、閉経前、特に閉経移行開始前と比較して、閉経移行期、閉経または閉経後の雌性哺乳動物、特に女性における体重増加、肥満度増加、インスリン抵抗性増加からなるリストより選択される。

【０１３１】

別の特定の実施形態では、閉経に関連する代謝変化は、閉経前、特に閉経移行開始前と比較して、閉経移行期、閉経または閉経後の、雌性哺乳動物、特に女性における体重増加、脂肪量増加、除脂肪量減少、脂肪蓄積の増加、肥満度指数の増加、インスリン抵抗性の増加からなるリストより選択される。

【０１３２】

特定の実施形態では、「閉経前」は、閉経開始の１年前、２年前、３年前、４年前、好ましくは１年前を指す。別の特定の実施形態では、「閉経移行開始前」は、閉経移行開始の１年前、２年前、３年前、４年前、好ましくは１年前を指す。

【０１３３】

本明細書で使用される「閉経」という用語は、卵巣がもはや排卵していないかまたは性ホルモンをほとんど産生していないことを特徴とする、雌性哺乳動物、好ましくは女性における状態を指す。臨床的には、自然閉経は、病理学的または生理学的原因のない最終月経期間（ＦＭＰ）後の１年間の無月経と定義される。

【０１３４】

「閉経移行期」または「閉経周辺期」という用語は、最後の月経期間までの不規則な月経周期の開始から始まる定義された期間であり、生殖ホルモンの変動によって特徴付けられる。

【０１３５】

本明細書で使用される「閉経後」という用語は、閉経が起こった後の期間、すなわち最終月経期間（ＦＭＰ）の１２ヶ月後から始まる期間を指す。

【０１３６】

別の特定の態様では、本発明は、過体重の対象において体重を減少させるための非治療

的方法であって、本発明の第１の態様の組成物または本発明の第２の態様の食品を対象に投与することを含み、対象が、特に哺乳動物、さらにより具体的にはヒトである方法に関する。特定の実施形態では、投与の用量は、本発明の組成物について本発明の第１の態様に開示されている用量である。別の特定の実施形態では、投与経路は、本発明の組成物について本発明の第１の態様に開示されているものである。特定の実施形態では、ヒトは成人である。別の特定の実施形態では、ヒトは非成人である。

【０１３７】

特定の実施形態では、過体重の対象における過体重の減少は、対象のＢＭＩを少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、特に少なくとも５％減少させることを含む。別の特定の実施形態では、過体重の対象における過体重の減少は、対象のＢＭＩを少なくとも１、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７点、特に少なくとも１点減少させることを含む。

【０１３８】

実施例に示すように、４つのヒスチジン、セリン、システインおよびカルノシンの特定の組合せを補充した場合の脂肪および糖に富む食事は、肝臓および他の身体組織に蓄積した脂肪の減少を可能にした。

【０１３９】

したがって、治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む組合せも、初めて本明細書に開示される。この組合せはこれまで開示されておらず、脂肪肝疾患、肥満およびアテローム性動脈硬化症の１つ以上に罹患するリスクがある対象のための栄養補助食品として提案される。化合物のいずれかの量（用量）に関連して、ならびに化合物の異性体に関連して、第１および第２の態様について示された前述の実施形態のいずれも、４つの成分の示された組合せにも適用される。

【０１４０】

化合物のいずれかの量（用量）に関連して、ならびに化合物の異性体に関連して、第１および第２の態様について示された前述の実施形態のいずれも、システインがＮＡＣによって置き換えられている４つの成分の示された組合せにも適用される。

【０１４１】

説明および特許請求の範囲を通して、「含む」という語およびこの語の変形は、他の技術的特徴、添加物、成分または工程を排除することを意図しない。さらに、「含む」という語は、「からなる」の場合を包含する。本発明のさらなる目的、利点および特徴は、説明を検討すると当業者に明らかになるか、または本発明の実施によって習得され得る。以下の実施例は例示として提供され、それらは本発明を限定することを意図しない。さらに、本発明は、本明細書に記載の特定の実施形態および好ましい実施形態のすべての可能な組合せを包含する。

【実施例】

【０１４２】

１．ヒトコホートにおけるアッセイ。

１．１．脂肪症の程度に応じた異なるコホートにおける循環ヒスチジンレベル。

ＮＡＦＬＤ患者の脂肪肝における詳細な情報を得るために、１Ｈ－ＮＭＲ分光法による尿および血漿の代謝プロファイリングを行った。メタボローム全体の関連研究（ＭＷＡＳ）は、肝脂肪症および関連する臨床形質と相関する尿中の１２４個の代謝物シグナルおよび血漿中の８０個の代謝物シグナルをもたらした。ＮＡＦＬＤグレードと強く相関するい

くつかの肝脂肪症代謝物の中で、血漿中のヒスチジンとの顕著な負の相関および尿中の有意な減少が認められた。血漿ヒスチジンは、発見研究において１０２人の患者および５６人の患者について脂肪肝と負の相関があり、これは３１３人および２８３人の患者を用いた２つの検証コホート研究でも確認された。この２８３人の患者のコホート研究はまた、脂肪症ではない痩せ患者と比較して、脂肪症ではない肥満患者におけるヒスチジンレベルの減少を示した。脂肪症の程度が増加すると循環ヒスチジンレベルが減少し、ヒスチジンレベルと脂肪肝との負の相関が確認される。

【０１４３】

実施例１．肝脂肪症の臨床症状の改善に使用するためのサプリメントとしてのヒスチジン、セリン、システインおよびカルノシンを含む組成物。

材料および方法

動物モデルおよび食餌

実験開始時に６週齢の４８匹のＣ５７ＢＬ／６Ｊ雄マウス（Ｅｎｖｉｇｏ，Ｓａｎｔ Ｆｅｌｉｕ ｄｅ Ｃｏｄｉｎｅｓ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を使用した。動物を、温度（２２±２℃）および湿度（５５±１０％）の制御された条件下で、食物および水を自由に摂取させ、１２時間の明／暗サイクルで群（ケージ当たり４匹のマウス）に収容した。マウスをそのままにして、動物施設に１週間順化させた。順化期間後、動物を、異なる食餌を用いた２つの実験群に無作為に分けた。１６匹の対照マウスを標準食（Ｄ１２３２８，Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｄｉｅｔｓ，Ｎｅｗ Ｂｒｕｎｓｗｉｃｋ，ＮＪ）で飼育し、３２匹の動物（ＮＡＦＬＤ群）には、飲料水中に２３．１ｇ／Ｌのフルクトースおよび１８．９ｇ／Ｌのスクロースを補充したＨＦＨＦｒ食（ＨＦＨＣ：Ｄ１２３３１、研究食）を与えた。マウスを自由摂取条件で２０週間、これらの食餌で飼育した。これらの特定の用量は、以前の研究およびヒトから動物への用量変換の計算に基づいて決定された。すべての実験プロトコルは、Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｕｎｉｔ ｏｆ Ｎｕｔｒｉｔｉｏｎ ａｎｄ Ｈｅａｌｔｈ ｏｆ Ｅｕｒｅｃａｔ（Ｒｅｕｓ，Ｓｐａｉｎ）の動物倫理委員会によって承認され、カタルーニャ州政府（Ｇｅｎｅｒａｌｉｔａｔ ｄｅ Ｃａｔａｌｕｎｙａ）はすべての手順を承認した（１０２８１）。実験プロトコルは、“Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｃａｒｅ”ガイドラインに従い、ＥＣ理事会指令（８６／６０９／ＥＥＣ）に従って実施した。

【０１４４】

実験の最後の４週間（１６週目から２０週目まで）、ＮＡＦＬＤマウスを無作為に２つの群に分けた：１６匹のマウスを前述の同じ給餌条件下で飼育し（ＨＦＨＦｒ群）、１６匹のマウスをヒスチジン関連アミノ酸処置に供した（ＡＡ群）。ＡＡは、以下の化合物の混合物である：２１０ｍｇ／ｋｇのＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物（Ｍｅｒｃｋ，ＧｍｂＨ Ｇｅｒｍａｎｙ）、４９０ｍｇ／ｋｇのＬ－システイン塩酸塩（Ｍｅｒｃｋ，ＧｍｂＨ Ｇｅｒｍａｎｙ）、２１０ｍｇ／ｋｇのＬ－セリン（Ｍｅｒｃｋ，ＧｍｂＨ Ｇｅｒｍａｎｙ）および２１０ｍｇ／ｋｇのＬ－カルノシン９８％（Ａｃｒｏｓ Ｏｒｇａｎｉｃｓ，Ｇｅｅｌ，Ｂｅｌｇｉｕｍ）。ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンを、２３．１ｇ／Ｌのフルクトースおよび１８．９ｇ／Ｌのスクロースを含む飲料水（ビヒクル）で希釈した。新鮮な溶液を週に３回新たに調製し、ストック粉末から調製して、光から保護した。安楽死させる前に、群当たり１０匹の動物を無作為に選択して、インスリンチャレンジを行った。それらに１ｍＵ／ｇのインスリン（群当たりｎ＝５）または生理食塩水（群当たりｎ＝５）を腹腔内注射し、１５分後に　殺した。

【０１４５】

血清を遠心分離によって得て、さらなる分析のために－８０℃で保存した。血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）を酵素比色アッセイ（ＱＣＡ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）によって定量化した。空腹時インスリン血症および血糖症を、それぞれマウスインスリンＥＬＩＳＡキット（Ｍｅｒｃｏｄｉａ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）およびグルコース液体キット（ＱＣＡ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を用いて測定した。肝臓を迅速に回収し

、重量を測定し、２つの切片に分割した－肝内側左葉をホルマリンに保持し、残りの組織を液体窒素で凍結し、さらなる分析まで－８０℃で保存した。

【０１４６】

肝脂肪の定量化

肝脂質を抽出し、定量化した。手短に言えば、１ｍＬのヘキサン／イソプロパノール（３：２、ｖ／ｖ）を添加し、窒素ガスで脱気することによって、８０～１００ｍｇの肝臓切片から全脂質を抽出した。次いで、それらを室温で光から保護して、軌道撹拌下で一晩放置した。０．３ｍＬのNa_2SO_4（０．４７Ｍ）で抽出した後、有機層を分離し、窒素ガスで乾燥させた。乳化前に総脂質を重量測定によって定量化した。トリグリセリドおよび総コレステロールを、市販の酵素キット（ＱＣＡ）を使用して測定した。

【０１４７】

組織学的評価

緩衝ホルマリン（４％ホルムアルデヒド、４ｇ／Ｌ　ＮａＨ２ＰＯ４、６．５ｇ／ＬNa_2HPO_4；ｐＨ６．８）で固定した肝臓部分を３．５μｍの厚さに切断し、ヘマトキシリン＆エオシン（Ｈ＆Ｅ）およびトリクローム染色で染色した。肝臓の画像（倍率４０倍）を、デジタルサイトカメラ（ＤＳ－Ｒｉ１、Ｎｉｋｏｎ）に接続された顕微鏡（ＥＣＬＩＰＳＥ　Ｔｉ；Ｎｉｋｏｎ，Ｔｏｋｙｏ，Ｊａｐａｎ）で撮影し、ＩｍａｇｅＪ　ＮＤＰＩソフトウェア（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，ＵＳＡ；ｈｔｔｐｓ：／／ｉｍａｇｅｊ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｊ，ｖｅｒｓｉｏｎ　１．５２ａ）を使用して分析した。分析におけるいかなるバイアスも回避するために、この研究は二重盲検設計を有しており、組織病理学的分析中に査読者がマウスからのいかなるデータも知ることを防止した。ＮＡＦＬＤ／ＮＡＳＨを有するマウスを診断するために、一般的なＮＡＦＬＤスコアリングシステムを確立した。ＮＡＦＬＤおよびＮＡＳＨの重要な特徴を以下のように分類した：脂肪症を、大滴性（０～３）および小滴性脂肪症（０～３）を別々に分析することによって評価し、続いて異常な細胞拡大を評価する肝細胞肥大（０～３）を評価して、最後に脂肪症状態の合計スコア９点を得た。炎症を、細胞凝集物（炎症病巣）を数えることによってスコア化した。スコア０～３は、特徴のグレードに依存する。これを０（＜５％）、１（５～３３％）、２（３４～６６％）および３（＞６６％）として分類し、このスコアリングを脂肪症の各特徴で使用し、次いで総脂肪症スコア[23]に加算する。げっ歯動物のＮＡＦＬＤスコアについては定量的測定のみを考慮したので、バルーニングはスコアリングシステムに含まれなかった。肥大は細胞損傷の徴候ではなく、わずかに、この拡大の原因を認めずに細胞の異常な拡大を指すことを強調することが重要である。

