



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년06월10일
(11) 등록번호 10-0836727
(24) 등록일자 2008년06월03일

(51) Int. Cl.

A61K 47/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2004-7020995

(22) 출원일자 2004년12월23일

심사청구일자 2006년05월11일

번역문제출일자 2004년12월23일

(65) 공개번호 10-2005-0014879

(43) 공개일자 2005년02월07일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2003/008094

국제출원일자 2003년06월26일

(87) 국제공개번호 WO 2004/002501

국제공개일자 2004년01월08일

(30) 우선권주장

JP-P-2002-00185897 2002년06월26일 일본(JP)

(56) 선행기술조사문헌

국제특허공개공보 제01/37865호*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

칼피스가부시키가이샤

일본 도쿄도 시부야구 에비스미나미 2초메 4반 1
고

(72) 발명자

야마모토나오유키

일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스 가부시키가이샤 기반 기쥬쥬 겐큐
쇼 내

이시다유

일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스 가부시키가이샤 기반 기쥬쥬 겐큐
쇼 내

반도이즈키

일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스 가부시키가이샤 기반 기쥬쥬 겐큐
쇼 내

(74) 대리인

김정옥, 박중혁, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 3 항

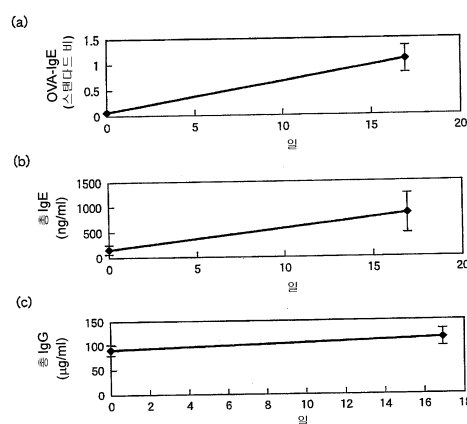
심사관 : 한정희

(54) 항알레르기제 및 알레르기성 비염개선제

(57) 요약

락토바실러스·애시도필러스(Lactobacillus acidophilus)에 속하는 유산균, 락토바실러스·페멘텀(Lactobacillus fermentum)에 속하는 유산균, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택되는 유산균을 유효성분으로서 포함하는 항알레르기제가 제공된다. 해당 항알레르기제는, I형 알레르기의 발증에 관한 IgE항체량을 감소시켜서 알레르기 체질을 개선할 수 있고, 용이하게 섭취할 수 있으며, 또한 안전성이 높다. 또, 알레르기 저감을 위한 해당 항알레르기제의 사용 및 해당 항알레르기제를 이용한 알레르기를 저감하는 방법도 제공된다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

락토바실러스·퍼맨텀 CP34주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-8383)를 유효성분으로서 포함하는 항알레르기제.

청구항 2

락토바실러스·퍼맨텀 CP34주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-8383)를 유효성분으로서 포함하는 I형 IgE-매개 알레르기용 항알레르기제.

청구항 3

락토바실러스·퍼맨텀 CP34주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-8383)를 유효성분으로서 포함하는 알레르기성 비염 개선제.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

명세서

기술분야

- <1> 본 발명은, 항알레르기제에 관한 것이다. 또 본 발명은, 알레르기 저감을 위한 그 사용 및 알레르기를 저감하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 일본 등의 많은 나라에서는, 알레르기 환자는 해마다 증가하고 있고, 성인의 3명에 1명은 어떠한 알레르기 질환이라고 말해지고 있다. 알레르기 질환은 작용기서에 의해 I형~IV형으로 크게 4타입으로 분류되어 있다. 화분증 등의 알레르기성 비염이나, 기관지 천식, 아토피성 피부염의 일부는, 면역글로불린E(IgE)의존성의 I형 알레르기로 불리는 것으로, 혈액 중의 항원특이적 IgE항체가 증가하면 알레르기 증상을 일으킬 리스크가 높아진다.
- <3> I형 알레르기의 발증 기구에 대해서 설명하겠다. 체내에 침입한 화분이나 하우스 더스트, 진드기 등의 항원에 대한 특이적 IgE항체가 생산되고, 마스트 세포나 혈액 중의 호염기구표면의 Fcε 리셉터에 결합함으로써 감작된 상태가 된다. 그 후 다시 항원이 체내에 침입하면, 항원이 IgE항체에 결합하고, 복합체가 형성됨으로써 탈과립을 일으키고, 과립 중의 히스타민이나 로이코트리엔 등의 화학 전달 물질이 방출되고, 이들의 작용에 의해 알레르기 증상이 나타난다.
- <4> 오늘날 알레르기 질환의 치료에 주로 이용되고 있는 것은, 항히스타민제로 대표되는 화학 전달 물질의 길항제와, 항염증제로서 사용되는 스테로이드제이다. 그러나 어느 것도 대증요법에 지나지 않고, 스테로이드제에 대해서는 면역 반응 전체를 억제해버리기 때문에 부작용이 따른다. 또 탈과립억제에 의한 화학 전달물질 유리억제제도 이용되고 있지만, 발증의 주요 인자인 IgE항체를 특이적으로 감소시키는 근본적인 치료약은 현재 시점에서는 없다.
- <5> 또, 항알레르기제는, 장기간 연용할 필요가 발생하므로, 용이하게 섭취할 수 있고, 또한 안전성이 높은 것이 요구되어 진다. 따라서, 그러한 특성을 가질 수 있는 새로운 항알레르기제가 요구되고 있다.

