

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-503036

(P2020-503036A)

(43) 公表日 令和2年1月30日 (2020.1.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 2 3 K 20/158 (2016.01)	A 2 3 K 20/158	2 B 0 0 5
A 6 1 P 13/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/00	2 B 1 5 0
A 6 1 P 13/04 (2006.01)	A 6 1 P 13/04	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/202 (2006.01)	A 6 1 K 31/202	
A 2 3 K 50/40 (2016.01)	A 2 3 K 50/40	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号	特願2019-535241 (P2019-535241)	(71) 出願人	502329223 ヒルズ・ペット・ニュートリション・イン コーポレーテッド アメリカ合衆国カンザス州66603, ト ピーカ, サウスウエスト・エイス・アベニ ュー 400
(86) (22) 出願日	平成28年12月27日 (2016.12.27)	(74) 代理人	100071010 弁理士 山崎 行造
(85) 翻訳文提出日	令和1年6月27日 (2019.6.27)	(74) 代理人	100118647 弁理士 赤松 利昭
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/068651	(74) 代理人	100123892 弁理士 内藤 忠雄
(87) 国際公開番号	W02018/125029	(74) 代理人	100169993 弁理士 今井 千裕
(87) 国際公開日	平成30年7月5日 (2018.7.5)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ペットフード組成物

(57) 【要約】

本明細書において、とりわけ、ネコにおいて尿の比重を低下させ、シュウ酸カルシウムリスク指数を低下させる、方法及び組成物が記述される。特に、特定の量及び比でアラキドン酸 (A A)、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を利用する食餌及び方法である。

【選択図】 図 9

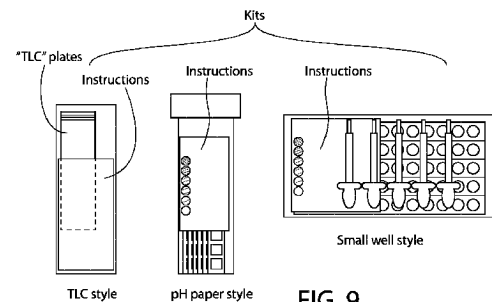


FIG. 9

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤及び少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤を、ネコのシュウ酸カルシウムリスク指数 (C O R I) を低下させるのに有効な量で含み、当該食餌は、少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の合計が、個々のオメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助食品よりも多い量である、ペットフード組成物。

【請求項 2】

前記オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、アラキドン酸 (A A) を含み、前記少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む、請求項 1 に記載のペットフード組成物。

10

【請求項 3】

前記 A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲である、請求項 1 または請求項 2 に記載のペットフード組成物。

【請求項 4】

前記 A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 3 : 1 ~ 0 . 7 : 1 の範囲である、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のペットフード組成物。

【請求項 5】

前記 A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 4 : 1 ~ 0 . 6 : 1 の範囲である、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載のペットフード組成物。

20

【請求項 6】

前記オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約 0 . 3 % ~ 約 1 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載のペットフード組成物。

【請求項 7】

前記オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約 0 . 4 % ~ 約 0 . 6 % を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載のペットフード組成物。

【請求項 8】

前記組成物が、約 2 : 1 ~ 約 8 : 1 の範囲の総オメガ - 3 脂肪酸 (n 6 : n 3) に対する総オメガ - 6 脂肪酸の比率を有する、前述の請求項のいずれかに記載のペットフード組成物。

30

【請求項 9】

前記組成物が、約 4 : 1 ~ 約 7 : 1 の範囲の総オメガ - 6 脂肪酸対総オメガ - 3 脂肪酸の比 (n 6 : n 3) を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載のペットフード組成物。

【請求項 10】

ネコの尿の比重を低下させるために、有効量のアラキドン酸 (A A) 、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む組成物の使用。

【請求項 11】

ネコの C O R I を低下させるために、有効量のアラキドン酸 (A A) 、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む組成物の使用。

40

【請求項 12】

ネコの C O R I を低下させるための有効量でアラキドン酸 (A A) 、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含むペットフード組成物であって、

A A : (E P A + D H A) の比が、約 0 . 4 : 1 ~ 約 0 . 6 : 1 の範囲であり、

総オメガ - 6 脂肪酸対総オメガ - 3 脂肪酸の比 (n 6 : n 3) が、約 4 : 1 ~ 約 7 : 1 の範囲である、組成物。

【請求項 13】

前記組成物が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約 0 . 4 % ~ 約 0 . 6 % の範囲の

50

AA、EPA、及びDHAの配合重量を含む、請求項12に記載のペットフード組成物。

【請求項14】

前記ネコのCORIを低下させるための有効量でアラキドン酸(AA)、エイコサペンタエン酸(EPA)及びドコサヘキサエン酸(DHA)を含むペットフード組成物であって、

AA:(EPA+DHA)の比が、約0.4:1~約0.6:1の範囲であり、

AA、EPAおよびDHAの配合重量が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約0.4%~約0.6%である、組成物。

【請求項15】

前記組成物が、約4:1~約7:1の範囲の総オメガ-6脂肪酸対総オメガ-3脂肪酸の比(n6:n3)を有する、請求項14に記載のペットフード組成物。

【請求項16】

ネコの水分補給レベルを改善する方法であって、

オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の有効量を含む食餌を前記ネコに与えることと、

前記食餌が前記ネコのCORIを低下させることと、を含む、方法。

【請求項17】

前記食餌が、個々のオメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤よりも多い量の前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤を含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、アラキドン酸(AA)を含み、前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、エイコサペンタエン酸(EPA)及びドコサヘキサエン酸(DHA)を含む、請求項16または請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.1:1~0.9:1の範囲である、請求項16~18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.3:1~0.7:1の範囲である、請求項16~19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.4:1~0.6:1の範囲である、請求項16~20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

前記食餌が前記CORIを少なくとも10%減少させる、請求項16~21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

前記食餌が前記CORIを少なくとも25%減少させる、請求項16~22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

前記水分補給レベルが、尿路結石、猫特発性膀胱炎、および猫下部尿路疾患(FLTD)から選択される疾患または状態を治療するのに十分な程度まで改善される、請求項16~23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記食餌の乾燥重量の約0.3%~約1%を含む、請求項16~24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ-

10

20

30

40

50

3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記食餌の乾燥重量の約 0.4% ~ 約 0.6% を含む、請求項 16 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

ネコの水分補給レベルを維持または達成する方法であって、

オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の有効量を含む食餌をそれを必要とするネコに与えること、を含む、方法

【請求項 28】

前記食餌が、前記ネコの尿比重を低下させる、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記食餌が、前記ネコの C O R I を減少させる、請求項 27 または請求項 28 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

イエネコ (*Felis domesticus*) は砂漠条件で正常に生息し、他の多くの哺乳動物と比較して、非常に濃縮した尿を生成することにより水を保持することに適応している。しかし、非常に濃縮した尿を生成することは、尿路結石、及び猫の特発性膀胱炎等の、確定されていない他の尿路状態の発症の促進等の悪影響を有する可能性がある。しばしば乏しい水分補給に起因するネコの尿路状態は、猫下部尿路疾患 (F L U T D) と呼ばれることもある。

【0002】

F L U T D はネコの生命を脅かす状態となる場合がある。特に、ネコの飼い主が F L U T D で直面する問題は、症状に飼い主が気づく時まで、この疾患はネコの生命を脅かしているということである。結晶がネコの尿路中で結石として析出し、尿流を遮断する可能性がある。結石の種類としてはストルバイト、シュウ酸カルシウム、尿酸塩、シスチン、リン酸カルシウム、及びケイ酸塩が挙げられる。ストルバイト及びシュウ酸カルシウムの結石が、ネコにおいて群を抜いて最も一般的である。未治療のままですと、尿が逆流して腎臓を損傷し、毒素が血中に蓄積するため、「遮断された」ネコは死に至る。

【0003】

ネコに一層水を飲ませるようにすることができると、これにより尿を希釈することにより、低水分により生じるネコの尿路状態を緩和することができる。この希釈は二つの段階：まず、尿内の電解質濃度を低下させることにより (ネコがより多くの食塩を補うために、それ以上水を飲まないと仮定する)、及び次に、排尿頻度を増加させることによって膀胱中の尿を消化するのにかかる時間を減少させることにより、作用する。概してネコは一日あたり、体重 1 k g あたりわずか約 30 ミリリットルの水しか飲まず、自然に飲水を増加させることは難しい。水分の多いフードを与えることは、水を大変多く飲まない動物の水分摂取の増加に役立つが、摂取する水が依然として十分でないか、又は利尿が十分に増加しないといういずれかの理由により、不十分となり得る。加えて、泌尿器症候群を示すネコは多くの場合肥満であるか、又は過剰体重を有している。このように、尿障害、特に F L U T D の治療が望まれる場合、水分の多いフードを与えることは好ましいこともあるが、十分ではなく、すなわちこうしたフードが十分な水分補給をもたらさないか、ネコが受け入れない場合があるか、又は、消費量の管理が十分になされないと更なる過剰体重及び / もしくは肥満を誘発する場合がある。

【0004】

ペットフード組成物中においてドコサヘキサエン酸 (「 D H A 」) 及びエイコサペンタエン酸 (「 E P A 」) などの特定のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸を組み込むことは一般的に公知である。また、特定のキャットフードは、オメガ - 3 及びオメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の両方を含有することが知られているが、脂肪酸が水分補給レベルにおいて重要な役割を担う / 果たすという教示又は示唆は何も明らかになっていない。したがって、ネコの

10

20

30

40

50

水分補給を増加させることにより、F L U T D等の尿路状態を治療、低減、抑制又は緩和するための方法及び組成物の必要性が、今日存在する。

【発明の概要】

【0005】

驚くべきことに、キャットフード中において特定のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸とオメガ - 6 多価不飽和脂肪酸との比を制御することで、ネコの尿の比重が低下することと、シュウ酸カルシウムリスク指数 (C O R I) で示されるように、シュウ酸カルシウム結石形成のリスクが低下することとが結果として得られることとなるということが発見された。特に、E P A + D H A に対する A A の比 [A A : (E P A + D H A)] が 1 未満であることが、ネコの尿の比重を低下させ、動物を脱水させることなく幼猫及び成熟した成猫両方において C O R I を低下させる。

10

【0006】

いくつかの実施形態では、本開示は、A A、E P A 及び D H A を含むフード組成物であって、A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、かつ、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量であるフード組成物をネコに給餌することを含む、ネコの尿の比重及び C O R I 値を低下させる方法に関する。

【0007】

いくつかの実施形態では、本開示は、A A、E P A 及び D H A を含むフード組成物であって、A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量であるフード組成物をネコに給餌することを含む、ネコの尿の比重及び C O R I 値を低下させる方法に関し、当該フード組成物は、合計のオメガ - 6 脂肪酸対合計のオメガ - 3 脂肪酸 (n 6 : n 3) が約 2 : 1 ~ 約 8 : 1 である。

20

【0008】

いくつかの実施形態では、本開示は、A A、E P A 及び D H A を含むフードであって、A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、かつ、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量であるフードを、ネコに給餌することを含む、低水分補給の結果生じるネコの疾患又は症状を治療する方法に関する。

【0009】

いくつかの実施形態では、本開示は、A A、E P A 及び D H A を含むフードであって、A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量であるフードをネコに給餌することを含む、低水分補給の結果生じるネコの疾患又は症状を治療する方法に関し、当該フード組成物は、合計のオメガ - 6 脂肪酸対合計のオメガ - 3 脂肪酸の比 (n 6 : n 3) が約 2 : 1 ~ 約 8 : 1 の範囲である。

30

【0010】

いくつかの実施形態では、本開示は、ネコの水分補給を改善するのに有効な量で A A、E P A 及び D H A を含む、嗜好性が高く栄養学的に完全なキャットフード組成物に関し、当該フード組成物は、水と一緒に、ネコの唯一の食餌として嗜好性が高く栄養学的に完全であり、また A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、かつ、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量である。

