



BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,

CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

血管不全改善剤

技術分野

- [0001] 本発明は、有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全の改善・治療・予防剤および血管内皮細胞保護剤、有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全の改善・治療・予防作用および血管内皮細胞保護作用を有する飲食物、ならびに有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全の改善・治療・予防作用および血管内皮細胞保護作用を有する動物用飼料に関する。

背景技術

- [0002] 近年、食事の高カロリー化や生活習慣の変化、ストレス、運動不足などの原因によって生活習慣病が増加しており、大きな社会問題となっている。特に、生活習慣病が高じた結果発病する心疾患、脳血管障害、腎不全、糖尿病などが死亡原因の30%以上を占め、今後も高まっていく傾向にある。死亡原因とならならないまでも、メタボリックシンドローム、高血圧症、心血管障害、高脂血症、動脈硬化、糖尿病等の種々の疾病は、腎障害、視力障害、神経障害、抵抗力低下等の合併症を併発し、生活の質を大きく低下させる。これらの疾患は、血管不全による障害によって生じ、具体的には、体内の過酸化脂質や活性酸素などの攻撃物質が血管内皮細胞を損傷させ、さらに血管組織内部を損傷させることが原因である。これらの初期の引金になるのが細胞の酸化ストレスであることが分かってきた。また、血管内皮細胞は単に血管内腔の内面を覆い血管組織を保護するだけでなく、血管内腔から内皮下への物質移送機能、血圧調整、血流調整、血液凝固等の生命維持に直結する機能や因子に関わる全身にわたる内分泌器官であり、その保護は重要である。
- [0003] 近年、 β -カロテンと同じカロテノイドの一種で、エビ、カニ等の甲殻類、サケ、タイ等の魚類、緑藻ヘマトコッカス等の藻類、赤色酵母ファフィア等の酵母類等、天然、特に海洋に広く分布する食経験豊かな赤色色素であるアスタキサンチンが、ビタミン

Eの約500倍、 β -カロテンの約40倍もの強力な抗酸化作用を有することが見いだされ、従来単なる色素として扱われていた時代から、現在アスタキサンチンは健康食品として業界から期待されるまでに至っている。

- [0004] アスタキサンチンの有するその他の機能特性として、抗炎症作用、抗動脈硬化作用、記憶能力向上作用、日周リズム調節作用、免疫賦活作用、抗ストレス作用、筋肉持続力向上作用、光障害に対する網膜保護作用、目の調節機能改善作用、精子の質向上作用など数多くの報告がなされている。
- [0005] トコリエノールは麦類、米糠、パーム油等に含まれるトコフェロール近縁化合物で、トコフェロールの側鎖部分に二重結合が3個入った構造を有する。これも上述のアスタキサンチン同様食経験豊富な天然物である。トコリエノールの生理活性については、アスタキサンチン同様抗酸化作用があげられる。その作用はトコフェロールの約50倍ともいわれている。
- [0006] トコリエノールは、その他の機能として、コレステロール低下作用、動脈硬化改善作用、乳がん細胞増殖抑制作用等が報告されており、ごく最近では、血管新生抑制作用、全血流動性改善作用、赤血球膜変形能改善作用等トコフェロールにはない新たな機能性が発見されてきている。また、欧米では次世代のビタミンEとして化粧品等外用においても広く使用されている。このトコリエノールは、天然物の圧搾、天然物からの抽出、合成などの方法で得られる。一般的にはヤシ科植物の果皮および／または種子から抽出される。天然物の抽出物から得られるトコリエノールは複数のトコリエノール異性体の混合物である。これらは抗酸化作用を利用して、食品添加物、化粧品等への応用がなされている。
- [0007] アスタキサンチンを添加してなる飲食物が、血清中の低比重リポタンパク(LDL)の酸化を抑制することによって動脈硬化、虚血性心疾患又は虚血性脳障害を抑制の効果を有することが知られている(特許文献1)。アスタキサンチンが赤血球の酸化的損傷抑制、赤血球の硬化防止、赤血球の安定化に効果があることが知られている(特許文献2)。
- [0008] しかしながら、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上を投与することにより、血管内皮細胞を保護し、血管不全を改善・治療・予防するというこ

は知られていない。

特許文献1: 日本国特開平第10-155459号公報

特許文献2: 日本国特開第2002-226368号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決するべく、血管不全の改善や血管内皮細胞を保護する物質を探索した結果、アスタキサンチンおよびトコリエノール類が血管不全の改善や血管内皮細胞を保護する作用があることを見出した。本発明は、かかる知見に基づき完成されたものであり、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を有効成分とする血管内皮細胞保護剤及び血管不全改善剤、有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を含有する血管内皮細胞保護作用及び血管不全改善作用を有する飲食物ならびに動物用飼料を提供するものである。

[0010] 本発明は、有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善剤及び血管内皮細胞保護剤、並びに血管不全改善作用及び血管内皮細胞保護作用を有するアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有する飲食物ならびに動物用飼料を提供することを目的とする。本発明の薬剤、飲食物ならびに動物用飼料は、血管不全改善や血管内皮細胞保護することにより、血管不全や血管内皮細胞の損傷や破壊によって生じる疾病の改善、治療、抑制および予防に有用である。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは上記課題を解決するために鋭意研究した結果、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上投与すると血管不全改善作用及び血管内皮細胞保護作用を示すことを見出した。本発明はかかる知見に基づくものである。

[0012] 即ち、本発明は、(1) 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善剤であり、
(2) 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護剤であり、
(3) 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含

有することを特徴とする血管不全改善作用を有する飲食であり、

(4)有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護作用を有する飲食物であり、

(5)有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善作用を有する動物用飼料であり、

(6)有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護作用を有する動物用飼料である。

発明の効果

[0013] 本発明において「アスタキサンチン」とは、天然物由来のものまたは合成により得られるものを意味する。天然物由来のものとしては、例えば、エビ、オキアミ、カニなどの甲殻類の甲殻、卵および臓器、種々の魚介類の皮および卵、緑藻ヘマトコッカスなどの藻類、赤色酵母ファフィアなどの酵母類、海洋性細菌、福寿草および金鳳花などの種子植物から得られるものをあげることができる。天然からの抽出物および化学合成品は市販されており、入手は容易である。

[0014] アスタキサンチンは、例えば、赤色酵母ファフィア、緑藻ヘマトコッカス、海洋性細菌などを、公知の方法に準拠して、適宜な培地で培養することにより得られる。培養や抽出のしやすさ、アスタキサンチンを最も高濃度で含有することや生産性の高さから緑藻ヘマトコッカスが最も好適である。ヘマトコッカス緑藻類のアスタキサンチン含量の高いものを得る培養方法としては、異種微生物の混入・繁殖がなく、その他の夾雑物の混入が少ない密閉型の培養方法が好ましく、例えば、一部解放型のドーム形状、円錐形状又は円筒形状の培養装置と装置内で移動自在のガス吐出装置を有する培養基を用いて培養する方法(国際公開第99/50384号公報)や、密閉型の培養装置に光源を入れ内部から光を照射して培養する方法、平板状の培養槽で培養する方法が適している。

