

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-148072

(P2017-148072A)

(43) 公開日 平成29年8月31日(2017.8.31)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 2 3 L 33/195 (2016.01)	A 2 3 L 33/195	2 B 1 5 0
A 6 1 K 36/07 (2006.01)	A 6 1 K 36/07	4 B 0 1 8
A 6 1 K 35/744 (2015.01)	A 6 1 K 35/744	4 C 0 8 7
A 6 1 K 35/747 (2015.01)	A 6 1 K 35/747	4 C 0 8 8
A 6 1 P 17/14 (2006.01)	A 6 1 P 17/14	
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 17 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-97047 (P2017-97047)	(71) 出願人	514266286 イシズム株式会社
(22) 出願日	平成29年5月16日 (2017.5.16)		三重県四日市市高角町2605番地
(62) 分割の表示	特願2014-213478 (P2014-213478) の分割	(74) 代理人	110000291 特許業務法人コスモス特許事務所
原出願日	平成26年10月20日 (2014.10.20)	(72) 発明者	永石 俊夫 三重県四日市市高角町2605番地 イシズム株式会社内
		(72) 発明者	長谷川 武夫 京都府京都市左京区田中門前町103番地の5 公益財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター内
		Fターム(参考)	2B150 AA01 AB10 AC05 AC06 AC23 AE02 BD06 BE01 CE30 DD31 DD56
			最終頁に続く

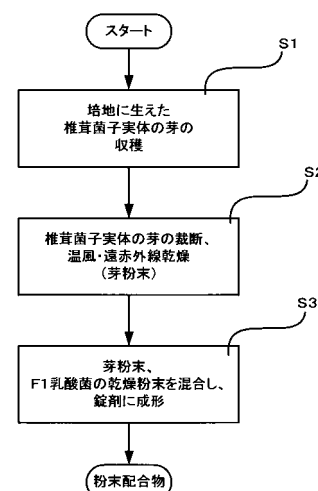
(54) 【発明の名称】 粉末配合物

(57) 【要約】

【課題】 生長著しい細胞が高い割合で含まれている椎茸菌子実体の芽部分を、効率的に摂取できる粉末配合物を提供する。

【解決手段】 粉末配合物は、椎茸菌子実体（椎茸）の芽を粉碎した芽粉末を配合した、粉末配合物である。さらにこの粉末配合物の芽粉末が、椎茸菌子実体の芽の乾燥粉末である粉末配合物とすると良い。またさらに植物性乳酸菌を配合した粉末配合物とすると良い。この植物性乳酸菌が、*Lactobacillus plantarum* Formula-1である粉末配合物とすると良い。さらに、粉末配合物は、飲食品、医薬品、医薬部外品、哺乳類用医薬品、哺乳類用えさである。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

椎茸菌子実体の芽を粉碎した芽粉末を配合した粉末配合物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の粉末配合物であって、

前記芽粉末は、

前記椎茸菌子実体の芽の乾燥粉末である

粉末配合物。

【請求項 3】

請求項 1 または請求項 2 に記載の粉末配合物であって、

さらに植物性乳酸菌を配合した

粉末配合物。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の粉末配合物であって、

前記植物性乳酸菌が、*Lactobacillus plantarum* Formula-1 である

粉末配合物。

【請求項 5】

請求項 1 ～ 請求項 4 のいずれか 1 項に記載の粉末配合物であって、

前記椎茸菌子実体の芽は、菌床椎茸栽培によって栽培した菌床から採取してなる

粉末配合物。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 請求項 5 のいずれか 1 項に記載の粉末配合物は、

飲食物、医薬品、医薬部外品、哺乳類用医薬品、または、哺乳類用えさである

粉末配合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、椎茸菌を利用した粉末を配合した、粉末配合物に関する。

【背景技術】

【0002】

椎茸（椎茸菌子実体）は、生椎茸や干し椎茸として、広く食用や出汁用として利用されている。そのほか、椎茸（椎茸菌子実体）に含まれているレンチナンに免疫増強効果などが認められている。また、椎茸菌の菌糸体を培養した椎茸菌子実体の発生前の培地を原料とした抽出物からなる抗癌剤（特許文献 1）や、椎茸（椎茸菌子実体）を原料とした免疫抑制機能や抗アレルギー効果を有するエキス（特許文献 2）などが提案されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特開 2008 - 255057 号

【特許文献 2】国際公開 WO 2005 / 107496 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

ところで、椎茸菌の培地から子実体ができるにあたっては、まず、培地に椎茸菌子実体の芽が形成され、この芽が生長して椎茸菌子実体（いわゆる椎茸）となる。この椎茸菌子実体の芽には、活発に細胞分裂するなど、生長著しい細胞が高い割合で含まれており、他の部分には無いあるいは比較的少ない各種の有効成分が含まれていると考えられる。これとは逆に、特許文献 1 に記載のように、椎茸菌の菌糸体を培養した椎茸菌子実体の発生前の培地を原料とする場合には、生長著しい細胞の割合は低い。また、特許文献 2 に記載のように、生長の終わった椎茸菌子実体を原料とする場合にも、生長著しい細胞の割合は低

10

20

30

40

50

い。

【 0 0 0 5 】

本発明は、かかる点に鑑みてなされたものであって、生長著しい細胞が高い割合で含まれている椎茸菌子実体の芽部分を、効率的に摂取できる粉末配合物を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 6 】

その解決手段は、(1) 椎茸菌子実体の芽を粉碎した芽粉末を配合した粉末配合物である。

【 0 0 0 7 】

この粉末配合物は、椎茸菌子実体の芽を粉碎した芽粉末(以下、単に芽粉末ともいう)を配合してなるから、生長著しい細胞が高い割合で含まれている椎茸菌子実体の芽部分を、効率的に摂取することができる。この芽粉末を摂取することで、免疫能活性化効果、腫瘍増殖抑制効果(抗腫瘍効果)、脱毛抑制効果など、様々な生理活性が得られる。サイトカイン(I L - 2 , I L - 4 , I L - 1 0 , I L - 1 2 , I F N -)の増加を図ることもできる。

なお、 I L - 2 、 I L - 4 及び I F N - は、リンパ球や N K 細胞の活性化に關与する。また、 I L - 1 0 は、病弱者や高齢者の Q O L (quality of life)維持に關与する。さらに、 I L - 1 2 は、悪性腫瘍の増殖抑制に關与する。

【 0 0 0 8 】

この粉末配合物は、芽粉末そのもの、及び、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップのほか、他の成分(乳酸菌乾燥末、各種ビタミン末など)の粉末と合わせた粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップとして製品化することができる。これらは、栄養補助食品、健康補助食品などのサプリメントとして摂取、あるいは医薬品、医薬部外品として服用できる。