【０１４８】

ＲＮＡ抽出および定量的ポリメラーゼ連鎖反応

製造業者の指示に従ってＴｒｉＰｕｒｅ試薬（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ，Ｓａｎｔ　Ｃｕｇａｔ　ｄｅｌ　Ｖａｌｌｅｓ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を使用して、群当たり８つの肝臓からのホモジネートを全ＲＮＡ抽出に使用した。ＲＮＡ濃度および純度を、ナノフォトメータ（Ｉｍｐｌｅｎ　ＧｍｂＨ，Ｍｕｎｃｈｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して決定した。Ｈｉｇｈ－Ｃａｐａｃｉｔｙ　ＲＮＡ－ｔｏ－ｃＤＮＡ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ，ＤＥ，ＵＳＡ）を使用してＲＮＡをｃＤＮＡに変換した。ｃＤＮＡを１：１０に希釈した後、Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ（登録商標）４８０　ＩＩ（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ　ＧｍｂＨ，Ｍａｎｈｅｉｍ，Ｇｅｒｍａｎｙ）で市販のＬｉｇｈｔＣｙｃｌｅｒ　４８０　ＳｙｂｒグリーンＩマスターとインキュベートした。表１は、以前に他の研究で記載され、Ｐｒｉｍｅｒ－Ｂｌａｓｔソフトウェア（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，ＵＳＡ）で検証された使用プライマのリストを示す。前述のように、３６ｂ４をハウスキーピング遺伝子として使用した。

【０１４９】

【表１】

表１．使用したＲＴ－ＰＣＲオリゴヌクレオチドの配列

プライマ	フォワード	リバース
Ppara	5′−CCCTGTTTGTGGCTGCTATAATTT−3′ (配列番号1)	5′−GGGAAGAGGAAGGTGTCATCTG−3 (配列番号2)′
Fasn	5′−GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT−3′ (配列番号3)	5′−AGAGACGTGTCACTCCTGGACTT−3′ (配列番号4)
Cd11c	5′−ACGTCAGTACAAGGAGATGTTGGA−3′ (配列番号5)	5′−ATCCTATTGCAGAATGCTTCTTTACC−3′ (配列番号6)
Tnfa	5′−AGGGTCTGGGCCATAGAACT−3′ (配列番号7)	5′−CCACCACGCTCTTCTGTCTAC−3′ (配列番号8)
Il6	5′−AGTTGCCTTCTTGGGACTGA−3′ (配列番号9)	5′−TCCACGATTTCCCAGAGAAC−3′ (配列番号10)
Il1a	5′−CCAGAAGAAAATGAGGTCGG−3′ (配列番号11)	5′−AGCGCTCAAGGAGAAGACC−3′ (配列番号12)
F4/80	5′−CATAAGCTGGGCAAGTGGTA−3′ (配列番号13)	5′−GGATGTACAGATGGGGGATG−3′ (配列番号14)
Scd1	5′−AGATCTCCAGTTCTTACACGACCAC−3′ (配列番号15)	5′−GACGGATGTCTTCTTCCAGGTG−3′ (配列番号16)
Acc1	5′−GATGAACCATCTCCGTTGGC−3′ (配列番号17)	5′−CCCAATTATGAATCGGGAGTGC−3′ (配列番号18)
Cd36	5′−GAACCACTGCTTTCAAAAACTGG−3′ (配列番号19)	5′−TGCTGTTCTTTGCCACGTCA−3′ (配列番号20)
Fabp4	5′−TGAAAGAAGTGGGAGTGGGC−3′ (配列番号21)	5′−CGAATTCCACGCCCAGTTTG−3′ (配列番号22)
Cpt1a	5′−CTCAGTGGGAGCGACTCTTCA−3′ (配列番号23)	5′−GGCCTCTGTGGTACACGACAA−3′ (配列番号24)
Cbs	5′−GCAGCGCTGTGTGGTCATC−3′ (配列番号25)	5′−CATCCATTTGTCACTCAGGAACTT−3′ (配列番号26)
Cth	5′−GGCTTCCTGCCTAGTTTCCA−3′ (配列番号27)	5′−AGTCAAAGGCATCCACCAAAG−3′ (配列番号28)
Acox	5′−CTATGGGATCAGCCAGAAAG−3′ (配列番号29)	5′−ATGAGGTTGGCTTTCAGGAG−3′ (配列番号30)
Irf4	5′−CCCCAAAGCCCTCAGTCGTTGT−3′ (配列番号31)	5′−CAGCCACTCAGGCACCGCAC−3′ (配列番号32)
Il−10	5′−AAGGCAGTGGAGCAGGTGAA−3′ (配列番号33)	5′−CCAGCAGACTCAATACACAC−3′ (配列番号34)
Atg5	5′−CGTGTATGAAAGAAGCTGATGC−3′ (配列番号35)	5′−ACGAAATCCATTTTCTTCTGGA−3′ (配列番号36)
Atg7	5′−ATGCCAGGACACCCTGTGAACTTC−3′ (配列番号37)	5′−ACATCATTGCAGAAGTAGCAGCCA−3′ (配列番号38)
Mtus1	5′−ACAGAAGATGGATCGCGTTATG−3′ (配列番号39)	5′−CCCCGTGACTCACTGAAGG−3′ (配列番号40)
LepR	5′−TCCAGGAGAGATGCTCACACTTT−3′ (配列番号41)	5′−TGCGTGGAACAGGTTTGAAA−3′ (配列番号42)
Sec24b	5′−GACCCGAGAAGGCGCTTT−3′ (配列番号43)	5′−TTTGCCAACCCAAATGTAGAAA−3′ (配列番号44)
Cebpb	5′−ATCGACTTCAGCCCGTACCT−3′ (配列番号45)	5′−CCGTAGTCGTCGGAGAAGAG−3′ (配列番号46)
36bB4	5′−AGTCCCTGCCCTTTGTACACA−3′ (配列番号47)	5′−CGATCCGAGGGCCTCACTA−3′ (配列番号48)

【０１５０】

タンパク質抽出およびウエスタンブロット分析

およそ２０ｍｇの肝臓を、３００μＬの溶解緩衝液（８ｍｍｏｌ／Ｌ　ＮａＨ２ＰＯ４、４２ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｎａ２ＨＰＯ４、１％ＳＤＳ、０．１ｍｏｌ／Ｌ　ＮａＣｌ、０．１％ＮＰ４０、１ｍｍｏｌ／Ｌ　ＮａＦ、１０ｍｍｏｌ／Ｌオルトバナジン酸ナトリウム、２ｍｍｏｌ／Ｌ　ＰＭＳＦ、および１％プロテアーゼ阻害剤カクテル１（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｓｉｇｍａ，Ｄａｒｍｓｔａｄｔ，Ｇｅｒｍａｎｙ））中で５０秒間、Ｔｙｓｓｕｅｌｙｓｅｒ　ＬＴ（Ｑｉａｇｅｎ，Ｈｉｌｄｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）でホモジナイズした。タンパク質抽出物を標準化したＢＣＡ法（Ｂｉｏ－Ｒａｄタンパク質アッセイ；ＢｉｏＲａｄ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ，ＵＳＡ）によって定量化した。タンパク質抽出物（２０～２５μｇ）を１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥで電気泳動的に分離し、ニトロセルロース膜（Ｌｉ－ｃｏｒ　ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，ＮＥ，ＵＳＡ）にエレクトロブロットした。効率的なタンパク質転移をポンソーＳ染色によって観測した。次に、膜を室温でブロックし（５％ＢＳＡ）、１％ＢＳＡ：全Ａｋｔ（４６８５）（ＣＳＴ，Ｄａｎｖｅｒｓ，ＭＡ，ＵＳＡ）、ホスホ－Ａｋｔ（Ｓｅｒ４７３）（４０６０）（ＣＳＴ）およびβ－アクチン（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ；Ｄａｌｌａｓ，Ｔ

Ｘ，ＵＳＡ）中、４℃で一晩、特異的一次抗体（１：１０００に希釈）でプローブした。その後、赤外蛍光二次抗体の抗ウサギ６８０、抗ウサギ８００および抗マウス６８０（ＬＩ－ＣＯＲ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｌｉｎｃｏｌｎ，ＮＥ，ＵＳＡ；それぞれ９２６－３２２１１、９２６－６８０７１および９２６－６８０７０）を検出に使用し、ＩｍａｇｅＪを使用して定量化した。

【０１５１】

統計分析

ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　９ソフトウェア（Ｇｒａｐｈ－Ｐａｄ　Ｓｏｆｔ－ｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ，ＵＳＡ）を使用して統計分析を行った。データを平均±ＳＥＭとして示す。データ分布をシャピロ－ウィルク正規性検定によって分析した。２つの群間の差を、対応のないｔ検定（両側、９５％信頼区間）を用いて決定した。一元配置分散分析（ＡＮＯＶＡ）を行って、３つの群間の差を調べた。０．０５未満のｐ値を統計学的に有意とみなした。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　９ソフトウェア（Ｇｒａｐｈ－Ｐａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ，ＵＳＡ）を使用して統計分析を行った。データを平均±ＳＥＭとして示す。データ分布をシャピロ－ウィルク正規性検定によって分析した。２つの群間の差を、対応のないｔ検定（両側、９５％信頼区間）を用いて決定した。一元配置分散分析（ＡＮＯＶＡ）を行って、３つの群間の差を調べた。０．０５未満のｐ値を統計学的に有意とみなした。

【０１５２】

結果

特定のアミノ酸の組合せは、ＮＡＦＬＤの肝損傷および肝臓特徴を軽減した

ヒスチジン、セリン、システインおよびカルノシンからなる特定のアミノ酸処置（ＡＡ）の４週間後、動物を　　殺し、肝臓重量を分析した。ＡＡ補充群は、ＨＦＨＦｒ動物と比較して肝臓重量を減少させる傾向を示し、ＨＦＨＦｒ動物は、対照群と比較して肝臓重量が有意に増加した（図１（Ａ））。肝臓重量におけるＡＡ群とＨＦＨＦｒ群との間で認められたこれらの差は、固体摂取量または液体摂取量の差と相関しなかった（データは示していない）。さらに、肉眼的観察を行ったところ、対照群と比較してＨＦＨＦｒ動物では白っぽい脂肪肝が示されたが、ＡＡ処置は、ＨＦＨＦｒ群と比較して健康な肝臓の外観を部分的に回復させた（図１（Ｂ））。ＡＡ群は、ＨＦＨＦｒ動物と比較して有意に低下したＡＳＴレベルを示した。しかしながら、ＡＬＴは、ＨＦＨＦｒ群対応物に関してＡＡ群に有意な変化を示さず、ＨＦＨＦｒ群対応物は、両方のトランスアミナーゼにおいて対照群と比較して有意な増加を示した（図１（Ｃ）および（Ｄ））。

【０１５３】

ＡＡ補充は肝臓脂質含有量および脂肪肝を減少させた

肝臓状態の評価後、この研究では、肝臓含有量および脂肪肝の特徴的な特徴を分析した。対照群と比較して、ＨＦＨＦｒ群では総脂質含量、総コレステロールおよびトリグリセリドの肝臓レベルの有意な増加が観察された。興味深いことに、ＡＡ補充動物は、ＨＦＨＦｒ群と比較して肝臓トリグリセリドレベルの有意な減少を示したが（図２（Ｂ））、この効果は肝臓の総コレステロールレベルには反映されなかった（図２（Ｃ））。しかし、総肝臓脂質レベルは、ＨＦＨＦｒ群と比較してＡＡ群でわずかな減少を示した（図２（Ａ））。

【０１５４】

肝臓状態評価および生化学分析と一致して、肝臓組織学分析は、ＨＦＨＦｒ群が、肥大の増加を伴う大滴性および小滴性脂肪症の存在によって顕著な脂肪肝を発症し、これが核置換を引き起こすことを示した。重要なことに、ＡＡ補充による処置は脂肪肝を改善し、実際に、小滴性脂肪症は特に減少し、大滴性脂肪症による占有表面も減少し、肥大は減少し、核置換を低下させた（図３（Ａ））。その結果、脂肪滴量および脂質表面の有意な減少が観察された（図３（Ｂ）および（Ｃ））。ＮＡＦＬＤ／ＮＡＳＨを有するマウスの診断を、一般的なＮＡＦＬＤスコアリングシステムの確立を介して行い、これは、ＨＦＨＦｒ群と比較してＡＡ補充で処置した動物において分析した種々のパラメータの有意な改善

を裏付けた（図３（Ｄ））。

【０１５５】

特定のアミノ酸のこの組合せが炎症促進性マーカのレベルを調節したかどうかを評価するために、いくつかの代表的な炎症性遺伝子の発現レベルを分析した。この試験の以前の結果に関連して、マクロファージ浸潤のマーカであるＦ４／８０は、ＨＦＨＦｒ群と比較してＡＡ補充動物において有意に下方制御され、ＨＦＨＦｒ群は、対照群と比較してこの遺伝子の有意な上方制御レベルを示した。同様の結果がＴＮＦα　ｍＲＮＡレベルで観察され、対照群と比較してＨＦＨＦｒ動物で有意に増加したが、ＴＮＦα発現は、ＡＡ補充群ではそれらの対応物と比較して有意に下方制御された（データは示していない）。

【０１５６】

ＡＡ補充の有益な効果は、脂質生成または脂質輸送経路を含まなかった

どの代謝経路がＡＡ補充後のＮＡＦＬＤの改善に関与し得るのかを識別するために、肝臓の脂質生成、脂質輸送などの脂質代謝に関連する遺伝子発現の分析を行った。ＨＦＨＦｒ群は、脂質輸送関連遺伝子Ｃｄ３６およびＦａｂｐ４の有意な増加を示した。ＡＡ群では、脂質輸送に関連するこれら２つの遺伝子における効果は見られず、対照群と比較してこれらの遺伝子の高レベルの発現を維持している。対照群およびＨＦＨＦｒ群と比較した場合、デノボ肝臓脂質生成に関与する遺伝子、Ｓｃｄ１のｍＲＮＡレベルに有意な変化が観察された。他のデノボ肝臓脂質生成遺伝子Ａｃｃ１およびＦａｓｎは、対照群とＨＦＨＦｒ群との間で有意差を示さなかった。ＡＡ処置後、ＡＡ群がＨＦＨＦｒ群と比較して有意な増加を示したＡｃｃ１を除いて、ＨＦＨＦｒ群と比較して新規肝脂質生成遺伝子レベルに差は見出されなかった。