[0015] 前記培養物または前記甲殻類から抽出および精製する方法については種々の方法が知られている。例えば、アスタキサンチン及びそのエステルは油溶性物質であることから、アスタキサンチンを含有する天然物からアセトン、アルコール、酢酸エチル、ベンゼン、クロロホルムなどの油溶性有機溶媒でアスタキサンチン含有成分を抽出

することができる。また、二酸化炭素や水などを用い超臨界抽出を行うこともできる。抽出後、常法に従って溶媒を除去してモノエステル型のアスタキサンチンとジエステル型のアスタキサンチンの混合濃縮物を得ることができる。得られた濃縮物は、所望により分離カラムやリパーゼ分解によりさらに精製することができる。

- [0016] 前記のドーム型培養装置や密閉型の培養装置で培養したヘマトコッカス藻を乾燥させ、粉碎後にアセトンで抽出または、アセトン中で粉碎と抽出を同時に行ったのち、アセトンを除去してアスタキサンチン抽出する製法が、夾雑物が少なく、アスタキサンチンとトリグリセリドを純度良く多く含むことができ好適である。
- [0017] アスタキサンチンの使用形態としては、前記方法で得たアスタキサンチンの抽出物およびそれらを含有了粉末や水溶液、または赤色酵母ファフィア、緑藻ヘマトコッカス、海洋性細菌などの乾燥品およびそれらの破砕品を用いることができる。
- [0018] アスタキサンチンは、3, 3'-ジヒドロキシ- β , β -カロテン-4, 4'-ジオンであり、立体異性体を有する。具体的には、(3R, 3'R)-アスタキサンチン、(3R, 3'S)-アスタキサンチンおよび(3S, 3'S)-アスタキサンチンの3種の立体異性体が知られているが、本発明にはそのいずれも用いることができる。
- [0019] 本発明の記載で、特に記載がない限り、アスタキサンチンはアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含む。さらに、アスタキサンチンのエステルにはモノエステル体及び／又はジエステル体を含む。
- [0020] アスタキサンチンは突然変異原性が観察されず、安全性が高い化合物であることが知られて、食品添加物として広く用いられている(高橋二郎ほか:ヘマトコッカス藻アスタキサンチンの毒性試験—Ames試験、ラット単回投与毒性試験、ラット90日反復経口投与性毒性試験—, 臨床医薬, 20:867-881, 2004.)。
- [0021] 本発明のアスタキサンチンを有効成分とする薬剤には、アスタキサンチンの遊離体、モノエステル体、ジエステル体の少なくとも一種を用いることができる。ジエステル体は2つの水酸基がエステル結合により保護されているため物理的に遊離体やモノエステル体よりも安定性が高く飼料中で酸化分解されにくい。しかし、生体中に取り込まれると生体内酵素により速やかに遊離体のアスタキサンチンに加水分解され、効果を示すものと考えられている。

- [0022] アスタキサンチンのモノエステルとしては、低級または高級飽和脂肪酸、あるいは低級または高級不飽和脂肪酸によりエステル化されたエステル類をあげることができる。前記低級または高級飽和脂肪酸、あるいは低級または高級不飽和脂肪酸の具体例としては、酢酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、ヘプタデカン酸、エライジン酸、リシノール酸、ベトロセリン酸、バクセン酸、エレオステアリン酸、プニシン酸、リカン酸、パリナリン酸、ガドール酸、5-エイコセン酸、5-ドコセン酸、セトール酸、エルシン酸、5, 13-ドコサジエン酸、セラコール酸、デセン酸、ステリング酸、ドデセン酸、オレイン酸、ステアリン酸、エイコサオペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸などをあげることができる。また、アスタキサンチンのジエステルとしては前記脂肪酸からなる群から選択される同一または異種の脂肪酸によりエステル化されたジエステル類をあげることができる。
- [0023] さらに、アスタキサンチンのモノエステルとしては、グリシン、アラニンなどのアミノ酸；酢酸、クエン酸などの一価または多価カルボン酸；リン酸、硫酸などの無機酸；グルコシドなどの糖；グリセロ糖脂肪酸、スフィンゴ糖脂肪酸などの糖脂肪酸；グリセロ脂肪酸などの脂肪酸；グリセロリン酸などによりエステル化されたモノエステル類をあげることができる。なお、考えられ得る場合は前記モノエステル類の塩も含む。
- [0024] アスタキサンチンのジエステルとしては、前記低級飽和脂肪酸、高級飽和脂肪酸、低級不飽和脂肪酸、高級不飽和脂肪酸、アミノ酸、一価または多価カルボン酸、無機酸、糖、糖脂肪酸、脂肪酸およびグリセロリン酸からなる群から選択される同一または異種の酸によりエステル化されたジエステル類をあげることができる。なお、考えられ得る場合は前記ジエステル類の塩も含む。グリセロリン酸のジエステルとしては、グリセロリン酸の飽和脂肪酸エステル類、または高級不飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸または飽和脂肪酸から選択される脂肪酸類を含有するグリセロリン酸エステル類などをあげることができる。
- [0025] 本発明において「トコリエノール類」とは、トコリエノールの異性体や誘導体、トコフェロールの異性体や誘導体を含み、天然物由来のものまたは合成により得られるものを意味する。