また、椎茸菌子実体の芽の粉末を添加した、あるいはさらに他の成分(乳酸菌乾燥末、各種ビタミン末など)を添加した、液状のあるいはゼリー状の飲物として製品化することもできる。例えば、日本茶、紅茶、コーヒー、ココア、アルカリイオン水、天然水、清涼飲料水、清酒、どぶろく、マッコリ、焼酎、果実酒などの酒類、ゼリータイプの飲物(流動食品)が挙げられる。

さらに、芽粉末を添加した、あるいはさらに他の成分(乳酸菌乾燥末、各種ビタミン末など)を添加した、各種の食物として製品化することもできる。このような食物としては、特に限定されないが、例えば、食肉、魚介類、野菜類、果実類等の生鮮食品、ハム、ソーセージ等の加工畜産物、はんぺん、かまぼこ、魚肉ソーセージ等の加工水産物、ジャム、乾燥果実等の加工果実、漬物等の加工野菜、牛乳、バター、クリーム、チーズ、ヨーグルト等の乳製品、ナタネ油、パーム油、ひまわり油、ショートニング等の油脂類、豆腐、油揚げ、納豆等の大豆加工食品、醤油、味噌、ソース、ケチャップ等の調味料、パン類、ケーキ類、和菓子、洋菓子等の菓子類、うどん、そば、そうめん、スパゲッティ等の麺類などが挙げられる。

【 0 0 0 9 】

なお、椎茸菌子実体とは、いわゆるキノコとしての椎茸である。また、椎茸菌子実体の芽とは、椎茸菌が蔓延した培地(ほだ木などの原木、おがくずなどからなる菌床)から生じて、椎茸菌子実体(軸部(柄部)、及び傘部)に生長する部位を指す。椎茸菌子実体の芽は、芽が生えた菌床などの培地から、手指でつまんだり手指や器具を引っかけて、容易に培地から分離させて収穫することができる。また、椎茸(椎茸菌子実体)を大きく生長させるべく、菌床に多数発生した椎茸菌子実体の芽を減数させる、いわゆる「芽欠き」(間引き)によって、椎茸菌子実体の芽を、椎茸(キノコ)の副産物として取得(収穫)することもできる。

また、椎茸菌子実体の芽を粉碎した粉末としては、椎茸菌子実体の芽の乾燥粉末のほか、未乾燥、半乾燥の粉末も挙げられる。

10

20

30

40

50

椎茸菌子実体の芽の栽培手法としては、椎茸菌子実体の栽培（椎茸栽培）と同様の手法が採用できる。具体的には、ほだ木に種菌（種駒）を接種する、いわゆるほだ木椎茸栽培の栽培手法や、おがくず等に栄養源の米糠等を混ぜた菌床に椎茸菌を蔓延させる、いわゆる菌床椎茸栽培の栽培手法を用いることができる。特に、菌床栽培は、栽培期間が短くできる上、ほだ木に比して菌床の取り扱いが容易であるため、椎茸菌子実体の芽の収穫も容易になり好ましい。菌床栽培の手法としては、棚栽培方式、菌床吊り下げ方式など公知の手法を採用することができる。

【 0 0 1 0 】

（ 2 ）上記（ 1 ）に記載の粉末配合物であって、前記芽粉末は、前記椎茸菌子実体の芽の乾燥粉末である粉末配合物とすると良い。

10

【 0 0 1 1 】

この粉末配合物における芽粉末が、椎茸菌子実体の芽の乾燥粉末であるので、未乾燥あるいは半乾燥の芽粉末を配合する場合に比して、芽粉末や粉末配合物についての保存や取り扱いが容易である。

なお、乾燥粉末としては、椎茸菌子実体の芽、あるいは椎茸菌子実体の芽を裁断した芽の断片を、温風乾燥、冷風乾燥、赤外線乾燥、遠赤外線乾燥、温風・遠赤外線併用乾燥、凍結乾燥（真空凍結乾燥）、あるいは、シリカゲルなどの乾燥剤による乾燥などの手法で乾燥したり、さらに乾燥後に粉碎したものが挙げられる。

【 0 0 1 2 】

（ 3 ）また、（ 1 ）または（ 2 ）に記載の粉末配合物であって、さらに植物性乳酸菌を配合した粉末配合物とすると良い。

20

【 0 0 1 3 】

植物性乳酸菌は、胃酸に耐えて腸管に届き、腸管環境を整える作用を持つ。芽粉末と併せて摂ることで、芽粉末の持つ、免疫能活性化効果、腫瘍抑制効果（抗腫瘍効果）、脱毛抑制効果など、様々な生理活性のほか、植物性乳酸菌の持つ作用を合わせて得ることができる。

なお、植物性乳酸菌としては、例えば、ラブレ菌（*Lactobacillus brevis* subspecies *coagulans*）や、トレイルS1菌（*Lactobacillus plantarum* s1）、F-1菌（*Lactobacillus plantarum* Formula-1）などが挙げられる。

【 0 0 1 4 】

30

（ 4 ）さらに、（ 1 ）から（ 3 ）のいずれかに記載の粉末配合物であって、前記植物性乳酸菌が、*Lactobacillus plantarum* Formula-1である粉末配合物とすると良い。

【 0 0 1 5 】

植物性乳酸菌であるF-1菌（*Lactobacillus plantarum* Formula-1）は、胃酸に耐えて腸管に届き、腸管環境を整える作用を持つ。

しかも、免疫能活性化効果、腫瘍抑制効果（抗腫瘍効果）、脱毛抑制効果など、様々な生理活性について、椎茸菌子実体の芽の粉末との相乗効果を得ることができる。サイトカイン（IL - 2 , IL - 4 , IL - 10 , IL - 12、IFN - ）に関しても相乗的に増加させることができる。

【 0 0 1 6 】

40

（ 5 ）さらに、（ 1 ）から（ 4 ）のいずれかに記載の粉末配合物であって、前記椎茸菌子実体の芽は、菌床椎茸栽培によって栽培した菌床から採取してなる粉末配合物とすると良い。

【 0 0 1 7 】

また、菌床椎茸栽培では、ほだ木栽培に比して、椎茸菌子実体の芽の採取が容易で、ほだ木の部分（木の皮など）が混入しないため、均一で良質な椎茸菌子実体の芽を用いた、粉末配合物にできる。