【０１５７】

ＡＡ補充はＮＡＦＬＤに関連する肝臓炎症を減少させた

ＡＡによる補充が炎症促進性マーカのレベルを調節したかどうかを評価するために、いくつかの代表的な炎症性遺伝子の発現レベルを評価した。予想通り、マクロファージ浸潤のマーカであるＦ４／８０　ｍＲＮＡレベルは、対照マウスと比較してＨＦＨＦｒ群で有意に上方制御された。対照的に、ＡＡ処置は、Ｆ４／８０発現のこの上方制御を有意に補正した。同様の有意な結果がＴｎｆαの発現において観察され、ＨＦＨＦｒ群における増大したレベルがＡＡ群では補正され、興味深い統計的傾向がＩｌ１ａ遺伝子発現において見出され、対照群と比較してＨＦＨＦｒ群で有意な増加があったが、ＡＡはＩｌ１ａのレベルを有意に低下させることができなかった。Ｉｌ６レベルおよびＩＬ１０レベルの両方において、重要な結果は示されなかった。しかし、Ｃｄ１１ｃの発現は、対照群と比較してＨＦＨＦｒ群およびＡＡ群で有意な増加を示したが、ＨＦＨＦＲマウスとＡＡマウスとの間に差は認見出されなかった。

【０１５８】

ＡＡ補充はＮＡＦＬＤにおける抗酸化防御および抗腫瘍活性を増加させた

オートファジー、免疫応答、抗酸化防御、抗腫瘍活性および小胞輸送に関連する遺伝子の分析を行った。オートファジーに注目すると、対照マウス、ＨＦＨＦｒマウスおよびＡＡマウスの間で両遺伝子に差は見出されなかった。しかしながら、ＣＢＳまたはＣＴＨなどの抗酸化活性に関連する遺伝子について言えば、有意な結果が見出された。対照とＨＦＨＦｒとの間に差は認められなかったが、ＡＡマウスでは、両方の遺伝子の発現がＨＦＨＦｒ群と比較して有意に増加した。抗腫瘍活性関連遺伝子の場合、Ｍｔｕｓ１は、ＨＦＨＦｒ群と比較してＡＡマウスにおいて有意な増加を示した。免疫応答に関連する遺伝子に関して、ＩＲＦ４発現に差は見出されなかった。しかし、Ｃｅｂｐｂ発現では、ＨＦＨＦｒ群と比較してＡＡ群で有意な増加が観察された。最後に、小胞輸送に関連する遺伝子Ｓｅｃ２４ｂは、ＨＦＨＦｒマウスと比較してＡＡマウスにおいて有意な増加を示した。

【０１５９】

ＡＡ補充はＮＡＦＬＤに関連する肝臓インスリン抵抗性を減少させた

障害された肝臓インスリンシグナル伝達がＮＡＦＬＤ発症において重要な役割を果たすことを考慮して、インスリン抵抗性を評価するために、Ａｋｔ活性化（セリン４７３での

リン酸化）を決定する腹腔内インスリンボーラスまたは生理食塩水で動物をチャレンジした。予想通り、対照群は、ビヒクル注射マウスと比較して、インスリンチャレンジマウスにおいて有意なＡｋｔリン酸化（ｐＡｋｔＳ４７３）を示した。この事実はＨＦＨＦｒ群では観察されず、これらの動物における肝臓インスリン抵抗性を示した。対照的に、ＡＡ補充群はインスリンシグナル伝達の有意な改善を示し、ビヒクル注射ＡＡマウスと比較して、インスリンチャレンジマウスではＡｋｔのリン酸化が有意に増加した。データを図４に示しており、（Ａ）では、Ａｋｔ活性化（ｐＡｋｔＳ４７３）、総Ａｋｔタンパク質レベル（Ｔ－Ａｋｔ）、ハウスキーピングβ－アクチンレベルおよびポンソーＳ膜染色によるタンパク質負荷に関する代表的なウエスタンブロット分析を示す。（Ｂ）では、リン酸化Ａｋｔと総Ａｋｔとの比のデンシトメトリ分析を示す。

【０１６０】

さらに、脂肪酸β酸化（カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、Ｃｐｔ１ａ）、炎症（ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド２、ＣＣＬ２）、脂肪分解（ホルモン感受性、ＨＳＬ；およびリピン、ＰＬＩＮ）ならびに脂肪生成（脂肪酸シンターゼ、ＦＡＳＮ）の四元処理後の重要な遺伝子の肝臓発現の分析は、Ｃｐｔ１ａの増加傾向、肝臓炎症の重要な減少（Ｃｃｌ２）および脂肪分解の増加（リパーゼＨｓｌのより高い発現および周囲の脂肪滴タンパク質Ｐｌｉｎのより低いレベル）を示した（図４（Ｃ））。対照的に、脂肪生成（Ｆａｓｎ）では変化は観察されなかった。データを平均±ＳＥＭとして図４に表す。１条件当たりｎ＝１０～１２。＊ｐ＜０．０５。

【０１６１】

ＡＡ補充はＮＡＦＬＤにおける肝臓のアミノ酸レベルを増加させる

アミノ酸に基づく処理の肝臓に対する効果を分析するために、処理における関与アミノ酸を定量化する目的で、血清中でＬＣ／ＭＳによる評価を行った。ヒスチジンおよびセリンの場合、別々に、群間で差は認められなかった。アミノ酸のレベルをまとめると、これらのアミノ酸の濃度を増加させる傾向が観察されたが、有意ではなかった。これは、アミノ酸の組織生体内蓄積に起因して起こる可能性がある。したがって、この仮説を証明するために、ＬＣ／ＭＳによって異なる群の肝臓ホモジネート中でこれらのアミノ酸の分析を行った。得られた結果は、対照群と比較してＨＦＨＦｒ群においてヒスチジンおよびセリンレベルの有意な減少を示した。さらに、ＡＡ群では、ＨＦＨＦｒ群と比較してヒスチジンおよびセリンレベルを増加させる強い傾向が観察された。カルノシンの一部であり、カルノシンシンセターゼを介して産生され得るアミノ酸であるアラニンは、対照群と比較してＨＦＨＦｒ群で有意な減少を示した。さらに、ＨＦＨＦｒマウスと比較してＡＡマウスにおける有意な増加。グリシンは、セリンおよびＧＳＨの代謝に関連するアミノ酸であり、そのレベルの増加は、セリン投与によるものであり得る。対照群と比較してＨＦＨＦｒ群ではグリシンレベルの低下が認められた。さらに、ＨＦＨＦマウスのグリシンレベルに関して、ＡＡマウスではグリシンレベルが回復した。

【０１６２】

実施例２．ＡＡの補充はアテローム性動脈硬化症のリスクを低下させる。

アテローム性動脈硬化症は、慢性炎症過程の特徴の多くを示す複雑な障害である。アテローム硬化性心血管疾患は依然として世界中で罹病および死亡の主な原因であり、肥満はアテローム性動脈硬化症および死亡のリスクを増加させる。アテローム性動脈硬化症を有する肥満個体と有しない肥満個体との間の違いの背後にある機構を解明することは、長期的成功が限られていることが公知の減量プログラムの代替または補助として肥満の有害な心血管結果を治療するための治療標的を明らかにすることができるであろう。我々の時代の最も説得力のある臨床的課題の１つは、肥満の有病率の増加および心血管系に対するその有害な影響である。肥満は、炎症およびアテローム性動脈硬化症の発症に関与する病態生理学的プロセスに影響を及ぼす。肥満および過体重は、好ましくない血中脂質プロファイルパターンを伴う。脂質異常症は、冠動脈疾患の主要な危険因子である。肥満患者の中で、高トリグリセリド血症の推定有病率は、非肥満個体の２倍高い。さらに、高トリグリセリド血症と高ＬＤＬおよび低ＨＤＬとのアテローム性の組合せは、肥満および過体重の

患者においてより一般的である。
【０１６３】
血清および血液分析
血清空腹時グルコース、総コレステロール、トリグリセリド（ＱＣＡ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を酵素比色アッセイによって分析した。マウスインスリンＥＬＩＳＡキット（Ｍｅｒｃｏｄｉａ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を使用して血清空腹時インスリン血症を分析し、ＥｎｚｙＣｈｒｏｍ（商標）ＡＦ　ＨＤＬおよびＬＤＬ／ＶＬＤＬアッセイキット（ＢｉｏＡｓｓａｙ　Ｓｙｓｔｅｍ，Ｈａｙｗａｒｄ，ＣＡ，ＵＳＡ）を使用して血清中のＨＤＬおよびＬＤＬレベルを分析した。
【０１６４】
１６匹の対照マウスを標準食（Ｄ１２３２８，Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｄｉｅｔｓ，ＮｅｗＢｒｕｎｓｗｉｃｋ，ＮＪ，ＵＳＡ）で飼育し、３２匹の動物（アテローム性の群）には、２３．１ｇ／Ｌのフルクトースおよび１８．９ｇ／Ｌのスクロースを飲料水中に補充したＨＦＨＦｒ食（ＨＦＨＣ：Ｄ１２３３１、研究食）を与えた。マウスを自由摂取条件で２０週間、これらの食餌で飼育した。実験の最後の４週間（１６週目から２０週目まで）、アテローム性マウスを無作為に２つの群に分けた：１６匹のマウスを前述の同じ給餌条件下で飼育し、残りの１６匹を実施例１で上に説明したヒスチジンアミノ酸の組合せで処置した。
【０１６５】
ｎ＝４８匹のマウスを用いたアッセイでは、いずれが高密度リポタンパク質（ＨＤＬ）、低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）およびＬＤＬ／ＨＤＬの比の循環レベルであるかも決定した。データを図５に示しており、図５では、サプリメントを受けた群（ヒスチジンＡＡ）は、ＨＦＨＦｒ食を受けたマウスと比較してより高いレベルのＨＤＬを示し（図５（Ａ））、ＨＦＨＦｒ食を与えたマウスと比較して血清中ＬＤＬの有意な減少を示し（図５（Ｂ））、ＬＤＬ／ＨＤＬ比は対照としての平均値内であった（図５（Ｃ））。データは、サプリメントが、「悪玉コレステロール」として知られるもの（ＬＤＬ）レベルの低下を可能にし、「善玉コレステロール」として知られるもの（ＨＤＬ）のレベルの上昇がアテローム性動脈硬化症のリスクを低下させることを確認している。
【０１６６】
実施例３．ＡＡの補充は、内臓脂肪および肥満パラメータを減少させる。
脂肪組織は著しく不均一である。皮下脂肪組織（ｓｃＷＡＴ）は全体脂肪貯蔵の大部分を構成し、内臓脂肪（ｖＷＡＴ）組織はより少ない部分を構成するが、それでも、過剰なｖＷＡＴは、保護的影響を及ぼすことが報告されている過剰なｓｃＷＡＴよりも深刻なリスクである。これに関して、肥満は、体脂肪の過剰な蓄積または異常な分布として定義され、とりわけ、２型糖尿病、脂肪肝、心血管疾患、脳卒中、脂質異常症、高血圧および特定の種類の癌などの関連疾患によっても複雑になり得る。肥満は一般にエネルギー消費量に関連する過剰なエネルギー消費によって引き起こされるが、その病因は複雑であり、遺伝的、生理学的、環境的、社会的、心理学的、および経済的要因を含み、これらは相互作用して肥満の発症を促進する。この過剰な利用可能エネルギーは、脂肪細胞サイズの成長（肥大）および脂肪細胞数の増加（過形成）によって媒介される脂肪組織デポの拡大を促進する。
【０１６７】
実施例１と同じマウス数を用いたアッセイでは、肥満リスクおよび内臓脂肪を減少させる補充（ＡＡ）の能力を解明するために、数あるパラメータの中で体重、体重増加も決定した。
【０１６８】
材料および方法
ＥＷＡＴおよびＢＡＴの組織学的分析
緩衝ホルマリン（４％ホルムアルデヒド、４ｇ／Ｌ　ＮａＨ２ＰＯ４、６．５ｇ／ＬＮａ２ＨＰＯ４；ｐＨ６．８）で固定したＥＷＡＴおよびＢＡＴ部分を５μｍの厚さに切

断し、ヘマトキシリン＆エオシン（Ｈ＆Ｅ）で染色した。ＢＡＴ　ＩＷＡＴおよびＥＷＡＴ画像（倍率４倍）を、デジタルサイトカメラ（ＤＳ－Ｒｉ１、Ｎｉｋｏｎ）に接続された顕微鏡（ＥＣＬＩＰＳＥ　Ｔｉ；Ｎｉｋｏｎ，Ｔｏｋｙｏ，Ｊａｐａｎ）で撮影し、ＩｍａｇｅＪ　ＮＤＰＩソフトウェア（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，ＵＳＡ；ｈｔｔｐｓ：／／ｉｍａｇｅｊ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｊ，ｖｅｒｓｉｏｎ　１．５２ａ）を使用して分析した。分析におけるいかなるバイアスも回避するために、この研究は二重盲検設計を有しており、組織病理学的分析中に査読者がマウスからのいかなるデータも知ることを防止した。脂肪細胞の面積定量化をＡｄｉｐｏｓｏｆｔプラグインによって分析して、群間のＥＷＡＴ状態を評価した。ＢＡＴ中の脂肪滴定量化をＤｒｏｐｌｅｔ　Ｆｉｎｄｅｒプラグインによって分析した。