- [0026] トコリエノールとしては、 α -トコリエノール、 β -トコリエノール、 γ -トコリエノール、 δ -トコリエノール、これらの各異性体のニコチン酸、酢酸、コハク酸などのエステルなどを意味する。これらのトコリエノールには、d-、l-、dl-型の異性体がある。また、これらの1種以上または2種以上の混合物としても使用することができる。
- [0027] これらのトコリエノールは、常法により、例えば、天然物の圧搾、天然物からの抽出または合成などの方法により得ることができる。これらのトコリエノール類は、所望により、例えば、カラムクロマトグラフィーなどにより、さらに分離精製し、純度を良くしたものであってもよい。
- [0028] トコフェロールとしては、トコフェロールおよびそれらの誘導体であり、それらを1種以上が含まれているオイルであり、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 δ -トコフェロール、これらの各異性体のニコチン酸、酢酸、コハク酸などのエステルなどを意味する。これらのトコフェロールには、d-、l-、dl-型の異性体がある。また、これらの1種以上または2種以上の混合物としても使用することができる。
- [0029] 本発明において血管不全とは、血管内皮機能不全のほか、血管平滑筋機能不全、血管代謝不全などの総称である。具体的な障害としては、内皮依存性平滑筋弛緩障害による血管攣縮、接着分子発現増加による単球接着、線溶系低下による血栓形成があげられる。
- [0030] 以下に本発明を具体的に述べる。本発明において「血管不全改善」とは、各種の要因によって様々に引き起こされている血管機能の障害を改善・治療・予防する効果であり、たとえば血管内皮細胞が有している機能である各種臓器からの信号やストレスを感知して血流を調整すること、血管損傷時の修復機能、各種の内分泌、血管内腔と内皮下との間での各種物質移送機能、血液中の攻撃物質から血管内皮下組織への防御などの障害を改善・治療・予防する効果である。より具体的には、内皮依存性平滑筋弛緩障害による血管攣縮、接着因子発現増加による単球接着、線溶系低下などの血管内皮機能の改善・治療・予防である。血管内皮細胞保護とは、血液中の過酸化脂質、活性酸素などの攻撃物質、高血圧などによる物理的な攻撃から血管内皮細胞を保護する効果である。

[0031] 本発明の血管不全改善剤および血管内皮細胞保護剤は、経口または非経口で投与することができる。経口用の剤形としては、例えば、錠剤、口腔内速崩壊錠、カプセル、顆粒、細粒などの固形投薬形態、シロップおよび懸濁液のような液体投薬形態で投与される。非経口の剤形としては、注射剤、点眼剤、点鼻剤、貼付剤、軟膏剤、坐剤の形態で投与される。リピッド分散型の製剤は血中濃度の増加に有効である。

[0032] 本発明の血管不全改善剤および血管内皮細胞保護剤は、一般製剤の製造に用いられる種々の添加剤を適当量含んでもよい。このような添加剤として、例えば賦形剤、結合剤、酸味料、発泡剤、人工甘味料、香料、滑沢剤、着色剤、安定化剤、pH調整剤、界面活性剤などが挙げられる。賦形剤としては、例えばトウモロコシデンプン、馬鈴薯デンプン、コムギコデンプン、コメデンプン、部分アルファー化デンプン、アルファー化デンプン、有孔デンプン等のデンプン類、乳糖、ショ糖、ブドウ糖などの糖、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、ソルビトール、マルチトールなどの糖アルコール、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、ハイドロタルサイト、無水リン酸カルシウム、沈降炭酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、軽質無水ケイ酸などの無機化合物などがあげられる。結合剤としては、例えば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、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム末、ゼラチン、プルランなどが挙げられる。崩壊剤としては、例えばデンプン、寒天、カルメロースカルシウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、結晶セルロースなどがあげられる。酸味剤としては、例えばクエン酸、酒石酸、リンゴ酸、アスコルビン酸などがあげられる。発泡剤としては、例えば炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウムなどが挙げられる。甘味料としては、例えばサッカリンナトリウム、グリチルリチン二カリウム、アスパルテーム、ステビア、ソーマチンなどが挙げられる。香料としては、例えばレモン油、オレンジ油、メントールなどが挙げられる。滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール、タルク、ステアリン酸、フマル酸ステアリルナトリウムなどが挙げられる。着色剤としては、例えば食用黄色5号、食用赤色2号、食用青色2号などの食用色素、食用レーキ色素、三二酸化鉄などが挙げられる。安定化剤としては、エデト酸ナトリウム、トコフェロール、シクロデキストリン等が挙げられる。pH調整剤としては、クエン酸塩、リン酸塩、炭酸

塩、酒石酸塩、フマル酸塩、酢酸塩、アミノ酸塩などが挙げられる。界面活性剤として、ポリソルベート80、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ナトリウムカルボキシルメチルセルロース、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、アラビアガム、粉末トラガントなどがあげられる。アスタキサンチンやトコリエノールの吸収や製剤化を良くするためには粉末状態にして配合することが好ましい。

[0033] シロップ、ドリンク剤、懸濁液、点眼剤、注射剤などの液剤は、有効成分を必要に応じてpH調製剤、緩衝剤、溶解剤、懸濁剤等、張化剤、安定化剤、防腐剤などの存在下、常法により製剤化することができる。懸濁剤としては、例えば、ポリソルベート80、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ナトリウムカルボキシルメチルセルロース、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、アラビアガム、粉末トラガントなどを挙げることができる。溶解剤としては、例えば、ポリソルベート80、水添ポリオキシエチレンヒマシ油、ニコチン酸アミド、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、マクロゴール、ヒマシ油脂肪酸エチルエステルなどを挙げることができる。安定化剤としては、例えば亜硫酸ナトリウム、メタ亜硫酸ナトリウムなどを挙げることができる。防腐剤としては、例えば、*p*-ヒドロキシ安息香酸メチル、*p*-ヒドロキシ安息香酸エチル、ソルビン酸、フェノール、クレゾール、クロロクレゾールなどを挙げることができる。

[0034] 本発明の血管不全改善および血管内皮細胞保護効果を高めるため、抗酸化能を有する物質を添加することができる。抗酸化剤は、本発明の医薬剤中のアスタキサンチンやトコリエノール類の酸化を抑制すること、生体中でのアスタキサンチンやトコリエノール類の酸化を抑制することなどによりアスタキサンチンやトコリエノール類の効果を高めるものと考えられる。抗酸化剤は特に限定されるものでなく、抗酸化作用を有するものであれば適用可能である。例えば、グルタチオン、レチノール、3, 4-ジデヒドロレチノールなどのビタミンA類; ビタミンB; D-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸などのビタミンC類; トコフェロール、トコリエノール、酢酸ビタミンE、コハク酸ビタミンE、リン酸ビタミンE類などのビタミンE類; β -カロチン、ルテインなどのカロテノイド類及びこれらの薬学的に許容できる塩; コエンザイムQ、フラボノイド、タンニン、エラグ酸、ポリフェノール類、核酸類、漢方薬類、海草類、無機物など、並びにそれらの混合物からなる群から1種または2種以上選択することができる。好ましくはグルタ

チオンである。また、これらを含んだ果実や藻類、菌類などを配合することによっても、同様の効果を得ることができる。抗酸化能を有する物の配合量は、アスタキサンチンおよび／またはトコリエノールの合計量に対して、0.01～1000倍、好ましくは0.1～100倍である。