발명의 상세한 설명

- <6> 본 발명의 목적은, I형 알레르기의 발증에 관한 IgE항체량을 감소시켜서 알레르기 체질을 개선할 수 있고, 용이하게 섭취할 수 있고, 또한 안전성이 높은 항알레르기제, 및 알레르기의 저감 방법을 제공하는 것에 있다.
- <7> 상기 과제를 해결하기 위해서, 본원 발명자들은, 큰 IgG의 증가를 동반하지 않고, 현저하게 항원특이적 IgE가 증가한 마우스 모델을 구축하고, 그 모델에 있어서, 장관면역계에 영향을 미칠 수 있는 각종 유산균 균주의 IgE량 억제작용을 검토한 바, 각종 유산균 중 특정한 것이, 특히 우수한 IgE생산 억제작용을 가지는 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.
- <8> 즉 본 발명에 의하면, 락토바실러스·애시도필러스(Lactobacillus acidophilus)에 속하는 유산균, 락토바실러스·퍼멘텀(Lactobacillus fermentum)에 속하는 유산균, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택되는 유산균

을 유효성분으로서 포함하는 항알레르기제가 제공된다.

- <9> 또, 본 발명에 의하면, 상기 락토바실러스·애시도필러스에 속하는 유산균이 락토바실러스·애시도필러스CL0062주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-4980), CL92주(특허생물기탁센터 기탁번호FERM BP-4981) 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택되는 것인 상기 항알레르기제가 제공된다.
- <10> 또한, 본 발명에 의하면, 상기 락토바실러스·퍼맨텐에 속하는 유산균이 락토바실러스·퍼맨텐CP34주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-8383)인 상기 항알레르기제가 제공된다.
- <11> 또한, 본 발명에 의하면, 지속적으로 비부에 항원자극을 함으로써 혈액 중의 항원특이적 IgE항체를 증가시킨 비염 모델 마우스에 있어서, 경구투여에 의해 혈액 중의 항원특이적 IgE항체를 감소시키는 것을 특징으로 하는 상기 항알레르기제가 제공된다.
- <12> 또한, 본 발명에 의하면, 알레르기를 저감하기 위한 의약의 제조에 있어서의 상기 특정의 유산균의 사용이 제공된다.
- <13> 또한, 본 발명에 의하면, 알레르기를 저감하는 것으로서, 이러한 저감을 필요로 하는 피검자에게, 유효용량의 상기 항알레르기제를 투여하는 공정을 포함하는, 알레르기를 저감하는 방법이 제공된다.

실시예

- <83> 이하에 본 발명을 실시예를 참조하여 더욱 상세하게 설명하겠지만, 본 발명은 이것으로 한정되지 않는다.
- <84> 실시예1
- <85> (고IgE마우스의 작성)
- <86> BALB/c계 숫컷 마우스를 니혼 찰스 리버사로부터 구입하고, 사료로서 CE-2(니혼 구레아사제)를 자유섭취시켜 사육하였다. 흰자 알부민(이하, OVA로 생략한다. 시그마사제) 10 μ g 및 아췌반트로서 수산화알루미늄(와코준약쿠가부이키가이사제) 2mg을 생리식염수 300 μ l에 현탁하였다. 이 현탁액을, 6주령의 상기 마우스 10마리의 각각에, 감작 개시일 및 4일째에 복강내 투여하고, 1차 감작을 시행하였다. 2차 감작으로서, OVA가 25mg/ml가 되도록 생리식염수에 용해한 OVA항원용액에 마우스의 코를 약 3초간 담그었다. 이 조작을 1회에 대해서 3번 반복하고, 1일에 2회 시행하였다. 이것을 10~16일째까지 매일 행하여, 고IgE마우스를 얻었다.
- <87> 이 고IgE 마우스의 안정정맥에서, 감작 개시일 및 17일째에 부분채혈하고, 채취한 혈액에서 혈청 샘플을 얻었다. 이 혈청 샘플 중의, OVA특이적IgE(이하, OVA-IgE로 생략한다), 총IgE 및 총 IgG를, 하기의 측정방법에 의해 측정하였다. 결과를 도 1(a)~도 1(c)에 도시한다.
- <88> 도 1(a)~1(c)의 결과에서, 감작에 의해 혈액 중의 총IgE 및 OVA-IgE가 증가량이 IgG증가량에 대하여 현저하게 큰 것을 알 수 있다. 이렇게 하여, 면역기능을 전체적으로 변동시키지 않고, 혈액 중 IgE 및 항원특이적 혈액 중IgE가 증가한 알레르기 모델마우스가 구축되었다.
- <89> (혈액 중 OVA-IgE의 측정)
- <90> 샌드위치ELISA법에 의해 시행하였다. 96웰 이뮤노플레이트(코닝사제)의 각웰에 양 항마우스IgE폴리클로날항체(상품명「AAM11」, 다이니폰세이야쿠 가부이키가이사제) 10 μ g/ml를 포함하는 생리식염수용액을 100 μ l 가하고, 4℃에서 하루밤 인큐베이트하였다. 플레이트를 인산완충액(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 8.1mM Na₂HPO₄ 및 1.5mM KH₂PO₄를 포함한다. 이하 PBS로 생략한다)으로 3회 세정한 후, 0.5%카세인 함유 PBS를 웰 가득히 가하고, 실온에서 3시간 인큐베이트하고, PBS로 3회 세정하였다. PBS로 1/10로 희석한 혈청 샘플 100 μ l를 각 웰에 가하고, 4℃에서 하루밤 반응시켰다. PBS로 4회 세정하고, 비오틴화 키트(아메리칸 퀴렉스사제)로 비오틴화한 OVA(비오틴 라벨OVA) 10 μ g/ml를 포함하는 0.5%카세인 함유 PBS용액을 각 웰에 100 μ l 가하고 실온에서 2시간 반응 후, PBS로 5회 세정하였다. 스트렙타비딘 페록시다아제(시그마사제) 1 μ g/ml 및 카세인 0.5%를 포함하는 PBS용액을 각 웰에 100 μ l 가하고 실온에서 1시간반응시켰다. 플레이트를 0.1%Tween20함유PBS로 5회 세정한 후, 2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-술폰산)(이하 ABTS로 생략한다. 베링거만하임사제) 600 μ g/ml 및 과산화수소 0.006%를 포함하는 0.2M 시트르산완충액(0.2M 시트르산과 0.2M시트르산3나트륨을 혼합해서 pH5로 한 것)을 각 웰에 100 μ l 가하고 37℃에서 3시간 차폐해서 발색반응하였다. 반응 후, OD₄₀₅와 OD₄₉₂를 측정하고, OD₄₀₅-치-OD₄₉₂치를 이용해서 참 발색치로 하였다.