40

【0011】

さらなる実施形態では、本開示は、ネコの水分補給を向上させるのに有効な量で A A、E P A 及び D H A を含む、嗜好性が高く栄養学的に完全なキャットフード組成物に関し、当該フード組成物は、水と一緒に、ネコの唯一の食餌として嗜好性が高く栄養学的に完全であり、また A A : (E P A + D H A) の比が 0 . 1 : 1 ~ 0 . 9 : 1 の範囲であり、かつ、A A、E P A 及び D H A の配合量が 0 . 0 5 ~ 1 . 5 % 乾物量であり、また当該組成物が、その中に組み込まれる他のオメガ - 3 脂肪酸及びオメガ - 6 脂肪酸を含む。このような実施形態では、フード組成物は、合計のオメガ - 6 脂肪酸と合計のオメガ - 3 脂肪酸との比 (n 6 : n 3) が約 2 : 1 ~ 約 8 : 1 の範囲である。

50

【 0 0 1 2 】

本発明が適用可能であるさらなる領域は、以下に提供される発明を実施するための形態から明らかになるであろう。発明を実施するための形態及び特定の実施例は、開示される主題の好ましい実施形態を示しているものの、単に説明の目的として意図されており、本開示の範囲を限定することを意図していないと理解されるべきである。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 3 】

本発明は、詳細な説明および添付図面からより完全に理解されるであろう。

【 0 0 1 4 】

【 図 1 - 1 】 図 1 は、異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む多数のシュウ酸アルカリ金属塩溶液を含むマルチウェルプレートが、マルチウェルプレートの行に沿ったシュウ酸アルカリ金属塩溶液の段階希釈によって調製される、本発明の実施形態を示す。尿の 100 μ L のアリコートを用いたマルチウェルプレートのウェルに添加し、100 μ L のアリコートをシュウ酸塩のプレートのウェルから採取し、尿のプレートの対応するウェルに添加する。

10

【 図 1 - 2 】 同上。

【 0 0 1 5 】

【 図 2 A 】 図 2 A は、異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む多数のシュウ酸アルカリ金属塩溶液を含むマルチウェルプレートが、マルチウェルプレートのウェルの行に沿ったシュウ酸アルカリ金属塩溶液の段階希釈によって調製される、本発明の実施形態を図示している。

20

【 0 0 1 6 】

【 図 2 B 】 図 2 B は、例えばマルチウェルプレートのウェルの縦列に沿ったクエン酸塩の段階希釈によって調製される異なる濃度のクエン酸塩を含むクエン酸塩溶液である、いくつかを含むマルチウェルプレートを図示している。

【 0 0 1 7 】

【 図 2 C 】 図 2 C は、尿の 100 μ L のアリコートを別のマルチウェルプレートのウェルに添加し、シュウ酸塩のプレートのウェルから採取した 100 μ L のアリコート及びクエン酸塩のプレートのウェルから採取した 100 μ L のアリコートを、尿のプレートの対応するウェルに添加する。このとき最終的なマルチウェルプレートの各ウェルは、特定の量の尿中に特定の濃度のクエン酸塩及びシュウ酸塩を含有する。

30

【 0 0 1 8 】

【 図 3 】 図 3 は、尿に添加したシュウ酸塩の濃度に対する、8 匹の異なるネコの尿の 585 nm における吸光度のプロットを示す。

【 0 0 1 9 】

【 図 4 】 図 4 は、従来の滴定方法で添加されたシュウ酸塩の量と、本発明の方法における最後の清澄なウェル中のシュウ酸塩の濃度との間の相関関係を示すプロットを示す。

【 0 0 2 0 】

【 図 5 】 図 5 は、尿に添加したシュウ酸塩の濃度に対する、異なるネコの尿の 585 nm における吸光度のプロットを示す。

40

【 0 0 2 1 】

【 図 6 】 図 6 は、実施例 5 の実験におけるネコ毎の最後の清澄なウェル中のシュウ酸塩の濃度を示すチャートである。

【 0 0 2 2 】

【 図 7 】 図 7 は、従来の滴定方法で添加されたシュウ酸塩の量と、本発明の方法における最後の清澄なウェル中のシュウ酸塩の濃度との間の相関関係を示すプロットを示す。

【 0 0 2 3 】

【 図 8 】 図 8 は、本発明によるキットの概略図である。図 8 a) は、Ca²⁺ インジケータと、単一の均一な濃度のシュウ酸塩とを含む TLC スライドの実施形態を示す。図 8 b) は、Ca²⁺ インジケータと、濃度勾配をつけたシュウ酸塩とを含む TLC スライドの

50

実施形態を示す。図 8 c) は、「pH 式」ペーパーでの実施形態を示し、シュウ酸塩及び Ca^{2+} インジケータが、異なる濃度のシュウ酸塩を含むパッド内に提供される。図 8 d) 及び図 8 e) は、ウェルのストリップを含む一実施形態の上面図及び側面図をそれぞれ示し、各ウェルは、 Ca^{2+} インジケータを含む、液体形態、ゲル形態又は固体形態のシュウ酸塩を含む。ウェルの内容物は、不活性水溶性フィルムで覆われ得る。

【0024】

【図 9】図 9 は、本発明のキット、TLC、pH ペーパー及び少数ウェルの各実施形態の概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0025】

好ましい実施形態の以下の説明は、本質的に例示にすぎず、いかなる点においても本開示の主題、その適用、又は使用を限定することは意図されていない。

【0026】

全体を通して使用されている通り、範囲は、その範囲内にある各値及び全ての値を示すための省略表現として使用される。範囲内の任意の値を、その範囲の末端として選択することができる。さらに、本明細書内で引用される参考文献はすべて、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本開示における定義と、引用された参考文献における定義に矛盾がある場合、本開示が支配する。特に断らない限り、本明細書内及び本明細書の他の箇所で表現される割合及び量はすべて、重量パーセントを指すものと理解されるべきである。別途特に明記しない限り、本明細書内で表現される割合は全て、乾燥物質基準の重量である。

【0027】

本発明との関係において、用語「治療すること」又は「治療」とは、本明細書で使用する場合、かかる用語が付加された疾患もしくは状態の進行又はかかる疾患もしくは状態の一つ以上の症状を、回復、緩和、軽減又は阻害することを意味する。本発明で使用する場合、及び添付の特許請求の範囲において、単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈が別様を明確に規定しない限り、複数形を含む。

【0028】

本開示の文脈では、「約」という用語は、指定された値の $\pm 0.01\%$ 、 $\pm 0.1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 20\%$ 、又は $\pm 25\%$ の変動を指すことができる。例えば、「約 50 パーセント」は、一部の実施形態では 45 ~ 55 パーセントの変動を持つことができる。また例えば、「約 0.5 パーセント」は、一部の実施形態では 0.45 ~ 0.55 パーセントの変動を持つことができる。整数範囲については、「約」という用語は、列挙された整数よりも大きいかもしくは該整数未満の一つ又は二つの整数を含むことができる。

【0029】

本開示は、イエネコ (*Felis domesticus*) の治療のための組成物及び方法に向けられたものである。しかし、当業者であれば、本明細書に開示される組成物及び方法は、例えばライオン、ジャガー、リンクスなどである、ネコのより大きな種や、イヌ、家畜、ヒト、その他の家畜化ペット、例えばウサギ、ハムスター、スナネズミもしくはチンチラなど、又はその他の哺乳類などに同様に適用できることを理解するであろう。

【0030】

尿比重は尿希釈度の測定法である。比重が大きければ大きいほど、尿は一層濃い / 濃縮されている。ネコにおける尿比重の正常な範囲は、典型的には 1.030 から 1.060 の間である。非常に低い比重は腎不全を示す一方で、高い尿比重は尿が更に濃縮されているため、一層、結石が析出して問題を生じることとなりやすいことを意味する。

【0031】

尿比重は、(a) 腎臓の集合管への糸球体濾過を経る尿の生成、及び (b) 集合管から水を吸収して血流に戻すことの組み合わせにより制御される。このプロセスは、部分的にはエイコシノイド (eicosinoid) プロスタグランジン E₂ (PGE₂) により

10

20

30

40

50

制御されている。PGE2は腎臓尿細管細胞上でプロスタグランジンE受容体に結合し、セカンドメッセンジャーの活性化により、体内の水及びナトリウムのバランスを制御するものである水及びナトリウムのチャネルを制御する。

【0032】

発明者らは、ネコの遺伝子型と、それら個々の尿比重との間の全ゲノム関連研究を使用して、AAからPGE2を作製する経路中での鍵となる酵素である、プロスタグランジンEシンターゼ3遺伝子を含む遺伝子座を発見した。更に、ネコの食餌における、EPA+DHAに対するAA(PGE2の前駆体)の様々な比が、ネコの尿比重と関連することも見出された。このように、食餌におけるAAの量を制御することで、ネコの尿比重を低下させることができるということが見出された。本発明の組成物を給餌されたネコは尿が一層薄い、その血液浸透圧もまた低下することが見出されたが、このことは、これらの動物はより多く水を飲み、全体の水のバランスが増加した、即ちより水分補給されたことを示している。

10

【0033】

高い相対過飽和度(RSS)は、シュウ酸塩及びストルバイト両結石に関して、尿石を形成する傾向を示す。比重の低下がRSSの低下と関連していることが見出された。したがって、ネコにおける、一層水和した尿の生物学的メリットは、結石形成のリスク低下である。

【0034】

尿石症の管理は、多くのペットフードメーカー及び独立の研究者の間の積極的な研究の領域である。シュウ酸カルシウムリスク指数(CORI)は、析出が生じるまで、全尿をシュウ酸ナトリウム溶液で滴定することによって決定される。CORI値は、カルシウムイオン濃度([Ca²⁺])を析出点までに添加されたシュウ酸塩の量で除算することによって求められる。CORIはまた、イヌ又はネコの尿中の尿結晶の阻害因子及び促進因子を説明すると考えられている。CORI試験は、RSSとともに実施され、ペットにおけるシュウ酸カルシウムの尿結石形成のリスクを低減することに関して切望されている洞察をもたらす。このタイプの複合試験はまた、尿結石リスク低減を目的とする特定の療法(食餌又は薬物)が個別の患者においてシュウ酸カルシウム再発(recurrence)のリスクを真に低減させるという臨床的に関連性のある情報も提供する。

20

【0035】

いくつかの実施形態では、CORI値は、複数のシュウ酸アルカリ金属塩サンプルの複数の整列を調整することであって、サンプルのうちの少なくとも一種類が、少なくとも一種類の他のサンプルのシュウ酸アルカリ金属塩の濃度とは異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む、調製することと；動物からの既知の量の尿試料を、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルのそれぞれと反応させて、各サンプルにシュウ酸カルシウムを形成することと；随意に、工程(b)で形成された各サンプルを、シュウ酸カルシウム結石形成の調節剤と共にインキュベートすることと；シュウ酸カルシウムを析出するために必要なシュウ酸アルカリ金属塩の最小濃度を決定することであって、シュウ酸カルシウムを析出させるために必要なシュウ酸アルカリ金属塩の最小濃度が低いほど、動物の尿路におけるシュウ酸カルシウム結石形成のより高いリスクと関連付けられることと、を含む方法を用いて求められる。いくつかの実施形態では、少なくとも一つのサンプルにおけるシュウ酸アルカリ金属塩の濃度は、シュウ酸アルカリ金属塩の飽和が生じる濃度より低い。いくつかの実施形態では、ステップa)の少なくとも一つのサンプルにおけるシュウ酸アルカリ金属塩の濃度は、シュウ酸アルカリ金属塩の飽和が生じる濃度より低い。特定の実施形態では、工程(b)で形成された少なくとも一つのサンプルにおけるシュウ酸カルシウムの濃度は、シュウ酸カルシウムの飽和が生じる濃度より低い。