菌床栽培の手法としては、前述したように、棚栽培方式、菌床吊り下げ方式など公知の手法を採用することができる。

【 0 0 1 8 】

50

(6) 前述の(1)～(5)いずれか1項に記載の粉末配合物は、飲食物、医薬品、医薬部外品、哺乳類用医薬品、または、哺乳類用えさである粉末配合物とすると良い。

【0019】

本発明の粉末配合物は、芽粉末を配合した、飲食物、医薬品、医薬部外品、哺乳類用医薬品、または、哺乳類用えさであるので、人間あるいはヒト以外の哺乳類に摂取させることにより、芽粉末の持つ、免疫能活性化効果、腫瘍抑制効果(抗腫瘍効果)、脱毛抑制効果など、様々な生理活性を得させることができる。

即ち、本発明の粉末配合物である飲食物は、芽粉末を配合してあるので、この飲食物を摂取することにより、芽粉末の持つ、免疫能活性化効果、腫瘍抑制効果(抗腫瘍効果)、脱毛抑制効果など、様々な生理活性を得ることができる。

なお、このような飲食物としては、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップ等の形態の栄養補助食品が挙げられる。このほか、前述したように、例えば、芽粉末を添加した液状のあるいはゼリー状の飲物が挙げられる。また、芽粉末を添加した、各種の食物、例えば、食肉、魚介類、野菜類、果実類等の生鮮食品、加工畜産物、加工水産物、加工果実、加工野菜、乳製品、油脂類、大豆加工食品、調味料、パン類、ケーキ類、菓子類、麺類などが挙げられる。

【0020】

また、本発明の粉末配合物である医薬品は、芽粉末を配合してあるので、この医薬品を摂取することにより、芽粉末の持つ生理活性から、免疫能活性化の効果、腫瘍抑制の効果、及び、脱毛抑制の効果を得ることができる。

なお、医薬品の剤形としては、粉末のほか、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップ等の形態が挙げられる。

【0021】

また、本発明の粉末配合物である医薬部外品は、芽粉末を配合してあるので、この医薬部外品を摂取することにより、芽粉末の持つ生理活性から、免疫能活性化の効果、腫瘍抑制の効果、及び、脱毛抑制の効果を得ることができる。

なお、医薬部外品の剤形としては、粉末のほか、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップ等の形態が挙げられる。

【0022】

さらに、本発明の粉末配合物である哺乳類用医薬品は、芽粉末を配合してあるので、この哺乳類用医薬品を哺乳類に摂取させることにより、芽粉末の持つ生理活性から、免疫能活性化の効果、腫瘍抑制の効果、及び、脱毛抑制の効果を得ることができる。

なお、哺乳類用医薬品の剤形としては、粉末のほか、顆粒、錠剤、カプセル剤、ペースト、シロップ等の形態が挙げられる。

【0023】

さらに、本発明の粉末配合物である哺乳類用えさは、芽粉末を配合してあるので、この哺乳類用えさを哺乳類に摂取に与えることにより、芽粉末の持つ、免疫能活性化効果、腫瘍抑制効果(抗腫瘍効果)、脱毛抑制効果など、様々な生理活性を、得させることができる。

このような哺乳類用えさとしては、ペット(愛玩動物)に与えるペット用の餌のほか、飼育する豚、牛等の哺乳類用に与える飼料がある。例えば、哺乳類用えさの形態としては、芽粉末を添加した液状のあるいはゼリー状の動物用飲物が挙げられる。また、芽粉末を添加した、各種のペット用の餌や飼料が挙げられる。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】芽粉末を配合した粉末配合物の製造手順を示すフローチャートである。

【図2】NT1群内の各群の無担癌マウスについて、実験開始以降の体重変化を示すグラフである。

【図3】T5群内の各群の担癌マウスについて、実験開始以降の体重変化を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図4】T5群内の各群の担癌マウスについて、実験開始以降の腫瘍体積の変化を示すグラフである。

【図5】NT1群内の各群の無担癌マウスについて測定した、実験開始後10日の血中サイトカインIL-2の濃度を示すグラフである。

【図6】NT1群内の各群の無担癌マウスについて測定した、実験開始後10日の血中サイトカインIL-4の濃度を示すグラフである。

【図7】NT1群内の各群の無担癌マウスについて測定した、実験開始後10日の血中サイトカインIL-10の濃度を示すグラフである。

【図8】NT1群内の各群の無担癌マウスについて測定した、実験開始後10日の血中サイトカインIL-12の濃度を示すグラフである。

【図9】NT1群内の各群の無担癌マウスについて測定した、実験開始後10日の血中サイトカインIFN- γ の濃度を示すグラフである。

【図10】実験開始後90日の無担癌マウスのうち、NT1-C群とNT1-F+M群のマウスについて測定した、脱毛面積を示すグラフである。

【図11】NT1-F+M群のマウス(4匹)の実験開始後45日の毛並み(脱毛状態)を示す写真である。

【図12】NT1-C群のマウス(4匹)の実験開始後45日の毛並み(脱毛状態)を示す写真である。

【図13】NT2群、T3群及びT1.5群内の各群の担癌マウスについて、実験開始以降の腫瘍体積の変化を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0025】

まず、椎茸菌子実体の芽の粉末(以下、「芽粉末」ともいう)、および、植物性乳酸菌(具体的には、*Lactobacillus plantarum* Formula-1: ルイ・バストゥール医学研究センター 分子免疫研究所製。以下、「F1乳酸菌」ともいう)の生理的作用とその相乗作用を確認すべく、以下の実験を行った。

【0026】

(腫瘍移植)

-80℃で冷凍保管されたマウス肺転移腫瘍細胞(LLC細胞)を、PBS液で洗浄後、RPMI-1640(10%FBS)培養液で2日間培養し、0.025%トリプシン液でピペッティングして増殖細胞を剥がし、1000rpmで5分間にわたり遠心分離を行い、上澄み液を吸引廃棄した。沈殿した細胞に4℃に氷上冷却したPBS液を加え、再度、1000rpmで5分間にわたり遠心分離を行い、上澄み液を吸引廃棄した。沈殿した細胞を生理食塩水で希釈し、 5.0×10^5 個/0.05mLの濃度の腫瘍細胞液を調製した。

【0027】

次いで、C57BL/6マウス(オス、7週齢)の大腿部皮下に0.05mL(5.0×10^5 個相当)注入移植した。腫瘍が2~3mmに成長した移植1週間後から、後述する第1実験を開始した。