- <91> 한편, OVA25mg/ml를 포함하는 생리식염수를 5회(1회/주) 복강내 투여한 마우스의 혈액을 채혈하고, 이것으로부터 혈청을 조제하고, 스탠다드 혈청으로 하였다. 이 스탠다드 혈청을 PBS로 1/10으로 희석하였다. 이 희석액을 또한 미면역혈청으로 2배로 희석하는 조작을 단계적으로 행하고, 검량선 작성용의 희석액을 조제하였다. 이들의 희석액에 대해서, 상기와 동일한 조작을 행하여 발색치를 측정하고, 검량선을 얻었다. 이 검량선에 의거하여, 혈청 샘플 중의 OVA-IgE를, 스탠다드 혈청 중의 OVA-IgE량을 1로 한 상대량으로 구하였다.
- <92> (혈액 중 총IgE의 측정)
- <93> 96웰 이뮤노플레이트(코닝사제)의 각 웰에 양 항마우스IgE폴리클로날항체(상품명「AAM11」, 다이니폰세이야쿠 가부이키가이샤제) 10 μ g/ml를 포함하는 생리식염수용액을 50 μ l 가하고, 4℃에서 하루밤 인큐베이트하였다. 플레이트를 PBS로 3회 세정한 후, 0.5%카세인 함유 PBS를 웰 가득히 가하고, 실온에서 3시간 인큐베이트하고, PBS로 3회 세정하였다. 0.5% 카세인 함유 PBS로 1/25로 희석한 혈청 샘플 50 μ l를 각 웰에 가하고, 4℃에서 하루밤 반응시켰다. PBS에서 4회 세정하고, 비오틴 라벨 항마우스IgE항체(야마사쇼유 가부이키가이샤) 2 μ g/ml 및 카세인 0.5%를 포함하는 PBS용액을 각 웰에 50 μ l 가하고 2시간 실온에서 반응시켰다. 0.1%Tween20 함유 PBS로 5회 세정 후, 스트렙타비딘 페록시다아제 1 μ g/ml 및 카세인 0.5%를 포함하는 PBS용액을 각 웰에 50 μ l 가하고 실온에서 1시간 반응시켰다. 플레이트를 0.1%Tween20함유 PBS로 5회 세정한 후, ABTS 300 μ g/ml 및 과산화수소 0.006%를 포함하는 0.2M 시트르산완충액(pH5)을 각 웰에 50 μ l 가하고, 실온에서 20~30분간 차폐해서 반응시키고, OD₄₀₅를 측정하였다.
- <94> 한편, 혈청 샘플 대신에, 마우스항DNP-IgE(야마사쇼유 가부이키가이샤제)를, 카세인 0.5%를 포함하는 PBS에 여러가지 농도로 용해한 것을 이용해서 상기와 같이 조작하고, 검량선을 얻었다. 이 검량선에 의거하여, 혈청 샘플 중의 총IgE량을 산출하였다.
- <95> (혈액 중 총IgG의 측정)
- <96> 96웰 이뮤노플레이트(코닝사)의 각 웰에 염소 항마우스IgG(H+L)항체(상품명「62-6500」, 자이멧사제) 1 μ g/ml를 포함하는 생리식염수용액을 50 μ l 가하고, 4℃에서 하루밤 인큐베이트하였다. 플레이트를 PBS로 3회 세정한 후, 0.5% 카세인 함유 PBS를 웰 가득히 가하고, 실온에서 3시간 인큐베이트 하고, PBS로 3회 세정하였다. 0.5% 카세인 함유 PBS로 1/1000으로 희석한 혈청 샘플 50 μ l를 가하고, 4℃에서 하루밤 반응시켰다. PBS로 4회 세정하고, 페록시다아제 라벨 항마우스IgG(γ)항체(카펠사제) 2 μ g/ml 및 카세인 0.5%를 포함하는 PBS용액을 각 웰에 50 μ l 가하고 2시간 실온에서 반응시켰다. 0.1%Tween20함유 PBS로 5회 세정 후, ABTS 300 μ g/ml 및 과산화수소 0.006%를 포함하는 0.2M 시트르산완충액(pH5)을 각 웰에 50 μ l 가하고, 실온에서 20~30분간 차폐해서 반응시키고, OD₄₀₅를 측정하였다.
- <97> 한편, 혈청 샘플 대신에, 정제한 마우스IgG(카펠사제)를, 카세인 0.5%를 포함하는 PBS에 여러가지 농도로 용해한 것을 이용해서 상기와 동일하게 조작하여, 검량선을 얻었다. 이 검량선에 의거하여, 상기 혈청 샘플 중의 총 IgG량을 산출하였다.
- <98> 실시예2
- <99> (각종 유산균의 효과의 비교)
- <100> 표1에 나타난 유산균균주의 각각을, MRS배지로 37℃에서 하루밤 전배양하고, 3000rpm에서 10분간의 원심분리에 의해 균체를 회수하였다. 이 균체를, 9%(M/V) 환원 탈지유(0.1%(W/V) 효모엑기스(DIFCO사제)를 포함한다)에 첨가하고, 37℃에서 젖이 응고할때까지 발효시키고, 발효 종료 후, 각 발효유의 총균수를 측정하였다. 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