40

【0036】

いくつかの実施形態では、各シュウ酸アルカリ金属塩サンプルは、あるシュウ酸アルカリ金属塩溶液、シュウ酸アルカリ金属塩を含むゲル、固体のシュウ酸アルカリ金属塩、又はある面上に堆積させたシュウ酸アルカリ金属塩溶液を含む。いくつかの実施形態では、

50

工程 (a) の各シュウ酸アルカリ金属塩サンプルは、整列のその他のすべてのサンプルの濃度と異なるシュウ酸アルカリ金属塩の濃度を含む。いくつかの実施形態では、整列はシュウ酸アルカリ金属塩サンプルの一つ又は複数の群を含み得、一つの群の各サンプルは、その群の他のすべてのサンプルの濃度と異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態では、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルの各群は、他のすべての群の複製である。他の実施形態では、各シュウ酸アルカリ金属塩サンプルは、マルチウェルプレート中の異なるウェル内に提供される。さらなる実施形態では、マルチウェルプレートのある行内の各ウェルは、当該行内の他のすべてのウェルと異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む。またさらなる実施形態では、マルチウェルプレートのある縦列内の各ウェルは、当該縦列内の他のすべてのウェルと同じ濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を含む。

10

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態では、様々な濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を、シュウ酸アルカリ金属塩のある溶液を段階希釈することによって調製する。いくつかの実施形態では、この整列の各シュウ酸アルカリ金属塩サンプルを、単一の尿試料からの異なるアリコート尿と反応させる。いくつかの実施形態では、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルのある群の各シュウ酸アルカリ金属塩サンプルを、単一の尿試料からの異なるアリコート尿と反応させる。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態では、複数の尿試料を分析する。特定の実施形態では、第一の尿試料の各アリコートは、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルの群と反応させ、一つ以上の追加的尿試料をそれぞれ、比較目的のシュウ酸アルカリ金属塩サンプルの複製の群と反応させる。他の実施形態では、一つ以上の追加的尿試料は、第一の試料と同じ動物から採取される。いくつかの実施形態では、一つ以上の追加的尿試料は、第一の試料とは異なる動物から採取される。

20

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態では、尿の各アリコートは、マルチウェルプレート中の異なるウェル内に提供される。いくつかの実施形態では、マルチウェルプレートのある行内の各ウェルは、当該行内の他のすべてのウェルと同じ濃度のシュウ酸カルシウム結石形成調節剤を含む。いくつかの実施形態では、マルチウェルプレートのある縦列内の各ウェルは、当該縦列内の他のすべてのウェルとは異なる濃度のシュウ酸カルシウム結石形成調節剤を含む。いくつかの実施形態では、様々な濃度の調節剤は、調節剤のある溶液を段階希釈することによって調製する。

30

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、シュウ酸カルシウムの析出は、尿の濁度を測定することで決定する。いくつかの実施形態では、尿の濁度は、吸光分光法によって尿の吸光度を決定することで測定する。いくつかの実施形態では、吸光度は 5 8 5 n m の波長で測定する。いくつかの実施形態では、シュウ酸カルシウムの析出は、尿試料中の遊離カルシウムイオンの濃度を測定することによって決定され、遊離カルシウムイオンの濃度が低いほど、シュウ酸カルシウムの析出が多いことと相関する。

40

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態では、尿試料中の遊離カルシウムイオンの濃度は、工程 (c) の後で各試料にカルシウム特異性レポーター染料を添加することによって推定されるものであって、染料の添加により尿試料の色変化が生じ、また工程 (b) におけるシュウ酸カルシウムの析出により、遊離カルシウムイオンの濃度の減少の結果生じる析出したシュウ酸カルシウムを含まない試料と比べて色の変化の軽減が生じる。いくつかの実施形態では、カルシウム特異性レポーター染料は、Fluo - 3、Fluo - 4、Fura - 2、Indo - 1、Calcium green - 1、Oregon Green、Rhod - 1、Rhod - 2、Rhod - 3、Rhod - 5 F、X - Rhod、BAPTA - 1、BAP

50

T A - 2、及び B A P T A - 6 F から選択される。いくつかの実施形態では、試料が無色であることは、尿試料からのシュウ酸カルシウムの析出が完了したことに相当する。いくつかの実施形態では、シュウ酸アルカリ金属塩はシュウ酸ナトリウムである。

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態では、調節剤は、塩類、金属イオン、低分子有機化合物、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオチド、ポリヌクレオチド、糖類、オリゴ糖類、代謝産物又はこれらの任意の組み合わせである。その他の実施形態では、調節剤は、シュウ酸カルシウム結石形成に対して未知の効果を有する化合物である。いくつかの実施形態では、調節剤は、クエン酸塩、乳酸塩、リン酸塩、硫酸塩、炭酸塩、塩化物、マグネシウム、ナトリウム、尿酸、キサンチン、システイン、チアジド系利尿薬、セルロースリン酸ナトリウム又はそれらの任意の組み合わせである。いくつかの実施形態では、調節剤はクエン酸カリウムである。

10

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、尿試料中のカルシウムイオンの濃度は、工程 (b) の前に決定する。いくつかの実施形態では、カルシウムイオンの濃度は、分光法によって決定する。いくつかの実施形態では、シュウ酸カルシウム結石形成のリスクは、ステップ (b) の前に決定された尿試料中のカルシウムイオンの濃度と、尿試料からのシュウ酸カルシウムを析出するために必要な最小量のシュウ酸イオンとの比を使用して予測される。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態では、ステップ (b) の前に、尿試料から粒子状物質を除去する。いくつかの実施形態では、ステップ (b) の前に、尿試料を希釈する。いくつかの実施形態では、工程 (d) において、動物がシュウ酸カルシウム結石形成のリスクがあると予測される場合、当該動物にシュウ酸カルシウム結石形成のリスクを減少させる食餌を投与する。

20

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態は、動物の尿路におけるシュウ酸カルシウム結石形成の、リスクに対する食餌の効果又はリスクの変化を予測する方法を提供するものであって、該方法は、 i) 動物に上記食餌を給餌することと、 i i) 本明細書に記載の方法のいずれか一つを用いて、動物の尿路におけるシュウ酸カルシウム結石形成のリスク又はリスクの変化を予測することとを含む。いくつかの実施形態では、ステップ i i) は、ステップ i) の前後に実施する。

30

【 0 0 4 7 】

その他の実施形態は、 (i) 本明細書に記載した方法のいずれか一つを使用して、リスクが高いとして動物を特定することと、 (i i) 当該動物に対してシュウ酸カルシウム結石形成のリスクを減少させる食餌とすることとを含む、尿路におけるシュウ酸カルシウム結石形成の発症のリスクが高い動物を治療する方法を提供する。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態では、キットは、動物のシュウ酸カルシウム結石形成を予測するために使用されるものであって、該キットは、 i) 少なくとも一種類のシュウ酸アルカリ金属塩サンプルであって、特定の実施形態では異なる濃度のシュウ酸アルカリ金属塩を随意に含む複数のサンプルがある、少なくとも一種類のシュウ酸アルカリ金属塩サンプル； i i) 随意に、シュウ酸カルシウム結石形成の一種類又は複数種類の調節剤； i i i) 随意に、尿試料用の容器； i v) カルシウムイオンの濃度、随意にカルシウム特異性レポーター染料を検出するための手段；及び、 v) 本明細書に記載される方法のいずれか一つによるキットを使用するための説明書を含む。いくつかの実施形態では、キットは、複数のウェルを含む容器を含み、各ウェルは異なるシュウ酸アルカリ金属塩サンプルを含む。いくつかの実施形態では、各ウェルの内容物は、水溶性フィルムで覆われる。いくつかの実施形態では、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルを、ある面上に堆積させる。特定の実施形態では、シュウ酸アルカリ金属塩サンプルは、間隔を置いた領域に堆積させる。いくつかの実施形態では、間隔を置いた領域は、シュウ酸アルカリ金属塩の濃度が増加していく順で

40

50

並べられる。いくつかの実施形態では、サンプルは、シュウ酸アルカリ金属塩の濃度の勾配を形成するように堆積させる。いくつかの実施形態では、上記ある面は紙又はカードである。他の実施形態では、上記ある面は薄層クロマトグラフィープレートである。いくつかの実施形態では、面上に堆積させたシュウ酸アルカリ金属塩は、水溶性フィルムで覆われる。

【0049】

少なくとも一つの実施形態では、本開示の組成物は栄養が完全なキャットフード組成物である。栄養が完全な組成物は、健康なネコにおける通常健康を維持するのに十分な栄養素を含む食餌を提供する。栄養が完全な組成物は嗜好性が高く、水と一緒に、健康なネコにおける通常健康を維持するのに必要な全ての栄養素の、単一の供給源を提供する。栄養が完全な組成物は当業者によく知られている。例えば、本明細書に開示されるそうした組成物のみならず動物に給餌される他の好適な組成物の栄養素及び成分、ならびに、それらの推奨量は、例えば Official Publication of the Associate of American Feed Control Officials ("AAFCO"), Inc., Nutrient Requirements of Dogs and Cats, 2006. に見ることができる。例えば、栄養が完全なフードは、当業者に公知の量でタンパク質、脂肪、炭水化物、食物繊維、アミノ酸、ミネラル、ビタミン、及び他の成分を含有することができる。

10

【0050】

タンパク質は、植物源、動物源、又は両方を含む、当業者に公知の任意の種々の源より供給できる。動物源としては、例えば、肉、食肉処理副産物、海産物、乳製品、卵などが挙げられる。肉には、例えば、家禽、魚及び哺乳類（例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ等）の肉が含まれる。食肉処理副産物としては、例えば、肺、腎臓、脳、肝臓、及び胃腸（全て又は本質的に全てのそれらの内容物を除いた）が挙げられる。タンパク質はインタクトであり、殆ど完全に加水分解されているか、部分的に加水分解されていることができる。本開示の組成物における典型的なタンパク質の量は、少なくとも約15%（又は約15%～約55%、又は約30%～約55%、又は約33%～約36%）である。

20

【0051】

脂肪は、肉、食肉処理副産物、魚油、及び植物を含む、当業者に公知の任意の種々の源より供給できる。植物性脂肪源としては、小麦、亜麻仁、ライ麦、大麦、コメ、モロコシ、トウモロコシ、オート麦、アワ、コムギ胚芽、トウモロコシ胚芽、大豆、ピーナッツ、及び綿実、並びにこれら及び他の植物性脂肪源由来の油が挙げられる。本開示の組成物は、典型的に少なくとも約9%（又は約9%～約35%、又は約10%～約25%、又は約15%～約22%）の総脂肪を含有する。

30

【0052】

AAは種々の天然源から提供することができる。肝臓、例えばニワトリの肝臓は、AAが比較的多い。EPAはまた、例えば、魚油など様々な天然源から提供することができる。AA、EPA及びDHAに加えて、本発明の組成物中の脂肪成分の一部として含まれる脂肪酸としては、例えば リノレン酸、 リノレン酸、リノール酸、オクタデカテトラエン酸 (octadecatetraenoic acid) (ステアリドン酸)、ステアリン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、オレイン酸又はその混合物等であるがこれに限定されない、他のオメガ-3脂肪酸及びオメガ-6脂肪酸が挙げられる。本開示の組成物中の、乾物量基準での合計のオメガ-6脂肪酸と合計のオメガ-3脂肪酸との比 (n6:n3) は、典型的には約2:1～8:1、代替的には約3:1～約7.5:1、代替的には約4:1～約7:1、及び代替的に約4.5:1～約6.5:1の範囲とすることができる。

40

【0053】

いくつかの実施形態では、AA、EPA、及びDHAを含むフード組成物であり、AA:(EPA+DHA)の比は、約0.1:1～約0.9:1、代替的に約0.2:1～約0.8:1、代替的に約0.3:1～約0.7:1、及び代替的に約0.4:1～0.6