- [0035] また、皮膚外用剤の形態には、上記成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色剤、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。
- [0036] 本発明の血管不全改善剤および内皮細胞保護剤に用いられるアスタキサンチンの量は、アスタキサンチン遊離体換算量で、成人では1日あたり、0.5～100mg、好ましくは1～20mgの服用量で経口投与または非経口投与で行う。投与量は、投与される患者の年齢、体重、症状の程度、投与形態によって異なる。本発明の医薬品におけるアスタキサンチン量は0.01～99.9重量%、好ましくは0.1～90重量%の量で含有させることができる。
- [0037] 本発明の血管不全改善剤・内皮細胞保護剤に用いられるトコリエノール類の量は、トコリエノールやトコフェロールおよびその誘導体によって異なるが、成人では1日あたり、0.5～300mg、好ましくは1～20mgの服用量で経口投与または非経口投与で行う。投与量は、投与される患者の年齢、体重、症状の程度、投与形態によって異なる。本発明の医薬品におけるトコリエノールの量は0.01～99.9重量%、好ましくは0.1～90重量%の量で含有させることができる。
- [0038] 本発明の血管不全改善剤・内皮細胞保護剤にアスタキサンチンとトコリエノール類を両方配合する場合は、アスタキサンチン1重量部に対してトコリエノール類が0.1～20重量部、好ましくは0.5～10重量部の割合で配合することができる。本発明の医薬品におけるアスタキサンチンとトコリエノール類の合計の配合量は0.01～99.9重量%、好ましくは0.1～90重量%の量で含有させることができる。
- [0039] 血管不全改善剤および血管内皮細胞保護剤により、血管の保護や血管が生産している因子を調節できるため、これらの異常が原因であると言われている疾患、例えば、動脈硬化、高血圧、糖尿病、ガン、高脂血症、リュウマチ、痛風、脳卒中、虚血性

心疾患、肺気腫、胃潰瘍、胃炎、肝炎、膵炎、腎炎、その他の炎症性疾患、白内障、アルツハイマー病、老化、糖尿病の合併症である神経障害、網膜障害、腎症、大血管障害および血液疾患に関する疾病の治療・改善・予防効果も有している。神経障害においては、突発性の難聴、眼や顔面の異常(麻痺や痛み)、起立性低血圧、発汗の異常、下痢や便秘(消化器症状)、排尿障害、四肢の痛み、知覚の異常、ED、眼精疲労、筋肉疲労、筋肉の委縮、うつ病の治療・改善・予防に効果がある。網膜障害においては、黄斑変性、緑内障、白内障、単純網膜症、前増殖網膜症および増殖網膜症の治療・改善・予防に効果がある。免疫系の疾患としては、自己免疫疾患(アレルギー性疾患、寄生虫感染症、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、ベーチェット病など)、ウイルスまたは細菌感染症、悪性腫瘍(形質細胞腫、多発性骨髄腫、癌悪液質、心房粘液腫、骨髄腫、リンパ腫など)、HVG病あるいは後天性免疫不全症候群、カポシ肉腫、閉経後骨粗鬆症、炎症性皮膚疾患(炎症性角化症、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎など)、炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎など)、炎症性肝疾患(B型肝炎、C型肝炎、アルコール性肝炎、薬物アレルギー性肝炎など)、炎症性腎疾患(糸球体腎炎など)、炎症性呼吸器疾患(喘息、慢性閉塞性肺疾患、気管支炎など)の治療・改善・予防に効果がある。

[0040] 本発明のその他の用途としては、血管細胞保護効果を有することから、臓器保存剤及び保護剤として用いることができる。保存剤及び保護剤の使用対象とされる臓器は、ヒト及び動物のあらゆる臓器であり、例えばヒト及び動物の心臓、腎臓、膵臓、肺及び肝臓等を挙げることができる。臓器移植手術時に臓器提供者(ドナー)より摘出された臓器の保存において、その臓器の障害を最小限に食い止めるために、保存液中または灌流液中に添加して使用することができる。また臓器移植後の拒絶反応を抑制または予防するための臓器保護剤として移植患者に投与することもできる。さらに本発明の保存剤を使用すれば、摘出臓器を劣化させずに保存することができ、移植後まで臓器の機能を維持することが可能である。尚、移植の目的として臓器を摘出して保存する場合は、前もってドナーにあらかじめ投与し、血管細胞を健常に保っておくことが有効である。

[0041] 本発明は、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有する

ことを特徴とする血管不全改善作用および血管内皮細胞保護作用を有する飲食物も含まれる。

[0042] 飲食物の形態例としては、マーガリン、バター、バターソース、チーズ、生クリーム、ショートニング、ラード、アイスクリーム、ヨーグルト、乳製品、ソース肉製品、魚製品、漬け物、フライドポテト、ポテトチップス、スナック菓子、かきもち、ポップコーン、ふりかけ、チューインガム、チョコレート、プリン、ゼリー、グミキャンディー、キャンディー、ドロップ、キャラメル、パン、カステラ、ケーキ、ドーナツ、ビスケット、クッキー、クラッカー、マカロニ、パスタ、ラーメン、蕎麦、うどん、サラダ油、インスタントスープ、ドレッシング、卵、マヨネーズ、みそなど、または果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料などの炭酸系飲料または非炭酸系飲料など、茶、コーヒー、ココアなどの非アルコールまたはリキュール、薬用酒などのアルコール飲料などの一般食品への添加例を挙げることができる。

[0043] 本発明の飲食物は、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上を一般食品の原料と共に配合し、常法に従って加工製造することにより製造される。アスタキサンチンおよびトコリエノール類の配合量は食品の形態などにより異なり特に限定されるものではないが、一般にはアスタキサンチンおよびトコリエノール類の合計量を0.00001～10重量%、好ましくは0.0001～5重量%であり、予防または改善作用を発揮するのに必要な量だけ含まれるように調製する。アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上の合計の使用量は当業者が飲食物の種類に応じて適宜選択でき、成人1日摂取量あたり0.5～400mg、好ましくは1～40mgである。

[0044] 本発明の飲食物を栄養補助食品あるいは機能性食品として用いる場合、その形態は、上記医薬用製剤と同様の形態であってもよい。乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミン蛋白質など、または、これらの分解物である卵白オリゴペプチド、大豆加水分解物、アミノ酸単体の混合物を併用することもできる。また、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料などを配合した自然流動食、半消化態栄養食および栄養食、ドリンク剤、カプセル剤、経腸栄養剤などの加工物を挙げることができる。ドリンク形態で提供する場合は、栄養バランス、摂取時の風味を良くするためにアミノ酸、ビタミン

類、ミネラル類などの栄養的添加物、甘味料、香辛料、香料および色素などを配合してもよい。本発明の飲食物の形態は、これらに限定されるものではない。

[0045] 本発明は、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善作用および血管内皮細胞保護作用を有する動物用飼料も含まれる。