균주명	총균수 (셀 /ml)
락토바실러스 애시도필러스 CL92 (BP-4981)	1.9×10^8
락토바실러스 불가리커스 CP1812	1.5×10^8
락토바실러스 퍼맨텀 CP34	5.3×10^8
락토바실러스 헬베티커스 CP790	2.4×10^8
락토바실러스 존소니 CP2551	2.7×10^8
락토바실러스 플란타룸 CP2172	5.9×10^8
락토바실러스 람노서스 ATCC53103	1.0×10^8

<101>

<102>

다음으로, 실시예1과 동일한 순서로 고IgE마우스를 제작하고, 감염18일째에 혈액 중 OVA-IgE를 실시예1과 동일한 측정방법으로 측정하였다. 혈액 중 OVA-IgE량이 균등하게 되도록 1군 10마리씩으로 마우스를 나누었다. 각 군의 마우스에, 감염19일째~21일째에 걸쳐, 상기의 각종 발효유, 발효시키지 않은 9%(W/V) 환원 탈지유, 또는 시클로포스파미드를 $750\mu\text{g}$ 포함하는 발효시키지 않은 9w/v% 환원 탈지유를 1일에 대하여 1ml, 3일간 위준데로 강제 투여하였다. 감염 개시22일째에, 이들의 마우스의 안저정맥으로부터 채혈하고, 혈청을 조제하고, 혈액 중 OVA-IgE 및 IgG량을 측정하였다. 또, 대조로서, 동일하게 감염을 행하였지만 발효유 등의 투여는 아무것도 행하지 않은 마우스에 대해서도, 마찬가지로 채혈하고, 혈액 중 OVA-IgE 및 총 IgG량을 측정하였다. 결과를 도 2에 나타내었다.

<103>

도 2에 도시된 대로, 락토바실러스·애시도필러스 또는 락토바실러스·퍼맨텀 발효유를 투여한 군에 있어서는, OVA-IgE량에 관해서, 발효시키지 않은 탈지유에 비해서 유의한 억제 효과를 얻을 수 있었다($P<0.01$). 한편 혈액 중 총 IgG량에 관해서는 유의한 차이는 인정받을 수 없었다(도시 생략).

<104>

실시예3

<105>

유산균균주로서 표2에 나타난 것을 이용한 것 외에는, 실시예2와 동일하게 조작하였다. 각 발효유 중의 총균수의 측정 결과를 표2에 나타내었다. 또, 혈액 중 OVA-IgE의 측정 결과를 도 3에 나타내었다.

표 2

균주명	총균수 (셀 /ml)
락토바실러스 애시도필러스 CL0062 (BP-4980)	4.40×10^8
락토바실러스 가세리 CP2209	4.30×10^8
락토바실러스 류테리 ATCC23272	9.60×10^8
비피도박테리움 브레베 CP2425	1.30×10^8

<106>

<107>

도 3에 도시한 대로, 락토바실러스·애시도필러스 발효유를 투여한 군에 있어서는, OVA-IgE량에 관해서, 발효시키지 않은 탈지유에 비해서 유의한 억제효과를 얻을 수 있었다($p<0.01$). 한편 혈액 중 총 IgG량에 관해서는 유의한 차이는 인정받을 수 없었다(도시 생략).

<108>

실시예4

<109>

(저용량에서의 효과의 확인)

<110>

락토바실러스·애시도필러스CL92주와 락토바실러스·퍼맨텀CP34주의 각각을 MRS배지로 37°C 에서 하루밤 전배양하였다. 3000rpm에서 10분간의 원심분리에 의해 균체를 회수해서 MRS배지에 첨가하고, 37°C 에서 하루밤 본배양하고, 다시 3000rpm에서 10분간의 원심분리에 의해 균체를 회수하였다. 각각 균수를 측정하고, 1ml당 1×10^6 개가 되도록 9%탈지유에 균체를 현탁하고, 현탁액을 조제하였다.

