

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2018年10月4日(04.10.2018)



(10) 国際公開番号

WO 2018/180728 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 35/745 (2015.01) A61P 19/02 (2006.01)
A23L 33/135 (2016.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2018/010882

(22) 国際出願日: 2018年3月19日(19.03.2018)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2017-068937 2017年3月30日(30.03.2017) JP

(71) 出願人: 森永乳業株式会社(MORINAGA MILK
INDUSTRY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1088384 東京
都港区芝五丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 久原 徹哉 (KUCHARA, Tetsuya);
〒2528583 神奈川県座間市東原五丁目1番
83号 森永乳業株式会社内 Kanagawa (JP).
田中 あづさ (TANAKA, Azusa); 〒2528583 神
奈川県座間市東原五丁目1番83号 森
永乳業株式会社内 Kanagawa (JP). 清水 金
忠 (SHIMIZU, Kanetada); 〒2528583 神奈川県
座間市東原五丁目1番83号 森永乳業
株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 辻田 朋子 (TSUJITA, Tomoko);
〒2206008 神奈川県横浜市西区みなとみらい二
丁目3番1号 クイーンズタワーA 8階 みな
とみらい特許事務所内 Kanagawa (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

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

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告(条約第21条(3))
- 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出され
た、寄託された生物材料に関する表示(規則13
の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則5.2(a))

(54) Title: COMPOSITION FOR PROMOTING EXPRESSION OF ANTIINFLAMMATORY GENE

(54) 発明の名称: 炎症制御遺伝子の発現促進用組成物

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a composition for promoting the expression of an antiinflammatory gene and a composition for inhibiting the production of an inflammatory cytokine. A means for solving the problem is to use, as an active ingredient, a bacterium belonging to the genus *Bifidobacterium*, i.e., *Bifidobacterium longum subsp. infantis* LMG23728 and/or *Bifidobacterium breve* FERM BP-11175 or a culture thereof.

(57) 要約: 本発明の課題は、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物及び、炎症性サイトカイン産生抑制用組
成物を提供することである。当該課題を解決する手段は、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*B*
*i**f**i**d**o**b**a**c**t**e**r**i**u**m* *l**o**n**g**u**m* *s**u**b**s**p**.* *i**n**f**a**n**t**i**s*) LMG23728及び/
又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*B**i*f**i*d**o**b**a**c**t**e**r**i**u**m* *b**r**e**v**e*) FERM BP
-11175のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とすることである。**

WO 2018/180728 A1

明 細 書

発明の名称：炎症制御遺伝子の発現促進用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物に関する。

背景技術

[0002] 腸の健康は、腸という1器官のみならず全身の健康に重要である。腸管組織はバリア機能を有するとともに、ヒト生体内の免疫細胞の約60%を動員する等、病原微生物の生体内への侵入阻止を担っている。

腸管組織に過剰な炎症が生ずると、免疫細胞により産生された炎症性サイトカイン（TNF- α ，IL-1 β ，IL-6等）が他器官に作用して発熱やC反応性タンパク質産生などを誘発するとともに、腸管バリア機能の破綻をきたし、全身性の慢性疾患に拡大することもある。

例えば、潰瘍性大腸炎、クローン病などの炎症性腸疾患は原因不明の腸疾患で、消化管以外の合併症を伴うこともあり、指定難病に定められている。

[0003] このような炎症性腸疾患を含む炎症性疾患の治療法としては、例えば、抗IL-23抗体薬等のヒト型抗体医薬品（非特許文献1）や、ステロイド医薬品による治療法が知られている。

[0004] 近年、腸管組織の炎症制御に、血管の収縮及び拡張を調節して血圧を制御する生体システムであるレニン-アンジオテンシン系が関与することが明らかにされている。（非特許文献1）。レニン-アンジオテンシン系をつかさどる酵素の一つであるアンジオテンシン変換酵素2（ACE2）は、血管収縮を誘導するAng IIを、これに拮抗するAng 1-7に変換する酵素であり、炎症発生に対し抑制的に働くことが知られている（非特許文献2）。

また、ACE2は、小腸のアミノ酸吸収を制御することにより腸内環境を維持し、炎症作用を抑制することが知られている（非特許文献3）。

[0005] また、Mucin1（Muc-1）は広範なTLRシグナルを介した炎症性シグナルを抑制することが知られている（非特許文献4）

[0006] ところで、ビフィドバクテリウム属細菌をはじめとした健康維持に有益に働く微生物の利用は「プロバイオティクス」と呼ばれ、多くの研究が行われている。ビフィドバクテリウム属細菌による炎症性疾患の予防又は改善作用についても報告されている（特許文献1～3）。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特開2012-158568号公報

特許文献2：国際公開第2007/122885号パンフレット

特許文献3：特開2011-032170号公報

非特許文献

[0008] 非特許文献1：Nature, 487:477-481, 2012

非特許文献2：PLOS One, 2016 Mar 10; 11(3): e0150861.

非特許文献3：Immunity, 43:739-750, 2015

非特許文献4：Am J Respir Cell Mol Biol, 38:263-268, 2008

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 前述したように、炎症性腸疾患をはじめとする重篤な炎症性疾患の治療にはヒト型抗体医薬品やステロイド医薬品による治療法が用いられている。しかし、これらの薬物療法は副作用の問題が生じやすい。

特に、これらの問題は乳幼児や小児にとってより重大なものとなる。

そこで、本発明は、安全であり、かつ高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物及び、炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を提供することを課題とする。

本発明は、特に、乳幼児や小児に対する安全性に優れ、かつ高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物及び、炎症性サイトカインの産生抑

制用組成物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0010] 本発明者らは、安全であり、高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の有効成分を求め鋭意研究に励んだ結果、乳幼児の体内に多く存在する菌種のうち特定の菌から得られた培養物に炎症制御遺伝子の発現促進作用、及び炎症性サイトカインの産生抑制作用があることを見出し、本発明を完成させた。
- [0011] 前記課題を解決する第一の発明は、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とする、ACE2、AgtR2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進剤又は発現促進用組成物である。なお本明細書において、組成物及び剤の用語は、同一の意味である。
- [0012] また、本発明は、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とする、TNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制剤又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物でもある。
- [0013] 本発明の好ましい形態では、組成物の有効成分は、前記ビフィドバクテリウム属細菌の培養上清である。
- [0014] 本発明の好ましい形態では、組成物は医薬組成物または飲食品組成物である。
- [0015] 本発明の組成物は、炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から

選ばれる1又は複数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いることが好ましい。

[0016] また、本発明の有効成分である前記細菌又はその培養物は、乳幼児や小児に対しても安全性が高い。そのため、本発明の炎症制御遺伝子の発現促進剤又は発現促進用組成物、又は、炎症性サイトカイン産生抑制剤又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は、乳幼児又は小児の炎症性疾患に対して好適に用いることができる。

すなわち、本発明の組成物は乳幼児又は小児の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いることが好ましい。

[0017] また、前記課題を解決する第二の発明は、ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進のために用いられるビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清であり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0018] また、本発明はTNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制のために用いられるビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清でもあり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0019] また、第二の発明は、以下を好ましい形態としている。

[0020] 本発明の好ましい形態では、組成物は医薬組成物または飲食品組成物であ

る。

[0021] 本発明の好ましい形態では、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清は、炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から選ばれる1又は複数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いられるためのものである。

