



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202400198 A

(43)公開日：中華民國 113 (2024) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：112115510 (22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 04 月 26 日
(51)Int. Cl. : A61K35/744 (2015.01) A61K35/747 (2015.01)
A61P27/00 (2006.01)
(30)優先權：2022/04/26 日本 2022-072596
(71)申請人：日商坪田實驗室股份有限公司 (日本) TSUBOTA LABORATORY, INC. (JP)
日本
(72)發明人：坪田一男 TSUBOTA, KAZUO (JP)；栗原俊英 KURIHARA, TOSHIHIDE (JP)；池
田真一 IKEDA, SHINICHI (JP)；侯靖 HOU, JING (CN)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：9 共 35 頁

(54)名稱
預防或治療近視之方法及組合物

(57)摘要
本發明之目的在於提供一種預防、治療近視之方法及用於該方法之組合物。根據本發明，提供一種藉由投予 M2 巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌來抑制、改善或治療近視之方法及組合物。調節脈絡膜固有免疫細胞之功能，例如誘導脈絡膜中向 M2 巨噬細胞極化，或投予肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑、或乳酸菌等，對於預防、治療近視有效。



【發明摘要】

【中文發明名稱】

預防或治療近視之方法及組合物

【中文】

本發明之目的在於提供一種預防、治療近視之方法及用於該方法之組合物。根據本發明，提供一種藉由投予M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌來抑制、改善或治療近視之方法及組合物。調節脈絡膜固有免疫細胞之功能，例如誘導脈絡膜中向M2巨噬細胞極化，或投予肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑、或乳酸菌等，對於預防、治療近視有效。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

預防或治療近視之方法及組合物

【技術領域】

【0001】

本發明係關於一種預防或治療近視之方法及組合物，更詳細而言，係關於一種作用於脈絡膜中之免疫細胞以抑制近視發展之組合物，更詳細而言，係關於一種基於脈絡膜固有免疫細胞功能調節、例如M2巨噬細胞極化誘導、或者肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑或乳酸菌投予等之方法及組合物。

【先前技術】

【0002】

近視係指因眼軸長度增長而聚焦於視網膜前方之狀態，可謂眼軸長度越長，則近視越深。隨著近視患病率之增加，人們越來越關注參與近視發病之因素及抑制或預防近視發展之方法。近年來之研究提示脈絡膜於眼睛生長調節及近視發病中起到重要作用，並顯示脈絡膜薄化係近視之結構性特徵。由於脈絡膜之厚度與軸向長度之間存在負相關，故提示脈絡膜厚度之變化可能是眼軸長度增長之預測生物標記。但是，脈絡膜參與近視發病或發展之詳細機制尚不清楚。

【0003】

脈絡膜係一種細小血管豐富之覆蓋視網膜外側之組織，除了具有向視網膜細胞供給氧氣或營養之功能以外，還具有供給參與眼球外側之鞏膜之組織重建及眼睛生長調節之生長因子的功能。認為脈絡膜之厚度減少或

血流減少會導致鞏膜缺血及缺氧症，並影響鞏膜結構之變化，使眼軸長度增長。因此，維持、增加脈絡膜之厚度或血流作為預防或治療近視之新目標而備受關注。

【0004】

提出有藉由維持、增加脈絡膜之厚度來抑制近視發展之方法，例如提出有番紅花酸攝取(參照非專利文獻1)、紫光照射(非專利文獻2)等。

【0005】

已知番紅花酸具有抗炎作用或免疫調節作用，且已知經由調節T細胞之Th1/Th2及Th17/Treg之平衡或抑制巨噬細胞等產生發炎介質(TNF- α 、IL-6、IFN- γ 等)之細胞之NF- κ B路徑來表現其作用(非專利文獻3~5)。

脈絡膜中存在13種細胞，其中4種為免疫細胞。組織固有免疫細胞除了負責免疫應答以外，還負責維持組織恆常性或結構，例如據報告：缺失巨噬細胞之小鼠或誘導了肥大細胞脫顆粒之小鼠的脈絡膜薄化(非專利文獻6~7)。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

【0006】

[非專利文獻1]Mori et al., Sci Rep. 2019. 22;9(1):295.

[非專利文獻2]Jiang et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2021. 1;118(22):e2018840118.