<111>

다음으로, 실시예1과 동일한 순서로 고IgE마우스를 제작하고, 감염18일째에 혈액 중 OVA-IgE를 실시예1과 동일한 측정 방법으로 측정하였다. 혈액 중 OVA-IgE량이 균등하게 되도록 1군 10마리씩으로 마우스를 나누었다. 각 군의 마우스에, 감염19일째~21일째에 걸쳐, 상기의 현탁액을 1일에 대하여 1ml, 3일간 위준데로 강제 투여하였다. 감염 개시22일째에, 이들의 마우스의 안저정맥으로부터 채혈하고, 혈청을 조제하고, 혈액 중 OVA-IgE

및 총 IgG량을 측정하였다. 결과를 도 4에 나타내었다.

<112> 도 4에 도시한 대로, 락토바실러스·애시도필러스CL92주 및 락토바실러스·퍼맨텀CP34 중 어느 하나를 투여한 군에 있어서도, OVA-IgE량에 관해서, 발효시키지 않은 탈지유에 비해서 유의한 억제 효과를 얻을 수 있었다. 한편 혈액 중 총IgG량에 관해서는 유의한 차이는 인정을 받을 수 없었다(도시 생략).

<113> 발효시키지 않은 탈지유를 시료로 했을 때의 OVA-IgE량의 스탠다드비를 a, 각 현탁액을 시료로 했을 때의 OVA-IgE의 스탠다드비를 b라고 하면, 각 현탁액 중을 투여했을 경우의 OVA-IgE의 감소율(d)은, 식(d)=1-(b/a)에 의해 구해진다. 투여한 현탁액 중의 균농도를 s(셀/ml)로 하고, s와 감소율(d)이 비례한다고 가정하면, 이 실험계에 있어서 OVA-IgE를 반감시키는데에 필요한 현탁액 중의 균수(x)(셀/ml)는, 식(x)=(s×0.5)/d로 구해진다. 이 식에 의거하여, 실시예2~3에서 이용한 각 균주에 있어서의 균수(x)를 구하였다. 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

균주명	필요균수 (셀 /ml)
락토바실러스 애시도필러스 CL92 (BP-4981)	1.0×10^6
락토바실러스 불가리커스 CP1812	2.0×10^8
락토바실러스 퍼맨텀 CP34	1.4×10^6
락토바실러스 헬베티커스 CP790	3.3×10^8
락토바실러스 존소니 CP2551	3.5×10^8
락토바실러스 플란타룸 CP2172	7.0×10^8
락토바실러스 람노서스 ATCC53103	2.9×10^8
락토바실러스 애시도필러스 CL0062 (BP-4980)	5.0×10^8
락토바실러스 가세리 CP2209	3.1×10^9
락토바실러스 류테리 ATCC23272	3.3×10^9
비피도박테리움 브레베 CP2425	1.1×10^9

<114>

실시예5

<115>

(사람임상효과)

<116>

<117> 통년성 알레르기성 비염에 이환하여 증상을 나타내고 있는 13명의 피험자(평균 연령 22.9 ± 6.1 세, 남성 6명, 여성 7명)에게, 2주간의 관찰 기간 후, 락토바실러스·애시도필러스CL92주를 $8.0 \times 10^8 \sim 1.3 \times 10^9$ 셀/ml 포함하는 발효유를 100ml/일씩 4주간 섭취시켰다. 경시적으로 자각증상에 관한 양케이트를 하고, 이것을 근거로 일본 알레르기 학회 「알레르기성 비염 중증도 분류」를 따라서 증상을 스코어화하였다. 또, 경시적으로 비염증상을 일본 알레르기 학회 가이드 라인의 기준을 따라서 진단하였다. 또, 경시적으로 채혈하고, 혈액 중의 IgE항체값을 측정하였다. 또한, 시험 기간 중의 최저기온을 기록하였다. 시험 기간 중의 피험자의 비폐의 중증도, 코를 킁수 및 최저기온을 도 5 및 도 6에 나타내었다.

<118> 시험 기간의 최저기온의 변화가 격렬하여, 섭취 기간 개시일(11월15일)의 14℃에서, 섭취 기간 종료일(12월13일)의 3.7℃까지 10℃이상 저하하고, 비염증상은 악화하기 쉬운 조건이었는에도 불구하고, 비폐는 섭취 개시 2주간 후에 개선경향이 보이고(Wilcoxon test:p<0.1), 섭취 개시 4주간 후에는 유의한 개선을 인정하였다(Wilcoxon test:p<0.05). 코 킁 횟수에 있어서도 섭취 개시 3주간 후에 감소 경향이 보였다(Wilcoxon test:p<0.1). 또, 섭취 기간 중, 재채기 횟수의 감소, 하비갑개의 종창의 나아짐, 및 혈액 중 총 IgE항체값의 저하의 경향이 보였다.

도면의 간단한 설명

<14> 도 1은, 실시예1에 있어서의, 고IgE마우스의 혈액 중 면역글로불린량의 변화를 도시한 그래프이다.

<15> 도 2는, 실시예2에 있어서의, 고IgE마우스에 대한 발효유 투여에 의한 OVA-IgE량 억제의 실험 결과를 도시한 그래프이다.