[0022] また、本発明の好ましい形態では、前記炎症性疾患が乳幼児又は小児の炎症性疾患である。

[0023] また、前記課題を解決する第三の発明は、ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進剤又は発現促進用組成物の製造における、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清の使用であり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0024] また、本発明は、TNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の製造における、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清の使用でもあり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0025] また、第三の発明は、以下を好ましい形態としている。

[0026] 本発明の好ましい形態では、組成物は医薬組成物または飲食品組成物である。

[0027] 本発明の好ましい形態では、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清は、炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から選ばれる1又は複

数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いられるためのものである。

[0028] また、本発明の好ましい形態では、前記炎症性疾患が乳幼児又は小児の炎症性疾患である。

[0029] また、前記課題を解決する第四の発明は、*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728及び／又は*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175の*Bifidobacterium*属細菌、又はその培養物若しくは培養上清をACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進が必要な対象に投与することを含む、ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進方法であり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0030] また、本発明は、*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728及び／又は*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175の*Bifidobacterium*属細菌、又はその培養物若しくは培養上清をTNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制が必要な対象に投与することを含む、TNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制方法でもあり、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清の好ましい形態は前述した通りである。

[0031] また、第四の発明は、以下を好ましい形態としている。

[0032] 本発明の好ましい形態では、組成物は医薬組成物または飲食品組成物である。

[0033] 本発明の好ましい形態では、前記細菌、又はその培養物若しくは培養上清は、炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から選ばれる1又は複

数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いられるためのものである。

[0034] また、本発明の好ましい形態では、前記炎症性疾患が乳幼児又は小児の炎症性疾患である。

発明の効果

[0035] 本発明によれば、安全で、高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を提供することができる。本発明によれば、特に、乳幼児や小児に対しても安全性に優れ、高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を提供することができる。

また、本発明の好ましい形態によれば、有効成分として培養上清を用いるため、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を用いて医薬組成物や飲食品組成物を設計する場合に、処方、原材料の自由度を損なうことなく、効果を奏する製品を設計することができる。

また、培養上清はビフィドバクテリウム属細菌の工業生産における副産物として廃棄される。したがって本発明の好ましい形態によれば、有効成分として培養上清を用いるため、副産物の有効利用が可能となる。

発明を実施するための形態

[0036] 次に、本発明の好ましい実施形態について詳細に説明する。但し、本発明は以下の実施形態に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができる。

[0037] 本発明の炎症制御遺伝子の発現促進剤又は炎症制御遺伝子の発現促進用組成物（以下、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物という）、又は、炎症性サイトカイン産生抑制剤又は炎症制御遺伝子の発現促進用組成物（以下、炎症性サイトカイン産生抑制用組成物という）は、ビフィドバクテリウム・インファンティス LMG 23728（以下、B. インファンティス LMG 23728という）及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ FERM BP-11175（以下、B. ブレーベ FERM BP-11175という）のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とする。

[0038] 後述する実施例に示す通り、*B. インファンティス* LMG 23728 及び／又は *B. ブレーベ* FERM BP-11175 の培養上清は ACE 2、Ag t R 2、Ma s - 1、MK P - 1、Mu c - 1、及び IL - 10 といった炎症制御遺伝子の発現促進作用を有する。また、*B. インファンティス* LMG 23728 及び／又は *B. ブレーベ* FERM BP-11175 の培養上清は、TNF - α 、IL - 23 といった炎症性サイトカインの産生抑制作用を有する。培養上清には、これらのビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物が含まれることから、該代謝産物を含む培養物は炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の有効成分として用いることができる。

さらに、前記ビフィドバクテリウム属細菌が生存状態で腸まで到達することによっても、腸内でビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物が産生され、抗炎症作用が発揮されと考えられる。したがって、前記ビフィドバクテリウム属細菌も有効成分として用いることができる。

[0039] *B. インファンティス* LMG 23728 又は *B. ブレーベ* FERM BP-11175 は、それらのビフィドバクテリウム属細菌を含む種々の試料から、*B. インファンティス* LMG 23728 又は *B. ブレーベ* FERM BP-11175 を分離して用いることもできるし、市販のビフィドバクテリウム属細菌や寄託菌株を用いることもできる。

[0040] なお、*B. インファンティス* LMG 23728 のビフィドバクテリウム属細菌は、BELGIAN CO-ORDINATED COLLECTIONS OF MICRO-ORGANISMS (BCCM) から一般に入手することが可能である。

B. インファンティス LMF23728 は、M-63（森永乳業社製）と同一の菌株である。

[0041] また、*B. ブレーベ* FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌は、平成 21 年 8 月 25 日に、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許生物寄託センター（郵便番号：292-0818、住所：千葉県木更津市かずさ

鎌足2-5-8 122号室)に、ブダペスト条約に基づく国際寄託がなされ、受託番号FERM BP-11175が付与されている。

[0042] また、培養物は、B. インファンティス LMG 23728やB. ブレーベ FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌を常法により培養することで得ることができる。

培養条件は、好ましくは、嫌気条件下で、25℃～42℃、12時間～数日間が挙げられる。

例えば、2%の割合でグルコース（ナカライテスク社製）を添加したGAM液体培地（ニッスイ社製）にB. インファンティス LMG 23728やB. ブレーベ FERM BP-11175を接種し、嫌気条件にて37℃で12時間培養する方法、11%還元脱脂粉乳、及び0.6%酵母エキスをイオン交換水に溶解し、90℃で30分間オートクレーブ殺菌した培地にB. インファンティス LMG 23728やB. ブレーベ FERM BP-11175を接種し、嫌気ジャー内（CO₂：20%、N₂：80%）で、37℃で16時間培養する方法により、培養物を得ることができる。

[0043] ここで、培養物とは前述した方法等により培養して得られた前記ビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物を含む組成物である。すなわち、培養物として、前記ビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物、培地成分及び菌体を含む組成物をそのまま用いることもできるし、該組成物から前記ビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物を含む画分を、濾過、遠心分離、抽出などの方法により、分離、精製したものをを用いることもできる。

また、培養物は濃縮、乾燥工程を経たものであってもよい。

[0044] 本発明の有効成分として、培養上清を用いることが好ましい。有効成分として培養上清を用いることで、後述する医薬組成物や飲食品組成物などを設計する際に、有効成分の濃度を十分に保持しながら培養物由来の固形分を低減し、後述する医薬組成物の処方や飲食品組成物の原材料の設計の自由度を高めることが可能となる。

また、ビフィドバクテリウム属細菌製剤やこれを用いた発酵乳等の工業的

生産において、一般的に、培養上清は一時軽液として分離され、廃棄されている。このような副産物の有効利用の観点からも、培養上清が好ましく用いられる。

なお、本発明において「培養上清」は、遠心分離等の方法により培地成分や細菌を含む固形分が完全に除去されたものである必要はなく、前記ビフィドバクテリウム属細菌の代謝産物を含む液層を主とするものであれば、「培養上清」といえる。

[0045] 本発明の有効成分として、B. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベ FERM BP-11175の何れか単一のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を用いてもよいし、両方のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を組み合わせて用いてもよい。

[0046] 本発明の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は、ヒトを含む哺乳動物に投与することができる。投与形態としては、患者の症状等に応じて経口投与及び非経口投与の何れを選択してもよい。