【０１６９】

ＲＮＡ抽出および定量的ポリメラーゼ連鎖反応

製造業者の指示に従って、ＴｒｉＰｕｒｅ試薬（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ，Ｓａｎｔ　Ｃｕｇａｔ　ｄｅｌ　Ｖａｌｌｅｓ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を使用した全ＲＮＡ抽出のために、ＥＷＡＴ、ＩＷＡＴおよびＢＡＴからのホモジネートを使用した。ＲＮＡ濃度および純度を、ナノフォトメータ（Ｉｍｐｌｅｎ　ＧｍｂＨ，Ｍｕｎｃｈｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して決定した。Ｈｉｇｈ－Ｃａｐａｃｉｔｙ　ＲＮＡ－ｔｏ－ｃＤＮＡ　Ｋｉｔ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ，ＤＥ，ＵＳＡ）を使用してＲＮＡをｃＤＮＡに変換した。ｃＤＮＡを１：１０に希釈した後、Ｌｉｇｈｔｃｙｃｌｅｒ（登録商標）４８０　ＩＩ（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ　ＧｍｂＨ，Ｍａｎｈｅｉｍ，Ｇｅｒｍａｎｙ）で市販のＬｉｇｈｔＣｙｃｌｅｒ　４８０　ＳｙｂｒグリーンＩマスターとインキュベートした。表２は、以前に他の研究で記載され、Ｐｒｉｍｅｒ－ＢｌａｓｔソフトウェアＮａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，ＵＳＡ）で検証された使用プライマのリストを示す。３６ｂ４をハウスキーピング遺伝子として使用した。

【０１７０】

ＢＡＴ温度測定

ＢＡＴを取り囲む温度を、高解像度赤外線カメラ（ＦＬＩＲ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して可視化し、前述のように７９、特定のソフトウェアパッケージ（ＦＬＩＲ－Ｔｏｏｌｓ－Ｓｏｆｔｗａｒｅ，ＦＬＩＲ；Ｋｅｎｔ，ＵＫ）を用いて分析した。各画像について、ＢＡＴを取り囲む領域を区切り、皮膚領域の平均温度を３枚の写真／動物の平均として計算した。

【０１７１】

【表２】

表２．ＲＴ－ＰＣＲに使用したオリゴヌクレオチドの配列

プライマ	フォワード	リバース
AdipoQ	AAGGGAGAGAAAGGAGATGC (配列番号49)	TACACATAAGCGGCTTCTCC (配列番号50)
Ccl2	ATTGGGATCATCTTGCTGGT (配列番号51)	CCTGCTGTTCACAGTTGCC (配列番号52)
Cpt1a	CTCAGTGGGAGCGACTCTTCA (配列番号23)	GGCCTCTGTGGTACACGACAA (配列番号24)
Cpt1b	CGAGGATTCTCTGGAACTGC (配列番号53)	GGCCTCTGTGGTACACGACAA (配列番号54)
Dio2	AGAGTGGAGGCGCATGCT (配列番号55)	GGCATCTAGGAGGAAGCTGTTC (配列番号56)
Dio3	CTACGTCATCCAGAGTGGCA (配列番号57)	CTGTTCATCATAGCGCTCCA (配列番号58)
Fasn	GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT (配列番号3)	AGAGACGTGTCACTCCTGGACTT (配列番号4)
Fgf21	CCTCTAGGTTTCTTTGCCAACAG (配列番号59)	AAGCTGCAGGCCTCAGGAT (配列番号60)
Glut4	AAAAGTGCCTGAAACCAGAG (配列番号61)	TCACCTCCTGCTCTAAAAGG (配列番号62)
Hsl	TCCTGGAACTAAGTGGACGCAAG (配列番号63)	CAGACACACTCCTGCGCATAGAC (配列番号64)
Lep	CTCCATCTGCTGGCCTTCTC (配列番号65)	CATCCAGGCTCTCTGGCTTCT (配列番号66)
LepR	TCCAGGAGAGATGCTCACACTTT (配列番号41)	TGCGTGGAACAGGTTTGAAA (配列番号42)
Pgc1a	AGCCGTGACCACTGACAACGAG (配列番号67)	GCTGCATGGTTCTGAGTGCTAAG (配列番号68)
Pparγ	CACAATGCCATCAGGTTTGG (配列番号69)	GCTGGTCGATATCACTGGAGATC (配列番号70)
Prdm16	CAGCACGGTGAAGCCATTC (配列番号71)	GCGTGCATCCGCTTGTG (配列番号72)
Tfam	CACCCAGATGCAAAACTTTCAG (配列番号73)	CTGCTCTTTATACTTGCTCACAG (配列番号74)
Tmem26	ACCCTGTCATCCCACAGAG (配列番号75)	TGTTTGGTGGAGTCCTAAGGTC (配列番号76)
Ucp1	ACTGCCACACCTCCAGTCATT (配列番号77)	CTTTGCCTCACTCAGGATTGG (配列番号78)
36b4	AGTCCCTGCCCTTTGTACACA (配列番号47)	CGATCCGAGGGCCTCACTA (配列番号48)

【０１７２】

結果

図６に示すデータに見られるように、本発明の四元組合せ（ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシン）を補充したＨＦＨＦｒ食を与えたマウスの体重は、最終体重が初期体重より有意に高かった、ＨＦＨＦｒ食のみを与えたマウスとは対照的に、初期体重および４週間の処置後の最終体重を変化させなかった（図６（Ａ））。さらに、本発明の四元組合せで処置した肥満動物は、処置の第２週で体重増加が停止した（図６（Ｃ））。さらに、精巣上体白色脂肪組織（ＥＷＡＴ）、後腹膜ＷＡＴ（ＲＷＡＴ）および平均重量脂肪組織を測定した場合、四元組合せを補充したＨＦＨＦｒ食を与えたマウスは、補充しなかったマウスと比較して脂肪量が減少した（図６（Ｂ））。四元組合せ処置による肥大性内臓脂肪組織の減少は、顕微鏡レベルで脂肪細胞サイズの減少によって裏付けられ、より小さい脂肪細胞の数が増加し、より大きい脂肪細胞の数が減少した（図６（Ｄ））。さらに、四元組合せ処置はまた、褐色脂肪細胞サイズの減少と共に、褐色脂肪組織（ＢＡＴ）を調節し、この脂肪デポにおける肥大を減少させる（図６（Ｅ））。ＢＡＴにおけるこれらの効果は、重要な発熱遺伝子（Ｕｃｐ１、Ｆｇｆ２１、Ｐｇｃ１ａ、Ｐｒｄｍ１６、Ｄｉｏ２およびＤｉｏ３）のｍＲＮＡ発現の増加、インスリン増感剤アディポカイン（Ａｄｉｐｏｑ）ならびに脂肪酸酸化（Ｃｐｔ１ｂ）およびグルコース取り込み（Ｇｌｕｔ１およびＧｌｕｔ４）に関連する他の遺伝子の増加を伴った（図６（Ｇ））。四元組合せで処理した後のＵｃｐ１のｍＲＮＡレベルの増加はタンパク質レベルで裏付けられ、脂肪酸を燃焼させる能力がより高いことを示した（図６（Ｈ））。実際に、この能力をサーモグ

ラフィによって評価し、四元組合せで処置した動物のＢＡＴ領域でより高い温度を観察した（図６（Ｉ））。

【０１７３】

実施例４．インビトロアッセイ

肝細胞株（ＨｅｐＧ２）を使用してインビトロアッセイも実施して、脂肪酸β酸化（カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、Ｃｐｔ１ａ）、炎症（ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド２、ＣＣＬ２）、脂肪分解（ホルモン感受性、ＨＳＬ；およびリピン、ＬＰＩＮ）および脂肪生成（脂肪酸シンターゼ、ＦＡＳＮ）の重要な遺伝子の肝臓発現における補充アミノ酸の異なる組合せの効果を試験した。遺伝子発現を、先に示したように（実施例１の材料および方法を参照）ｑＰＣＲによって決定した。表３は使用したプライマのリストを示す。Ｃｐｔ１ａ酵素は外膜に位置し、ミトコンドリア内膜を横切るカルニチン依存性輸送における重要な酵素である。その欠乏は、脂肪酸β酸化の速度低下をもたらす。

【０１７４】

【表３】

表３．ＲＴ－ＰＣＲに使用したオリゴヌクレオチドの配列

プライマ	フォワード	リバース
CPT1a	GACGGCTATGGTGTGTCGTA（配列番号７９）	TCCAGCCCAGCACATGAAC（配列番号８０）
CCL2	AGCAGCAAGTGTCCCAAAGA（配列番号８１）	GGTGGTCCATGGAATCCTGA（配列番号８２）
HSL	CAAGTGTGTCAGCGCCTATGCT（配列番号８３）	CAAGTGTGTCAGCGCCTATGCT（配列番号８４）
PLIN	TGCCAGAAACAGCATCAG（配列番号８５）	CAAATTCCGCAGTGTCTCT（配列番号８６）
FASN	TGCGTGGCCTTTGAAATGTG（配列番号８７）	CTCCATGTCCGTGAACTGCT（配列番号８８）
RPLP0	ATGGCAGCATCTACAACCCT（配列番号８９）	AGGACTCGTTTGTACCCGTT（配列番号９０）

【０１７５】

データを図７に示しており、図７では、発現レベル（ｍＲＮＡ）を補充媒体のいずれかについて示している。試験した補充媒体は、ヒスチジン（Ｈｉｓ）、カルノシン（Ｃａｒ）、システイン（Ｃｙｓ）、セリン（Ｓｅｒ）、ヒスチジン＋カルノシン（Ｈｉｓ＋Ｃａｒ）、ヒスチジン＋セリン（Ｈｉｓ＋Ｓｅｒ）、ヒスチジン＋システイン（Ｈｉｓ＋Ｃｙｓ）、カルノシン＋システイン（Ｃａｒ＋Ｃｙｓ）、セリン＋カルノシン（Ｓｅｒ＋Ｃａｒ）、セリン＋システイン（Ｓｅｒ＋Ｃｙｓ）、ヒスチジン＋カルノシン＋セリン（Ｈｉｓ＋Ｃａｒ＋Ｓｅｒ）、ヒスチジン＋システイン＋セリン（Ｈｉｓ＋Ｃｙｓ＋Ｓｅｒ）、ヒスチジン＋カルノシン＋システイン（Ｈｉｓ＋Ｃａｒ＋Ｃｙｓ）、セリン＋カルノシン＋システイン（Ｓｅｒ＋Ｃａｒ＋Ｃｙｓ）、および四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）であった。試験した濃度は次のとおりであった：ヒスチジン１０ｍＭ、カルノシン５ｍＭ、システイン５ｍＭおよびセリン５ｍＭ。これらの濃度を異なる組合せで保存した。データを平均±ＳＥＭとして図７に表す；１条件当たりｎ＝３～４。

【０１７６】

図７に示すように、最良の成績は４ＡＡを含むサプリメントであった。三元の組合せも対照群と比較して有効であり（すべて組合せ中にヒスチジンを有する）、単一アミノ酸によって生じる引用酵素の発現と比較して効果の増加を示した。注目すべきはまた、ヒスチジン、セリンおよびシステインを含む三元の組合せが顕著な増加を示すことである。まとめると、これらのデータは、ヒスチジン、システイン、セリン、カルノシンのうちの少な

くとも３つの組合せ、特にヒスチジンを含む三元および四元の組合せが、驚くべきことに、脂肪蓄積を伴う疾患または障害におけるそれらの有益な役割の証明として、分析した酵素のレベルを増加させたことを確認することを可能にする。注目すべきはまた、四元の組合せが、カルノシンの存在下であっても、相乗的により良好に機能したことであり、この化合物は、他のアミノ酸の一部と共に添加した場合に効果を低下させる傾向を示した。

【０１７７】

実施例５．ＡＡの補充は、閉経に関連する代謝変化を改善する

材料および方法

４０匹の２４週齢ラットを、Ｋｏｅｂｅｌｅ，Ｓ．Ｖ．ａｎｄ Ｂｉｍｏｎｔｅ－Ｎｅｌｓｏｎ，Ｈ．Ａ，２０１６に記載されている手順に従って卵巣摘出した。同じ週齢のさらに１０匹のラットを偽手術した。手術の２～３週間後に、ラットを８週間にわたって４つの実験群に無作為に割り当てた：

－ＳＨＡＭ、模擬手術

ＯＶＸ：プラセボを毎日投与されたＯＶＸラット

ＯＶＸ－Ｅ２：皮下注射によってエストロゲン処置（１７β－エストラジオール）を隔週で受けたＯＶＸラット。ＯＶＸ－Ｅ２ラットに、トウモロコシ油の担体溶液を介して２５μｇ／ｋｇ体重の１７β－エストラジオール（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を隔週で皮下注射した。