<16> 도 3은, 실시예3에 있어서의, 고IgE마우스에 대한 발효유 투여에 의한 OVA-IgE량 억제의 실험 결과를 도시한 그

래프이다.

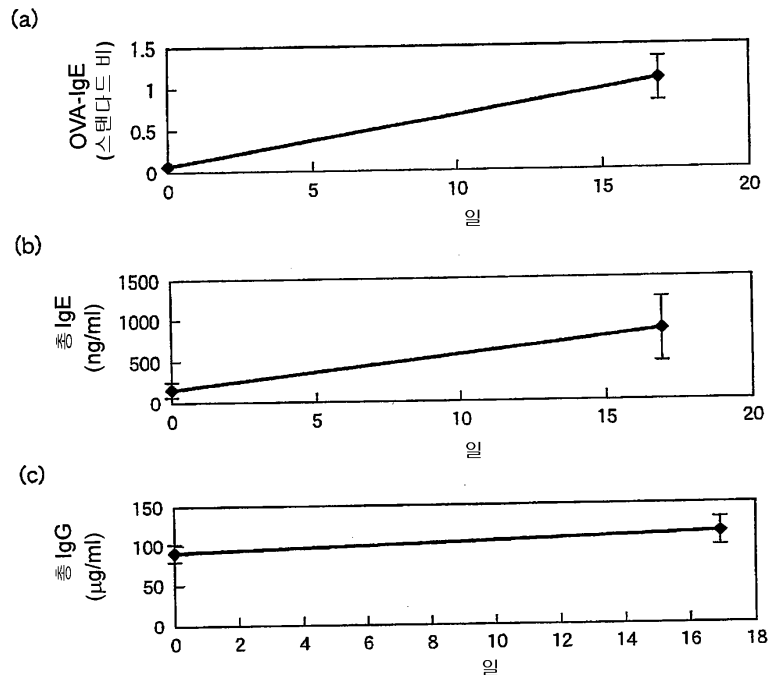
- <17> 도 4는, 실시예4에 있어서의, 고IgE마우스에 대한 발효유 투여에 의한 OVA-IgE량 억제 실험 결과를 도시한 그래프이다.
- <18> 도 5는, 실시예5에 있어서의, 사람에게 대한 발효유 투여에 의한 알레르기 억제의 실험 결과를 도시한 그래프이다.
- <19> 도 6은, 실시예5에 있어서의, 사람에게 대한 발효유 투여에 의한 알레르기 억제의 실험 결과를 도시하는 그래프이다.
- <20> **(발명을 실시하기 위한 형태)**
- <21> 본 발명의 항알레르기제는, 락토바실러스·애시도필러스(*Lactobacillus acidophilus*)에 속하는 유산균, 락토바실러스·퍼멘텀(*Lactobacillus fermentum*)에 속하는 유산균, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택되는 유산균을 유효성분으로서 포함한다.
- <22> 락토바실러스·애시도필러스에 속하는 유산균으로서는, 락토바실러스·애시도필러스CL0062주(특허생물기탁센터(일본국 이바라키켄 쓰꾸바시 히가시1-1-1 주오 다이6) 기탁번호 FERM BP-4980, 기탁일 1994년3월4일), CL92주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-4981, 기탁일 1994년3월4일) 또는 이들의 조합이 특히 바람직하다. 또, 락토바실러스·퍼멘텀에 속하는 유산균으로서는, 락토바실러스·퍼멘텀CP34주(특허생물기탁센터 기탁번호 FERM BP-8383, 기탁일 2002년5월23일)이 특히 바람직하다. 이들 3개의 균주는, 특허 수속상의 미생물의 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약에 의거하여 수탁되어 있다. 락토바실러스·퍼멘텀CP34주의 공중이용 가능성에 관한 모든 제한은, 특허의 허가에 의해 해제된다. 또, 락토바실러스·애시도필러스CL0062주 및 CL92주는 현재 이미, 공중에 의해 이용 가능하게 되어 있다.
- <23> 락토바실러스·애시도필러스CL0062주는, 이하의 균학적 성질을 가진다.
- <24> (형태학적 성질)
- <25> 1)세포의 모양:간균, 2)운동성의 유무:무, 3)포자의 유무:무, 4)그램염색:양성
- <26> (생리학적 성질)
- <27> 1)카탈라아제:음성, 2)인돌의 생성:음성, 3)질산염의 환원:음성, 4)산소에 대한 태도:통성혐기성, 5)15℃에서 생육:무, 6)글루코오스로부터 호모유산발효에 의해 DL유산생성, 가스 생산 무
- <28> 7)각종 당류로부터 산생성의 유무
- <29> 글루코오스+ 멜리비오스+
- <30> 락토오스+ 라피노오스+
- <31> 만노오스+ 만니톨-
- <32> 프룩토오스+ 소르비톨-
- <33> 갈락토오스+ 에스쿨린+
- <34> 수크로오스+ 살리신+
- <35> 아라비노오스- N-아세틸글루코사민+
- <36> 말토오스+ 아미그달린+
- <37> 크실로오스- 겐티오비오스+
- <38> 람노오스- 멜레치토오스-
- <39> 셀로비오스+ 텍스트린+
- <40> 트레할로스+ 스타치-
- <41> 락토바실러스·애시도필러스CL92주는, 이하의 균학적 성질을 가진다.
- <42> (형태학적 성질)