[0047] 本発明の有効成分として培養物を用いる場合、培養物の投与量は、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の剤形及び食品形態、患者の症状、年齢等によって異なるが、1日当たり、培養上清中の固形分相当量で0.001g/kg体重以上、好ましくは0.01～0.1g/kg体重を目安とすることができる。また、投与は、1日に1回又は数回に分けて行うことができ、投与期間は、数日以上継続することが好ましい。

[0048] また、本発明の有効成分として、ビフィドバクテリウム属細菌を用いる場合の菌体（生菌）の投与量は、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の剤形及び食品形態、患者の症状、年齢等によって異なるが、1日当たり、 1×10^6 CFU/kg体重以上、好ましくは $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{12}$ CFU/kg体重を目安とすることができる。なお、CFUは、コロニー形成単位：Colony Forming unitを意味する。なお、当

該ビフィドバクテリウム属細菌が死菌の場合、C F Uは個細胞 (cells) と置き換えることができる。

[0049] また、投与は1日に1回又は数回に分けて行うことができ、投与期間は数日以上継続することが好ましい。

[0050] 本発明の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物は、A C E 2、A g t R 2、M a s - 1、M K P - 1、M u c - 1、及びI L - 1 0からなる群から選ばれる一又は複数の炎症制御遺伝子の発現を促進させる作用を有する。

[0051] A C E 2は腸管組織の炎症制御に関与するレニン-アンジオテンシン系において、A n g I I (A n g i o t e n s i n I I) をA n g 1 - 7に変換する(非特許文献1)。

ここで、A n g I Iは、A T 1 Rを介して血管収縮を強く誘導する他、活性酸素を誘導して組織に酸化ストレスを生じさせ、炎症反応を増大させる。

そして、A n g 1 - 7はA g t R 2、M a s - 1を介して抗酸化ストレス、抗炎症能を発揮することが知られている(非特許文献1)。

[0052] すなわちA C E 2、A g t R 2及びM a s - 1から選ばれる炎症制御遺伝子の発現を促進させることにより、抗酸化ストレス作用、抗炎症能作用が発揮される。

従って、本発明のA C E 2、A g t R 2及びM a s - 1から選ばれる炎症制御遺伝子の発現促進用組成物は、抗酸化剤、抗炎症剤等として用いることができる。

また、A C E 2、A g t R 2及びM a s - 1から選ばれる炎症制御遺伝子の発現促進用組成物は、潰瘍性大腸炎、クローン病などの炎症性腸疾患の予防又は改善用組成物として用いることができる。

[0053] M K P - 1 (マイトジェン活性化プロテインキナーゼホスファターゼ1) はp 3 8 M A P Kとc - J U N末端キナーゼを選択的に脱リン酸化することにより、T L Rの活性化による炎症を抑制する。

また、M u c - 1 (M u c i n 1) もT L Rの活性化による炎症を抑制する(非特許文献4)。

そのため、M K P - 1、M u c - 1 の遺伝子発現量を増加させることにより、T L R の活性化による炎症の予防又は改善作用が発揮される。

従って、本発明のM K P - 1 及びM u c - 1 から選ばれる炎症制御遺伝子の発現促進用組成物は、T L R の活性化による炎症の予防又は改善用組成物として用いることができる。

[0054] また、I L - 1 0 はT細胞やマクロファージに作用して細胞の活性化抑制、抗原提示能低下を誘導し、T細胞やマクロファージ細胞の活性化による炎症を鎮静化させる。そのため、I L - 1 0 の遺伝子発現量を増加させることにより、細胞の活性化抑制作用や抗原提示能低下作用が発揮される。

[0055] そのため、本発明のI L - 1 0 の遺伝子の発現促進用組成物は、自己免疫疾患を含むT細胞やマクロファージ細胞の活性化による炎症の予防又は改善用組成物として用いることができる。

より具体的には、本発明のI L - 1 0 の遺伝子の発現促進用組成物は、自己免疫性溶血性貧血、多腺性自己免疫症候群、アルツハイマーなどの疾患の予防又は改善用組成物として用いることができる。

[0056] そして、本発明の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は、T N F - α 、I L - 2 3 等の炎症性サイトカイン産生を抑制する作用を有する。

[0057] T N F - α は、炎症性サイトカインの一種であり、T N F r e c e p t e r 1 を介してアポトーシスを誘導し、またN F - κ BあるいはA P - 1 等の転写因子の活性化を誘導して種々の炎症性メディエーターの産生・放出を増強する。

そのため、T N F - α の産生を抑制させることにより、炎症性メディエーターの産生・放出による炎症の予防又は改善作用が発揮される。

[0058] I L - 2 3 は炎症性サイトカインの一種であり、I L - 1 7、T N F - α 等の炎症性サイトカインの発現を誘導している。また、I L - 2 3 は、炎症性大腸炎、結腸炎、クローン病、乾癬、敗血症ショック等と深く関わっていることが知られている（非特許文献3）。

そのため、I L - 2 3 の産生を抑制することにより、炎症性大腸炎、結腸

炎、クローン病、乾癬、敗血症ショック等の予防又は改善作用が発揮される。

[0059] 前述の通り、ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10といった炎症制御遺伝子の発現促進作用やTNF- α 、IL-23といった炎症性サイトカイン産生抑制作用により、AngIIによるAT1Rを介した炎症反応、TLRの活性化による炎症、T細胞やマクロファージ細胞の活性化による炎症、TNF- α による種々の炎症性メディエーターの産生・放出による炎症、IL-23の産生による炎症に起因して発症する広範な炎症性疾患の予防又は改善作用が発揮される。

[0060] すなわち、本発明の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は炎症性腸疾患、炎症性皮膚疾患、炎症性関節疾患、創傷、動脈硬化性疾患、神経変性疾患、自己免疫疾患、腫瘍疾患等を含む炎症性疾患の予防及び／又は改善用組成物として、広く用いることができる。

[0061] また、具体的な疾患名としては、リウマチ、若年性特発性関節炎、リウマチ様全身性エリテマトーデス、強皮症、抗糸球体基底膜病、全身性エリテマトーデス、アジソン病、抗リン脂質抗体症候群、IgA糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、ランバート・イートン筋無力症候群、特発性紫斑病、自己免疫性甲状腺炎、天疱瘡、自己免疫性溶血性貧血、疱疹性デューリング皮膚炎、膜性糸球体腎炎、グレーブス病、交感性眼炎、多腺性自己免疫症候群、多発性硬化症、ライター病、急性肺損傷（ALI）、クローン病、心筋梗塞・脳血管障害、アルツハイマー、潰瘍性大腸炎、乾癬、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）等が挙げられる。

[0062] なお、本明細書において、「予防」の概念は、疾患が発生するリスクの低減を含む。また、「改善」の概念は、治療、症状の緩和の何れも含む。

[0063] また、後述する実施例に示す通り、本発明の有効成分は、炎症性疾患の罹患に伴う体重の減少を抑制する作用にも優れる。そのため、本発明の炎症制

御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は、炎症性疾患罹患に伴う体重減少の抑制用組成物として用いることもできる。