また別途、同様の手法で、 3.0×10^5 個/0.05mL、及び、 1.5×10^5 個/0.05mLの濃度の腫瘍細胞液を調製し、C57BL/6マウスの大腿部皮下に0.05mL(3.0×10^5 個または 1.5×10^5 個相当)注入移植した。腫瘍が2~3mmに成長した移植1週間後から、後述する第2実験を開始した。

【0028】

なお、第1実験では、腫瘍細胞を 5.0×10^5 個移植したマウス群をT5群、腫瘍移植を行っていないマウスをNT1群とする。

また、第2実験では、 3.0×10^5 個移植したマウス群をT3群、 1.5×10^5 個移植したマウス群をT1.5群とする。また、腫瘍移植を行っていないマウスをNT2群とする。

【0029】

10

20

30

40

50

(芽粉末飼料、乳酸菌水の調製)

農事組合法人 I N S において菌床吊り下げ方式で栽培した菌床に生えた、椎茸菌子実体の芽を収穫し、50 以下の温風・遠赤外線併用乾燥により乾燥した後、粉碎して、椎茸菌子実体の芽を粉碎した粉末(芽粉末)を得た。

この芽粉末を 50 w t %、マウス飼育固形飼料(M F)の粉碎粉末を 20 w t %、きな粉 20 w t %、チーズ 5 w t %、硬化用米粉 5 w t %を、水道水を加えて混合し、自然乾燥させて、芽粉末入り固形飼料(以下、「芽粉末飼料」ともいう)を作製した。

また、ルイ・パストゥール医学研究センターの分子免疫研究所で培養された F 1 乳酸菌(Lactobacillus plantarum Formula-1)を、生理食塩水で 1.0×10^7 個 / 0.3 m L の濃度に希釈した「乳酸菌水」を、別途用意した。

【0030】

(第1実験)

前述した腫瘍移植を行った T 5 群のマウス(L L C 担癌マウス)を 4 群に分け、4 群の腫瘍移植を行っていない C 5 7 B L / 6 マウス(無担癌マウス)と同様に飼育し、体重変化、腫瘍体積変化、血中サイトカイン濃度を測定した。各群とも、15 匹 / 群の C 5 7 B L / 6 マウスを飼育した。

<無担癌マウス：N T 1 群>

- ・ N T 1 - C 群：無担癌マウス / コントロール群(一般飼料・水投与群)
- ・ N T 1 - F 群：無担癌マウス / 乳酸菌単独投与群(一般飼料・乳酸菌水投与群)
- ・ N T 1 - M 群：無担癌マウス / 芽粉末単独投与群(芽粉末飼料・水投与群)
- ・ N T 1 - F + M 群：無担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群(芽粉末飼料・乳酸菌水投与群)

<担癌マウス：T 5 群(5.0×10^5 個移植)>

- ・ T 5 - C 群：担癌マウス / コントロール群(一般飼料・水投与群)
- ・ T 5 - F 群：担癌マウス / 乳酸菌単独投与群(一般飼料・乳酸菌水投与群)
- ・ T 5 - M 群：担癌マウス / 芽粉末単独投与群(芽粉末飼料・水投与群)
- ・ T 5 - F + M 群：担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群(芽粉末飼料・乳酸菌水投与群)

【0031】

なお、コントロール群(N T 1 - C 群, T 5 - C 群)のマウスには、一般飼料であるマウス飼育固形飼料(M F)、及び、水(水道水)を投与して飼育した。

乳酸菌水投与群(N T 1 - F 群, N T 1 - F + M 群, T 5 - F 群, T 5 - F + M 群)のマウスには、連日、前述の乳酸菌水 0.3 m L を、金属ゾンデにより強制経口投与し、 1.0×10^7 個 / d a y / 匹の F 1 乳酸菌を摂取させた。

また、芽粉末飼料投与群(N T 1 - M 群, N T 1 - F + M 群, T 5 - M 群, T 5 - F + M 群)のマウスには、前述の芽粉末飼料を、連日、自由摂取(0.8 ~ 1.2 g / d a y / 匹)させた。

【0032】

(体重の測定)

N T 1 群(無担癌マウス)及び T 5 群(担癌マウス)について、実験開始から連日、体重を測定した。その変化を図 2, 図 3 に示す。図 2 から判るように、N T 1 群の各無担癌マウスの体重変化は、芽粉末飼料(芽粉末)及び乳酸菌水(F 1 乳酸菌)の投与 / 非投与で、全実験期間において有意差が認められなかった。従って、体重変化からは、芽粉末飼料(芽粉末)、あるいは、乳酸菌水(F 1 乳酸菌)について、毒性は認められない。図 3 に示す、T 5 群の各担癌マウスの体重変化からも、同様なことが言える。但し、T 5 - C 群(担癌マウス / コントロール群)については、実験開始後 10 日目をピークに、体重が減少している。癌の進行に伴って、食餌量(飼料摂取量)が減少したためである。

【0033】

(腫瘍体積の測定)

腫瘍の成長状態を腫瘍の体積で数値化した。腫瘍の形状をラグビーボール状(回転楕円体：長径 D 1、短径 D 2)であると仮定すると、腫瘍の体積 V は、 $V = 3 / 4 \cdot (D 1$

10

20

30

40

50

$\pi \cdot (D_2/2)^2 = \pi/6 \cdot D_1 \cdot D_2^2$ 0.523 D₁・D₂² で与えられる。
そこで、T5群の各マウスの腫瘍を、回転楕円体と見た場合の長径D₁及び短径D₂を計測し、上式を用いて、腫瘍の体積Vを算出した。

【0034】

(抗腫瘍効果の評価)

T5群内の4群のマウスについて、腫瘍の体積Vを連日測定し、乳酸菌単独投与、芽粉末単独投与、及び、芽粉末+乳酸菌併用の場合の抗腫瘍効果について評価した。結果を図4に示す。各群のデータは、15匹の平均値である。

【0035】

腫瘍体積Vが200 mm³に達するのに要する日数で評価すると、T5-C群(担癌マウス/コントロール群)のマウスでは6.3日であった。また、T5-F群(担癌マウス/乳酸菌単独投与群)では、1.5倍の9.5日であった。これに対し、T5-M群(担癌マウス/芽粉末単独投与群)では、2.5倍の15.6日であった。さらに、T5-F+M群(担癌マウス/芽粉末+乳酸菌併用群)では、3.1倍の19.4日であった。