50

：１の範囲とすることができる。さらに、ＡＡ、ＥＰＡ及びＤＨＡの配合量は、フード組成物のうち、乾物量で、約０．０５～約１．５％、代替的に約０．１～約１％、代替的に約０．２～約０．８％、代替的に約０．３～約０．７％、及び代替的に０．４～約０．６％を占め得る。１：１未満であるＡＡ：（ＥＰＡ＋ＤＨＡ）の比を含むフード組成物は、ペットの尿比重及びＣＯＲＩ値を低下させるために用いることができる一方、ＡＡ：（ＥＰＡ＋ＤＨＡ）の比が著しく高い（例えば２：１～５：１）ものである類似のフード組成物よりも低い含水量である。

【００５４】

特定の実施形態では、ＡＡ、ＥＰＡ及びＤＨＡを含むフード組成物は、ＡＡの量が、約０．０５～約０．５％、代替的に約０．１～約０．３％、及び代替的に約０．１～約０．２％の範囲である。フード組成物中のＥＰＡ及びＤＨＡを合わせた合計は、約０．１～約１％、代替的に約０．２～約０．８％、代替的に約０．３～約０．６％、及び代替的に約０．３～約０．５％の範囲とすることができる。

10

【００５５】

炭水化物は、オート麦繊維、セルロース、落花生殻、ビートパルプ、パーボイルド米、コーンスターチ、コーングルテンミール、及びこれら源の任意の組み合わせを含む、当業者に公知の任意の種々の源より供給できる。炭水化物を供給する穀物は、小麦、トウモロコシ、大麦、及びコメを含み得るが、これらに限定されない。フードにおける炭水化物の含有量は、当業者に公知の任意の多数の方法により決定することができる。通常、炭水化物の割合は、可溶無窒素物（「ＮＦＥ」）として計算することができ、これは以下のように計算することができる： $NFE = 100\% - \text{水分}\% - \text{タンパク質}\% - \text{脂肪}\% - \text{灰分}\% - \text{粗繊維}\%$ 。

20

【００５６】

食物繊維とは、動物の消化酵素による消化に耐性を有する植物の成分を意味する。食物繊維としては、可溶性繊維及び不溶性繊維が挙げられる。可溶性繊維は、小腸での消化及び吸収に対して耐性があり、かつ、大腸で完全に又は部分的に発酵されるものであり、例えばビートパルプ、グアーガム、チコリー、オオパコ、ペクチン、ブルーベリー、クランベリー、カボチャ、リンゴ、オート麦、マメ、柑橘類、大麦、又はエンドウである。不溶性繊維は、例えばセルロース、全粒小麦製品、小麦、オート麦、コーンブラン、亜麻仁、ブドウ、セロリ、サヤマメ、カリフラワー、ジャガイモの皮、果物の皮、野菜の皮、落花生殻、及び大豆繊維を含む、任意の種々の源より供給できる。粗繊維としては、例えばコメ、トウモロコシ、及びマメ等の穀物の殻である、穀物等の植物の細胞壁及び細胞含有物に含有される消化されにくい成分が挙げられる。本開示の組成物中の典型的な繊維量は、約０～１０％、又は約１％～約５％とすることができる。

30

【００５７】

必須アミノ酸を含むアミノ酸が、遊離アミノ酸として本開示の組成物に添加されるか、又は、例えば粗タンパク質である任意の数の源によって本開示の組成物に供給されることが可能である。必須アミノ酸は、生命体により新規に合成できない、又は不十分な量しか合成できないため、食餌で供給しなければならないアミノ酸である。必須アミノ酸は、生命体の代謝に依存し、種間において異なる。例えば、イヌ及びネコ（並びにヒト）の必須アミノ酸はフェニルアラニン、ロイシン、メチオニン、リジン、イソロイシン、バリン、トレオニン、トリプトファン、ヒスチジン、及びアルギニンであることと通常理解されている。また、専門的にはアミノ酸ではないがシステインの誘導体であるタウリンは、ネコの必須栄養素である。

40

【００５８】

本開示の組成物はまた、欠乏を防ぎ、健康を維持するために必要な量で、例えば塩化物、ヨウ化物、フッ化物、硫化物もしくは酸化物等の対イオンを有する、例えばカルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、マンガン、銅、亜鉛、クロム、モリブデン、セレン、もしくは鉄塩類である一種類又は複数種類のミネラル及び／又は微量元素を含有することもできる。これらの量は、例えばOfficial Publication

50

n of the Associate of American Feed Control Officials, Inc. ("AAFCO"), Nutrient Requirements of Dogs and Cats, 2006で提供されているように、当業者に公知である。典型的なミネラルの量は、約0.1%~約4%、又は約1%~約2%である。

【0059】

本発明の組成物はまた、欠乏を防ぎ、健康を維持するために必要な量のビタミンを含むこともできる。これらの量、及び測定方法は当業者に公知である。例えば、Official Publication of the Associate of American Feed Control Officials, Inc. ("AAFCO"), Nutrient Requirements of Dogs and Cats, 2006において、イヌ及びネコのためのかかる原材料の推奨量を提供している。本明細書で想到される通り、ビタミンとしては、ビタミンA、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンH(ビオチン)、ビタミンK、葉酸、コリン、イノシトール、ナイアシン、及びパントテン酸が挙げることができるが、これらに限定されない。本発明の組成物における典型的なビタミンの量は、約0~約3%、又は約1%~約2%である。

【0060】

本発明の組成物は、当業者によく知られている量及び配合で、嗜好性増強剤及び安定剤等の他の添加剤を追加的に含むことができる。安定物質としては、例えば、組成物の貯蔵寿命を増加させる傾向にある物質が挙げられる。本発明の組成物中の封入に、場合によって好適なかかる他の添加剤の他の例としては、例えば、防腐剤、着色剤、酸化防止剤、風味剤、相乗剤及び封鎖剤、充填用ガス、安定剤、乳化剤、増粘剤、ゲル化剤、並びに湿潤剤が挙げられる。乳化剤及び/又は増粘剤の例としては、例えば、ゼラチン、セルロースエーテル、デンプン、デンプンエステル、デンプンエーテル、及び加工デンプンが挙げられる。組成物中のかかる添加剤の濃度は典型的には、最大約5重量%とすることができる。いくつかの実施形態では、かかる添加剤の濃度(特に、かかる添加剤がビタミン及びミネラル等の主要な栄養バランス剤である場合)は、約0重量%~約2.0重量%である。いくつかの実施形態では、かかる添加剤の濃度(ここでも特に、かかる添加剤が主要な栄養バランス剤である場合)は約0重量%~約1.0重量%である。

【0061】

任意の濃度又は含水量のフードが想到され、例えば本発明の組成物は例えば、乾燥、湿性又は半湿性の動物フード組成物とすることができる。いくつかの実施形態では、含水量は組成物の総重量の約3%~約90%である。「半湿性」とは、約25~35%の水分を含有するフード組成物を意味する。「湿性」フードとは、約60~約90%以上の含水量を有するフード組成物を意味する。「乾燥」フードとは、約3~約11%の含水量を有するフード組成物を意味し、多くの場合小片又はキブル(kibble)形態で製造される。

【0062】

湿性形態、又は缶詰形態で本発明の組成物を調製する際、任意の原料(例えば、AA、EPA、DHA)は通常、例えば組成物の他の成分の混合中及び/又は混合後等、配合物の加工中に組成物に組み込むことができる。これらの成分の組成物への分配は、従来の手段により達成することができる。一実施形態では、すりつぶした動物及び家禽のタンパク質組織を、魚油、穀物、他の栄養バランス材料、特別目的の添加剤(例えば、ビタミンとミネラルとの混合物、無機塩類、セルロース及びビートパルプ、充填剤等)を含む他の原料と混合し、加工に十分な量の水もまた加える。これら原料は、成分を混合しながら加熱に好適な容器中で混合することができる。例えば直接の蒸気注入による、又は熱交換器を備えた容器を使用することによる等の、任意の好適な方法を使用して、混合物の加熱を行うことができる。最後の原料を加えた後、混合物を約50°F(10)~約212°F(100)の温度範囲で加熱することができる。一部の例では、混合物を約70°F(

21) ~ 約 140 ° F (60) の温度範囲に加熱することができる。これら範囲外の温度は概して許容されるが、他の加工助剤を使用しなければ、商業的に非実用的となる場合がある。適切な温度まで加熱をすると、材料は通常、粘性液体の形態となるであろう。この高濃度の液体を、缶に詰めることができる。缶に詰めて、蓋が装着され、容器は密封封止される。次いで、密閉した缶を、内容物を滅菌するために設計した従来の装置の中に配置する。これは通常、約 230 ° F (110) を超える温度まで、適切な時間加熱することにより達成され、この時間は例えば、使用する温度及び組成物に依存する。

【 0063 】

あるいは、従来のプロセスを使用して、乾燥形態のペットフード組成物を調製することができる。通常、動物性タンパク質、植物性タンパク質、穀物等を含む乾燥原料を粉碎して、共に混合する。次に、脂肪、油、動物性タンパク質、水等を含む湿性又は液体の原料を加え、乾燥混合物と混合する。次に、混合物をキブルまたは類似の乾燥片へと加工する。このプロセスでは、乾燥成分と湿性成分との混合物を、高圧及び高温にて機械操作にかけ、小径の開口部から押し出して、回転ナイフによりキブルに切断する。次に、湿性キブルを乾燥させて、所望により、例えばフレーバー、脂肪、油類、粉末等を含んでよい、一種以上の局所コーティング材でコーティングする。キブルはまた、押出成形ではなくベーキング法を用いてドウより作製することができ、この方法では、ドウをモールド内に配置した後、乾燥加熱プロセスを行う。

10

【 0064 】

ネコに水分補給させる又はネコの疾患もしくは症状を治療するための本開示の方法において、投与したフードは栄養が完全なキャットフードとすることができるか、又は、消費される全食餌が、本開示の有益な効果をもたらすのに必要な量及び比の A A 、 E P A 及び D H A を満足するように、必要な量及び比の A A 、 E P A 及び D H A を、例えば別々の成分として、もしくは別々の成分の一部として、概して栄養補助食品として別々に投与することができる。ネコの疾患又は症状を治療する本開示の方法において、前記疾患又は症状は例えば、尿路結石、猫特発性膀胱炎、又は F L U T D の発症とすることができる。

20

【 0065 】

いくつかの実施形態では、本発明は、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤と少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤とを、ネコのシュウ酸カルシウムリスク指数 (C O R I) を低下させるのに有効な量で含むペットフード組成物を提供するものであって、当該食餌は、少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の合計が、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助食品よりも多い量である。他の実施形態は、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤と少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤とを、ネコのシュウ酸カルシウムリスク指数 (C O R I) を低下させるのに有効な量で含むペットフード組成物を提供するものであって、当該食餌は、少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の合計が、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助食品よりも多い量である。

30

【 0066 】

いくつかの実施形態では、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、アラキドン酸 (A A) を含み、少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む。いくつかの実施形態では、オメガ - 6 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、アラキドン酸 (A A) であり、少なくとも二種類のオメガ - 3 多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) である。

40

【 0067 】

一部の実施形態は、ネコの尿の比重を低下させるために、有効量のアラキドン酸 (A A) 、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む組成物の使用を提供する。一部の実施形態は、ネコの C O R I を低下させるための、有効量のアラキドン酸 (A A) 、エイコサペンタエン酸 (E P A) 及びドコサヘキサエン酸 (D H A) を含む組成物の使用を提供する。

50

【0068】

いくつかの実施形態では、本発明は、猫のC O R Iを低下させるのに有効な量のアラキドン酸（A A）、エイコサペンタエン酸（E P A）及びドコサヘキサエン酸（D H A）を含むペットフード組成物を提供するものであり、A A：（E P A + D H A）の比が、約0.4：1～約0.6：1の範囲であり、かつ、合計のオメガ-6脂肪酸と合計のオメガ-3脂肪酸との比（n 6：n 3）は約4：1～約7：1の範囲である。