[0064] また、本発明の有効成分は、乳幼児に多く存在するビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物であることから、乳幼児や小児の炎症性疾患に対して好適に用いることができる。具体的には、乾癬などの炎症性皮膚疾患、若年性特発性関節炎などの炎症性関節疾患が挙げられる。

[0065] 本発明の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物は、医薬組成物又は飲食品組成物の形態とすることができる。

[0066] 本発明の医薬組成物は、前述した本発明の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の有効成分であるB. インファンティス LMG 23728及び／又はB. ブレーベ FERM B P-11175、又はその培養物を薬学的に許容され得る賦形剤等、任意の添加剤を用いて製剤化することにより製造できる。

本発明の医薬組成物は、経口投与の場合、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤などの固形製剤、溶液剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤などの液剤の形態とすることができる。また、本発明の医薬組成物は経腸投与や非経口投与での形態とすることも可能であり、例えば非経口投与の場合は、座剤、噴霧剤等が挙げられる。

[0067] 製剤担体、添加剤は、剤形に応じ慣用の各種有機又は無機の担体を用いることができる。固形製剤の場合には、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤等が挙げられる。

[0068] 賦形剤としては、乳糖、白糖、ブドウ糖、マンニト、ソルビット等の糖誘導体；トウモロコシデンプン、馬鈴薯デンプン、 α -デンプン、デキストリン、カルボキシメチルデンプン等のデンプン誘導体；結晶セルロース、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、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等のセルロース誘導体；アラビアゴム；デキストラン；プルラン；軽質無水珪酸、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム等の珪酸塩誘導体；

リン酸カルシウム等のリン酸塩誘導体；炭酸カルシウム等の炭酸塩誘導体；硫酸カルシウム等の硫酸塩誘導体等が挙げられる。

[0069] 結合剤としては、上記賦形剤の他、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、マクロゴール等が挙げられる。

[0070] 崩壊剤としては、上記賦形剤の他、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドン等の化学修飾されたデンプン又はセルロース誘導体等が挙げられる。

[0071] 滑沢剤としては、タルク；ステアリン酸；ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム等のステアリン酸金属塩；コロイドシリカ；ビーガム、ゲイロウ等のワックス類；硼酸；グリコール；フマル酸、アジピン酸等のカルボン酸類；安息香酸ナトリウム等のカルボン酸ナトリウム塩；硫酸ナトリウム等の硫酸類塩；ロイシン；ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム等のラウリル硫酸塩；無水珪酸、珪酸水和物等の珪酸類；デンプン誘導体等が挙げられる。

[0072] 安定剤としては、メチルパラベン、プロピルパラベン等のパラオキシ安息香酸エステル類；クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコール等のアルコール類；塩化ベンザルコニウム；無水酢酸；ソルビン酸等が挙げられる。

[0073] 矯味矯臭剤としては、甘味料、酸味料、香料等が挙げられる。

[0074] 液剤の場合には、水などの溶剤、矯味矯臭剤等が挙げられる。

[0075] また、培養物を有効成分として用いた医薬組成物とする場合の、該医薬組成物中のB. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベFERM BP-11175の培養物の含有量は、培養上清中の固形分相当量で0.001～10質量%、好ましくは0.01～10質量%である。

また、菌体を有効成分として用いた医薬組成物とする場合の、該医薬組成物中のB. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベFERM BP-11175の菌体の含有量は、1日当たり、 1×10^6 CFU/kg以上、好ましくは $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{12}$ CFU/kgを目安とする

ことができる。

[0076] 本発明の飲食品組成物は、例えば、B. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベ FERM BP-11175、又はその培養物を食品衛生学上許容される基剤、担体、添加剤や、その他食品添加剤として利用される公知の成分・材料を適宜配合し、加工することにより製造することができる。飲食品組成物とすることで、乳幼児や小児であっても、継続的に、容易に、有効成分を摂取することができる。なお、本発明において、「飲食品組成物」には、人間が摂取する飲食品の他、人間以外の動物が摂取する飼料も含まれる。

[0077] 本発明の飲食品組成物は、加工乳、発酵乳等の乳製品；乳酸菌飲料、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液及び調製用粉末を含む）；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；飴、チューインガム、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子等の菓子類；経腸栄養食；機能性食品等の形態とすることができる。

中でも、発酵乳、乳酸菌飲料等は、ビフィドバクテリウム属細菌の培養物を含むものとして製造することが可能であり、菌体を含む形態で提供することも可能であるため、製造効率の観点から好ましい形態として挙げられる。

また、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果汁飲料、乳酸菌飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液及び調製用粉末を含む）が、前記有効成分を効率よく摂取する観点から特に好ましい。

また、機能性食品の形態として、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントであることも、摂取者が有効成分の摂取量を把握し易いという点で好ましい。

[0078] また、本発明の飲食品組成物には、通常の商品に汎用される担体、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等の添加剤を使用することができる。

[0079] 例えば、前記飲食品組成物の形態を、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントとする場合には、有効成分である前記ビフィドバクテリウム属細

菌又はその培養物を、例えば、ラクチュロース、マルチトール、及びラクチトール等の糖類、及びそれ以外の糖類、例えばデキストリン、デンプン等；ゼラチン、大豆タンパク、トウモロコシタンパク等のタンパク質；アラニン、グルタミン、イソロイシン等のアミノ酸類；セルロース、アラビアゴム等の多糖類；大豆油、中鎖脂肪酸トリグリセリド等の油脂類等と共に、製剤化することも好ましい。

[0080] また、培養物を有効成分として用いる場合の、飲食品組成物中のB. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベ FERM BP-11175 の培養物の含有量は、培養上清中の固形分相当量で0.001～10質量%、好ましくは0.01～10質量%である。

また、菌体を有効成分として用いる場合の、飲食品組成物中のB. インファンティス LMG 23728 及び／又はB. ブレーベ FERM BP-11175 の菌体（生菌）の含有量は、1日当たり、通常 1×10^6 CFU/kg 以上、好ましくは $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{12}$ CFU/kg を目安とすることができる。該細菌が死菌の場合、CFUは個細胞（cells）と置き換えることができる。

[0081] 本発明の飲食品組成物は、好ましくは機能性食品である。「機能性食品」とは、疾患の予防効果、又は疾患の発生リスクの低減効果が、直接的又は間接的に表示された食品を意味する。例えば、現在、日本において、特定保健用食品、機能性表示食品、健康補助食品の態様で販売される食品が挙げられる。

[0082] また、このような機能性食品には、「炎症性疾患の予防又は改善のため」の用途の表示が付された形態とすることも好ましい。

前記「表示」は、需要者に対して前記用途を知らしめる機能を有する全ての表示を含む。すなわち、前記用途を想起・類推させうるような表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体等の如何に拘わらず、全て前記「表示」に該当する。

また、前記「表示が付された」とは、前記表示と、食品用組成物（製品）

を関連付けて認識させようとする表示行為が存在していることをいう。

表示行為は、需要者が前記用途を直接的に認識できるものであることが好ましい。具体的には、本発明の飲食品組成物に係る商品又は商品の包装への前記用途の記載行為、商品に関する広告、価格表もしくは取引書類（電磁的方法により提供されるものを含む）への前記用途の記載行為が例示できる。

[0083] 一方、表示される内容（表示内容）としては、行政等によって認可された表示（例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示）であることが好ましい。