10

【0036】

このように、乳酸菌の単独投与でも、抗腫瘍効果が認められるものの、芽粉末を投与したT5-M群(担癌マウス/芽粉末単独投与群)、及び、T5-F+M群(担癌マウス/芽粉末+乳酸菌併用群)では、高い抗腫瘍効果が認められる。しかも、芽粉末と乳酸菌とを併用するT5-F+M群(担癌マウス/芽粉末+乳酸菌併用群)では、特に高い抗腫瘍効果があり、芽粉末投与と乳酸菌投与との相乗効果が認められる。なお、この抗腫瘍効果は、マウスのみならず、ヒトを含む哺乳類についても同様に生じると推察される。

20

【0037】

(サイトカインの測定)

実験開始から14日後に、マウスの心臓から採血した血液(約1.5~2.5 mL)を、低温遠心分離器(処理温度:4)において3500 rpm、5分間遠心分離し、上澄みの血清を0.7~1.0 mL採取した。採取した血清は、直ちに-80 で保存し、全マウス処理後に各血清を解凍し、Bio-Plex (NAVIOS: BECKMAN COULTER社製)を用いて、サイトカイン濃度を各マウスに付き2回ずつ測定した。測定したサイトカインは、IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IFN- であり、各群とも、3匹(6測定値)の平均値である。

30

【0038】

なお、サイトカインIL-2は、胸腺の中で分化し、特異性を獲得したT細胞(リンパ球)から産生され、リンパ球の走化性とマクロファージを活性化させる作用を有する。サイトカインIL-4は、活性化されたTh2 T細胞で産生され、Th1 T細胞を抑制し、B細胞の活性化、増殖分化を誘導する作用を持つ。サイトカインIL-10は、CD4 T細胞やマクロファージの産生する炎症性サイトカイン(IL-1, IL-8、TNF-)や細胞障害性反応に関与するサイトカイン(IL-2, IFN-)の過剰な活性を抑え、病弱者、高齢者のQOLにも関与する。さらに、サイトカインIL-12は、樹状細胞、マクロファージから産生され、活性化T細胞の増殖維持、キラーT細胞の発現指示、NK細胞の活性増殖作用を持ち、悪性腫瘍の進行状況を知る指標ともなる。IFN- は、抗腫瘍作用、免疫増強作用を有し、NK細胞を活性化させる。

40

【0039】

図5は、実験開始後14日の4つのNT1群のマウス(無担癌マウス)について測定した、サイトカインIL-2の血中濃度を示すグラフである。

NT1-C群(無担癌マウス/コントロール群)の血中濃度(0.85 pg/mL)に比して、NT1-F群(無担癌マウス/乳酸菌単独投与群)は、1.1倍の濃度であった。

これに対し、NT1-M群(無担癌マウス/芽粉末単独投与群)では、NT1-C群に比して、IL-2が2.3倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料(芽粉末)には、乳酸菌水(F1乳酸菌)に比しても良好な、サイトカインIL-2の増加作用が認めら

50

れる。

そして特に、NT1-F+M群（無担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、NT1-C群に比して、IL-2が2.53倍（ $=1.1 \times 2.3$ ）よりも大きい4.2倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）との併用により、サイトカインIL-2について、相乗作用による特に良好な増加作用が認められる。

【0040】

図6は、実験開始後14日の4つのNT1群のマウス（無担癌マウス）について測定した、サイトカインIL-4の血中濃度を示すグラフである。

NT1-C群（無担癌マウス／コントロール群）の血中濃度（ 0.22 pg/ml ）に比して、NT1-F群（無担癌マウス／乳酸菌単独投与群）は、1.3倍の濃度であった。

これに対し、NT1-M群（無担癌マウス／芽粉末単独投与群）では、NT1-C群に比して、IL-2が1.6倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）に比しても良好な、サイトカインIL-4の増加作用が認められる。

そして特に、NT1-F+M群（無担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、NT1-C群に比して、IL-4が2.08倍（ $=1.3 \times 1.6$ ）よりも大きい4.6倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）との併用により、サイトカインIL-4についても、相乗作用による特に良好な増加作用が認められる。

【0041】

図7は、実験開始後14日の4つのNT1群のマウス（無担癌マウス）について測定した、サイトカインIL-10の血中濃度を示すグラフである。

NT1-C群（無担癌マウス／コントロール群）の血中濃度（ 5.8 pg/ml ）に比して、NT1-F群（無担癌マウス／乳酸菌単独投与群）は、1.5倍の濃度であった。

これに対し、NT1-M群（無担癌マウス／芽粉末単独投与群）では、NT1-C群に比して、IL-2が1.6倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）に比して若干良好な、サイトカインIL-10の増加作用が認められる。

そして特に、NT1-F+M群（無担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、NT1-C群に比して、IL-10が2.4倍（ $=1.5 \times 1.6$ ）よりも大きい3.8倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）との併用により、サイトカインIL-10についても、相乗作用による特に良好な増加作用が認められる。

【0042】

図8は、実験開始後14日の4つのNT1群のマウス（無担癌マウス）について測定した、サイトカインIL-12の血中濃度を示すグラフである。

NT1-C群（無担癌マウス／コントロール群）の血中濃度（ 9.7 pg/ml ）に比して、NT1-F群（無担癌マウス／乳酸菌単独投与群）は、1.8倍の濃度であった。

これに対し、NT1-M群（無担癌マウス／芽粉末単独投与群）では、NT1-C群に比して、IL-12が2.7倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）に比して良好な、サイトカインIL-12の増加作用が認められる。

そして特に、NT1-F+M群（無担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、NT1-C群に比して、IL-12が4.86倍（ $=1.8 \times 2.7$ ）よりも大きい5.1倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F1乳酸菌）との併用により、サイトカインIL-12についても、相乗作用による特に良好な増加作用が認められる。

【0043】

10

20

30

40

50

図 9 は、実験開始後 14 日の 4 つの NT 1 群のマウス（無担癌マウス）について測定した、サイトカイン（インターフェロン）IFN- の血中濃度を示すグラフである。

NT 1 - C 群（無担癌マウス / コントロール群）の血中濃度（ 1.6 pg/ml ）に比して、NT 1 - F 群（無担癌マウス / 乳酸菌単独投与群）は、1.3 倍の濃度であった。

これに対し、NT 1 - M 群（無担癌マウス / 芽粉末単独投与群）では、NT 1 - C 群に比して、IFN- が 1.5 倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F 1 乳酸菌）に比して良好な、インターフェロン IFN- の増加作用が認められる。

そして特に、NT 1 - F + M 群（無担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群）では、NT 1 - C 群に比して、IFN- が 1.95 倍（ $= 1.3 \times 1.5$ ）よりも大きい 2.7 倍に増加していた。このことから、芽粉末飼料（芽粉末）には、乳酸菌水（F 1 乳酸菌）との併用により、インターフェロン IFN- についても、相乗作用による特に良好な増加作用が認められる。