[0046] 本発明の飼料は、固形製剤、固形、ペレット状、粒状、ビスケット状、練り状などの形態およびドライフード、セミドライフード(例えば、水分含有量10~50重量%程度の飼料)、または缶詰などのウェットフード(例えば、水分含有量が50~80重量%程度の飼料)等に特に制限されない。従来の飼料製造の過程において適当な工程でアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上を飼料の材料に添加混合、またはアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上の水溶液を飼料にふりかけて製造することができる。本発明の飼料は、市販の飼料にアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上を添加混合したり、振りかけても作ることができる。また、人用の栄養補助食品と同様に、摂取が容易である錠剤、舌下錠、丸剤、散剤、粉剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤および軟カプセルなどの固形製剤で製造することができる。

[0047] 配合可能な原料としては、飼料として使用し得るものなら特に制限はないが、飼料の原料としては、飼料の種類に応じて、慣用の成分、例えば、魚粉、魚肉、魚介類、フィッシュミール、畜肉、肉粉、肉骨粉、血粉、フェザーミール、蚕蛹油粕、脱脂粉乳、動物性油脂(牛油、豚油、骨油など)、鶏卵類、乳類などの動物性原料;ビール酵母、トルラ酵母などの微生物;トウモロコシ、マイロ、小麦、大麦、ライ麦、エン麦、小麦粉、玄米、アワ、大豆、キナコ、キャッサバなどの穀類;アルファー化デンプン、デンプンなどのデンプン類;大豆油粕、脱皮大豆油粕、ナタネ油粕、ラッカセイ油粕、ヤシ油粕、ヒマワリ油粕、アマニ油粕、ゴマ油粕、サフラワー油粕、パーム核油粕、カポック油粕などの油粕類;米ヌカ、大麦ヌカ、ふすまなどのヌカ類;グルンフィード、グルテンミール、澱粉粕、精蜜、醤油粕、ビール粕、ビートパルプ、バガス、豆腐粕、麦芽根、ミカン皮、蜜柑ジュース粕などの製造粕類;アルファルファミール、チモシー乾草、藁などの繊維素;賦形剤、結合剤、崩壊剤、食塩、砂糖などの糖類、ビタミン類、アミ

ノ酸類、ミネラル類などの成分を一種または二種以上配合して使用することができる。

[0048] 固形製剤に配合可能な原料としては、前述の原料の他に、例えば、人の食品分野で一般的に用いられる担体と均一に混合して製造できる。具体的には、シュクロース、ソルビトール、フラクトース等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなどのグリコール類、ゴマ油、菜種油、オリーブ油、大豆油などの油類、ストロベリー・フレーバー、ペッパーミントなどのフレーバー類などを使用して製造できる。また、散剤、丸剤、カプセル、軟カプセル、錠剤の形態で、ラクトース、グリコース、シュクロース、乳糖、マニトール、コーンスターチ、二酸化ケイ素などの賦形剤、デンプン、アルギン酸ソーダなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン、カゼインなどの結合剤、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、サポニン、レシチンなどの乳化剤、グアーガム、アルギン酸、カラギーナン、寒天、ペクチン、アラビアガム、結晶セルロースなどの増粘剤、グリセリンなどの可塑剤を用いて製造できる。錠剤型としては錠剤および軟カプセルは摂取が容易であるので好ましい。

[0049] 本発明の飼料は、必要に応じて、強化剤、品質改良剤、抗生物質、抗菌剤、酵素、防霉剤、抗酸化剤、着色料、甘味料、香料などの添加剤を含んでいてもよい。

[0050] 本発明の飼料におけるアスタキサンチンおよびトコリエノール類の含有量は、飼料の形態により異なり特に制限されるものではないが、嗜好性を損わない範囲で選択でき、一般にはアスタキサンチンおよびトコリエノール類の合計量を0.00001~10重量%、好ましくは0.0001~5重量%である。

[0051] 動物に対する飼料の給与量は、年齢、体重などに応じて選択でき、例えば、アスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上の合計の使用量は、体重1kg当り、1~500 μ g/日、好ましくは2~300 μ g/日、さらに好ましくは5~200 μ g/日程度である。なお、食餌の時間はいつでも与えることができ、1日当り一度に与えてもよいが、複数回に別けて与えてもよい。

[0052] 本発明は、種々の動物に適用され、具体例としては、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、サル、犬、猫、豚、牛、羊、馬などのほ乳類；ワニ、ヘビ、トカゲなど

のは虫類、鶏、インコ、オウム、九官鳥、鳩などの鳥類、カエルなどの両生類、サケ、マス、マグロ、タイ、グッピーなどの魚類、などがあげられる。

発明を実施するための最良の形態

[0053] 本発明をさらに詳細に説明するために以下に実施例をあげるが、本発明がこの実施例のみに限定されないことはいうまでもない。

実施例 1

[0054] [培地の調製]

Eagle(日水製薬製)粉末の最小培地(EMEM)9.4gを水1000mlに室温で攪拌しながら溶解し、オートクレーブ殺菌(121℃、15分)したものに、重炭酸ナトリウム溶液(大塚製薬メイロン製)、グルタミン(日水製薬)、必須アミノ酸溶液(ギブコ製)、非必須アミノ酸溶液(ギブコ製)、ビタミン混合液(ギブコ社製)、抗生物質混合液(ギブコ製)を添加した。この培地に牛胎児血清(ギブコ製)を10%あるいは0.4%加えたものを用意し、以降それぞれ「10%FBS加EMEM」および「0.4%FBS加EMEM」と称する。

[0055] [実験方法:24穴プレート]

10%FBS加EMEMで継代した血管内皮細胞(GM07373A)をトリプシン-EDTA溶液で剥離し、10%FBS加EMEMに浮遊させた細胞液の1.5mlに9mlの10%FBS加EMEMを加えて、9cmシャーレに入れ5%二酸化炭素雰囲気下37℃で3~4日間前培養した。トリプシン-EDTA溶液で剥離し、10%FBS加EMEMに浮遊させた細胞浮遊液(細胞数 $0.7\sim 0.9\times 10^5$ cell/ml)の1mlを24穴プレートの各wellに移し、5%二酸化炭素雰囲気下37℃で2日間本培養した。培地を取り除いた後、0.4%FBS加EMEMの500 μ l/well加えて細胞を飢餓状態にして、5%二酸化炭素雰囲気下37℃で1晩培養した。試料の溶液とグルコース水溶液(200mg/ml)10 μ lを加えて、5%二酸化炭素雰囲気下37℃で2時間培養した。培地を取り除いた後、ハンクス氏液(日水製薬製)の1ml/wellを加えて2回洗浄し、溶液を取り除いた後、過酸化水素入り(あるいは過酸化水素無添加)染色液300 μ l/wellを加え、5%二酸化炭素雰囲気下37℃で30分間培養した。染色液を除去し、細胞の蛍光強度を測定した。