－ＯＶＸ＋４ＡＡ：ヒスチジン、カルノシン、セリンについては１０５ｍｇ／ｋｇ／隔週、システインについては２４５ｍｇ／ｋｇ／隔週の用量で４ＡＡを毎日補充したＯＶＸラット。

【０１７８】

体組成分析：ＥｃｈｏＭＲＩ－７００（商標）装置（Ｅｃｈｏ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｌ．Ｌ．Ｃ．，Ｈｏｕｓｔｏｎ，ＵＳＡ）を使用して、研究の開始時および終了時に麻酔なしで除脂肪量および脂肪量測定（グラム）を行った。測定は、自由摂取条件下で８．００ａｍに三連で行い、結果を体重のパーセンテージとして表した。

【０１７９】

肥満度指数：肥満度指数を、ＩＷＡＴ、ＭＷＡＴおよびＲＷＡＴデポ重量（グラム）の重量の和として計算し、体重のパーセンテージとして表した。

【０１８０】

血清レプチンレベル：血清レプチンレベルを、ラットＥＬＩＳＡキット（ＥＺＲＬ－８３Ｋ／Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）を用いて決定した。

【０１８１】

グルコースおよびインスリンレベル：グルコースおよびインスリンレベルを、グルコース酵素比色キット（９９８２８２／ＱＣＡ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）およびラットインスリンＥＬＩＳＡキット（１０－１２５０－０１／Ｍｅｒｃｏｄｉａ，Ｕｐｓｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を使用して分析した。

【０１８２】

ＨＯＭＡ－ＩＲ分析：恒常性モデル評価推定インスリン抵抗性（ＨＯＭＡ－ＩＲ）を、以前に記載されているように（Ｍａｔｔｈｅｗｓ ｅｔ ａｌ．，１９８５）以下の式を使用して計算した：（グルコース＿インスリン）／２２．５。

【０１８３】

結果

卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットを用いて行われた以前の研究は、これらの動物が偽手術ラット（対照）と比較して体重増加、肥満およびインスリン抵抗性障害を示すことを示した。

【０１８４】

本明細書に開示される結果は、四元のヒスチジン＋システイン＋セリン＋カルノシン（４ＡＡ）の組合せによる処置が、閉経に関連する代謝変化を改善するのに有効であることを示している。

【０１８５】

実施例６．ヒトにおける腸内微生物叢およびＨｕｔ遺伝子との血漿ヒスチジンおよび脂肪症程度の関連
材料および方法
メタゲノム解析
メタゲノミクス解析のために、１０％の試料中に１０個未満を有する微生物科、属または種を除外した。循環ヒスチジンレベル、脂肪肝またはＨＡＡ処置に関連する分類群についての差分存在量分析を、バイアス補正法による微生物叢の組成の分析（ＡＮＣＯＭ－ＢＣ）を使用して行った。これは、観察されたデータから推定される線形回帰モデルに標本固有のオフセットを加えることによって標本間の差分標本抽出率によるバイアスを考慮する。対数スケールの線形回帰モデルは、メタゲノミクスデータセットの組成的性質を考慮するための対数比変換に類似しているが、オフセット項はバイアス補正として機能する。年齢、性別、ＢＭＩおよび国についてヒトのすべてのモデルを調整した。「ＳＧｏＦ」Ｒパッケージに実装されている逐次適合度（Ｓｅｑｕｅｎｔｉａｌ　Ｇｏｏｄｎｅｓｓ　ｏｆ　Ｆｉｔ）を使用して、多重比較のためにｐ値を調整した。それぞれｈｕｔＧ、ｈｕｔＨ、ｈｕｔＩ、およびｈｕｔＵの数として統計学的検出力を低下させる、ＦＤＲ法とは異なる。
【０１８６】
糞便ゲノムＤＮＡの抽出および全ゲノムショットガンシーケンシング（メタゲノミクス）
発見コホートから７３人の患者について糞便ショットガンシーケンシングデータを生成した。手短に言えば、ＱＩＡａｍｐ　ＤＮＡ　Ｓｔｏｏｌ　Ｍｉｎｉキット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用し、ビーズビート工程を加えることによってわずかに変更して、凍結ヒト便から全ＤＮＡを抽出した。ＤＮＡの定量化を、Ｑｕｂｉｔ　３．０蛍光光度計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，ＵＳＡ）を用いて行い、各試料について３ｎｇの抽出ＤＮＡを、Ｂｉｏｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＰＣＲフリーライブラリキットを製造業者の指示に従って使用して調製し、２×１５０のペアエンド化学を有するＨｉｓｅｑ　２５００（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）で配列決定した。得られた入力ｆａｓｔｑファイルを、ｐｒｉｎｓｅｑ－ｌｉｔｅ－０．２０．４プログラムを使用して解凍し、フィルタリングし、品質によって３’末端をトリミングし、ＦＬＡＳＨ－１．２．１１を使用して重複する対を結合した。次いで、ｆａｓｔｑファイルをｆａｓｔファイルに変換し、エンドツーエンドおよび非常に高感度の選択肢を有するＢｏｗｔｉｅ　２を使用して、リードを参照ヒトゲノム（ＧＲＣｈ３８．ｐ１１，Ｄｅｃ　２０１３）に対してマッピングすることによって、ヒト宿主リードを除去した。次に、ＭＥＧＡＨＩＴ　ｖ１．１．２によって非宿主リードをコンティグにアセンブルし、Ｂｏｗｔｉｅ　２を用いてそれらのリードをコンティグに対してマッピングすることによって、機能分析を行った。アセンブルしなかったリードをコンティグに加えた。次に、コード化領域を予測するためにＰｒｏｄｉｇａｌ　ｖ２．６．３４２を使用した。機能的アノテーションを、Ｋｙｏｔｏ　Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ　ｏｆ　Ｇｅｎｅｓ　ａｎｄ　Ｇｅｎｏｍｅｓ（ＫＥＧＧ）データベース、バージョン２０１６に対してＨＭＭＥＲを用いて行い、遺伝子の機能的サブカテゴリ、経路およびアノテーションを得た。最良のアノテーションのフィルタリングおよびすべてのリードへのｏｒｆアノテーションの割り当てを、整列したリードをカウントし、カテゴリおよびそのカバレッジを追加し、最終的に存在量マトリックスを構築するためにも使用したＲ３．１．０を用いて実施した。分類学的アノテーションを、貪欲モードを使用して、ヒトフリーリードに対してＫａｉｊｕ　ｖ１．６．２を用いて実行した。すべてのサンプルについて系統情報の追加、分類群の計数および存在量マトリックスの生成を、パッケージＲを使用して行った。
【０１８７】
細菌ゲノムＤＮＡの単離、１６Ｓ　ｒＲＮＡ配列決定および分析（メタゲノミクス）
細菌ゲノムＤＮＡを、ＭＢＰ　ＤＮＡ　Ｓｏｉｌ抽出キットを使用してマウス糞便試料から単離した。ゲノムＤＮＡをＥＢ（１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ）で５ｎｇ／μＬに正規化し、ライブラリを作成した。簡潔には、ＫＡＰＡ　Ｐｕｒｅ　Ｂｅａｄｓ（Ｒｏｃｈ

ｅカタログ番号０７９８３２９８００１）を使用した第１のＰＣＲおよびクリーンアップの後、Ｎｅｘｔｅｒａ　ＸＴ　Ｉｎｄｅｘ　Ｋｉｔ　ｖ２インデックスプライマ（Ｉｌｌｕｍｉｎａカタログ番号ＦＣ－１３１－２００１～２００４）のＰ７およびＰ５を使用して第２のＰＣＲマスターミックスを作製した。ＰＣＲ反応後、Ｑｕａｎｔ－ｉＴ　ｄｓＤＮＡ　Ａｓｓａｙ　Ｋｉｔ、高感度キット（カタログ番号１０１６４５８２）を使用してライブラリを定量化し、ＦＬＵＯｓｔａｒ　Ｏｐｔｉｍａプレートリーダで実行した。ライブラリをプールし、Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔａｐｅｓｔａｔｉｏｎ　４２００を使用してＨｉｇｈ　Ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　Ｄ１０００　ＳｃｒｅｅｎＴａｐｅ（Ａｇｉｌｅｎｔカタログ番号５０６７－５５７９）で実行して、最終ライブラリプールモル濃度を計算した。２０％ＰｈｉＸスパイクイン（ＰｈｉＸ　Ｃｏｎｔｒｏｌ　ｖ３　Ｉｌｌｕｍｉｎａカタログ ＦＣ－１１０－３００１）を含むＩｌｌｕｍｉｎａが推奨する変性およびローディング推奨事項に従って、ＭｉＳｅｑ（登録商標）Ｒｅａｇｅｎｔ　Ｋｉｔ　ｖ３（６００サイクル）（ＩｌｌｕｍｉｎａカタログＦＣ－１０２－３００３）を使用してＩｌｌｕｍｉｎａ　ＭｉＳｅｑ装置でプールを実行した。生データを、ＭｉＳｅｑレポータを使用してＭｉＳｅｑで局所的に分析した。１６Ｓ配列分析のために、ＬｏｔｕＳ　１．３６は、デフォルトの品質フィルタリングを用いてショートアンプリコンモードでパイプラインを使用した。生の１６Ｓ　ｒＲＮＡ遺伝子リードを品質フィルタリングして、１７０ｂｐの最小長、８個以下のホモヌクレオチド、あいまいな塩基なし、平均品質≧２７および０．５未満の累積誤差を確実にし、デレプリケーションフィルタを「６：１、３：２」に設定した。クリーニングしたリードを、ＤＡＤＡ２を使用してアンプリコンシーケンシングバリアント（ＡＳＶ）にクラスタ化し、キメラＡＳＶを、ＤＡＤＡ２デノボキメラチェックを使用して除去した。残りのｐｈｉＸリードを、ｐｈｉＸ参照ゲノムに対してＡＳＶをマッピングすることによってフィルタリングした。ＡＳＶ分類法を、Ｓｉｌｖａ　１３８．１参照データベースに対してＬｏｔｕＳ２　ＬＣＡアルゴリズムを使用して割り当てた。平均して５５００±３１０８個のリードを、シアノバクテリア起源の各試料に割り当てることができた。さらなるデータ分析を、ｒｔｋソフトウェアまたはすべてのデータ正規化を使用して、Ｒ統計言語バージョン３．００（Ｔｈｅ　Ｒ　Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ、ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｒ－ｐｒｏｊｅｃｔ．ｏｒｇ／）を用いて行った。１６Ｓ生データは、ｈｔｔｐｓ：／／１ｄｒｖ．ｍｓ／ｕ／ｓ！ＡｐＶｅｚｄｋｔＸ３ａＩｌＺＶＪＸＹＷｏｋ９ｓ２ｑｈｇｆｖｇ？ｅ＝ＶＤｙｒ２ｃに見出すことができる。

【０１８８】

ＨｕｔＨおよびＨｕｔＧ微生物叢機能のためのプライマ設計

ＨｕｔＨおよびＨｕｔＧ遺伝子の保存領域で増幅し、プライマ設計に使用されるすべての種をカバーすることができる縮重プライマを設計するために、原核生物種からのいくつかの配列をデータベースからＡＲＤＥＰプログラムにアップロードした。ｋ－ｍｅｒアルゴリズムに基づいて、プライマ長をｋとして設定し、すべての配列をｋ－ｍｅｒに分割する。分析プラットフォームは、「シーケンス処理」セクションに位置するツールを使用して配列データベースで配列長統計、長さフィルタリング、および冗長性除去を実行することを可能にする。配列データベースの品質管理を行った後、プライマ設計のためのＡＲＤＥＰを「プライマ処理」セクションで実行することができ、異なる可能性のプライマセットのリストを得た。「対象分類計算機」オプションを使用して、プライマセットによってカバーされる分類および機能群の配列番号をカウントした。最良の選択肢を選択して、基本的なプライマ特性（Ｔｍ、ＧＣ％、プライマ長）を検討した。

【０１８９】

結果

微生物叢－宿主相互作用は、潜在的に代謝性疾患の発症に寄与し、腸内微生物叢を肝脂肪症に結び付ける分子ネットワークが近年解明されている。

【０１９０】

腸内微生物叢は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）（図１１ｂ）ならびに肥満、ＩＢＤ、内臓脂肪組織および不健康な代謝プロファイルなどの他の疾患および状態の

病態生理学において重要な役割を果たす。

【０１９１】

プロテオバクテリア門（Ｐｒｏｔｅｏｂａｃｔｅｒｉａ）からの科であるキサントモナス科（Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｄａｃｅａｅ）、リケッチア科（Ｒｉｃｋｅｔｔｓｉａｃｅａｅ）、およびアルテロモナス目（Ａｌｔｅｒｏｍｏｎａｄａｌｅｓ）は、脂肪肝において増加する。属レベルでは、ビロフィラ属（Ｂｉｌｏｐｈｉｌａ）およびカンピロバクター属（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ）もまた、ＮＡＦＬＤにおいて増加することが記載されている。

【０１９２】

ヒスチジンは多くの細菌によって利用され得、プロテオバクテリアにとって重要な炭素、窒素、および／またはエネルギー源である。ヒスチジン利用（Ｈｕｔ）経路は、ウロカニン酸、イミダゾロンプロピオン酸およびホルムイミノグルタミン酸を産生するためにヒスチジンからアンモニアを除去することを含む（図１１ｃ）。