例えば、健康食品、機能性飲食品、経腸栄養食品、特別用途食品、保健機能食品、特定保健用食品、機能性表示食品、栄養機能食品、医薬用部外品等の表示を例示することができる。特に、消費者庁によって認可される表示、例えば、特定保健用食品制度、機能性表示食品、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。

実施例

[0084] 次に実施例を示して本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[実施例 1]

B. インファンティス LMG 23728 の培養上清の投与が、大腸炎モデルマウスに及ぼす効果を検討した。試験は以下の方法にて行った。

[0085] (1) 試験

(1-1) 培養上清の調製

11%還元脱脂粉乳、及び0.6%酵母エキスをイオン交換水に溶解し、90℃で30分間オートクレーブ殺菌したものを培地として用意した。当該培地にB. インファンティス LMG 23728 を接種し、嫌気ジャー内（CO₂：20%、N₂：80%）で、37℃で16時間培養し、得られた培養液を遠心分離した後の培養上清を被験試料とした。

[0086] なお、比較例として、インターロイキン（IL）-17産生に対して抑制作用を有することが知られているビフィドバクテリウム・ロンガム（Bif

idobacterium longum) ATCC BAA-999 (以下、B. ロンガム ATCC BAA-999という) と、ビフィドバクテリウム・ブレーベ LMG 23729 (以下、B. ブレーベ LMG 23729という) を用いた (特許文献3 参照)。比較例のビフィドバクテリウム属細菌についても同様に培養上清を調製し、試験に用いた。

[0087] (1-2) 使用動物及び試験方法

(i) 使用動物

試験には、9 週齢のCBA/J マウス (雌、日本チャールスリバー社製) を用いた。マウス 8 匹を一群とした。

[0088] (ii) 試験方法

9 週齢のCBA/J マウスに対して $10 \mu\text{L/g}$ 体重に相当する培養上清の連続投与を開始した。マウスへの培養上清の投与は経口ゾンデを用いて胃内投与することにより行われた。なお、試験期間中は毎日体重測定、糞便の性状観察、糞便採取を行った。

[0089] 培養上清投与 6 日経過後 (7 日目) から、培養上清の連続投与に併せて DSS (dextran sulfate sodium、MP Biomedicals 社製) の投与を開始し、DSS 誘導大腸炎モデルマウスの作成を開始した。なお、DSS の投与は、マウスに 3% DSS 溶液を飲水させることにより行われた。

[0090] そして、DSS 投与 10 日目 (培養上清投与 16 日目) に体重測定、糞便採取を行い、その後にマウスを麻酔下で安楽死させ大腸を採取した。大腸の長さを計測した後、大腸粘膜組織を採取し、直ちに凍結保存した。

[0091] 対照として、DSS 及び培養上清の投与を行わない以外は上記と同様の処理を行い、これを無処置群とした。また、培養上清の投与を行わない以外は上記と同様の処理を行い、これを菌無投与群とした。

[0092] (2) 炎症改善効果の評価方法及び炎症制御遺伝子の発現量測定方法

(2-1) 炎症の評価方法

実施例 1 では、炎症の改善効果を、(i) 体重、(ii) 大腸の長さ、(

i i i) D A I、炎症制御遺伝子の発現量 ((i v) A C E 2、(v) A g t R 2、(v i) M a s - 1)、及び炎症性サイトカインの発現量 ((v i i) T N F - α 、(v i i i) I L - 2 3) で評価した。

[0093] (2-2) 炎症制御遺伝子及び炎症性サイトカインの発現量の測定方法

(1-2) で凍結保存した大腸粘膜組織から T r i z o l (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c 社製) を用いて R N A を抽出し、P r i m e S c r i p t R T r e a g e n t k i t (タカラバイオ社製) を用いて c D N A を作製した。

[0094] 作成した c D N A を鋳型として A C E 2 のプライマーセット (タカラバイオ社製 配列番号 1 (フォワードプライマー)、配列番号 2 (リバープライマー))、A g t R 2 (A g t R 2) のプライマーセット (タカラバイオ社製 配列番号 3 (フォワードプライマー)、配列番号 4 (リバープライマー))、M a s - 1 (M A S R) のプライマーセット (タカラバイオ社製 配列番号 5 (フォワードプライマー)、配列番号 6 (リバープライマー))、T N F - α のプライマーセット (タカラバイオ社製 配列番号 7 (フォワードプライマー)、配列番号 8 (リバープライマー))、又は I L - 2 3 のプライマーセット (タカラバイオ社製 配列番号 9 (フォワードプライマー)、配列番号 10 (リバープライマー))、及び S Y B R P r e m i x E x T a q I I 試薬を用いて、r e a l t i m e P C R T h e r m a l c y c l e r (i C y c l e r、B i o R a d 社製) で定量 P C R を行い、遺伝子発現量を測定した。測定した遺伝子発現量を G A D P H の発現量あたりに換算し標準化することで評価を行った。

[0095] (3) 結果

結果を表 1 に示す。

[0096]

[表1]

[表1]

	無処置群	菌無投与群	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC BAA-889	<i>Bifidobacterium breve</i> LMG23729	<i>Bifidobacterium infantis</i> LMG23729
(i) 体重 (%)	99.1 ± 0.6	81.9 ± 8.2	88.2 ± 5.5	87.9 ± 4.8	88.4 ± 4.1 #
(ii) 大腸の長さ (cm)	9.93 ± 0.08	6.99 ± 0.47	7.85 ± 0.32	7.93 ± 0.37 *	8.15 ± 0.54 *
(iii) DAI	0.1 ± 0.4	6.9 ± 2.0	4.5 ± 1.8 *	5.0 ± 1.7	4.8 ± 1.5 *
(iv) AgtR2	1.00 ± 0.28	1.97 ± 0.57	4.78 ± 2.05 *	5.18 ± 3.50 *	6.26 ± 3.81 *
(v) AgtR2	1.00 ± 0.34	1.60 ± 0.44	1.43 ± 0.53	2.33 ± 1.67	3.23 ± 2.05 *
(vi) Mac-1	1.00 ± 0.61	0.99 ± 0.41	2.11 ± 2.25	2.13 ± 1.72	3.83 ± 2.62
(vii) TNF- α	1.00 ± 0.46	19.62 ± 10.26	14.93 ± 5.08	10.53 ± 3.18	9.71 ± 2.84 *
(viii) IL-23	1.00 ± 0.34	2.47 ± 0.86	2.29 ± 0.82	1.48 ± 0.67 *	1.38 ± 0.77 *

*: P<0.05

: P<0.05

[0097] (3-1) (i) 体重、(ii) 大腸の長さ、(iii) DAIについて

(i) 体重は、DSS投与10日目（培養上清投与16日目）のマウスの体重／試験開始前のマウスの体重を百分率で表すことにより維持率（％）を算出した。

また、(ii) 大腸の長さは、DSS投与10日目（培養上清投与16日目）の大腸の長さである。

[0098] また、(iii) DAI (Disease Activity Index) は、組織の陰窩（いんか）や炎症の存在可能性と深い関係がある (Lab Invest 69 (2) : 238-249, 1993 参照)。DAIは、体重の減少率、便性状、潜血／出血の三項目についての得点（表2 参照）の合計により表される。

このDAIが低いほど、組織の陰窩（いんか）や炎症の存在可能性が低いと評価することができる。

[0099] [表2]