- <43> 1)세포의 모양:간균, 2)운동성의 유무:무, 3)포자의 유무:무 4)그램염색:양성
- <44> (생리학적 성질)
- <45> 1)카탈라아제:음성, 2)인돌의 생성:음성, 3)질산염의 환원:음성, 4)산소에 대한 태도:통성혐기성, 5)15℃에서 생육:무, 6)글루코오스로부터 호모유산발효에 의해 DL유산생성, 가스 생산 무
- <46> 7)각종 당류로부터 산생성의 유무
- <47> 글루코오스+ 멜리비오스-
- <48> 락토오스+ 라피노오스+
- <49> 만노오스+ 만니톨-
- <50> 프룩토오스+ 소르비톨-
- <51> 갈락토오스+ 에스쿨린+
- <52> 수크로오스+ 살리신+
- <53> 아라비노오스- N-아세틸글루코사민+
- <54> 말토오스+ 아미그달린+
- <55> 크실로오스- 겐티오비오스+
- <56> 람노오스- 멜레치토오스-
- <57> 셀로비오스+ 텍스트린-
- <58> 트레할로스+ 스타치-
- <59> 락토바실러스·퍼멘텀CP34주는, 이하의 균학적 성질을 가진다.
- <60> (형태학적 성질)
- <61> 1)세포의 모양:간균, 2)운동성의 유무:무, 3)포자의 유무:무, 4)그램염색:양성
- <62> (생리학적 성질)
- <63> 1)카탈라아제:음성, 2)산소에 대한 태도:통성혐기성, 3)글루코오스로부터 DL유산생성, 가스 생산(+)
- <64> 4)각종 탄수화물의 분해성
- <65> 아라비노오스- 셀로비오스-
- <66> 크실로오스- 락토오스+
- <67> 멜리비오스- 트레할로스-
- <68> 람노오스- 아미그달린-
- <69> 리보오스+ 라피노오스-
- <70> 글루코오스+ 멜레치토오스-
- <71> 만노오스- 만니톨-
- <72> 프룩토오스+ 소르비톨-
- <73> 수크로오스+ 에스쿨린-
- <74> 말토오스+ 살리신-
- <75> 본 발명의 항알레르기제 중의, 상기 유산균의 함유 비율은, 특별히 한정되지 않고 제조의 용이성이나 바람직한 일일 투여량 등에 따라 적당히 조절할 수 있지만, 예를 들면 제형이 액체인 경우 1×10^7 셀/ml ~ 1×10^{10} 셀/ml로 하는 것이 바람직하다.

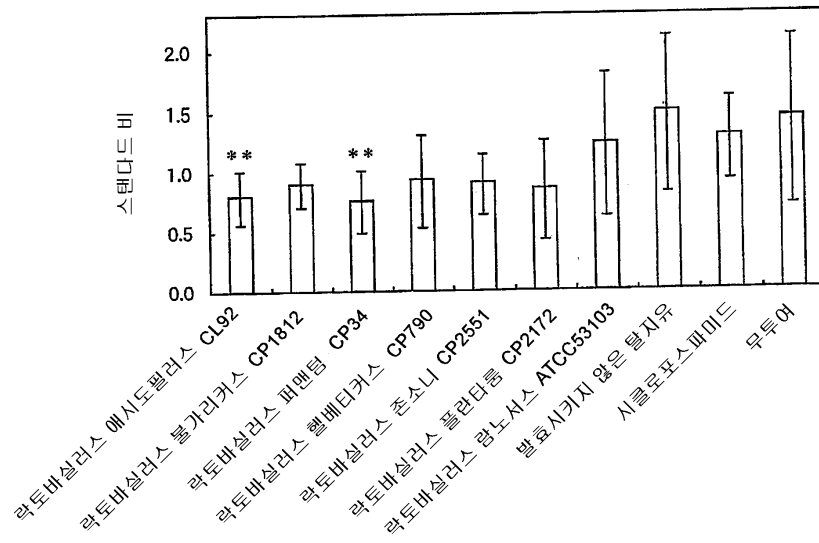
- <76> 본 발명의 항알레르기제는, 상기 유산균에 더해, 다른 성분을 포함할 수 있다. 다른 성분으로서는, 부형제 등의 첨가제, 및 후술하는 배지의 성분 등을 들 수 있다.
- <77> 본 발명의 항알레르기제는, 상기 유산균을 배지에 있어서 배양함으로써 제조할 수 있다.
- <78> 배양에 이용하는 배지는, 상기 유산균이 생육 가능한 배지라면 어떤 것이라도 이용 가능하며, 짐승젖, 탈지유, 유성(乳性)웨이, MRS배지, GAM배지, BL배지, Briggs Liver Broth나 합성배지 등을 이용할 수 있다. 배양 온도는 25℃에서 50℃, 바람직하게는 35℃에서 42℃로 할 수 있다. 또, 배양 시간은 3시간에서 48시간, 바람직하게는 8시간에서 12시간으로 할 수 있다. 배양 종료 후의 배지를 그대로, 또는 필요에 따라 더욱 처리함으로써 본 발명의 항알레르기제로 할 수 있다. 예를 들면, 배양 종료 후의 배지로부터 원심분리, 여과 등에 의해 집균하여 균체만으로 한 것, 이것을 동결건조균체로 한 것, 또한 가열처리한 균체, 균체 파쇄물 등도 본 발명의 항알레르기제로 할 수 있다. 또, 상기의 것을 또한 제조화한 것이나, 음료, 정제, 페이스트, 빵 등 여러가지 식품 소재에 배합한 것 등도, 본 발명의 항알레르기제로 할 수 있다.
- <79> 본 발명의 항알레르기제의 투여방법은, 특별히 한정되지 않지만 경구투여가 바람직하다. 투여량은, 예를 들면 사람으로의 경구투여인 경우, 균체수로서 2×10^9 개/일 이상, 바람직하게는 2×10^{10} 개/일로 할 수 있고, 1일 1회 투여, 또는 복수회의 분여로 할 수도 있다.
- <80> 본 발명의 항알레르기제는, 후술하는 실시예에 있어서 확인되는 대로 IgE항체량을 효과적으로 억제할 수 있는 한편, 식품으로서 섭취되고 있는 균체를 유효성분으로 하기 때문에, 안전성은 높다고 생각된다.
- <81> 본 발명의 알레르기 저감방법은, 이러한 저감을 필요로 하는 피검자에게, 유효용량의 상기 항알레르기제를 투여하는 공정을 포함한다. 피검자로서는, 사람 및 기타 포유류 등의 동물을 들 수 있다.
- <82> 본 발명의 항알레르기제는, 생체 중의 IgE항체량을 효과적으로 감소시킬 수 있는 한편, 용이하게 섭취할 수 있고, 또한 안전성이 높다. 따라서, IgE항체량의 과잉이 관여하는 알레르기의 억제에 유용하다.