【０１９３】

血漿ヒスチジンレベルの調節における腸内微生物叢の潜在的な役割を評価するために、発見コホートからの患者の７３個の糞便試料のショットガンメタゲノミクス解析を実施した。バイアス補正による微生物叢の組成の分析（ＡＮＣＯＭ－ＢＣ）を適用して、メタゲノムデータセットの組成的性質を検討し、年齢、ＢＭＩ、性別および国を制御する循環ヒスチジンレベルに関連する異なる豊富な分類群を同定した。

【０１９４】

ヒスチジンレベルとプロテオバクテリア門のメンバーとの間に強い負の関連が同定された。プロテオバクテリア門からの科（図１１ａ）もまた、脂肪肝の程度と強く関連していた。循環ヒスチジンレベルもまた、シアノバクテリア（Ｃｙａｎｏｂａｃｔｅｒｉａ）ならびにコリネバクテリウム目（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉａｌｅｓ）（アクチノバクテリア門（Ａｃｔｉｎｏｂａｃｔｅｒｉａ））およびマリニラビリア目（Ｍａｒｉｎｉｌａｂｉｌｉａｌｅｓ）（バクテロイデス門（Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｔｅｓ））と強く正に関連していた（図１１ａ）。

【０１９５】

循環ヒスチジンも同様に、抗炎症性代謝物を産生することが公知の健康な腸の細菌指標、例えばフィーカリバクテリウム属（Ｆａｅｃａｌｉｂａｃｔｅｉｒｕｍ）、ビフィドバクテリウム属（Ｂｉｆｉｄｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ）およびオドリバクター属（Ｏｄｏｒｉｂａｃｔｅｒ）からの種と正に関連していた（図１１ａ）。

【０１９６】

これらの結果と一致して、より高い脂肪症程度を有する患者は、増加したレベルの微生物Ｈｕｔ遺伝子を有し、これは、ＨＡＡ補充後に減少し（ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンを含む先の実施例で使用された組成物に対応する、本明細書で使用される「ＨＡＡ」）、関連するディスバイオシスに対するＨＡＡ投与の効果を示した。

【０１９７】

３３％未満の脂肪症程度を有する患者および３３％超の肝脂肪症を有する患者は、最初の３つのヒスチジン分解工程に関与する微生物遺伝子の存在量がより多いことが見出され、これらの工程は普遍的であるようであり、ヒスチジンのウロカニン酸への変換、ウロカニン酸のイミダゾールプロピオン酸への水和、およびイミダゾール環を開裂してホルムイミノグルタミン酸を得ることを含む（図１１ｄ）。

【０１９８】

以前の結果は、ヒスチジン関連アミノ酸（ＨＡＡ）の補充がＮＡＦＬＤを改善し、マウスにおいて肝臓炎症を減少させたことを証明している。

【０１９９】

本明細書では、ＮＡＦＬＤ誘発マウスにおけるＨＡＡ補充が、ＮＡＦＬＤ患者において増加することが見出された細菌ヒスチジン利用遺伝子（ｈｕｔＨおよびｈｕｔＧ）の発現を減少させることが示されている（図１１ｅ）。

【０２００】
まとめると、これらの結果は、血漿ヒスチジンレベルが、ＮＡＦＬＤにおいて調節不全の細菌ファミリーと負に関連することを示している。ディスバイオシスとして知られるこの微生物叢の調節不全は、ＨＡＡ投与によって対抗することができる。
【０２０１】
本発明のさらなる態様／実施形態は、以下の条項に見出すことができる：
１．１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つ；ならびに／または治療的もしくは栄養補助的有効量のペプチドであって、ヒスチジン、システイン、セリンおよびカルノシンのうちの少なくとも３つを含むアミノ酸の配列を含むペプチドを含む、医薬組成物または栄養補助食品組成物。
【０２０２】
２．１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に、治療的または栄養補助的有効量の、ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つを含む、条項１に記載の組成物。
【０２０３】
３．ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的または栄養補助的有効量が、対象のＫｇ当たり１０ｍｇ～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり３０～５５０ｍｇの用量を与えるものであり；セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２５０ｍｇの用量を与えるものであり；およびカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物の治療的有効量が、対象のＫｇ当たり１０～２００ｍｇの用量を与えるものである、条項１～２のいずれか一項に記載の組成物。
【０２０４】
４．治療的または栄養補助的有効量の、Ｌ－ヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－システインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、Ｌ－セリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、およびＬ－カルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物のうちの少なくとも３つを含む、条項１～３のいずれか一項に記載の組成物。
【０２０５】
５．ヒスチジンおよびシステインの薬学的または栄養補助的に許容される塩が、Ｌ－ヒスチジンの塩酸塩およびＬ－システインの塩酸塩である、条項１～４のいずれか一項に記載の組成物。
【０２０６】
６．ヒスチジンの薬学的に許容される塩がＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物である、条項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【０２０７】

７．治療的または栄養補助的有効量のヒスチジンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のシステインまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、治療的または栄養補助的有効量のセリンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物、および治療的または栄養補助的有効量のカルノシンまたはその薬学的もしくは栄養補助的に許容される塩またはそれらのいずれかの溶媒和物を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む、条項１～６のいずれか一項に記載の組成物。

【０２０８】

８．－治療的または栄養補助的有効量のＬ－ヒスチジン一塩酸塩一水和物；

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－システイン塩酸塩；

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－セリン；および

－治療的または栄養補助的有効量のＬ－カルノシン

を、１つ以上の薬学的または栄養補助的に許容される賦形剤または担体と共に含む、条項７に記載の組成物。

【０２０９】

９．条項１～８のいずれか一項に定義される医薬組成物または栄養補助食品組成物を含む、固体または液体形態の食品。

【０２１０】

１０．飲料である、条項９に記載の食品。

【０２１１】

１１．治療に使用するための、条項１～８の請求項のいずれか一項に定義される医薬もしくは栄養補助食品組成物、または条項９～１０のいずれか一項に定義される食品。

【０２１２】

１２．脂肪肝疾患、肥満、アテローム性動脈硬化症およびそれらの組合せからなる群より選択される疾患の予防および／または治療に使用するための、条項１１に記載の使用のための医薬もしくは栄養補助食品組成物または食品。

【０２１３】

１３．非アルコール性脂肪性肝疾患およびアルコール性脂肪性肝疾患から選択される脂肪性肝疾患の予防および／または治療に使用するための、条項１１～１２のいずれか一項に記載の使用のための医薬もしくは栄養補助食品組成物または食品。

【０２１４】

１４．非アルコール性脂肪性肝疾患が、単純性脂肪症および非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）を含む非アルコール性脂肪肝（ＮＡＦＬＤ）から選択される、条項１３に記載の使用のための医薬もしくは栄養補助食品組成物または食品。

【０２１５】

引用文献リスト

“

－Ｋｏｅｂｅｌｅ，Ｓ．Ｖ．＆Ｂｉｍｏｎｔｅ－Ｎｅｌｓｏｎ，Ｈ．Ａ．“Ｍｏｄｅｌｉｎｇ ｍｅｎｏｐａｕｓｅ：Ｔｈｅ ｕｔｉｌｉｔｙ ｏｆ ｒｏｄｅｎｔｓ ｉｎ ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ ｂｅｈａｖｉｏｒａｌ ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ ｒｅｓｅａｒｃｈ”．Ｍａｔｕｒｉｔａｓ ２０１６，８７，５－１７．

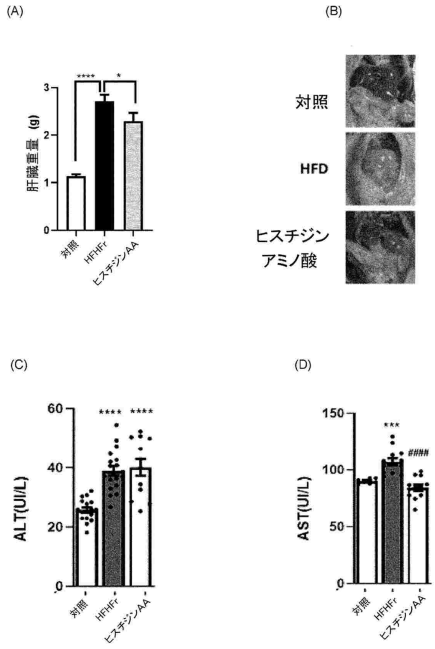
－Ｍａｒｄｉｎｏｇｌｕ ｅｔ ａｌ．，“Ｐｅｒｓｏｎａｌ ｍｏｄｅｌ－ａｓｓｉｓｔｅｄ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ＮＡＤ＋ ａｎｄ ｇｌｕｔａｔｈｉｏｎｅ ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｓ ｉｎｔｅｒｖｅｎｔｉｏｎ ｔａｒｇｅｔ ｉｎ ＮＡＦＬＤ”，Ｍｏｌ Ｓｙｓｔ Ｂｉｏｌ－２０１７，ｖｏｌ．ｎｏ．１３：９１６

－Ｍｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，“Ｈｉｓｔｉｄｉｎｅ ａｎｄ ｃａｒｎｏｓｉｎｅ ａｌｌｅｖｉａｔｅｄ ｈｅｐａｔｉｃ ｓｔｅａｔｏｓｉｓ ｉｎ ｍｉｃｅ ｃｏｎｓｕｍｅｄ ｈｉｇｈ ｓａｔｕｒａｔｅｄ ｆａｔ ｄｉｅｔ”，Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｊｏｕ

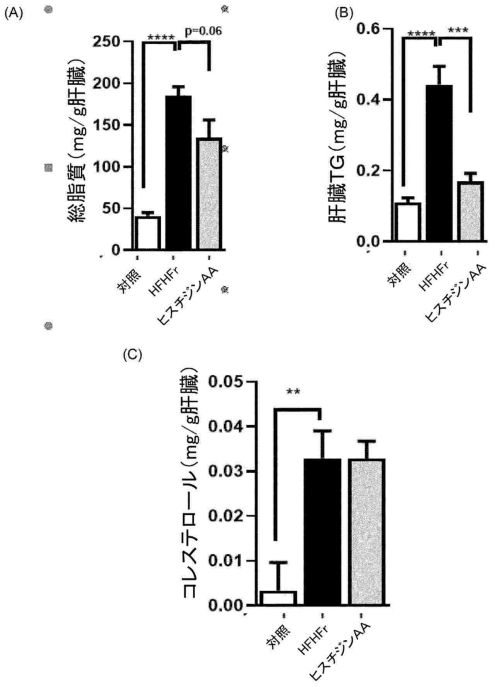
ｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ６５３（２０１１）８２－８８
－Ｚｈａｏ，Ｚ．；Ｆｕ，Ｃ．；Ｚｈａｎｇ，Ｙ．；Ｆｕ，Ａ．Ｄｉｍｅｒｉｃ Ｈｉｓｔｉｄｉｎｅ ａｓ ａ Ｎｏｖｅｌ Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌ Ｓｃａｖｅｎｇｅｒ Ａｌｌｅｖｉａｔｅｓ Ｎｏｎ－Ａｌｃｏｈｏｌｉｃ Ｌｉｖｅｒ Ｉｎｊｕｒｙ．Ａｎｔｉｏｘｉｄａｎｔｓ ２０２１，１０，１５２９．ｈｔｔｐｓ：／／ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．３３９０／ａｎｔｉｏｘ１０１０１５２９

【図面】

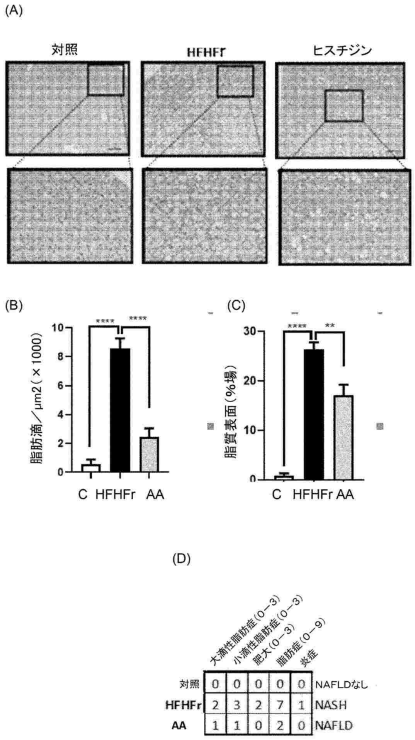
【図１】



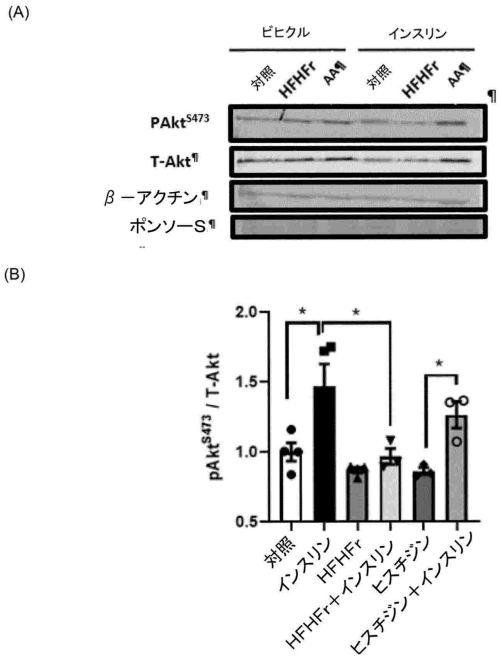
【図２】



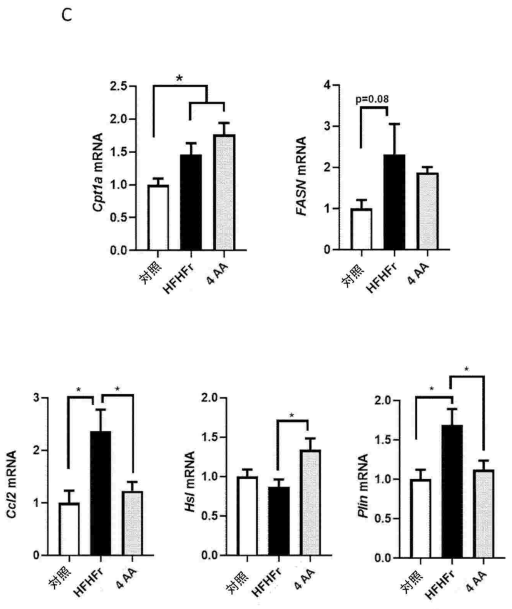
【図３】


(A)
対照
HFHFr
ヒスチジン
(B)
脂肪滴／μm2（×1000）
C HFHFr AA
(C)
脂質表面（%場）
C HFHFr AA
(D)
大滴性脂肪症（0–3）
小滴性脂肪症（0–3）
肥大（0–3）
脂肪症（0–9）
炎症
対照 0 0 0 0 0 NAFLDなし
HFHFr 2 3 2 7 1 NASH
AA 1 1 0 2 0 NAFLD