[表2] DAI 得点表			
得点	体重の減少率	便性状	潜血／出血
0	なし	正常	正常
1	1-5%		
2	5-10%	軟便	消化管出血
3	1-20%		
4	>20%	下痢	出血

[0100] 表1に示すとおり、B. インファンティス LMG 23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群に比して、体重の減少が有意に抑制されていた。また、B. インファンティス LMG 23728の培養上清を投与したマウスは、他のビフィドバクテリウム属細菌の培養上清を投与したマウスと比較して、有意に最も体重の減少が抑制されていた。

[0101] また、大腸の長さについても、B. インファンティス LMG 23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群や他のビフィドバクテリウム属細菌の培養上清を投与したマウスに比して長く、有意に大腸の収縮が抑制されていた。

[0102] そして、菌無投与群や他のビフィドバクテリウム属細菌の培養上清を投与したマウスに比して、B. インファンティス LMG 23728の培養上清を投与したマウスは、そのDAIが低かった。すなわち、B. インファンティス LMG 23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群のマウスや他のビフィドバクテリウム属細菌の培養上清を投与したマウスに比して炎症の存在可能性が低いことが示された。

[0103] (3-2) (iv) ACE2、(v) AgtR2、(vi) Mas-1について

(iv) ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) とは、カルボキシペプチダーゼの一種である。そして、ACE2は小腸のアミノ酸吸収を制御することにより腸内環境を維持し、炎症作用を抑制することが知られている（非特許文献2）。したがってACE2の遺伝子発現量が高いほど、炎症作用を抑制する能力が高いと評価することができる。

[0104] そして、ACE2はレニン-アンジオテンシン系において、AngII (Angiotensin II) をAng1-7に変換する（Nature, 487: 477-481, 2012）。

ここで、AngIIはAT1Rを介して血管収縮を強く誘導する他、活性酸素を誘導して組織に酸化ストレスを生じさせ、炎症反応を増大させる。

それに対し、Ang 1-7はAng IIに拮抗する作用を有する。この際、Ang 1-7はAgtr2、Mas-1を介して抗酸化ストレス、抗炎症能を発揮することが知られている（Nature, 487:477-481, 2012）。

すなわちAgtr2、Mas-1の遺伝子発現量が高いほど、高い抗炎症能を発揮すると評価することができる。

[0105] 表1の結果より、B. ロンガム ATCC BAA-999やB. ブレーベ LMG23729の培養上清を投与したマウスよりも、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスはACE2の遺伝子発現量が有意に高かった。

[0106] 表1の結果より、B. ロンガム ATCC BAA-999やB. ブレーベ LMG23729の培養上清を投与したマウスよりも、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスはAgtr2、Mas-1の遺伝子発現量が高かった。

[0107] (3-3) (vii) TNF- α 、(viii) IL-23について
(vii) TNF- α は炎症性サイトカインの一種であり、TNF receptor 1を介してアポトーシスを誘導し、またNF- κ BあるいはAP-1等の転写因子の活性化を誘導して種々の炎症性メディエーターの産生・放出を増強する。したがって、TNF- α の遺伝子発現量が高いほど炎症が起こりにくいと評価することができる。

[0108] (viii) IL-23は炎症性サイトカインの一種であり、IL-17、TNF- α 等の炎症性サイトカインの発現を誘導している。したがって、IL-23の遺伝子発現量が高いほど炎症が起こりにくいと評価することができる。また、IL-23は、炎症性大腸炎、結腸炎、クローン病、乾癬、敗血症ショック等と深く関わっており、抗IL-23抗体薬が炎症性腸疾患に対して顕著な改善効果を発現することも知られていることから（Immunity, 43:739-750, 2015）、IL-23の発現を抑制することにより炎症性腸疾患の他、自己免疫疾患、特に乾癬等の炎症性皮膚疾

患に対する予防効果や改善効果が期待できる。

[0109] 表1の結果より、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスは、B. ロンガム ATCC BAA-999やB. ブレーベ LMG23729の培養上清を投与したマウスよりも、TNF- α 、IL-23の遺伝子発現量が有意に低かった。

[0110] (3-4) 考察

前述の結果より、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスでは、ACE2が、AngIIをAng1-7に変換することで、AngIIによる炎症増加を抑制させ、また小腸のアミノ酸吸収を制御することにより腸内環境を維持し、炎症作用を強く抑制させる効果を有するといえる。

また、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスでは、Ang1-7がAgtr2、Mas-1を介して高い抗炎症能を発揮させる効果を有するといえる。

また、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスではTNF- α 、IL-23が炎症を抑制する効果を有するといえる。

[0111] 以上より、B. インファンティス LMG23728の培養上清には、高い抗炎症作用があることが認められた。これより、B. インファンティス LMG23728の代謝産物に高い抗炎症作用が存在することが分かった。そのため、前記ビフィドバクテリウム属細菌自体を生存したまま腸内に到達させることによっても同様の抗炎症作用が発揮されると推察される。

以上より、B. インファンティス LMG23728のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物は、炎症性腸疾患、炎症性関節疾患をはじめとした炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の有効成分として用いることができる。

[0112] [実施例2]

B. インファンティス LMG23728、及びB. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清の投与が、大腸炎モデルマウスに及ぼす効果

を検討した。試験は以下の方法にて行った。

[0113] (1-1) 培養上清の調製

実施例1と同様の方法でB. インファンティス LMG 23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清を調製し、被験試料とした。

[0114] (1-2) 使用動物及び試験方法

実施例1と同じマウスを用い、同様の試験を行った。

[0115] (2) 炎症改善効果の評価方法及び炎症制御遺伝子の発現量測定方法

(2-1) 炎症の評価方法

実施例2では、炎症の改善効果を、(i) 体重変化、(ii) 大腸の長さ、(iii) DAI、及び炎症制御遺伝子の発現量((ix) MKP-1、(x) Muc-1、(xi) IL-10)での評価を行った。

[0116] (2-2) 炎症制御遺伝子発現量の測定方法

実施例1と同様の方法でcDNAを作成した。作成したcDNAを鋳型としてMKP-1のプライマーセット(タカラバイオ社製 配列番号11(フォワードプライマー)、配列番号12(リバープライマー))、Muc-1(MUC1)のプライマーセット(タカラバイオ社製 配列番号13(フォワードプライマー)、配列番号14(リバープライマー))、又はIL-10のプライマーセット(タカラバイオ社製 配列番号15(フォワードプライマー)、配列番号16(リバープライマー))、及びSYBR Premix ExTaq II試薬を用いて、real time PCR Thermal cycler(iCycler、BioRad社製)で定量PCRを行い、遺伝子発現量を測定した。その測定した遺伝子発現量をGADPHの発現量あたりに換算し標準化することで評価を行った。

[0117] (3) 結果

結果を表3に示す。

[0118]

[表3]

[表3]