[0056] GM07373Aは米国のCoriel Human Genetic Cell Repositoryから購入した牛大動脈血管内皮細胞株Repository No. GM07373Aである。過酸化入り染色液は、ハンクス氏液9mlに蛍光色素(C-6827、Molecular Probe社製)50 μ gをDMSO90 μ lに溶解したものを混合し、0.3%過酸化水素90 μ lを加えたものである。対照試験には過酸化水素を加えない。

[0057] 試料溶液は、アスタキサンチン(シグマ製)は0.053mg/mlおよび0.0053mg/ml、 α -トコフェロール(和光純薬製)およびトコリエノール(シグマ製)を、0.25mg/mlおよび0.025mg/mlをメタノールに溶解したものをを用いた。それぞれ10 μ lを500 μ lの培地に加えた。

[0058] [蛍光強度測定法:画像解析ソフト法]

ライカ実体蛍光顕微鏡 MZ FL III(ライカマクロ蛍光装置GFP付)(ライカ製)に、フィルターセット(名称):GFP Plant 蛍光(GFP2)(励起フィルター:480/40nm、吸収フィルター:510nm)を用いて、100倍下で任意三箇所蛍光強度を測定し、画像をCCDカメラで取り込み画像解析ソフト(Qwin:ライカ製)を用いて、グレー強度%に換算して、蛍光強度を測定した。1wellあたり3ヶ所蛍光強度を測定して、その平均値を求めた。また、1種類につき3~4well作成した。

[0059] [表1] アスタキサンチンを添加した時の蛍光強度

添加試料 (添加量)	蛍光強度 (%)
なし	1. 5 9
過酸化水素	2. 2 2
グルコース	1. 2 5
過酸化水素+グルコース	4. 5 1
アスタキサンチン(0. 1 0 4 μ g/ml)	2. 5 5
アスタキサンチン(1. 0 4 μ g/ml)	1. 9 3

アスタキサンチンを添加した系は、過酸化水素とグルコースを添加したものにアスタキサンチンを加えたものである。前培養期間は5日間、細胞数は 0.84×10^5 Cell/Wellであった。

[0060] 過酸化水素+グルコースを添加することによって蛍光強度が増加しており、生じた活性酸素が蛍光色素が酸化されて蛍光染色され、血管内皮細胞が損傷を受けてい

ることを示す。対してその系にアスタキサンチンを添加した系はより小さな蛍光強度となっており、生じた活性酸素による血管内皮細胞損傷をアスタキサンチンが抑制していることを示す。

[0061] [表2] トコトリエノール、 α -トコフェロールを添加した時の蛍光強度

添加試料 (添加量)	蛍光強度 (%)
なし	0. 2 1
過酸化水素	8. 6 9
グルコース	0. 2 6
過酸化水素+グルコース	9. 0 0
トコトリエノール (0. 5 μ g/ml)	4. 3 5
トコトリエノール (5. 0 μ g/ml)	4. 4 0
α -トコフェロール (0. 5 μ g/ml)	4. 7 4
α -トコフェロール (5. 0 μ g/ml)	4. 3 2

トコトリエノールまたは α -トコフェロールを添加した系は、過酸化水素とグルコースを

添加したものにトコトリエノールまたは α -トコフェロールを加えたものである。前培養期間は3日間、細胞数は 0.89×10^5 Cell/Wellであった。

[0062] 過酸化水素+グルコースを添加することによって蛍光強度が増加しており、生じた活性酸素が蛍光染色され、血管内皮細胞が損傷を受けていることを示す。対して、その系にトコトリエノールおよび α -トコフェロールを添加した系はより小さな蛍光強度となっており、生じた活性酸素による血管内皮細胞損傷をトコトリエノールまたは α -トコフェロールが抑制していることを示す。

実施例 2

[0063] [実験方法:96穴プレート]

方法は実施例1と基本的には同一であるが、96wellプレートを使用し、マルチピペットで段階希釈し、蛍光プレートリーダーを用いた。すなわち、T25フラスコで植え継いだ血管内皮細胞をトリプシン-EDTA溶液を用いて剥離させ、10%FBS加EMEM培地で希釈してT75フラスコで前培養を4日間行った。コンフルエントになった細胞を再びトリプシン-EDTA溶液で細胞を剥離させ、10%FBS加EMEM培地で希釈して 95×10^4 cell/mlの細胞浮遊液とし、96wellプレートに100 μ l/well撒き2

日間培養した。培地を吸引除去して0.4%FBS加EMEM培地50 μ lを加え、一晩飢餓培養を行った。培地を吸引除去し、グルコース(最終濃度400mg/dl)を含んだ0.4%FBS加EMEM培地を用いて各試料の希釈列(50 μ l/well、2倍 \times 8段)をマルチピペットで作り、各試料溶液をそれぞれのWellに添加した。試料溶液は、実施例1と同様に各試薬をメタノールに適宜溶解して原液を調製し、0.4%FBS加EMEMで希釈して用いた。試料添加後、2時間5%炭酸ガス培養槽で37 $^{\circ}$ Cで刺激培養を行った。培地を吸引除去し、ハンクス氏液100 μ l/wellで2度洗浄後、実施例1と同様に、DMSOに分散させた蛍光色素(C-6827)と過酸化水素(最終0.003%)溶液加えたハンクス液30 μ l/well加え、5%炭酸ガス培養槽で25分培養し、蛍光色素を細胞に取り込ませた。色素液を吸引除去後、遮光下で室温に一晩放置した。Fluostarプレートリーダーで測定した。なお、1列は過酸化水素の希釈列(最終濃度100 μ M)を加えこれを標準とした。

[0064] [蛍光強度測定法:直接測定法]

蛍光強度の測定は、FluoStar(BMG Labtech社製)を用いた。各well毎の蛍光強度を自動的に測定する装置である。光源はキセノンランプで、Excitationは485nm、Emissionは538nmの条件で測定した。485nmの光を10回フラッシュしたときの蛍光強度を電圧として表示し、ゲインは最も蛍光強度が強い過酸化水素100 μ Mのwellを8000(無単位)に調整した。

[0065] [表3] トコトリエノールとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度(24穴プレート)

アスタキサンチン[μ g/ml]	トコトリエノール[μ g/ml]		
	10	100	1000
0.053	5619	5231	5129
0.159	5589	4896	4887

過酸化水素及びグルコース添加の蛍光強度は7655、過酸化水素及びグルコース添加なし蛍光強度は1338であった。24穴プレートを用い、直接測定法で蛍光強度を測定した。

[0066] 表3の結果より、アスタキサンチン及びトコトリエノールの投与量が多いほど蛍光強

度の値が小さくなっている。トコリエノール添加量に対して少量のアスタキサンチン添加量により、蛍光強度はより値が小さくなっている。アスタキサンチンとトコリエノールを共に投与することによって、相乗的に血管細胞の保護効果があることを示す。