[非專利文獻3]Oxid Med Cell Longev. 2021 Sep 10;2021:6631929.

[非專利文獻4]Eur J Pharmacol. 2012 Jan 15;674(2-3):391-6.

[非專利文獻5]Biofactors. 2023 Feb 6. doi: 10.1002/biof.1942.

[非專利文獻6]Elife. 2020 Apr 1;9:e55564.

[非專利文獻7]FASEB J. 2020 Aug;34(8):10117-10131.

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0007】

本發明之目的在於提供一種預防或治療近視之方法及用於該方法之組合物，特別是以脈絡膜固有免疫細胞、尤其是巨噬細胞或肥大細胞為目標之組合物。

[解決問題之技術手段]

【0008】

本發明人等發現，脈絡膜中巨噬細胞向M2巨噬細胞極化會抑制脈絡膜薄化，對於預防、治療近視有效。

【0009】

又，肥大細胞(mast cell)大量分佈於小血管周圍，於包含血管之組織即脈絡膜中亦觀察到其存在，提示其參與脈絡膜形態之維持，本發明人等發現，藉由抑制肥大細胞脫顆粒之藥劑(肥大細胞穩定劑)之滴眼，可抑制近視發展。即，本發明人等發現：藉由對佩戴負鏡片所得之近視模型小鼠，滴眼投予一種抗過敏藥即肥大細胞穩定劑(色甘酸鈉、吡嘧司特鉀)，而抑制近視發展。再者，對佩戴負鏡片所得之近視誘導期間之小鼠滴眼投予另一種抗過敏藥即抗組胺藥(左卡巴斯汀)，卻未觀察到近視發展之抑制。

【0010】

進而，已知投予副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*)等乳桿菌

(Lactobacillus)屬等之乳酸菌會誘導、激活向M2巨噬細胞極化，結果本發明人等發現，投予副乾酪乳桿菌等乳桿菌屬等之乳酸菌會抑制近視發展。在此基礎上考慮上述非專利文獻6~7之見解，認為若可藉由以脈絡膜固有免疫細胞為目標之介入來維持脈絡膜結構(厚度)，則對近視發展起抑制性作用，該等見解認為，以巨噬細胞或肥大細胞等脈絡膜中存在之免疫細胞為目標，並將各者之性質誘導至適當狀態的組合物具有抑制近視發展之作用。本發明係基於此種見解而成者，包括以下態樣。

【0011】

[態樣1]

一種抑制、改善或治療近視之方法，其包括向需要處置之對象投予治療有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

[態樣2]

如態樣1所記載之方法，其中脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質為M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑或化學介質游離抑制劑。

[態樣3]

如態樣2所記載之方法，其中M2巨噬細胞極化誘導物質選自由蛋白、肽、核酸、低分子化合物及高分子化合物所組成之群。

[態樣4]

如態樣2所記載之方法，其中M2巨噬細胞極化誘導物質選自由IL-4、IL-10、IL-13、TLR2,4,7,9及其配體、比生群二鹽酸鹽、雷公藤甲素(triptolide)、洛伐他汀(lovastatin)、QS11、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)、伊沙佐米(ixazomib)、GW-843682X、KW 2449、阿西替尼(axitinib)、JTE 013、嘌嗎啡胺(purmorphamine)、阿奇里亞黃素

A(arcyriaflavin A)、達沙替尼(dasatinib)、NVP-LDE225、1-萘基PP1(1-naphthyl PP1)、MGCD-265、博舒替尼(bosutinib)所組成之群。

[態樣5]

如態樣2所記載之方法，其中肥大細胞穩定劑或化學介質游離抑制劑為色甘酸、或吡嘧司特、或其鹽。

[態樣6]

如態樣1所記載之方法，其中乳酸菌為乳桿菌屬。

[態樣7]

如態樣1所記載之方法，其中乳酸菌為副乾酪乳桿菌。

[態樣8]

如態樣1所記載之方法，其中脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌包含於醫藥組合物、補充品或食品中。

[態樣9]

如態樣1所記載之方法，其可抑制屈光下降、眼軸伸長及/或脈絡膜薄化。

[態樣10]

一種抑制或治療近視之組合物，其含有治療有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

[態樣11]