【0044】

これらから、芽粉末飼料（芽粉末）の摂取は、サイトカイン IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IFN- のいずれについても、良好な増加作用を示しており、芽粉末飼料（芽粉末）に摂取による、免疫能活性化効果が認められる。特に、乳酸菌水（F 1 乳酸菌）との併用には、相乗的な免疫能活性化効果が認められる。なお、この免疫能活性化効果は、マウスのみならず、ヒトを含む哺乳類についても同様に生じると推察される。

【0045】

（脱毛抑制効果の確認）

C57BL/6 マウスは、一般に、14 週齢程度飼育すると、背中や脇腹に脱毛したり白毛が発生したマウスが現れるようになる。

NT 1 - F + M 群（無担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群）のマウスのうち、実験開始から 45 日目（14 週齢）のマウスを写真撮影し、拡大写真上で形状補正をして、脱毛あるいは白毛となった部分の面積である脱毛面積（ mm^2 ）を計測した。NT 1 - C 群（無担癌マウス / コントロール群）のマウスのうち、実験開始から 45 日目（14 週齢）のマウスについても、同様に、脱毛面積を計測した。試料数は、それぞれ 7 である。

【0046】

その結果を、図 10 に示す。この図 10 のグラフによれば、NT 1 - C 群（無担癌マウス / コントロール群）のマウスでは、脱毛面積が平均で $2.7 \pm 6 \text{ mm}^2$ であるのに対し、NT 1 - F + M 群（無担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群）のマウスでは、1/12 以下の $2.2 \pm 0.4 \text{ mm}^2$ であった。

また、図 11 に NT 1 - F + M 群のマウスの写真を、図 12 に NT 1 - C 群のマウスの写真を示す。この写真を比較すれば理解できるように、図 12 の NT 1 - C 群のマウスでは、明らかに背中に白毛が生じているほか、脇腹部分に脱毛も観察される。毛並みも NT 1 - F + M 群のマウス（図 11 参照）に比して悪いことが判る。一方、図 11 の NT 1 - F + M 群のマウスは、毛並みがつややかであり、脱毛や白毛も殆どないことが判る。なお、写真や脱毛面積で示していないが、NT 1 - M 群（無担癌マウス / 芽粉末単独投与群）のマウスについても、NT 1 - F + M 群のマウス程ではないが、NT 1 - C 群のマウスに比して、脱毛や白毛の発生が抑制され、毛並みも良好になる。

【0047】

これらの結果から明らかなように、芽粉末飼料投与群の NT 1 - M 群及び NT 1 - F + M 群のマウスでは、脱毛及び白毛の発生を抑制でき、毛並みも良好にできる。さらに、芽粉末 + 乳酸菌併用群である NT 1 - F + M 群のマウスでは、脱毛及び白毛を顕著に抑制できること、また、毛並みを極めて良好に保ちうることが判る。なお、この脱毛抑制効果も、マウスのみならず、ヒトを含む哺乳類についても同様に生じると推察される。

【0048】

（第 2 実験）

前述の第 1 実験では、比較的多量（ 5.0×10^5 個）の腫瘍移植を行ったマウス（L

10

20

30

40

50

ＬＣ担癌マウス）について、腫瘍体積Ｖの推移を観察した。

これに対し、第２実験では、比較的少量（ 3.0×10^5 個、 1.5×10^5 個）の腫瘍移植を行ったマウス（ＬＬＣ担癌マウス）を用いて、芽粉末飼料の投与、及び乳酸菌水の投与による、腫瘍体積Ｖの抑制状況を観察した。

【００４９】

具体的には、前述した腫瘍移植を行ったＴ３群（ＬＬＣ担癌マウス）を２群に分け、Ｔ１．５群のマウス（ＬＬＣ担癌マウス）を２群に分けると共に、２群の腫瘍移植を行っていないＣ５７ＢＬ／６マウス（無担癌マウス）と同様に飼育し、腫瘍体積を測定した。各群とも、１５匹／群のＣ５７ＢＬ／６マウスである。

< 無担癌マウス：ＮＴ２群 >

- ・ ＮＴ２ - Ｃ群：無担癌マウス／コントロール群（一般飼料・水投与群）
- ・ ＮＴ２ - Ｆ＋Ｍ群：無担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群（芽粉末飼料・乳酸菌水投与群）

< 担癌マウス：Ｔ３群（ 3×10^5 個移植） >

- ・ Ｔ３ - Ｃ群：担癌マウス／コントロール群（一般飼料・水投与群）
- ・ Ｔ３ - Ｆ＋Ｍ群：担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群（芽粉末飼料・乳酸菌水投与群）

< 担癌マウス：Ｔ１．５群（ 1.5×10^5 個移植） >

- ・ Ｔ１．５ - Ｃ群：担癌マウス／コントロール群（一般飼料・水投与群）
- ・ Ｔ１．５ - Ｆ＋Ｍ群：担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群（芽粉末飼料・乳酸菌水投与群）

【００５０】

なお、第１実験と同じく、コントロール群（ＮＴ２ - Ｃ群，Ｔ３ - Ｃ群，Ｔ１．５ - Ｃ群）のマウスには、一般飼料であるマウス飼育固形飼料（ＭＦ）、及び、水（水道水）を投与して飼育した。また、芽粉末飼料・乳酸菌水投与群（ＮＴ２ - Ｆ＋Ｍ群，Ｔ３ - Ｆ＋Ｍ群，Ｔ１．５ - Ｆ＋Ｍ群）のマウスには、連日、前述の乳酸菌水 0.3 mL を、金属ゾンデにより強制経口投与し、 1.0×10^7 個／day／匹のＦ１乳酸菌 10^7 個相当）を摂取させたほか、前述の芽粉末飼料を、連日、自由摂取（ $1.3 \sim 1.5$ g／day／匹）させた。

【００５１】

（腫瘍体積の測定）

腫瘍の成長状態を腫瘍の体積で数値化した。腫瘍の体積Ｖは、第１実験と同じく、各マウスの腫瘍を、回転楕円体と見た場合の長径Ｄ１及び短径Ｄ２を計測し、腫瘍の体積Ｖを算出した。

【００５２】

（抗腫瘍効果の評価）

Ｔ３群及びＴ１．５群の各マウスについて、腫瘍の体積Ｖを連日測定し、体積Ｖの時間的变化、従って、芽粉末＋乳酸菌併用の場合の抗腫瘍効果について評価した。結果を図１３に示す。なお、各群のデータは、１５匹の平均値である。