【0069】

いくつかの実施形態では、ペットフード組成物は、ペットフード組成物の乾物量の約0.4%～約0.6%の範囲のA A、E P A、及びD H Aの配合重量を含む。

【0070】

さらなる実施形態は、ネコのC O R Iを低下させるのに有効な量のアラキドン酸（A A）、エイコサペンタエン酸（E P A）及びドコサヘキサエン酸（D H A）を含むペットフード組成物を提供するものであり、A A：（E P A + D H A）の比が、約0.4：1～約0.6：1の範囲であり、かつ、A A、E P A及びD H Aの配合重量が、ペットフード組成物の乾物量の約0.4%～約0.6%である。

【0071】

さらに他の実施形態は、有効量のオメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤及び少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤を含む食餌をネコに与えることを含む、ネコの水分補給レベルを向上する方法を提供するものであり、当該食餌は前記ネコのC O R Iを低下させる。

【0072】

いくつかの実施形態では、ペットフード組成物、又はそれに基づく食餌は、C O R Iを少なくとも10%低下させる。他の実施形態では、ペットフード組成物、又はそれに基づく食餌は、C O R Iを少なくとも25%低下させる。

【0073】

他の実施形態では、水分補給レベルが、尿路結石、猫特発性膀胱炎、及びF L U T Dから選択される疾患又は症状を治療するのに十分な程度まで向上する。

【0074】

さらに他の実施形態は、有効量のオメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤及び少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤を含む食餌をそれを必要とするネコに与えることを含む、ネコの水分補給の恒常性レベルを維持又は達成する方法を提供する。

【0075】

本発明について、以下の実施例でさらに説明する。実施例は例示にすぎず、記載及び請求される本発明の範囲を決して限定するものではない。

【実施例】

【0076】

実施例 1

以下の表 1 には、本発明の 4 つの比較成分表と 3 つの例示的成分表とを記載している。

表 1

10

20

30

40

【表 1】

	比較例				実施例		
	比較 例 1	比較 例 2	比較 例 3	比較 例 4	例 1	例 2	例 3
成分	w/w % (乾燥)						
粗タンパク質	37.15	33.78	33.75	32.17	33.85	33.6	34.16
脂肪	18.02	23.71	14.65	17.38	19.93	16.49	16.70
粗繊維	3.32	2.16	2.14	3.24	0.99	0.92	1.79
カルシウム	0.95	1.19	1.86	1.41	0.76	0.71	0.84
リン	0.73	1.02	1.33	1.18	0.58	0.53	0.75
灰分	5.46	6.7	8.08	8.14	5.72	5.42	5.56
ロイシン	4.03	2.43	2.9	2.54	2.94	3.2	3.8
イソロイシン	1.27	0.97	0.89	0.89	1.12	1.07	1.30
リシン	2.35	1.79	1.31	1.44	1.76	1.61	1.45
メチオニン	1.42	1.11	0.75	1.12	0.98	0.77	0.95
シスチン	0.52	0.38	0.46	0.41	0.74	0.74	0.48
n-3 脂肪酸*	0.64	0.52	0.25	0.41	0.81	0.6	0.46
n-6 脂肪酸*	3.52	4.38	2	3.69	3.95	3.52	3.01
n6:n3	5.5:1	8.4:1	8:1	9:1	4.9:1	5.8:1	6.5:1
AA	0.09	0.15	0.05	0.1	0.17	0.17	0.16
EPA+DHA	0.35	0.12	0.09	0.17	0.37	0.36	0.27
AA: (EPA+DHA)	0.26	1.25	0.56	0.59	0.46	0.48	0.59
AA+EPA+DHA	0.44	0.27	0.14	0.27	0.54	0.53	0.43

*値は、成分表中の脂肪酸の総量を表す。

実施例 2

【0077】

給餌試験を実施して、C O R I に対する食餌の影響を評価した。12匹のネコには対照食餌を給餌し、12匹のネコには本開示による低いAA: (EPA + DHA) 比を有する試験食餌を給餌した。対照食餌はAAを0.07重量%、合わせたEPA及びDHAを0.02重量%で含有して、AA: (EPA + DHA) 比が3.5:1、かつ、水分含有量が5.15重量%を得た。試験食餌はAAを0.16重量%、合わせたEPA及びDHAを0.27重量%で含有して、AA: (EPA + DHA) 比が0.59:1、かつ、水分含有量が5.11重量%を得た。ネコは、それらそれぞれの食餌で56日間維持した。

【0078】

各ネコから、A、B及びC日目に尿を採取して分析した。給餌期間にわたって、対照食餌を給餌したネコは、平均C O R I 値が54.5を示した。この同一期間にわたって、本発明の特定の実施形態による試験食餌を給餌したネコは、平均C O R I 値が40.2を示した。本実施例で説明されるように、試験食餌を給餌したネコは、シュウ酸カルシウム結石形成のリスクが26%低下することを示した。

実施例 3

【0079】

給餌試験を実施して、尿比重に対する食餌の影響を評価した。12匹のネコに実施例1の対照食餌を給餌し、12匹のネコに実施例1の試験食餌を給餌した。ネコは、それらそれぞれの食餌で56日間維持した。各ネコから、0日目、28日目及び56日目に尿を採取して尿比重を分析した。この食餌期間にわたって、対照食餌を給餌したネコは、平均尿比重が1.056を示した。この同一期間にわたって、本開示による試験食餌を給餌したネコは、平均尿比重が1.053を示した。本実施例で説明されるように、試験食餌を給餌したネコは、対照食餌よりも0.04重量%少ない水分を含む食餌を給餌していたにも関わらず、ほとんど濃縮されていない尿(すなわち、密度が低い)を呈した。

実施例 4

【0080】

シュウ酸塩のみの方法 シュウ酸塩を、96ウェルマイクロタイタープレートの中の第一の縦列(8ウェル)内に入れ、行に沿って段階希釈した。図1に示す実施例では、300 μ Lの250mMシュウ酸塩を、第一の縦列内に入れ、一方で150 μ Lの溶媒(vehicle)を他のすべてのウェルに入れる。その後、第一の縦列から150 μ Lシュウ酸塩溶液を取り出し、第二の縦列中で150 μ Lの溶媒と合わせる。混合後、プレート全体にわたってこのプロセスを繰り返し、各縦列中で2つの要素によってさらに希釈されたシュウ酸塩を作製する。

【0081】

別のプレートにおいて、哺乳類の明らかになっている尿100 μ Lを各ウェルに入れる。その後、当該尿プレートに段階希釈されたシュウ酸塩100 μ Lを加えるが、このときシュウ酸塩の希釈液の位置を維持しながら行う(例えば、シュウ酸塩プレートのR1:C1から、尿プレートのR1:C1に移す)。

10

【0082】

混合後、シュウ酸カルシウムの析出を、585nmの光を放射するプレートリーダーセットにおいて評価する。この波長での吸光度と各ウェルにおける析出量との間に正の相関がある。

実験結果

【0083】

八匹のネコからの尿試料を使用して、シュウ酸塩結石形成に対し抵抗性がほとんどない又は全くないことを示したネコから、シュウ酸塩結石形成に対し抵抗性を示したネコを区別することができることを評価した。特別に設計されたネコ用トイレにおいて、24時間にわたって各ネコの尿を別個に採取した。次いで、これらの尿試料を使用して、従来の滴定方法とこの96ウェル法も用いて、CORIの結果を得た。シュウ酸塩のみの方法で説明したように、同じプレートを二つずつ準備した。下記の表2に示すデータは、この二つのプレートの平均値である。

20

表 2

【表 2】

プレート構成 実験 1												
	シュウ酸塩 mM(最終濃度)											
アンドリュー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
コーンポップ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ウェルズ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マリー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マベリック	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ピードーン	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ハニークラスター	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
キャドバリー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
データ 実験 1												
	プレートリーダー											
アンドリュー	0.086	0.093	0.089	0.085	0.087	0.086	0.090	0.084	0.085	0.086	0.093	0.089
コーンポップ	0.081	0.081	0.078	0.075	0.086	0.079	0.077	0.074	0.075	0.077	0.087	0.077
ウェルズ	0.165	0.157	0.153	0.138	0.121	0.118	0.119	0.123	0.119	0.120	0.120	0.115
マリー	0.136	0.142	0.129	0.118	0.114	0.114	0.105	0.100	0.108	0.110	0.115	0.106
マベリック	0.150	0.153	0.138	0.123	0.124	0.124	0.122	0.121	0.123	0.126	0.128	0.127
ピードーン	0.164	0.146	0.138	0.133	0.095	0.095	0.073	0.076	0.076	0.076	0.086	0.073
ハニークラスター	0.145	0.133	0.126	0.118	0.128	0.128	0.123	0.124	0.120	0.124	0.132	0.129
キャドバリー	0.117	0.117	0.115	0.094	0.098	0.098	0.102	0.091	0.099	0.094	0.097	0.092

【0084】

125 mMシュウ酸塩を第一のウェルに入れ、プレートを全体にわたって段階希釈されるように、シュウ酸塩プレートを構成した。これらシュウ酸塩溶液100 μLを100 μLの尿に入れて希釈して、シュウ酸塩の最終濃度は、上記「プレート構成 実験1」の数字に記載したとおりとした。混合後、吸光度を585 nmで定量し、得られた結果が上記表2の「データ 実験1」と、図3に示されるグラフとである。このグラフのデータは、各ネコの第一の吸光度データポイントに対して正規化することによって生成した。

【0085】

図3に示すグラフを使用することで、析出が開始された点が決定され、このウェルの直前のウェルを「最後の清澄ウェル」として規定する。最後の清澄ウェル中のシュウ酸塩の濃度を、従来の滴定方法において析出を生じたシュウ酸塩の濃度と比較すると、二つの方法の間には良好な相関関係が得られた(図4参照)。また、データを曲線にあてはめて(例えば、シグモイド曲線)、析出開始点の変曲点を数学的に決定することも可能である。

【0086】

第一の試験の結果を確認するために、第二の試験を実施した。二枚のプレートについて実施し、ほとんどのネコについて同じものをもう一回行った。いくつかの例では、一回のみ示されるネコもあった。データを以下の表3に示す。プレート構成は、上述の方法に従って行われた。

表 3

【表 3】

プレート構成 1 実験 2												
		シュウ酸塩 mM(最終濃度)										
ハニークラスター	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
エルロッド	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
アンドリュー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マリー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ウェルズ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マベリック	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
コーンポップ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
アルレット	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
プレート構成 2 実験 2												
		シュウ酸塩 mM(最終濃度)										
アルデラ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
アルゴット	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ピードーン	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
アルレット	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マリー	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
ウェルズ	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
マベリック	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06
エルロッド	125	62.5	31.3	15.63	7.81	3.91	1.95	0.98	0.49	0.24	0.12	0.06

【 0 0 8 7 】

両方のプレートからのデータを表 4 及び図 5 に提供する。今回、グラフのデータは最初の 3 つのデータポイントに対して正規化した。

表 4

10

20

30

【表 4】

データ 実験2 プレート1												
	プレートリーダー											
ハニークラスター	0.096	0.105	0.103	0.096	0.101	0.094	0.101	0.101	0.100	0.104	0.099	0.100
エルロッド	0.073	0.079	0.070	0.069	0.067	0.068	0.071	0.070	0.073	0.069	0.068	0.066
アンドリュー	0.151	0.171	0.149	0.121	0.087	0.087	0.088	0.091	0.092	0.105	0.090	0.089
マリー	0.093	0.094	0.093	0.091	0.091	0.091	0.095	0.098	0.098	0.105	0.098	0.095
ウェルズ	0.455	0.427	0.430	0.404	0.351	0.351	0.173	0.152	0.152	0.130	0.141	0.154
マベリック	0.305	0.300	0.293	0.240	0.171	0.171	0.156	0.156	0.162	0.161	0.164	0.165
コーンポップ	0.080	0.082	0.082	0.080	0.082	0.082	0.082	0.086	0.085	0.097	0.084	0.083
アルレット	0.157	0.190	0.155	0.122	0.113	0.113	0.116	0.124	0.128	0.161	0.126	0.124