一種抑制或改善近視之補充品，其含有有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

[態樣12]

一種抑制或改善近視之食品，其含有有效量之脈絡膜固有免疫細胞

功能調節物質或乳酸菌。

[形態13]

一種脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於製造抑制或治療近視之藥物。

[形態14]

一種脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於抑制或治療近視。

[發明之效果]

【0012】

根據本發明，可提供一種預防、治療近視之新穎之方法，該方法基於脈絡膜固有免疫細胞功能調節，更具體而言，基於脈絡膜中M2巨噬細胞極化誘導，或基於肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑或乳酸菌投予。

【圖式簡單說明】

【0013】

圖1係基於LPS(Lipopolysaccharide，脂多糖)投予之近視化誘導之結果。A.係表示實驗計劃之圖。B.係表示屈光值(左)、眼軸長度(中央)及脈絡膜厚度(右)之變化之圖。

圖2係表示因投予LPS而引起之M1巨噬細胞標記基因及氧化壓力相關基因之表現變化的圖。

圖3係基於IL-4投予之M2巨噬細胞極化誘導之結果。A.係表示實驗計劃之圖。B.係表示因投予IL-4而引起之脈絡膜中之CD206蛋白及磷酸化STAT6(Signal Transducer And Activator Of Transcription 6，信號轉導及

轉錄激活蛋白6)之表現變化的圖。C.係表示因投予IL-4而引起之CD163、CD206之mRNA(messenger RNA，信使核糖核酸)之表現變化的圖。

圖4A.、B.係表示因投予IL-4而引起之M2巨噬細胞標記基因及氧化壓力相關基因之表現變化的圖。

圖5係基於IL-4投予之近視化抑制實驗之結果。A.係表示實驗計劃之圖。B.係表示近視誘導期間之IL-4投予所引起之屈光(左)、眼軸長度(中央)、脈絡膜厚度(右)之變化之圖。

圖6係基於IL-13投予之近視化抑制及M2巨噬細胞極化誘導之結果。A.係表示實驗計劃之圖。B.係表示近視誘導期間之IL-13投予所引起之屈光(左上)、眼軸長度(右上)、脈絡膜厚度(左下)、血流(右下)之變化之圖。C.係表示由近視誘導及IL-13投予引起之巨噬細胞數量及M2巨噬細胞比率之變化之圖。

圖7係表示藉由肥大細胞穩定劑之滴眼而產生之近視抑制效果之結果。A.係表示眼軸長度之變化量之圖。B.係表示屈光值之變化量之圖。C.係表示脈絡膜厚度之變化量之圖。分別地，左邊表示對照組vs吡嘧司特鉀滴眼組，右邊表示對照組vs色甘酸滴眼組。 $*p<0.05$ ， $**p<0.01$ ， $***p<0.001$ ，student's t-test

圖8係表示藉由肥大細胞穩定劑滴眼與組胺受體抑制劑而產生之近視抑制效果之比較之圖。A.係表示眼軸長度之變化量之圖。B.係表示屈光值之變化量之圖。C.係表示脈絡膜厚度之變化量之圖。自左邊起，分別表示對照組、左卡巴斯汀滴眼組(組胺受體抑制劑)、吡嘧司特鉀滴眼組(肥大細胞穩定劑)。 $*p<0.05$ ， $**p<0.01$ ， $***p<0.001$ ，student's t-test

圖9係表示藉由投予副乾酪乳桿菌而產生之近視發展抑制效果之結

果。A.係表示眼軸長度之變化量之圖。B.係表示屈光值之變化量之圖。C.係表示脈絡膜厚度之變化量之圖。分別地，左邊表示對照組，右邊表示副乾酪乳桿菌投予組。

【實施方式】

【0014】

對本發明之詳細內容進行說明。本發明不限於以下之實施方式及實施例之內容，且於包含本發明之主旨之範圍內包括各種變化例或實施例。

【0015】

[抑制或治療近視之方法]

如上所述，近年來，已明確脈絡膜薄化這一變化參與近視發病。本發明人等對控制脈絡膜薄化之因素進行了銳意研究，結果發現，脈絡膜中巨噬細胞狀態之變化(極化)導致脈絡膜之厚度發生變化並控制近視發展。