【００５３】

腫瘍体積Ｖが 36 mm^3 に達するのに要する日数で評価すると、Ｔ３ - Ｃ群（担癌マウス／コントロール群）のマウスでは 9.3 日であった。これに対し、Ｔ３ - Ｆ＋Ｍ群（担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、Ｔ３ - Ｃ群に比して、1.8 倍の 17.0 日であった。

一方、移植腫瘍細胞数が少ないＴ１．５ - Ｃ群（担癌マウス／コントロール群）では、13.5 日であった。これに対し、Ｔ１．５ - Ｆ＋Ｍ群（担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、Ｔ１．５ - Ｃ群に比して、1.8 倍の 24.0 日であった。

これらから、芽粉末と乳酸菌とを併用するＴ３ - Ｆ＋Ｍ群及びＴ１．５ - Ｆ＋Ｍ群（担癌マウス／芽粉末＋乳酸菌併用群）では、Ｔ５群（第１実験）と同様、高い抗腫瘍効果が認められる。

【００５４】

特に、腫瘍細胞を比較的少量の 1.5×10^5 個移植した T 1.5 - F + M 群（担癌マウス / 芽粉末 + 乳酸菌併用群）のマウスでは、実験開始後 24 日までは腫瘍が成長したが、それ以降、腫瘍が縮小した。37 日後には、腫瘍が消滅したマウスも出現したほか、T 1.5 - F + M 群の他のマウスにおいても、顕著な抗腫瘍効果、即ち、腫瘍の縮小が観察された。

【0055】

これらから、芽粉末飼料（芽粉末）と乳酸菌水（F 1 乳酸菌）とを併用すると、きわめて良好な抗腫瘍効果が得られることが判る。特に、腫瘍細胞の数が少ない初期段階において、顕著な抗腫瘍効果（腫瘍縮小、腫瘍消滅）が得られることが判る。なお、このような抗腫瘍効果は、マウスのみならず、ヒトを含む哺乳類についても同様に生じると推察される。

10

【0056】

（粉末配合物の製造方法）

次いで、本件の芽粉末、及び、この芽粉末を配合した粉末配合物の製造について、図 1 を参照して説明する。まず、ステップ S 1 に示すように、培地（本例では、菌床吊り下げ方式で栽培した菌床）に生えた椎茸菌子実体の芽を収穫する。次いで、ステップ S 2 では、椎茸菌子実体の芽を小さく裁断し、50 以下の温風・遠赤外線併用乾燥により乾燥した後、粉碎して、椎茸菌子実体の芽を粉碎した粉末（芽粉末）を得た。この芽粉末も、本件の粉末配合物の 1 つである。

【0057】

20

さらに、ステップ S 3 においては、飲食物、具体的には、栄養補助食品としての錠剤を形成する。具体的には、芽粉末、及び、F 1 乳酸菌の乾燥粉末のほか、結合剤（デンプン糊やアラビアゴム糊など）、崩壊剤（デンプンやセルロース類など）、及び滑沢剤（ステアリン酸マグネシウムなどのワックスやタルクなど）を混合し、圧縮成形して、錠剤とする。かくして、錠剤の形態の粉末配合物を得られる。

【0058】

以上において、本発明を実施形態に即して説明したが、本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲で、適宜変更して適用できることはいうまでもない。

例えば、錠剤の成形にあたり、賦形剤（乳糖やデンプンなど）を併せて用いて、錠剤を成形しても良い。また、胃酸で不溶性のコーティング剤で被膜して腸溶錠とすることもできる。また、上記の実施形態では、芽粉末と F 1 乳酸菌の乾燥粉末とを混合して、錠剤に成形した。しかし、芽粉末のみを有効成分として、錠剤に成形しても良い。また逆に、芽粉末及び F 1 乳酸菌の乾燥粉末のほかに、ビタミン、ミネラルその他の有効成分をも含めても良い。

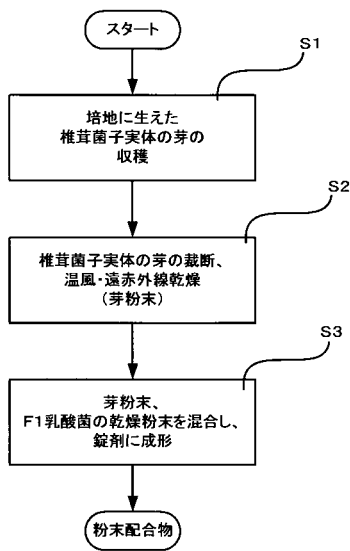
30

【0059】

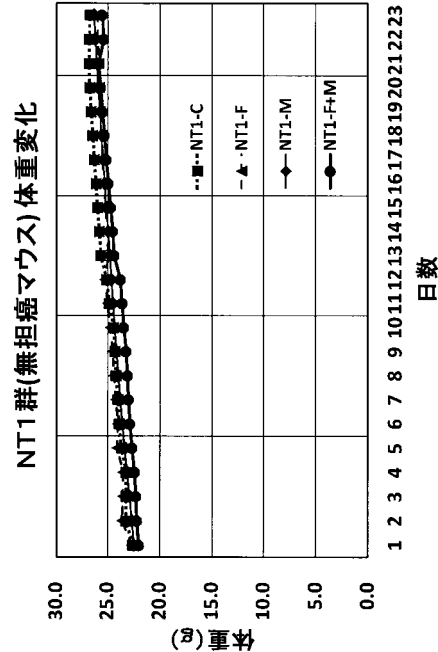
また、錠剤の剤形に限らず、粉末のまま用いるほか、顆粒、カプセル剤、ペースト、シロップの形態としても良い。また、例えば、芽粉末を添加した魚肉ソーセージ、芽粉末及び F 1 乳酸菌を添加した清涼飲料水など、各種の形態の飲食物とすることもできる。但し、相乗効果に鑑みると、芽粉末のほかに、F 1 乳酸菌を含む飲食物、医薬品、医薬部外品、哺乳類用医薬品、または、哺乳類用えさとしての粉末配合物とするのが好ましい。