10

データ 実験2 プレート2												
	プレートリーダー											
アルデラ	0.169	0.172	0.149	0.123	0.122	0.119	0.129	0.128	0.124	0.122	0.122	0.122
アルゴット	0.328	0.330	0.330	0.310	0.233	0.122	0.125	0.127	0.124	0.122	0.123	0.124
ピードーン	0.161	0.160	0.153	0.130	0.102	0.087	0.085	0.085	0.087	0.087	0.091	0.089
アルレット	0.149	0.149	0.148	0.130	0.127	0.132	0.134	0.143	0.140	0.137	0.147	0.142
マリー	0.100	0.105	0.101	0.100	0.102	0.103	0.104	0.104	0.104	0.106	0.105	0.102
ウェルズ	0.518	0.485	0.469	0.461	0.373	0.231	0.191	0.193	0.197	0.209	0.208	0.202
マベリック	0.364	0.373	0.357	0.290	0.229	0.218	0.223	0.223	0.230	0.223	0.223	0.253
エルロッド	0.079	0.083	0.078	0.074	0.075	0.077	0.077	0.076	0.077	0.077	0.078	0.079

20

【0088】

この第二の実験では、ウェルが最終的に清澄であったネコが複数存在した（図6参照）。最後の清澄ウェルに当てはまる場所を決定することは困難であるという理由から、それらネコはさらなる計算から除外した。

30

【0089】

図5を使用することで、析出が開始された点が決定され、このウェルの直前のウェルを「最後の清澄ウェル」として規定する。最後の清澄ウェル中のシュウ酸塩の濃度を、従来の滴定方法において析出を生じたシュウ酸塩の濃度と比較すると、方法の間には優れた相関関係が得られた（図5および図7参照）。

表 5

【表 5】

	濃度 最後の清澄 ウェル中のシュウ酸 塩 mM	従来の滴定からの 添加されたシュウ酸 塩 μmol
コーンポップ*	125	50.0
エルロッド 1*	125	25.0
エルロッド 2*	125	23.8
ハニークラスター*	125	27.5
マリー 1*	125	38.8
マリー 2*	125	42.5
マベリック 1	7.8	13.8
マベリック 2	7.8	13.8
ピードーン	3.9	10.0
ウェルズ 1	2	6.3
ウェルズ 2	2	7.5
アルゴット	3.9	10.0
アンドリュー	7.8	13.8
アルデラ	15.6	27.5
アルレット 1	15.6	25.0
アルレット 2	15.6	23.8
* 最高濃度のシュウ酸塩を含むウェルが清澄であった。そのため、析出に対する抵抗性がどの程度まで高いのかは不明であった。結果として、これらデータの使用は信頼できないものとなるので、さらなる計算からは除外した。		

10

20

実施例 5

【0090】

シュウ酸塩 + 二次成分の方法 シュウ酸塩結石形成に対する抵抗性に影響を与える可能性のある、尿の他の成分の効果を評価するために、類似したアッセイを実行することができるが、一次元で段階希釈したシュウ酸塩と第二の次元で段階希釈した関心の成分とで実行する。図 2 は、シュウ酸塩結石形成に対する抵抗性に関するクエン酸塩の評価を図示したものであるが、この同じ原理を関心の任意の二次的な物質に使用できる。

30

【0091】

上述のように、シュウ酸塩のプレート調製する。第二のプレートは、関心の物質（例えば、クエン酸塩）で調製する。しかしながらこの場合、段階希釈は、列に沿ってではなくプレートの縦列に沿って行われる。上記のように、尿のために第三のプレートを使用する。

【0092】

100 μL の尿に、段階希釈した成分プレートからの 100 μL を加えるが、このとき当該成分の希釈液の位置を維持しながら行う（例えば、成分プレートの R1 : C1 から、尿プレートの R1 : C1 に移す）。混合後、尿プレートに連続希釈したシュウ酸塩 100 μL を加えるが、このときシュウ酸塩の希釈液の位置を維持しながら行う（例えば、シュウ酸塩プレートの R1 : C1 から、尿プレートの R1 : C1 に移す）。二回目の混合後、シュウ酸カルシウムの析出を、585 nm の光を放射するプレートリーダーセットにおいて評価する。この波長での吸光度と各ウェルにおける析出量との間に正の相関がある。

40

【0093】

この全般的な形態により、シュウ酸カルシウム結石形成に対する抵抗性を検出するだけでなく、試験化合物を同じ 96 ウェルプレートの行に沿って減少していく（又は増加していく）濃度で入れることによって、結石形成の潜在的な二次阻害物質を試験する能力を想

50

定することができる。このように、シュウ酸塩と関心の潜在的な二次阻害物質（例えば、クエン酸塩）との両方のプレートである。

【0094】

実際には、既知の量の尿を、清浄な96ウェルプレートのすべてのウェル内に入れることとなる。阻害物質プレートの行に沿って薄くなるようにこの阻害物質の濃度を希釈することによって、関心の二次阻害物質（例えば、クエン酸塩）の新しいプレートを作製した後、このプレートからの既知の量の阻害物質を、尿プレートに添加して混合するが、阻害物質の希釈液の位置は維持する（例えば、阻害物質プレートのR1:C1から、尿プレートのR1:C1に入れる）。上述の方法を使用してシュウ酸塩プレートも作製し、次いでこのシュウ酸塩を尿+二次阻害物質のプレートに添加するが、シュウ酸塩の希釈液の位置は維持する（例えば、シュウ酸塩プレートのR1:C1から、尿/阻害物質プレートのR1:C1に入れる）。次いで、上述の吸光度法を使用して、シュウ酸カルシウム析出度を定量化して、モデルの系におけるシュウ酸塩結石形成の阻害に対するシュウ酸塩と二次阻害物質との効果を判断できるようになる。

10

【0095】

これらの実験の成功を考慮すると、この同じ原理がまた、実験室又は臨床設定で使用されうる試験キットにも適用されることが判断された。さらに、いくつかの異なる形態を評価した。これらのキットにより、シュウ酸塩結石形成のリスク及び治療の結果を評価できるようになる。いくつかの非限定的な例が続く。実際の設計は、異なってもよい（例えば、添加の順序、各成分の量など）。

20

【0096】

第一のキットは、上記の形態から直接採用されるが、ウェルの単一の列である。ウェルの単一の列（96ウェルプレートの単一の列と同様）がこの分析に使用される。各ウェルは、行を上方向に移動するときに、順次より多い量のシュウ酸で充填される。シュウ酸は、尿中の遊離カルシウムに結合することとなるカルシウム特異性染料を含む固体形態、液体形態、又はゲル形態であってもよい。これらの染料は（しかし限定するものではなく）、Fura-2、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4、Calcium green-1、Oregon green、BAPTA-1、BAPTA-2、x-Rhod、Rhod-3、または遊離カルシウムの存在下でのみ色を示す任意の他のレポーター染料であってもよい。各ウェルは、使用前に各ウェルの内容物を保護するために水に溶解する薄い速溶性フィルム（活性や香味料のないプレスストリップのようなもの）で覆われてもよく、又は覆われていなくてもよい。

30

【0097】

使用に際して、既知の量の尿を各ウェルに添加し、尿がシュウ酸塩と遊離カルシウム特異性レポーター染料と接触するようにする。尿からのカルシウムはシュウ酸塩と結合し、シュウ酸カルシウムとして溶液から析出する。残りのあらゆる遊離カルシウムはカルシウム特異性レポーター染料と錯形成するため、ウェルが色変化することになる。カルシウムがほぼ完全に析出する（そしてそれによって無色になる）ために必要なシュウ酸塩の量は、モデルの系においてシュウ酸塩結石形成を阻害する尿の成分の能力に関連する。

40

【0098】

本発明の第二の誘導体では、ウェルを使用して試験について考察した原理は、マルチパッドpHスタイルの細片に翻訳されるであろう。この場合、カルシウムレポーター染料とともに、pH式ペーパーのパッドにシュウ酸（濃度を増加させながら）が加えられる。これらのパッドは、使用前に各ウェルの内容物を保護するために水に溶解する薄い速溶性フィルム（活性や香味料のないプレスストリップのようなもの）で覆われてもよい。実際には、ストリップは尿に浸漬され、未だ遊離カルシウムが存在するようなパッドはいずれも色変化することとなる。カルシウムがほぼ完全に析出する（そしてそれによって無色になる）ために必要なシュウ酸塩の量は、モデルの系においてシュウ酸塩結石形成を阻害する尿の成分の能力に関連する。

50

【0099】

本発明の第三の導出では、上記した原理は、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）様形式で利用される。シュウ酸をＴＬＣプレート上に配置し、シュウ酸の濃度は下から上へ向かって増加する。遊離カルシウム特異性レポーター染料もまた、このマトリックス中に包埋されることとなる。実際には、プレートは少量の尿に浸漬され、尿は上に向かって移動することになる。

【０１００】

ある時点で、シュウ酸塩の濃度が増加することにより、残りの遊離カルシウムが全て分離されることとなり、染料はもはや色変化しなくなる。無色になる前に尿がプレートをさらに上昇していくことは、モデルの系におけるシュウ酸塩結石形成を阻害する尿の成分の能力に関連する。

10

【０１０１】

本発明のこの導出のわずかに変形したものとしては、シュウ酸の濃度を、ＴＬＣプレートに沿って一定に保っているものがある。尿からのカルシウムは、そのすべてをシュウ酸塩が分離するまで、依然としてプレートを上昇することとなる。無色になる前に尿がプレートをさらに上昇していくことは、モデルの系におけるシュウ酸塩結石形成を阻害する尿の成分の能力に関連する。

【０１０２】

例示的なキットを、説明の目的のためにのみ図８および図９に示しているが、唯一の形式又はタイプとして解釈されるべきではない。

【０１０３】

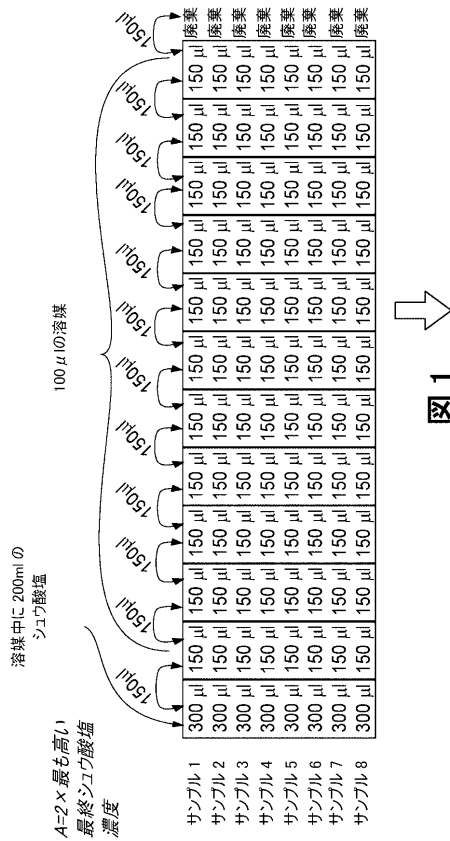
特定の実施形態を選択して本発明について説明したが、添付の特許請求の範囲によって規定されるとおりの本発明の範囲から逸脱することなく、その種々の改変及び変形を行うことができるということが当業者には理解されよう。当業者であれば、異なる図に図示された特徴の様々な組み合わせが、本発明の一部の非限定的実施形態で可能であり得ることを容易に理解するであろう。

20

【０１０４】

さらに、本明細書内で引用される参照文献は全て、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本開示における定義と、引用された参照文献における定義に矛盾がある場合、本開示が支配する。