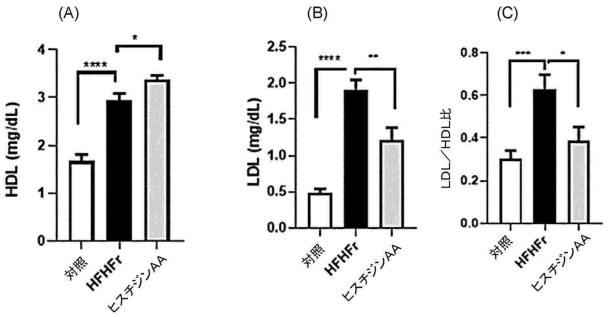
【図４－１】


(A)
ビヒクル
インスリン
対照
HFHFr
AA
PAkt^{S473}
T-Akt
β－アクチン
ポンソーS
(B)
pAkt^{S473} / T-Akt
対照
インスリン
HFHFr
HFHFr＋インスリン
ヒスチジン
ヒスチジン＋インスリン

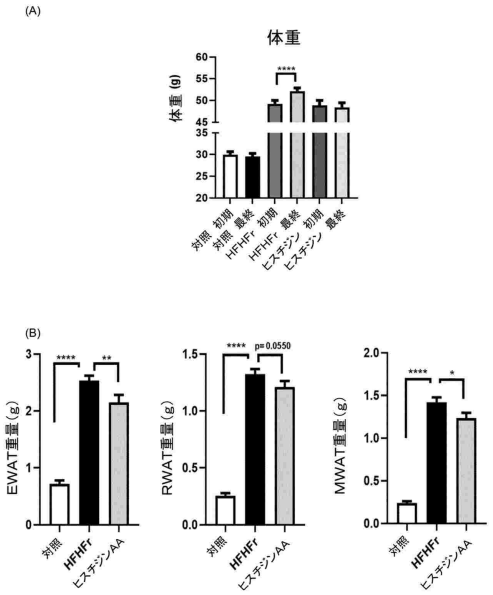
【図４－２】


C
Cpt1a mRNA
FASN mRNA
p=0.08
Ccl2 mRNA
Hsl mRNA
Plin mRNA
対照
HFHFr
4 AA

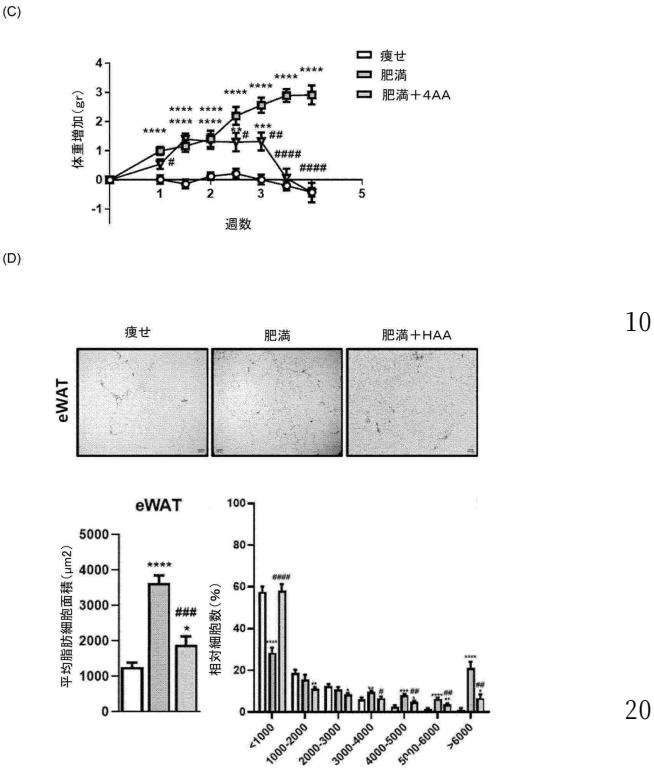
【図５】


(A)
HDL (mg/dL)
(B)
LDL (mg/dL)
(C)
LDL／HDL比
対照
HFHFr
ヒスチジンAA

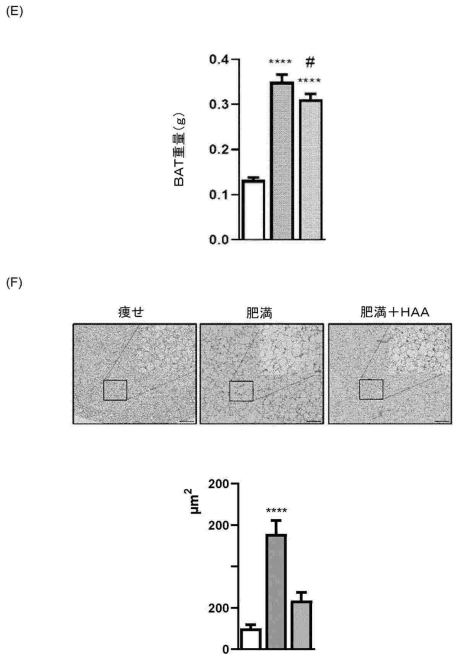
【図６－１】



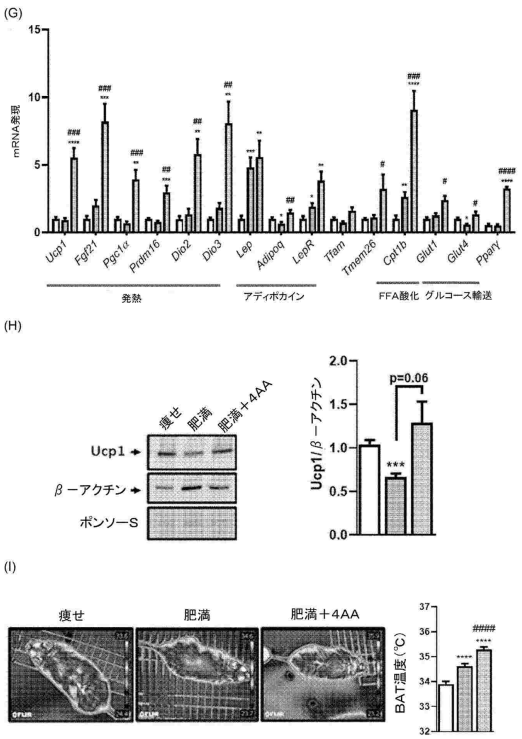
【図６－２】



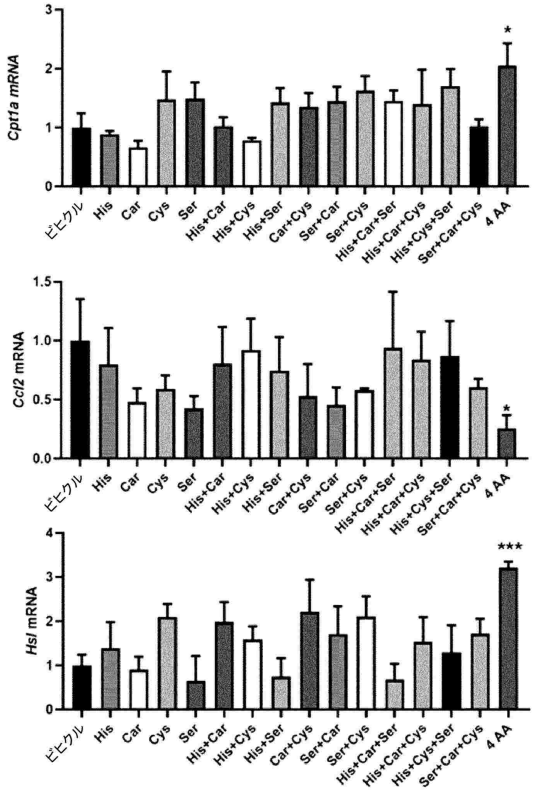
【図６－３】



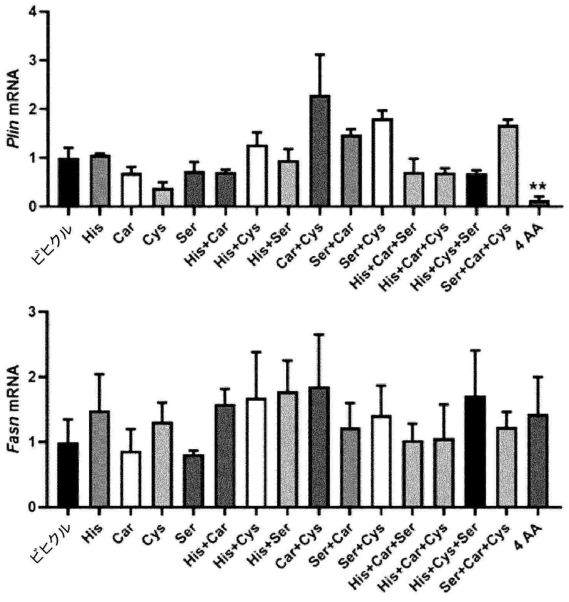
【図６－４】



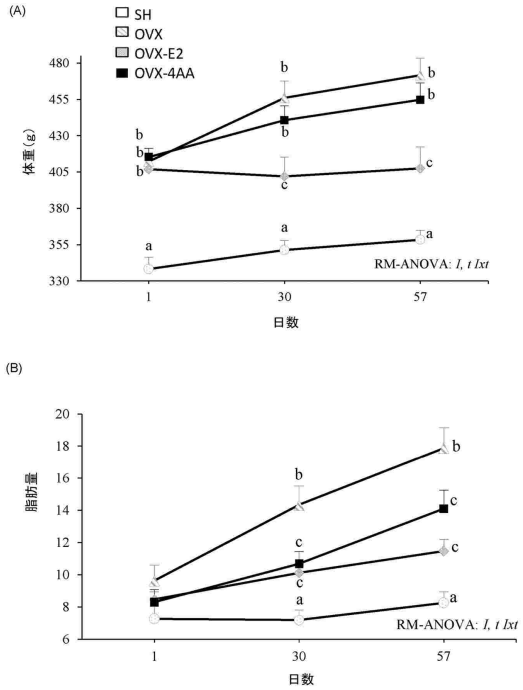
【図７－１】



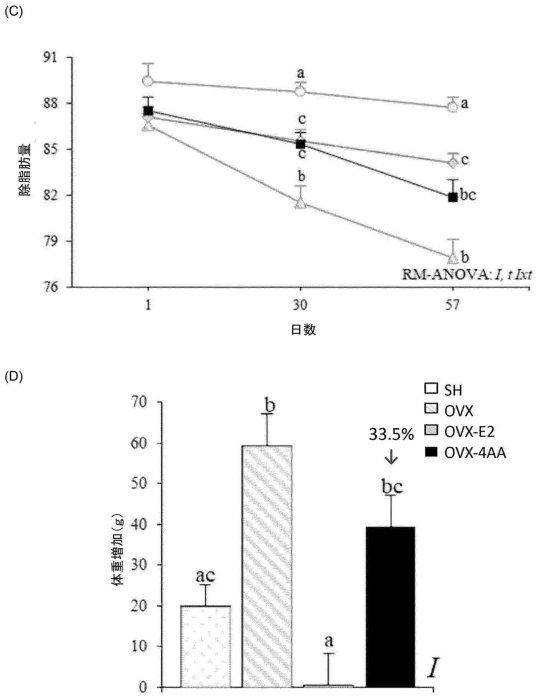
【図７－２】



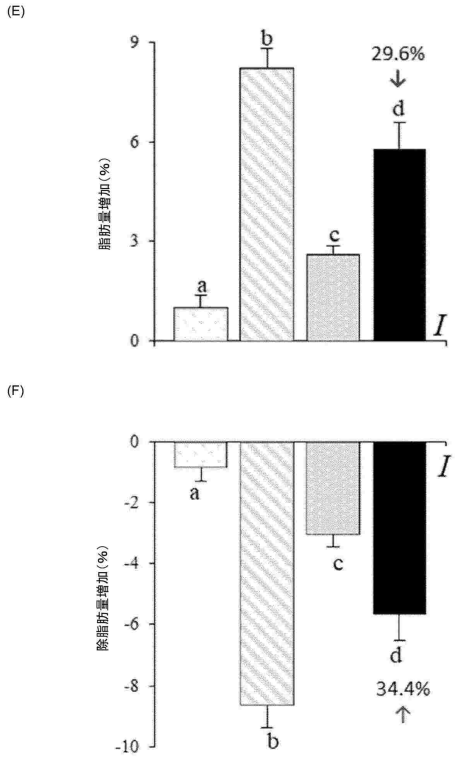
【図８－１】



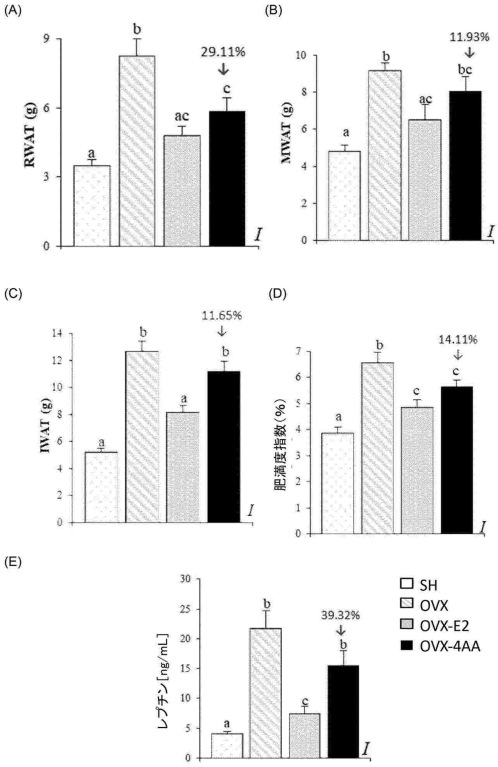
【図８－２】



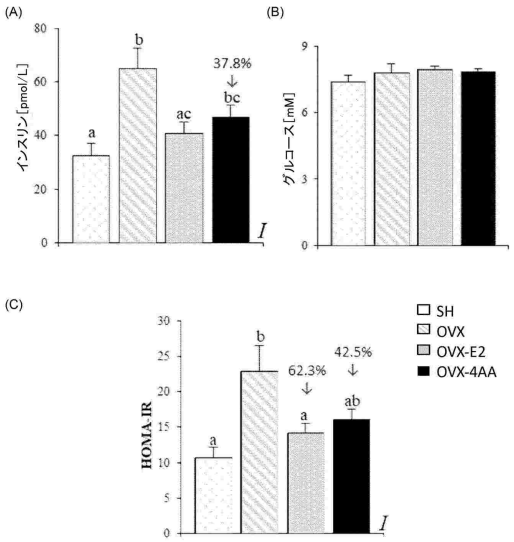
【図８－３】



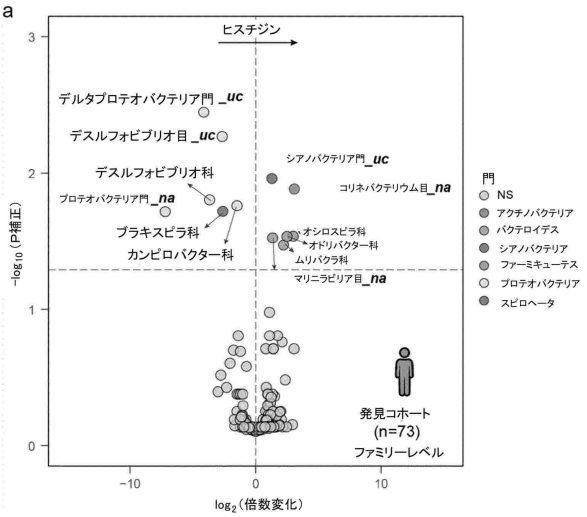
【図９】



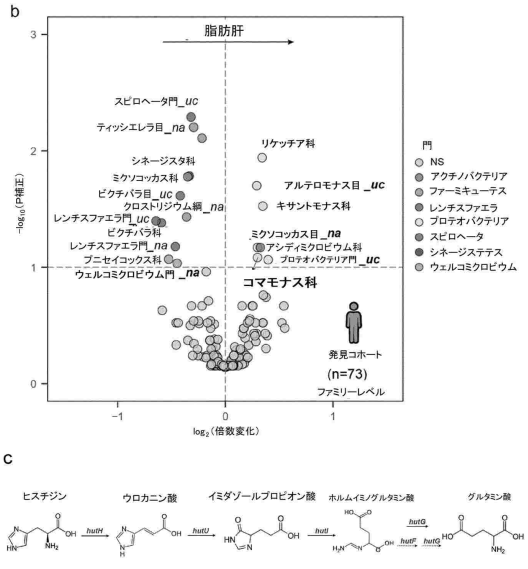
【図１０】



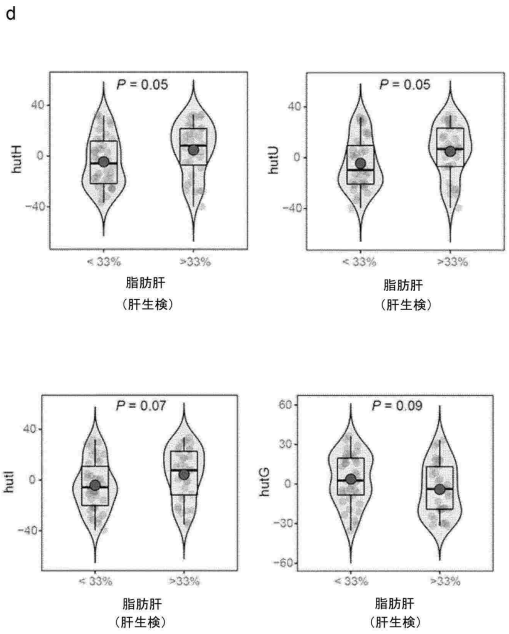
【図１１－１】



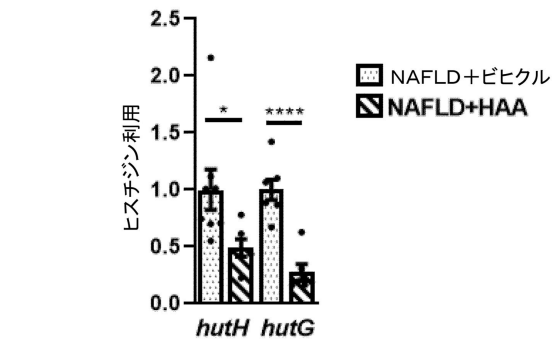
【図１１－２】



【図１１－３】



【図１１－４】



【配列表】

<u>2025515358000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/060827

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A23L5/00 A61K31/198 A61K31/4172 A61K38/00 A61P1/16
A61P3/04 A61P9/10
ADD.
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)
A61K A23L A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2020/397729 A1 (TEMPESTA MICHAEL S [US] ET AL) 24 December 2020 (2020-12-24) paragraphs [0024], [0100]; claims 1-4,12-15	1-23

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 July 2023	04/08/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Strack, Eberhard

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/060827

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MONG M C ET AL: "Histidine and carnosine alleviated hepatic steatosis in mice consumed high saturated fat diet", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, NL, vol. 653, no. 1-3, 25 February 2011 (2011-02-25), pages 82-88, XP027596596, ISSN: 0014-2999, DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2010.12.001 [retrieved on 2011-01-11] cited in the application abstract section 2.2	1-23
Y	YANG KOU-TAI ET AL: "Effects of chicken-liver hydrolysates on lipid metabolism in a high-fat diet", FOOD CHEMISTRY, ELSEVIER LTD, NL, vol. 160, 28 March 2014 (2014-03-28), pages 148-156, XP028660357, ISSN: 0308-8146, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2014.03.052 abstract conclusions table 1	1-23
Y	US 2018/169044 A1 (HAMILL MICHAEL [US] ET AL) 21 June 2018 (2018-06-21) paragraph [1595] paragraphs [1664], [1663], [1681]; figure 11	1-23