[0067] [表4] トコフェロールとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度(24穴プレート)

アスタキサンチン[$\mu\text{g}/\text{ml}$]	トコフェロール[$\mu\text{g}/\text{ml}$]		
	10	100	1000
0.053	6799	6555	6238
0.159	5809	5778	5700

過酸化水素及びグルコース添加の蛍光強度は7605、過酸化水素及びグルコース添加なし蛍光強度は1210であった。24穴プレートを用い、直接測定法で蛍光強度を測定した。

[0068] 表4の結果より、アスタキサンチン及びトコフェロールの投与量が多いほど蛍光強度の値が小さくなっている。トコフェロール添加量に対して少量のアスタキサンチン添加量により、蛍光強度はより値が小さくなっている。アスタキサンチンとトコフェロールを共に投与することによって、相乗的に血管細胞の保護効果があることを示す。

[0069] [表5] グルタチオンとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度(96穴プレート)

アスタキサンチン[$\mu\text{g}/\text{ml}$]	グルタチオン[$\mu\text{g}/\text{ml}$]		
	370.3	1111.0	3333.0
19.7	6394	6311	6292
177.0	6248	5856	5668

過酸化水素及びグルコース添加の蛍光強度は5250、過酸化水素及びグルコース添加なし蛍光強度は6689であった。96穴プレートを用い、直接測定法で蛍光強度を測定した

[0070] 表5の結果より、アスタキサンチン及びグルタチオンの投与量が多いほど蛍光強度の値が小さくなっている。グルタチオン添加量に対して少量のアスタキサンチン添加量により、蛍光強度はより値が小さくなっている。アスタキサンチンとグルタチオンを共に投与することによって、相乗的に血管細胞の保護効果があることを示す。

[0071] [製造例1] 錠剤

下記成分を下記組成比(重量%)で均一に混合し、1粒200mgの錠剤とした。

アスタリールパウダー 10重量部

ブルベリー末 2重量部

Vプレミックス 3重量部

乳糖 50重量部

バレイショデンブ 32重量部

ポリビニルアルコール 2重量部

ステアリン酸マグネシウム 1重量部

アスタリールパウダー(富士化学工業(株)製)はフリー体換算で1重量%のアスタキサンチンを含むヘマトコッカス藻抽出オイルから製造した粉末である。

[0072] [製造例2] カプセル剤

下記成分からなるソフトカプセル剤皮の中にヘマトコッカス藻抽出オイル(アスタキサンチンを5重量%含有)を常法により充填し、1粒200mgのソフトカプセルを得た。

ゼラチン 70重量部

グリセリン 23重量部

パラオキシ安息香酸プロピル 0.5重量部

水 6.5重量部

[0073] [製造例3] ドリンク剤

下記の成分を配合し、常法に従ってドリンク剤を調製した。

ヘマトコッカス藻抽出オイル 5重量部

トコリエノールオイル 5重量部

DL-酒石酸ナトリウム 0.1重量部

液糖 800重量部

クエン酸 12重量部

ビタミンC 10重量部

ビタミンE 30重量部

香料 1.5重量部

塩化カリウム	0.1重量部
硫酸マグネシウム	0.5重量部
水	10000重量部

ヘマトコッカス藻抽出オイルはアスタキサンチンフリー体換算で5重量%含有し、トコトリエノールオイルはトコトリエノールを40重量%含有したものである。

[0074] [製造例4] クッキー

下記の成分を配合し、常法に従って、クッキーを焼いた。

アスタリールパウダー	10重量部
牛乳	630重量部
砂糖	130重量部
コーンスターチ	130重量部
食塩	10重量部

[0075] [製造例5] 飼料

下記の成分を配合し、常法に従って、ペレット状にしニワトリ用飼料とした。

アスタリールパウダー	10重量部
トウモロコシ粉	300重量部
小麦粉	300重量部
魚粉	50重量部
アルファルファミール	50重量部
キャッサバミール	50重量部
フスマ	50重量部
大豆粉	200重量部

図面の簡単な説明

[0076] [図1]表3のトコトリエノールとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度を示したグラフである。トコトリエノール濃度は指数で表示されている。

[図2]表4のトコフェロールとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度を示したグラフである。トコフェロール濃度は指数で表示されている。

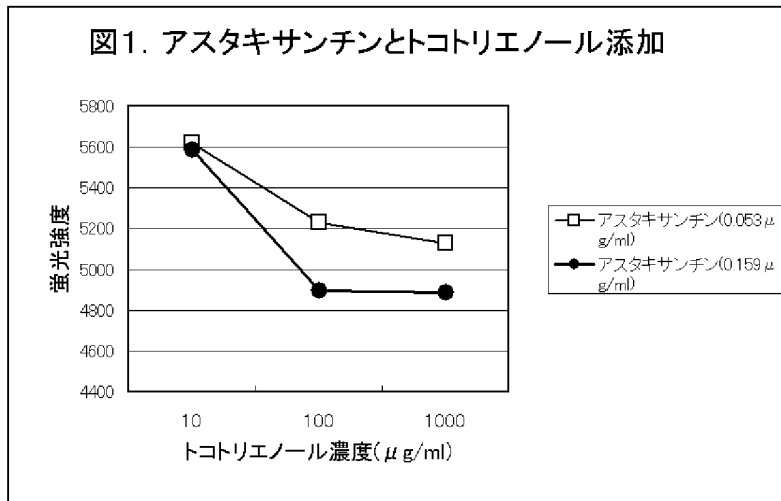
[図3]表5のグルタチオンとアスタキサンチンを添加した時の蛍光強度を示したグラフ

である。

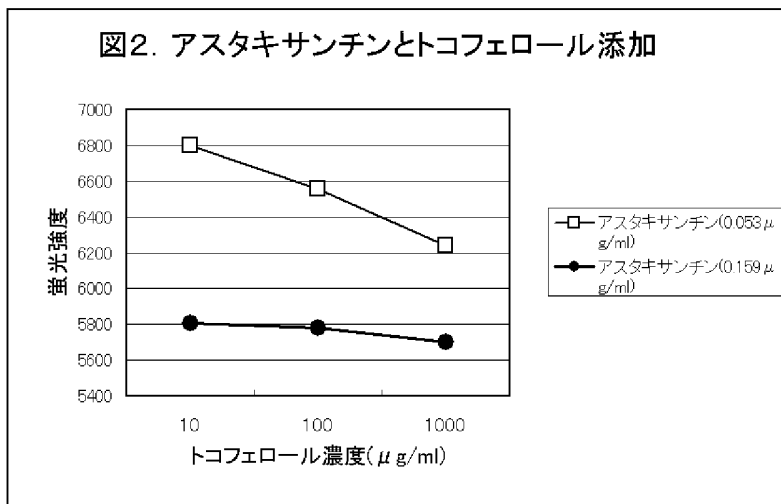
請求の範囲

- [1] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善剤。
- [2] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護剤。
- [3] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善作用を有する飲食物。
- [4] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護作用を有する飲食物。
- [5] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管不全改善作用を有する動物用飼料。
- [6] 有効成分としてアスタキサンチンおよびトコリエノール類を1種または2種以上含有することを特徴とする血管内皮細胞保護作用を有する動物用飼料。