	無処置群	菌無投与群	<i>Bifidobacterium longum</i> , ATCC BAA-999	<i>Bifidobacterium breve</i> , FERM BP-11175	<i>Bifidobacterium infantis</i> , LMG23728
(i) 体重 (%)	104.4 ± 6.4	85.5 ± 2.8	89.0 ± 6.4	93.1 ± 4.1 *	90.5 ± 3.2 *
(ii) 大腸の長さ (cm)	10.0 ± 0.7	7.0 ± 0.3	7.4 ± 0.5	8.2 ± 0.2 *	8.0 ± 0.5 *
(iii) DAI	0.5 ± 0.6	10.1 ± 2.0	5.8 ± 1.6 *	4.8 ± 1.7 *	8.8 ± 2.1 *
(ix) MKP-1	1.00 ± 0.34	1.77 ± 0.79	2.04 ± 0.61	2.60 ± 1.45 *	2.31 ± 0.58 *
(x) Muc-1	1.00 ± 0.40	8.11 ± 1.83	9.77 ± 5.43	18.11 ± 14.11 *	8.28 ± 4.08
(xi) IL-10	1.00 ± 0.51	17.14 ± 12.88	18.62 ± 11.44	23.34 ± 7.77 *	20.36 ± 17.40 *

*: P<0.05

[0119] (3-1) (i) 体重、(ii) 大腸の長さ、(iii) DAIについて

表3に示すとおり、B. ブレーベ FERM BP-11175、及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群に比して、それぞれ体重の減少が有意に抑制されていた。また、B. ブレーベ FERM BP-11175、及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスでは、B. ロンガム ATCC BAA-999の培養上清を投与したマウスに比しても、それぞれ体重の減少が顕著に抑制されていた。

また、大腸の長さについても、B. ブレーベ FERM BP-11175、及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群やB. ロンガム ATCC BAA-999の培養上清を投与したマウスに比して、それぞれ大腸の収縮が有意に抑制されていた。

[0120] そして、B. ブレーベ FERM BP-11175、及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスは、菌無投与群に比して、それぞれDAIが低かった。特に、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清は、炎症の存在可能性を低くする効果を有していた。

[0121] (3-2) (ix) MKP-1、(x) Muc-1について

(ix) MKP-1 (マイトジェン活性化プロテインキナーゼホスファターゼ1) は、核内に局在する二重特異性ホスファターゼであり、p38MAPKとc-JUN末端キナーゼを選択的に脱リン酸化することにより、TLRによるリガンド認識から誘導される炎症性サイトカインの産生を抑制する

ことが知られている。そのため、MKP-1には、敗血症、炎症性関節疾患（リウマチ、若年性特発性関節炎）及びアレルギー等の抑制効果が期待できる。

したがって、MKP-1の遺伝子発現量が高いほど炎症性疾患の予防効果が高いと評価することができる。

[0122] また、(x) Muc-1 (Mucin 1) は、腸管上皮組織における上皮表層の保護的な粘膜障壁を構成するO-グリコシル化された糖タンパク質、ムチンタンパクの一つである。そしてMuc-1タンパクは細胞内シグナル伝達分子としての機能を有し、広範なTLRシグナル（TLR2、3、4、5、7、9）を介した炎症性シグナルを抑制することが知られている（Am J Respir Cell Mol Biol, 38:263-268, 2008）。そのため、Muc-1の発現上昇によって、敗血症、炎症性関節疾患（リウマチ、若年性特発性関節炎）及びアレルギー抑制効果が期待できる。

[0123] さらに樹状細胞においてもMuc-1が発現しており、TLR4及びTLR5シグナルを介した炎症性サイトカインの産生を制御又は抑制している。すなわち、Muc-1の遺伝子発現量が高いほど炎症性疾患の予防又は改善効果が高いと評価することができる。

[0124] 表3の結果より、B. ロンガム ATCC BAA-999の培養上清を投与したマウスよりも、B. ブレーベ FERM BP-11175及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスでは、MKP-1の遺伝子発現量が有意に高かった。

また、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清を投与したマウスでは、Muc-1の遺伝子発現量が顕著に高かった。

(3-3) (xi) IL-10について

(xi) IL-10はT細胞やマクロファージに作用して細胞の活性化抑制、抗原提示能低下を誘導し炎症を鎮静化することが知られている。すなわち、IL-10の遺伝子発現量が高いほど炎症性疾患の予防又は改善効果が

高いと評価することができる。

[0125] 表3の結果より、B. ロンガム ATCC BAA-999の培養上清を投与したマウスよりも、B. ブレーベ FERM BP-11175及びB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスは、IL-10の遺伝子発現量が有意に高かった。

[0126] (3-4) 考察

前述の結果より、B. インファンティス LMG23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清を投与したマウスでは、MKP-1やMuc-1が炎症性サイトカインの産生を強く抑制しているといえる。

また、B. インファンティス LMG23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清を投与したマウスでは、IL-10がT細胞やマクロファージに作用して細胞の活性化抑制、抗原提示能低下を誘導し、炎症を鎮静化している。

[0127] したがって、B. インファンティス LMG23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清には、高い抗炎症作用があることが認められる。これより、B. インファンティス LMG23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175の代謝産物に高い抗炎症作用が存在することが分かった。そのため、前記ビフィドバクテリウム属細菌自体を生存したまま腸内に到達させることによっても同様の抗炎症作用が発揮されると推察される。

以上より、B. インファンティス LMG23728及びB. ブレーベ FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物は、炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の有効成分として用いることができることがわかった。

[0128] また、実施例2において、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清を投与したマウスにおいて、実施例1で抗炎症作用が示されたB. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスよりも、

(i) 体重変化、(ii) 大腸の長さ、(iii) DAI、及び炎症制御遺伝子の発現量 (ix) MKP-1、(x) Muc-1、(xi) IL-10) がより顕著な（良好な）値となっていた。

[0129] すなわち、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清は、実施例1の比較例であるB. ブレーベ LMG23729の培養上清よりも、高い抗炎症作用を有することがわかった。

[0130] したがって、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清には、実施例1の評価項目であるACE2、Agtr2、Mas-1の遺伝子発現についても、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスと同等もしくはそれ以上の遺伝子発現促進効果が認められるといえる。また、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養上清には、実施例1の評価項目であるTNF- α 、IL-23の遺伝子発現量について、B. インファンティス LMG23728の培養上清を投与したマウスと同等もしくはそれ以下であると認められ、よってTNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制効果が認められるといえる。

[0131] 以上より、B. ブレーベ FERM BP-11175のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物には、B. インファンティス LMG23728のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物と同等もしくはそれ以上の炎症性疾患に対する予防又は改善効果があることがわかった。

[0132] [製造例]

還元難消化性デキストリン1kg及びソルビトール1kgに、実施例1で得られた培養上清の乾燥粉末10gを加えて均一に混合し、B. ブレーベ FERM BP-11175の培養物を含有する飲食品組成物約2kgを得た。

産業上の利用可能性

[0133] 本発明によれば、高い効果を奏する炎症制御遺伝子の発現促進用組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を提供することができる。特に、乳幼児や小児への抵抗が少なく、安全性に優れた炎症制御遺伝子の発現促進用

組成物又は炎症性サイトカイン産生抑制用組成物を提供することができる。

受託番号

[0134] F E R M B P - 1 1 1 7 5

請求の範囲

- [請求項1] ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とする、ACE2、AgtR2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10 からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物。
- [請求項2] 前記有効成分がビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 の培養上清である、請求項1に記載の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物。
- [請求項3] 医薬組成物または飲食品組成物である、請求項1又は2に記載の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物。
- [請求項4] 前記組成物が炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から選ばれる1又は複数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いられる、請求項1～3の何れか1項に記載の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物。
- [請求項5] 前記炎症性疾患が乳幼児又は小児の炎症性疾患である、請求項4に記載の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物。
- [請求項6] ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌又はその培養物を有効成分とする