Y	SHIN SU-KYUNG ET AL: "Ablation of catalase promotes non-alcoholic fatty liver via oxidative stress and mitochondrial dysfunction in diet-induced obese mice", PFLÜGERS ARCHIV - EUROPEAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, SPRINGER BERLIN HEIDELBERG, BERLIN/HEIDELBERG, vol. 471, no. 6, 7 January 2019 (2019-01-07), pages 829-843, XP036791434, ISSN: 0031-6768, DOI: 10.1007/S00424-018-02250-3 [retrieved on 2019-01-07] abstract animal studies effect of antioxidants on hepatic steatosis	1-23

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/060827

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/060827

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2020397729 A1	24-12-2020	NONE	
US 2018169044 A1	21-06-2018	AU 2017382170 A1	13-06-2019
		BR 112019012529 A2	19-11-2019
		CA 3046551 A1	28-06-2018
		CL 2019001686 A1	30-08-2019
		CN 110087647 A	02-08-2019
		CN 115814053 A	21-03-2023
		CO 2019006291 A2	28-06-2019
		CU 20190058 A7	04-02-2020
		EC SP19043710 A	31-07-2019
		EP 3554492 A1	23-10-2019
		IL 267480 A	29-08-2019
		IL 284371 A	29-07-2021
		IL 296614 A	01-11-2022
		JP 2020504108 A	06-02-2020
		JP 2023029946 A	07-03-2023
		KR 20190099242 A	26-08-2019
		MA 51451 A	23-10-2019
		PE 20191136 A1	02-09-2019
		PH 12019501414 A1	28-10-2019
		SG 10201913946W A	30-03-2020
		TW 201834645 A	01-10-2018
		US 2018169044 A1	21-06-2018
		US 2018169045 A1	21-06-2018
		US 2018207118 A1	26-07-2018
		US 2018296516 A1	18-10-2018
		US 2019105294 A1	11-04-2019
		US 2020330417 A1	22-10-2020
		WO 2018118941 A1	28-06-2018
		ZA 201903580 B	25-08-2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P	*9/10 (2006.01)*	A61P	9/10	101	
A61P	*5/24 (2006.01)*	A61P	5/24		
A23L	*33/175 (2016.01)*	A23L	33/175		
C07K	*5/10 (2006.01)*	C07K	5/10		
C07K	*5/08 (2006.01)*	C07K	5/08		
C07K	*7/06 (2006.01)*	C07K	7/06		

,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

カレ．ドクター カスタニ シン ヌメロ
(71)出願人 524393626
コンソルシオ セントロ デ インベスティゲーシオン バイオメディカ エン レッド
スペイン国，２８０２９ マドリード，カレ．モンフォルテ デ レモス ３－５． パベロン １１
(74)代理人 100114775
弁理士 高岡 亮一
(74)代理人 100121511
弁理士 小田 直
(74)代理人 100202751
弁理士 岩堀 明代
(74)代理人 100208580
弁理士 三好 玲奈
(74)代理人 100227329
弁理士 延原 愛
(72)発明者 デル バス プリオール，ジョゼップ マリア
スペイン国，４３００７ タラゴナ，３アール ２エー，７．エスカレラ エー２，カレ．ナルシス オレル
(72)発明者 エスコテ ミロ，ザビエル
スペイン国，４３４４０ レスプルガ デ フランコル，２２，カレ．ヨーロッパ
(72)発明者 ケサダ バスケス，セルジオ
スペイン国，４３００２ タラゴナ，カレ．サント アントニ マリア クラレット ２５ エスカレラ エフ ２２
(72)発明者 フェルナンデス－リアル レモス，ホセ マヌエル
スペイン国，１７０３３ ジローナ，３３，プハダ クレウ デ パラオ
(72)発明者 マイネリス ペルザックス，ジョルディ
スペイン国，ヴェイナット デ メリアンタ，１７８３３ フォントコベルタ，カレ．パウ カザルス ６
(72)発明者 ボーダン ルケ，フリオ カルロス
スペイン国，４３２０４ レウス，アベニュー．デ ラ ユニバーシタット １
(72)発明者 カイマリ パロウ，アントニ
スペイン国，４３２０４ レウス，アベニュー．デ ラ ユニバーシタット １
(72)発明者 プイグロス リャビネス，フランチェスク
スペイン国，４３２０４ レウス，アベニュー．デ ラ ユニバーシタット １
(72)発明者 カステルス ノバウ，アナ
スペイン国，１７１９０ ソルト，カレ ドクター カスタニ シン ヌメロ，エディフィシ エム２ パルク ホスピタラリ マルティ イ ジュリア デ ソルト，インスティチュート デ インベスティゲーシオ バイオメディカ デ ジローナ ドクター ジョゼップ トゥルエータ（アイディーアイビージーアイ）

Fターム（参考） 4B018 MD19 ME04 ME14
4C084 AA02 AA03 BA02 MA52 NA14 ZA45 ZA70 ZA73 ZA75 ZC03
4C086 AA01 AA02 BC38 MA04 MA52 NA14 ZA45 ZA70 ZA73 ZA75 ZC03
4C206 AA01 AA02 FA53 JA58 MA04 MA10 MA14 MA72 NA14 ZA45 ZA70 ZA73 ZA75 ZC03
4H045 AA10 AA30 BA10 BA12 BA13 EA01 EA20