巨噬細胞之狀態包括M1巨噬細胞及M2巨噬細胞，M1巨噬細胞主要參與炎症發生，與此相對，M2巨噬細胞以參與炎症之終止及抑制之方式發揮對抗作用。本發明人等首次發現：藉由於脈絡膜中誘導向M1巨噬細胞極化，而觀察到脈絡膜薄化及近視發展；另一方面，藉由誘導向M2巨噬細胞極化，而可抑制脈絡膜薄化及近視發展。又，肥大細胞(mast cell)大量分佈於小血管周圍，於包含血管之組織即脈絡膜中亦觀察到其存在，提示了其參與脈絡膜形態之維持，結果本發明人等發現，藉由抑制肥大細胞脫顆粒之藥劑(肥大細胞穩定劑)之滴眼，可抑制近視發展。進而，已知藉由投予副乾酪乳桿菌等乳桿菌屬等之乳酸菌會誘導、激活向M2巨噬細胞極化，結果本發明人等發現，投予副乾酪乳桿菌等乳桿菌屬等之乳酸菌會抑制近視發展。如此，本發明人等發現，藉由調節脈絡膜固有免疫細胞

之功能，可抑制近視發展。

因此，本發明之一態樣係關於一種抑制、改善或治療近視之方法，該方法基於脈絡膜固有免疫細胞功能調節，更具體而言，基於脈絡膜中巨噬細胞向M2巨噬細胞極化，或者基於肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑或乳酸菌投予。

本發明之一態樣係關於一種抑制、改善或治療近視之方法，該方法基於脈絡膜固有免疫細胞功能調節，更具體而言，基於使用M2巨噬細胞極化誘導物質來誘導脈絡膜中向M2巨噬細胞極化，或者基於肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑或乳酸菌投予。

本發明之一態樣係關於一種抑制屈光下降、眼軸伸長、及/或脈絡膜薄化之方法，該方法包括：對於需要處置之對象，調節脈絡膜固有免疫細胞之功能，更具體而言，包括向對象之脈絡膜傳遞M2巨噬細胞極化誘導物質，或投予肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑或乳酸菌。

又，本發明之一態樣亦關於一種探尋控制近視發病機制即脈絡膜薄化之M2巨噬細胞極化促進成分等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質之篩選方法、及探尋對預防及治療近視有效之成分之篩選方法。

【0016】

<脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質>

脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質係調節脈絡膜固有免疫細胞之功能之物質。作為調節脈絡膜固有免疫細胞之功能之物質，較佳可例舉以抑制脈絡膜中之炎症之方式發揮調節作用之物質、以使脈絡膜處於抗炎環境之方式發揮調節作用之物質。作為脈絡膜固有免疫細胞，例如可例舉巨噬細胞、肥大細胞等。作為脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質，可例舉：

M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑、乳酸菌等。

【0017】

<M2巨噬細胞極化誘導物質>

巨噬細胞分為功能不同之發炎型M1巨噬細胞及抗炎型M2巨噬細胞，響應於由細胞激素或刺激性成分等產生之訊號而極化並進行特異性功能表現。

因此，本發明中之M2巨噬細胞極化誘導物質包含參與誘導脈絡膜中向M2巨噬細胞極化之訊號傳遞之各種物質，可無特別限制地使用蛋白、肽、核酸藥物、低分子化合物、高分子化合物等。

作為其例，除了Th2細胞產生之IL-4、IL-13等細胞激素以外，還可例舉白胺酸拉鏈轉錄因子c-Maf、碳水化合物結合凝集素galectin-3等。又，已知M2巨噬細胞有若干個族群，除了誘導M2a巨噬細胞之前文提到之IL-4、IL-13以外，還可例舉參與M2c巨噬細胞誘導之IL-10、糖皮質激素(GC)、參與M2d巨噬細胞誘導之TLR2、TLR4、TLR7、TLR9及其配體(TLR配體)等作為本發明中之M2巨噬細胞極化誘導物質。