【 図 1 - 1 】



【 図 1 - 2 】

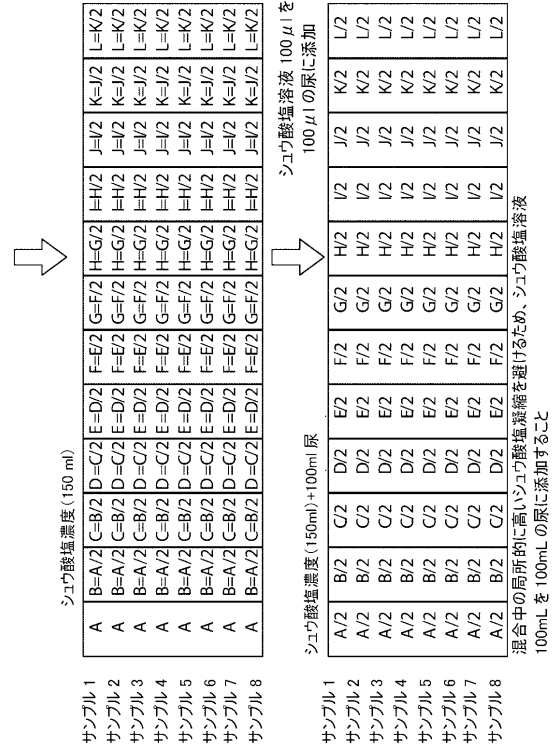
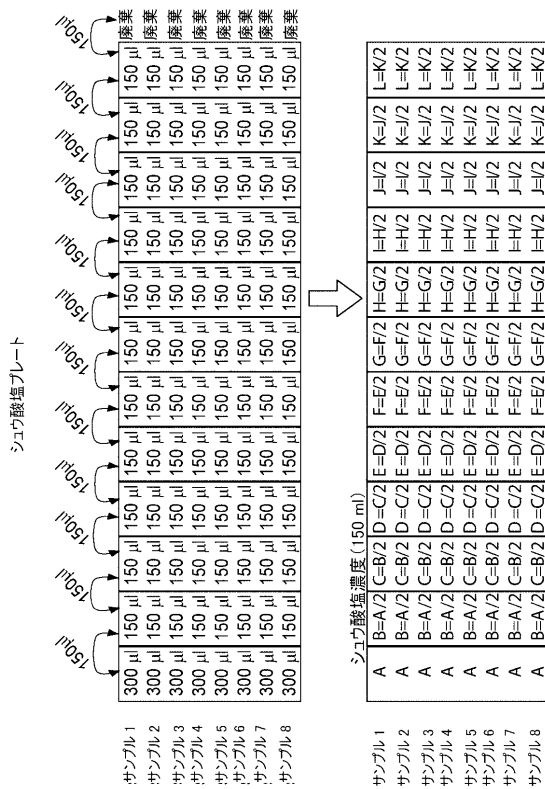


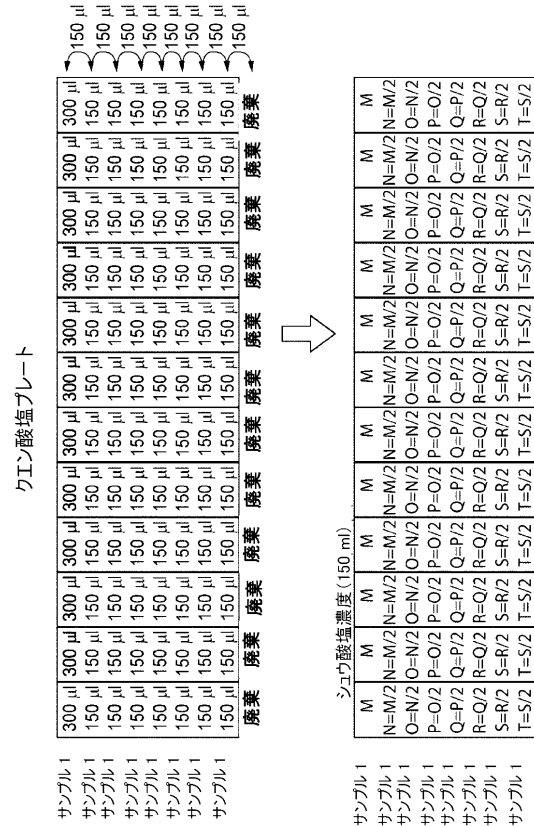
図 1 (統丸)

【 図 2 A 】



2A

【 図 2 B 】



2B 図

【図 2 C】

尿プレート		100 μ l の尿+ (例えば) クエン酸塩プレートの対応するウエルからの 100 μ l + シュウ酸塩プレートの対応するウエルからの 100 μ l															
サンプル 1		A/3+M/3	B/3+M/3	C/3+M/3	D/3+M/3	E/3+M/3	F/3+M/3	G/3+M/3	H/3+M/3	I/3+M/3	J/3+M/3	K/3+M/3	L/3+M/3				
サンプル 1		A/3+N/3	B/3+N/3	C/3+N/3	D/3+N/3	E/3+N/3	F/3+N/3	G/3+N/3	H/3+N/3	I/3+N/3	J/3+N/3	K/3+N/3	L/3+N/3				
サンプル 1		A/3+O/3	B/3+O/3	C/3+O/3	D/3+O/3	E/3+O/3	F/3+O/3	G/3+O/3	H/3+O/3	I/3+O/3	J/3+O/3	K/3+O/3	L/3+O/3				
サンプル 1		A/3+P/3	B/3+P/3	C/3+P/3	D/3+P/3	E/3+P/3	F/3+P/3	G/3+P/3	H/3+P/3	I/3+P/3	J/3+P/3	K/3+P/3	L/3+P/3				
サンプル 1		A/3+Q/3	B/3+Q/3	C/3+Q/3	D/3+Q/3	E/3+Q/3	F/3+Q/3	G/3+Q/3	H/3+Q/3	I/3+Q/3	J/3+Q/3	K/3+Q/3	L/3+Q/3				
サンプル 1		A/3+R/3	B/3+R/3	C/3+R/3	D/3+R/3	E/3+R/3	F/3+R/3	G/3+R/3	H/3+R/3	I/3+R/3	J/3+R/3	K/3+R/3	L/3+R/3				
サンプル 1		A/3+S/3	B/3+S/3	C/3+S/3	D/3+S/3	E/3+S/3	F/3+S/3	G/3+S/3	H/3+S/3	I/3+S/3	J/3+S/3	K/3+S/3	L/3+S/3				
サンプル 1		A/3+T/3	B/3+T/3	C/3+T/3	D/3+T/3	E/3+T/3	F/3+T/3	G/3+T/3	H/3+T/3	I/3+T/3	J/3+T/3	K/3+T/3	L/3+T/3				

図 2C

【図 4】

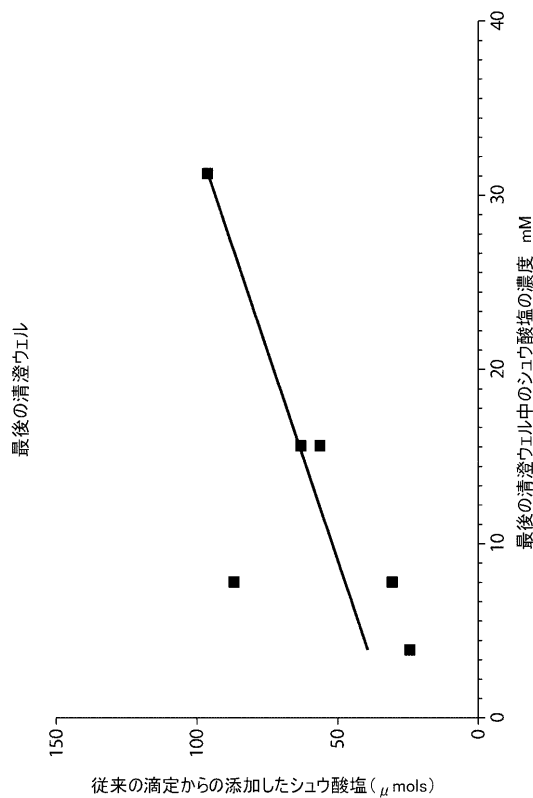


図 4

【図 3】

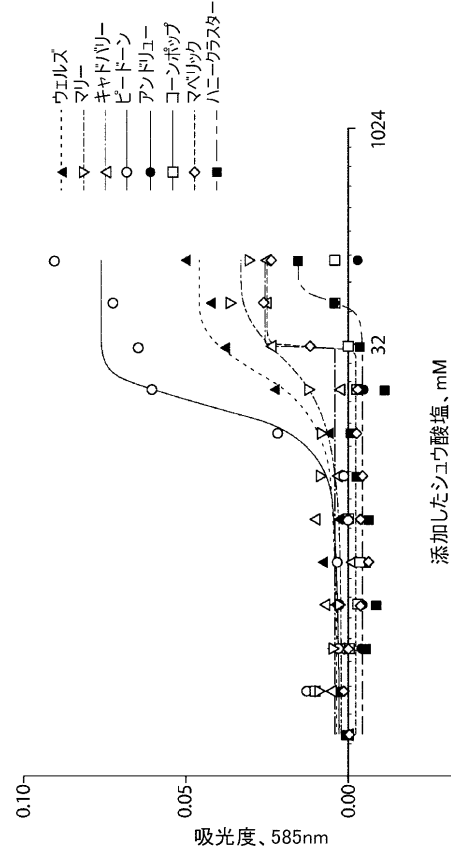


図 3

【図 5】

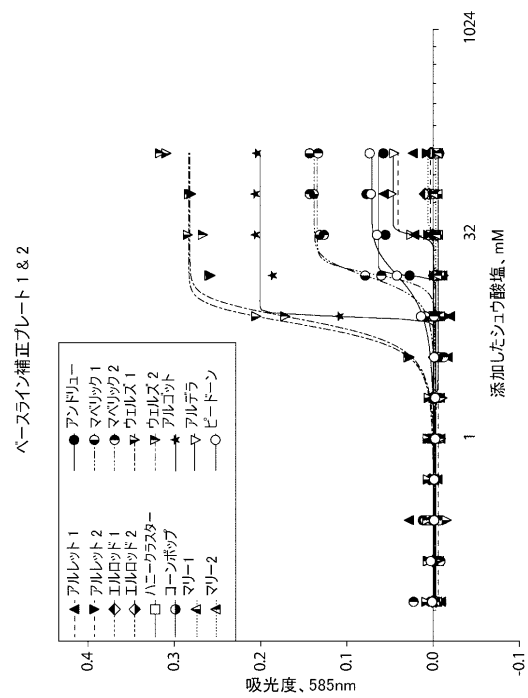
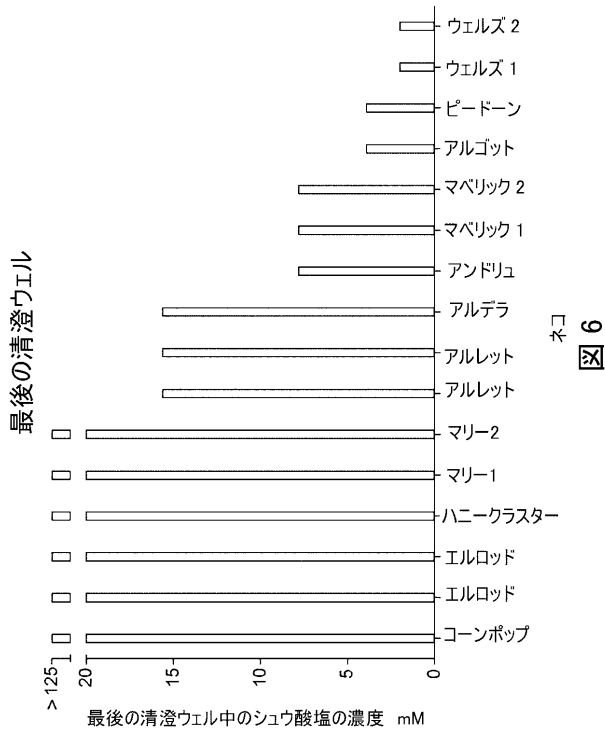
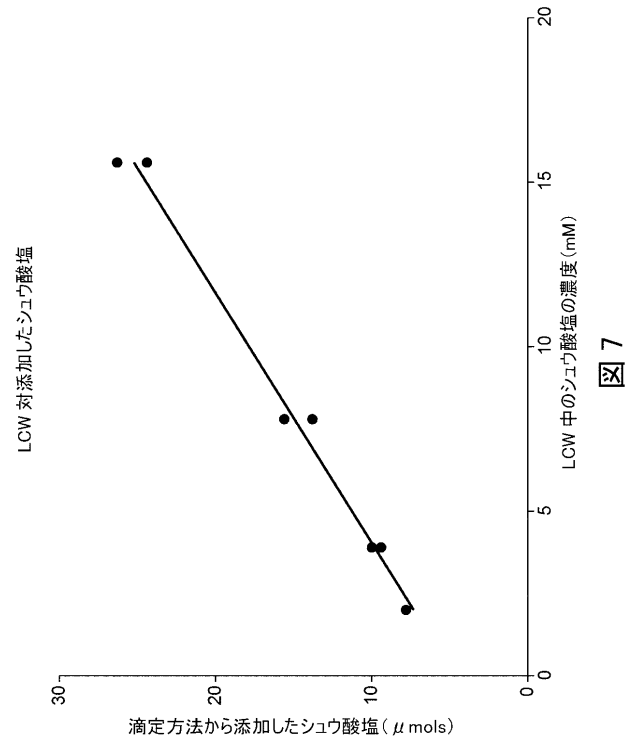