40

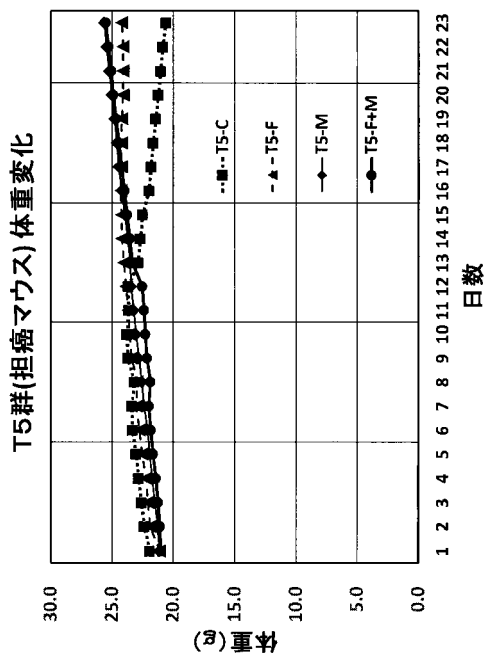
【 図 1 】



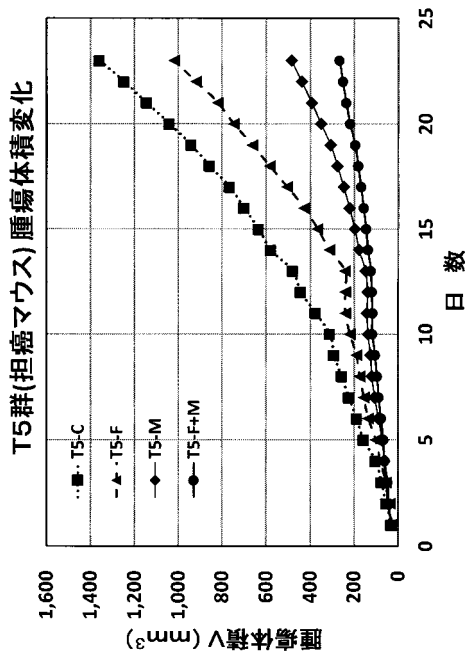
【 図 2 】



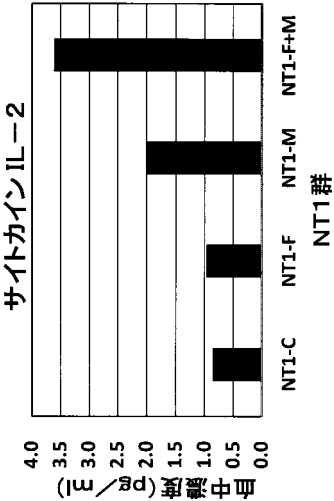
【 図 3 】



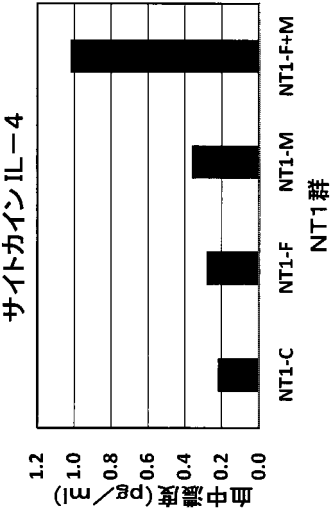
【 図 4 】



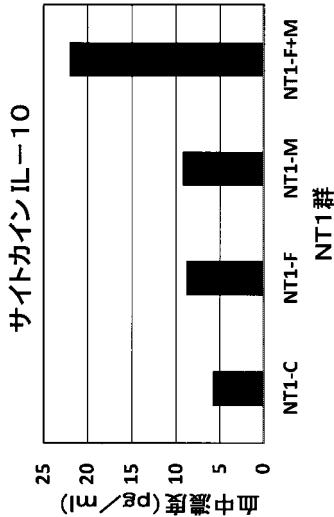
【 図 5 】



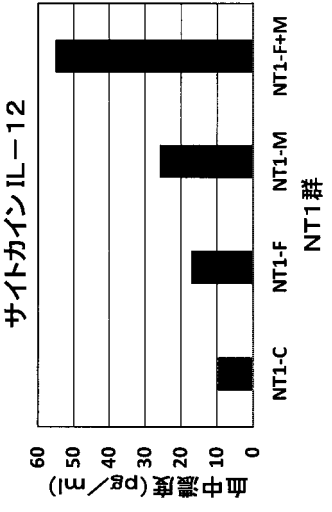
【 図 6 】



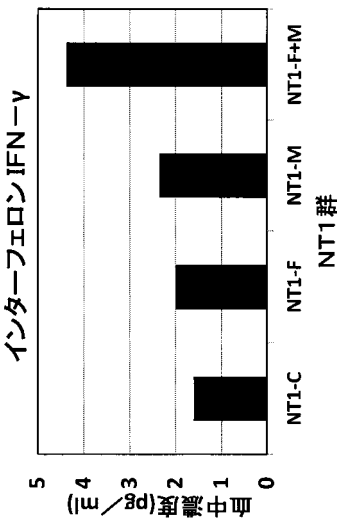
【 図 7 】



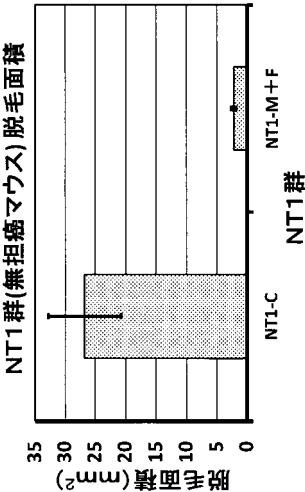
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 1 0 】



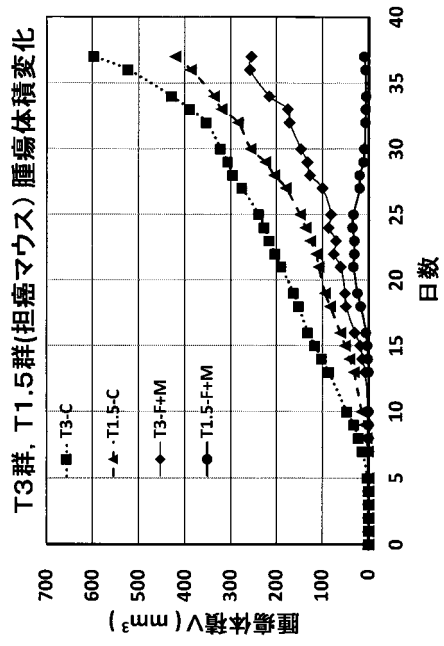
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



【図 13】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 2 3 L	33/135	(2016.01)	A 2 3 L	33/135
A 2 3 K	10/30	(2016.01)	A 2 3 K	10/30
A 2 3 K	10/10	(2016.01)	A 2 3 K	10/10

F ターム(参考) 4B018 LE03 MD83 MD86 MF02 MF07 MF13
4C087 AA01 AA02 BC56 NA05 NA14 ZA89 ZB26
4C088 AA02 AC17 NA05 NA14 ZA89 ZB26