도면

도면1

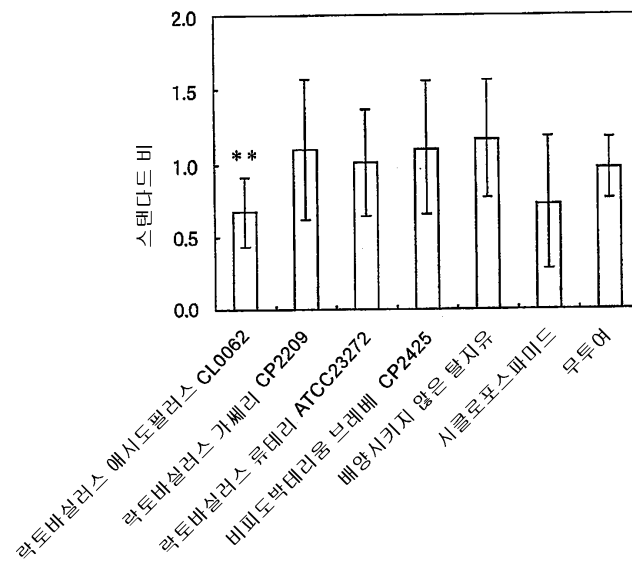


도면2



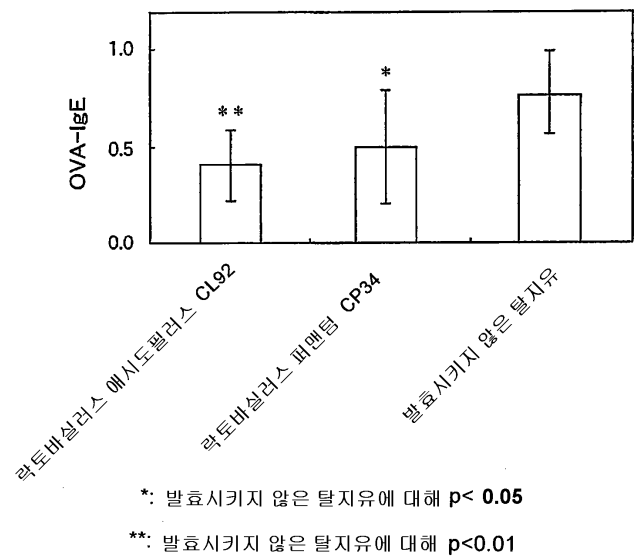
** : 발효시키지 않은 탈지유에 대해 $p < 0.01$

도면3

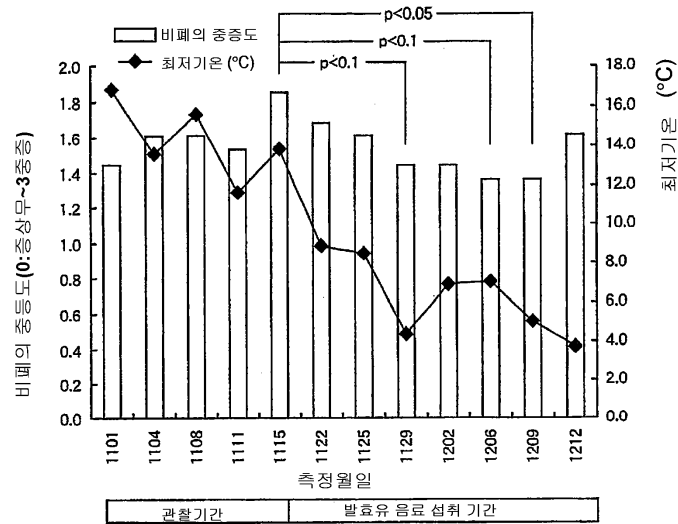


** : 발효시키지 않은 탈지유에 대해 $p < 0.01$

도면4



도면5



도면6