、 $\text{TNF-}\alpha$ 及び／又は IL-23 の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物。

[請求項7] 前記有効成分がビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 の培養上清である、請求項6に記載の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物。

[請求項8] 医薬組成物または飲食品組成物である、請求項6又は7に記載の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物。

[請求項9] 前記組成物が炎症性腸疾患、炎症性関節疾患、炎症性皮膚疾患から選ばれる1又は複数の炎症性疾患の予防及び／又は改善に用いられる、請求項6～8の何れか1項に記載の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物。

[請求項10] 前記炎症性疾患が乳幼児又は小児の炎症性疾患である、請求項9に記載の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物。

[請求項11] ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及び IL-10 からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進のために用いられるビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清。

[請求項12] $\text{TNF-}\alpha$ 及び／又は IL-23 の炎症性サイトカイン産生抑制のために用いられるビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブ

レーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清。

[請求項13] ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進用組成物の製造における、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清の使用。

[請求項14] TNF- α 及び／又はIL-23の炎症性サイトカイン産生抑制用組成物の製造における、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清の使用。

[請求項15] ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG23728 及び／又はビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清をACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進が必要な対象に投与することを含む、ACE2、Agtr2、Mas-1、MKP-1、Muc-1、及びIL-10からなる群から選択される1又は複数の炎症制御遺伝子の発現促進方法。

[請求項16] ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*) LMG 23728 及び／又は ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*) FERM BP-11175 のビフィドバクテリウム属細菌、又はその培養物若しくは培養上清を $\text{TNF-}\alpha$ 及び／又は IL-23 の炎症性サイトカイン産生抑制が必要な対象に投与することを含む、 $\text{TNF-}\alpha$ 及び／又は IL-23 の炎症性サイトカイン産生抑制方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/010882

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K35/745 (2015.01) i, A23L33/135 (2016.01) i, A61P1/00 (2006.01) i, A61P17/00 (2006.01) i, A61P19/02 (2006.01) i, A61P29/00 (2006.01) i, A61P43/00 (2006.01) i, C12N1/20 (2006.01) i

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)

Int.Cl. A61K35/745, A23L33/135, A61P1/00, A61P17/00, A61P19/02, A61P29/00, A61P43/00, C12N1/20

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2018
Registered utility model specifications of Japan	1996-2018
Published registered utility model applications of Japan	1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	GIANNETTI, E. et al., A mixture of 3 bifidobacteria decreases abdominal pain and improves the quality of life in children with irritable bowel syndrome: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial, J. Clin. Gastroenterol., January 2017, vol. 51, no. 1, pp. e5-e10, DOI: 10.1097/MCG.0000000000000528, abstract, fig. 2	1, 3-6, 8-16 1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23.04.2018

Date of mailing of the international search report
15.05.2018

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/010882

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	多那 千絵, 他, 過敏性腸症候群における腹部症状および生理指標 (Cytokine, 腸内細菌叢, 腸内有機酸) への Bifidobacterium breve の効果, 日本消化器病学会雑誌, 2009, vol. 106, p. A669, column 消PD24-6 (TANA, Chie et al., Journal of Japanese Society of Gastroenterology), non-official translation (Effect of Bifidobacterium breve to abdominal symptoms of IBS and physiological indices (cytokine, intestinal microbiota and organic acids in the gut))	1, 3, 4, 6, 8, 9, 11-16
X Y	WO 2011/034166 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 24 March 2011, paragraph [0016] & US 2012/0171167 A1, paragraph [0097]	11, 12 1-16
Y	BERMUDEZ-BRITO, M. et al., Cell-free culture supernatant of bifidobacterium breve CNCM 1-4035 decreases pro-inflammatory cytokines in human dendritic cells challenged with salmonella typhi through TLR activation, PLOS ONE, 2013, vol. 8, no. 3, e59370, pp. 1-8, DOI: 10.1371/journal.pone.0059370, abstract, fig. 2, A, B	1-3, 6-8, 11-16
Y	JP 2012-526528 A (NESTEC SA) 01 November 2012, claims, paragraph [0078], examples & WO 2010/130702 A1, claims, page 13, line 29 to page 14, line 12, examples	1-16
Y	JP 2010-526055 A (ALIMENTARY HEALTH LIMITED) 29 July 2010, claims, paragraph [0010], example 3 & WO 2008/135959 A1, claims, page 3, lines 10-13, example 3	1-16
T	WO 2017/130859 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 03 August 2017, paragraph [0018] (Family: none)	1-16

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K35/745(2015.01)i, A23L33/135(2016.01)i, A61P1/00(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12N1/20(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K35/745, A23L33/135, A61P1/00, A61P17/00, A61P19/02, A61P29/00, A61P43/00, C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2018年
日本国実用新案登録公報	1996-2018年
日本国登録実用新案公報	1994-2018年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	GIANNETTI, E., et al., A Mixture of 3 Bifidobacteria Decreases Abdominal Pain and Improves the Quality of Life in Children With Irritable Bowel Syndrome: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial, J. Clin. Gastroenterol., 2017.01, Vol.51, No.1, pp.e5-e10, doi: 10.1097/MCG.0000000000000528 Abstract、Fig.2,	1, 3-6, 8-16 1-16

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

23.04.2018

国際調査報告の発送日

15.05.2018

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

佐々木 大輔

4C

3962

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	多那 千絵, 他, 過敏性腸症候群における腹部症状および生理指標 (Cytokine, 腸内細菌叢, 腸内有機酸) への <i>Bifidobacterium breve</i> の効果, 日本消化器病学会雑誌, 2009, Vol.106, p.A669 第 A669 頁 消 PD24-6 欄	1, 3, 4, 6, 8, 9, 11-16
X Y	WO 2011/034166 A1 (森永乳業株式会社) 2011.03.24 段落[0016] & US 2012/0171167 A1, [0097]	11, 12 1-16
Y	BERMUDEZ-BRITO, M., et al., Cell-Free Culture Supernatant of <i>Bifidobacterium breve</i> CNCM I-4035 Decreases Pro-Inflammatory Cytokines in Human Dendritic Cells Challenged with <i>Salmonella</i> <i>typhi</i> through TLR Activation, PLoS ONE, 2013, Vol.8, No.3, e59370, pp.1-8, DOI: 10.1371/journal.pone.0059370 Abstract、Fig.2 の A と B,	1-3, 6-8, 11-1 6
Y	JP 2012-526528 A (ネステク ソシエテ アノニム) 2012.11.01 特許請求の範囲、段落[0078]、各実施例 & WO 2010/130702 A1, Claims, 第 13 頁 29-第 14 頁 12 行目, 実施例	1-16
Y	JP 2010-526055 A (アリメンタリー・ヘルス・リミテッド) 2010.07.29 特許請求の範囲、段落[0010]、実施例 3 & WO 2008/135959 A1, Claims, 第 3 頁 10-13 行目, Example3	1-16
T	WO 2017/130859 A1 (森永乳業株式会社) 2017.08.03 段落[0018] (ファミリーなし)	1-16