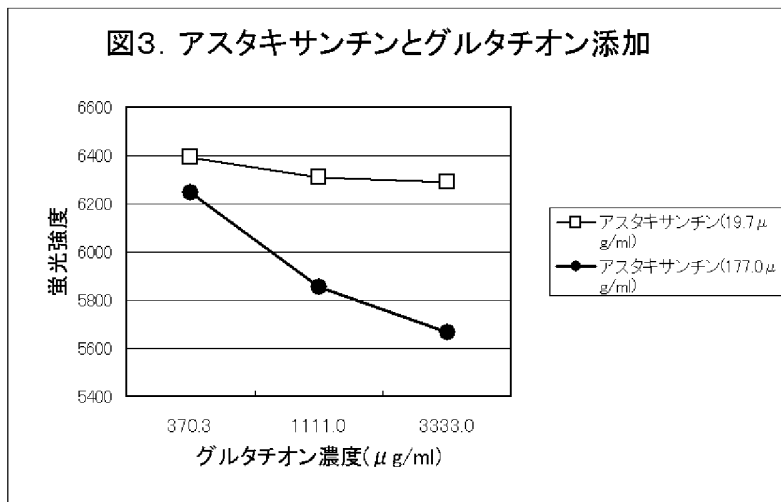
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/306969

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K31/355 (2006.01), A61K31/122 (2006.01), A61P9/00 (2006.01), A61P43/00 (2006.01)		
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) A61K31/122, A61K31/355, A61P9/00, A61P43/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), MEDLINE (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y X	JP 10-155459 A (Suntory Ltd.), 16 June, 1998 (16.06.98), Full text (Family: none)	1-2 3-6
Y	Wei Li et al., Alpha-tocopherol and astaxanthin decrease macrophage infiltration apoptosis and vulnerability in atheroma of hyperlipidaemic rabbits, Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Vol.37, 2004, pages 969 to 978	1-2
X	J. Gordon Bell et al., Depletion of α -Tocopherol and Astaxanthin in Atlantic Salmon (<i>Salmo salar</i>) Affects Autoxidative Defense and Fatty Acid Metabolism, J.Nutr., Vol.130, 2000, pages 1800 to 1808	5-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 02 May, 2006 (02.05.06)		Date of mailing of the international search report 16 May, 2006 (16.05.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/306969

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	JP 2006-63021 A (Fuji Chemical Industry Co., Ltd.), 09 March, 2006 (09.03.06), Full text; particularly, Par. No. [0055] (Family: none)	3-4
P, X	JP 2006-14730 A (Toyo Shinyaku Co., Ltd.), 19 January, 2006 (19.01.06), Full text (Family: none)	3-6
A	Abdre Theriault et al., Tocotrienol is the most effective vitamin E for reducing endothelial expression of adhesion molecules and adhesion to monocytes, Atherosclerosis, Vol.160, 2002, pages 21 to 30	1-6
A	Sebastian Schaffer et al., Tocotrienols: Constitutional Effects in Aging and Disease, J.Nutr., Vol.135, 2005, pages 151 to 154	1-6
A	Hiroyuki ITABE, "Monoclonal Kotai o Mochiita Sanka LDL no Kokando Teiryō to Domyaku Koka", YAKUGAKU ZASSHI, Vol.122, No.10, 2002, pages 745 to 753	1-6
A	JP 2002-226368 A (Fuji Chemical Industry Co., Ltd.), 14 August, 2002 (14.08.02), Full text (Family: none)	1-6

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K31/355 (2006.01), A61K31/122 (2006.01), A61P9/00 (2006.01), A61P43/00 (2006.01)

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. A61K 31/122, A61K 31/355, A61P 9/00, A61P 43/00

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 1971-2006年
 日本国実用新案登録公報 1996-2006年
 日本国登録実用新案公報 1994-2006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)
 CA (STN), MEDLINE (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 請求の範囲の番号
Y	J P 1 0 - 1 5 5 4 5 9 A (サントリー株式会社)	1 - 2
X	1 9 9 8 . 0 6 . 1 6 , 全文 (ファミリーなし)	3 - 6
Y	Wei Li et al., Alpha-tocopherol and astaxanthin decrease macrophage infiltration apoptosis and vulnerability in atheroma of hyperlipidaemic rabbits, Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Vol.37, 2004, p.969-978	1 - 2

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	の日の後に公表された文献
「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	「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
「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	「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
「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)	「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
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 02.05.2006	国際調査報告の発送日 16.05.2006
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) 八原 由美子 電話番号 03-3581-1101 内線 3451

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 請求の範囲の番号
X	J. Gordon Bell et al., Depletion of α -Tocopherol and Astaxanthin in Atlantic Salmon(Salmo salar) Affects Autoxidative Defense and Fatty Acid Metabolism, J. Nutr., Vol.130, 2000, p.1800-1808	5-6
PX	J P 2 0 0 6 - 6 3 0 2 1 A (富士化学工業株式会社) 2 0 0 6 . 0 3 . 0 9 , 全文、特に段落番号【0055】参照のこと (ファミリーなし)	3-4
PX	J P 2 0 0 6 - 1 4 7 3 0 A (株式会社東洋新薬) 2 0 0 6 . 0 1 . 1 9 , 全文 (ファミリーなし)	3-6
A	Abdre Theriault et al., Tocotrienol is the most effective vitamin E for reducing endothelial expression of adhesion molecules and adhesion to monocytes, Atherosclerosis, Vol.160, 2002, p.21-30	1-6
A	Sebastian Schaffer et al., Tocotrienols:Constitutional Effects in Aging and Disease, J. Nutr., Vol.135, 2005, p.151-154	1-6
A	板部洋之, モノクローナル抗体を用いた酸化LDLの高感度定量と動脈硬化, YAKUGAKU ZASSHI, Vol.122, No.10, 2002, p.745-753	1-6
A	J P 2 0 0 2 - 2 2 6 3 6 8 A (富士化学工業株式会社) 2 0 0 2 . 0 8 . 1 4 , 全文 (ファミリーなし)	1-6