図 5

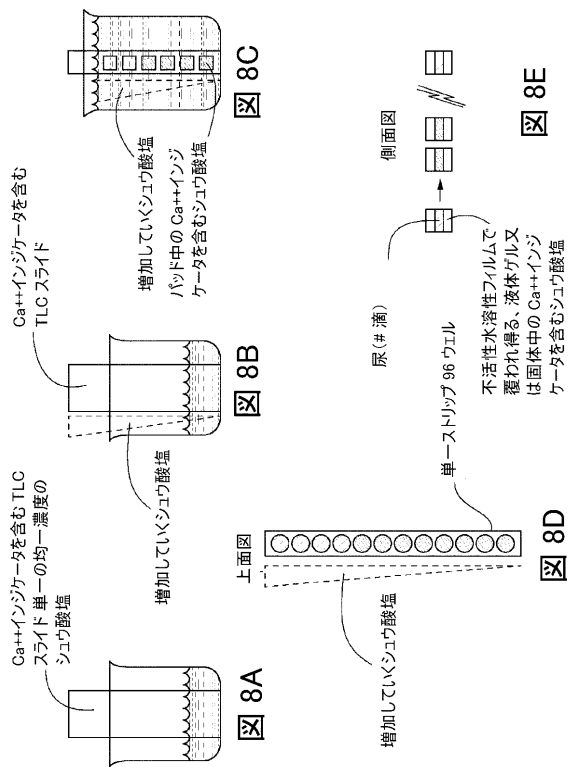
【 図 6 】



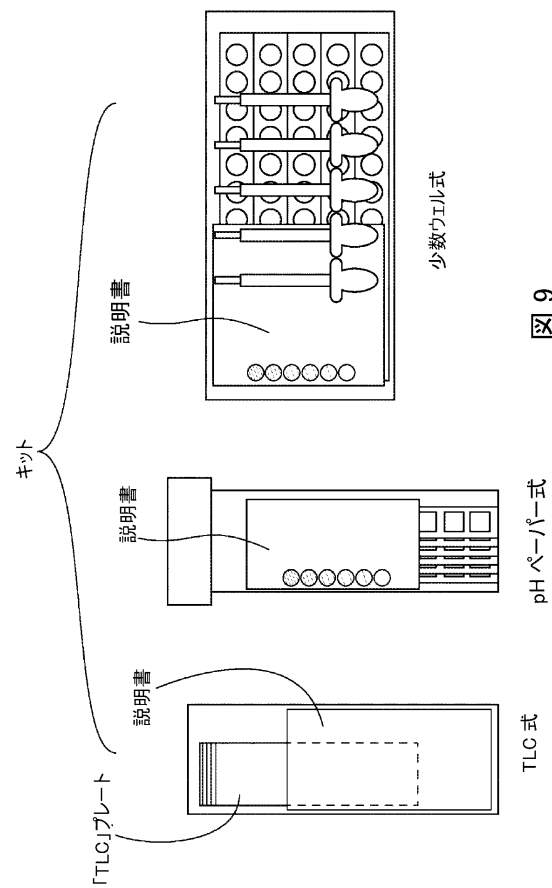
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



【手続補正書】

【提出日】令和1年6月27日(2019.6.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤及び少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤を、ネコのシュウ酸カルシウムリスク指数(CORI)を低下させるのに有効な量で含み、少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤の合計が、前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助食品よりも多い量である、ペットフード組成物。

【請求項2】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤は、アラキドン酸(AA)を含み、前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、エイコサペンタエン酸(EPA)及びドコサヘキサエン酸(DHA)を含む、請求項1に記載のペットフード組成物。

【請求項3】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.1:1~0.9:1である、請求項2に記載のペットフード組成物。

【請求項4】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.3:1~0.7:1である、請求項2又は3に記載のペットフード組成物。

【請求項5】

前記AA:(EPA+DHA)の比が0.4:1~0.6:1である、請求項2~4のいずれか一項に記載のペットフード組成物。

【請求項6】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約0.3%~約1%の量で含まれる、請求項1~5のいずれかに記載のペットフード組成物。

【請求項7】

前記オメガ-6多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤および前記少なくとも二種類のオメガ-3多価不飽和脂肪酸の栄養補助剤が、前記ペットフード組成物の乾燥重量の約0.4%~約0.6%の量で含まれる、請求項6に記載のペットフード組成物。

【請求項8】

前記組成物が、約2:1~約8:1の総オメガ-6脂肪酸対総オメガ-3脂肪酸の比($n_6:n_3$)を有する、請求項1~7のいずれか一項に記載のペットフード組成物。

【請求項9】

前記組成物が、約4:1~約7:1の総オメガ-6脂肪酸対総オメガ-3脂肪酸の比($n_6:n_3$)を有する、請求項1~8のいずれか一項に記載のペットフード組成物。

【請求項10】

ネコの尿の比重を低下させるための、請求項1~9のいずれか一項に記載のペットフード組成物の使用。

【請求項11】

ネコのCORIを低下させるための、請求項1~9のいずれか一項に記載のペットフード組成物の使用。

【請求項12】

尿路結石、猫特発性膀胱炎、及び猫下部尿路疾患(FLUTD)から選択される疾患又

は症状を治療するための、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のペットフード組成物の使用。

【請求項 13】

ネコの水分補給レベルを改善する方法であって、

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のペットフード組成物を前記ネコに与えることを含み、前記ペットフード組成物が前記ネコの C O R I を低下させる、方法。

【請求項 14】

前記ペットフード組成物が前記 C O R I を少なくとも 10 % 減少させる、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記ペットフード組成物が前記 C O R I を少なくとも 25 % 減少させる、請求項 13 又は 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記水分補給レベルが、尿路結石、猫特発性膀胱炎、および猫下部尿路疾患 (F L U T D) から選択される疾患または状態を治療するのに十分な程度まで改善される、請求項 13 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

ネコの水分補給レベルを維持または達成する方法であって、

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のペットフード組成物を前記ネコに与えることを含む、方法。

【請求項 18】

前記ペットフード組成物が、前記ネコの尿比重を低下させる、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記ペットフード組成物が、前記ネコの C O R I を減少させる、請求項 17 または請求項 18 に記載の方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2016/068651

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A23K20/158 A23K50/40 A23K50/42 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) A23K		
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) EP0-Internal, BIOSIS, COMPENDEX, FSTA, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/296486 A1 (BROCKMAN JEFFREY [US] ET AL) 13 October 2016 (2016-10-13) paragraphs [0027], [0037]; table 9 the whole document	1-29
X	Anon.: "ADULT HEALTH-RSS TM", 24 October 2016 (2016-10-24), 24 October 2016 (2016-10-24), pages 1-5, XP55343111, Retrieved from the Internet: URL:http://www.raynecanada.ca/s/FE_AdultRS S_Oct2416.pdf [retrieved on 2017-02-07] the whole document	1-29
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
8 February 2017		15/02/2017
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Rooney, Kevin

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2016/068651

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/011472 A1 (HILLS PET NUTRITION INC [US]; FLEURANGES LESLIE [US]; TOLSDORF GEOFFRE) 27 January 2011 (2011-01-27) example 14 the whole document -----	1-29
X	Anon.: "NF Kidney Function brand Canine and Feline Formulas", 19 December 2014 (2014-12-19), XP55343105, Retrieved from the Internet: URL:https://www.purinaproplanvets.com/meda/1192/canine_nf.pdf [retrieved on 2017-02-07] the whole document -----	1-29
X	KERR ET AL: "Companion animals symposium : dietary management of feline lower urinary tract symptoms", JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, US, vol. 91, no. 6, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 2965-2975, XP009177706, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2527/JAS.2012-6035 page 2970, column 1, paragraph 3 - column 2, paragraph 1 -----	1-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/068651

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2016296486 A1	13-10-2016	AU 2013405193 A1 CA 2926391 A1 CN 105722402 A EP 3068895 A1 JP 2017500844 A US 2016296486 A1 WO 2015072972 A1	19-05-2016 21-05-2015 29-06-2016 21-09-2016 12-01-2017 13-10-2016 21-05-2015
WO 2011011472 A1	27-01-2011	AU 2010276259 A1 BR 112012001333 A2 CA 2767910 A1 CN 102469812 A EP 2451295 A1 JP 2013500010 A JP 2015037415 A US 2012129785 A1 WO 2011011472 A1	02-02-2012 01-09-2015 27-01-2011 23-05-2012 16-05-2012 07-01-2013 26-02-2015 24-05-2012 27-01-2011

フロントページの続き

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

(74)代理人 100173978

弁理士 朴 志恩

(72)発明者 ジュエル、デニス、エドワード

アメリカ合衆国、カンザス州 66049、ローレンス、イースト 980 ロード 1752

(72)発明者 ブロックマン、ジェフリー

アメリカ合衆国、カンザス州 66047、ローレンス、ヘリアンタス ドライブ 4212

(72)発明者 シャール、デイル

アメリカ合衆国、カンザス州 66049、ローレンス、クロフトン コート 4204

(72)発明者 デイヴィッドソン、スティーブン

アメリカ合衆国、カンザス州 66618、トピーカ、ノースウエスト ハーフデイ レイン 4462

(72)発明者 ゴールダー、クリスティーナ

アメリカ合衆国、カンザス州 66618、トピーカ、ノースウエスト 37ス ストリート 4301

(72)発明者 アヴィラ、アルバート

アメリカ合衆国、カンザス州 66210、オーバーランド パーク、ウェスト 109ス ストリート 11424

F ターム(参考) 2B005 AA00 LA06 LB03 LB06 LB07 MA01 MA03 MA05 MC01

2B150 AA06 AB10 AE01 AE12 AE32 AE33 AE34 CC11 CD02 CD05

CD07 CD29 CE02 CE04 CE05 CE12 CJ07 CJ08 DA43 DA44

DA45 DA46 DA47 DA48 DA49 DA56 DA58 DC13 DC14 DC15

DE01 DE02 DE03 DE04 DE05 DE07 DE08 DE09 DE10 DE12

DE13 DE14 DE15 DE20 DF06 DH35 DJ03 EA01

4C206 DA05 MA03 MA04 MA72 NA14 ZA81 ZC61