【0018】

又，作為本發明中之M2巨噬細胞極化誘導物質之例，可例舉各種低分子化合物，例如：比生群二鹽酸鹽、雷公藤甲素(triptolide)、洛伐他汀(lovastatin)、QS11、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)、伊沙佐米(ixazomib)、GW-843682X、KW 2449、阿西替尼(axitinib)、JTE 013、嘌嗎啡胺(purmorphamine)、阿奇里亞黃素A(arcyriaflavin A)、達沙替尼(dasatinib)、NVP-LDE225、1-萘基PP1(1-naphthyl PP1)、

MGCD-265、博舒替尼(bosutinib)等。

【0019】

亦可使用上述物質之促效劑作為M2巨噬細胞極化誘導物質。再者，例如，業者藉由使用於包含評估對象之物質之培養基中培養RAW264細胞、J774細胞、U937細胞等單核球系細胞株、小鼠腹腔內巨噬細胞、骨髓源性巨噬細胞等細胞，並評估M2巨噬細胞標記物之表現的體外(in vitro)評估系統等，來評估物質是否具有M2巨噬細胞極化誘導能力，從而除了本說明書中具體記載之M2巨噬細胞極化誘導物質以外，還可獲得其他適用於本發明之方法及組合物之M2巨噬細胞極化誘導物質。

【0020】

於M2巨噬細胞極化誘導物質為蛋白或肽之情形時，可以編碼其等之DNA、RNA之形態投予至對象。編碼M2巨噬細胞極化誘導物質之核酸亦可使用質體或表現載體來投予至對象。表現載體例如可為病毒載體，尤其是腺病毒載體，但不限於此。作為可使用之其他病毒載體，例如可例舉：反轉錄病毒、腺相關病毒、痘病毒、桿狀病毒、牛痘病毒、單純疱疹病毒、愛潑斯坦-巴爾病毒、雙子病毒、及花椰菜花葉病毒載體等。編碼M2巨噬細胞極化誘導物質之核酸亦可包含用於脈絡膜或RPE(Retinal Pigment Epithelium，視網膜色素上皮)特異性蛋白表現之作用元件。即，編碼M2巨噬細胞極化誘導物質之核酸可與啟動子或增強子等作用元件可操作地連結。

【0021】

<肥大細胞穩定劑>

mast cell stabilizer亦稱為肥大細胞穩定劑或肥大細胞穩定藥等。肥

大細胞穩定劑例如為抑制肥大細胞釋放過敏物質之藥物，例如為使肥大細胞之細胞膜穩定而抑制肥大細胞釋放過敏物質之藥物。作為肥大細胞穩定劑，例如可例舉：阿紮司特水合物液(Zeppelin)、胺來咕諾(Elics)、吡嘧司特鉀(Alegysal)、吡嘧司特鉀(Pemilaston)、色甘酸鈉(Intal)、曲尼司特(Rizaben)、曲尼司特(Tramelas)、異丁司特(Ketas)、 β 2-腎上腺素促效劑、色甘酸鈉、色甘酸、可多替芬(Ketotifen)、甲基黃嘌呤、奧馬珠單抗(Omalizumab)、吡嘧司特、槲皮酮(Quercetin)等，較佳可例舉色甘酸或吡嘧司特、或其鹽等。

【0022】

<化學介質游離抑制劑>

化學介質游離抑制劑例如為藉由抑制肥大細胞等免疫細胞釋放化學介質來抑制過敏反應之藥物，例如為使肥大細胞(肥大細胞)之細胞膜穩定以防止組胺等釋放至外部之藥物，例如為抑制組胺、LTB₄、LTC₄、LTD₄、PGD₂、TXB₂、PAF等過敏物質(引起過敏反應之物質)自肥大細胞中游離之藥物。作為化學介質游離抑制劑，例如可例舉：阿紮司特水合物液(Zeppelin)、胺來咕諾(Elics)、吡嘧司特鉀(Alegysal)、吡嘧司特鉀(Pemilaston)、色甘酸鈉(Intal)、曲尼司特(Rizaben)、曲尼司特(Tramelas)、異丁司特(Ketas)、 β 2-腎上腺素促效劑、色甘酸鈉、色甘酸、可多替芬、甲基黃嘌呤、奧馬珠單抗、吡嘧司特、槲皮酮等，較佳可例舉色甘酸或吡嘧司特、或其鹽等。

【0023】

<乳酸菌>

作為乳酸菌，例如可例舉同型乳酸菌、異型乳酸菌等。又，作為乳

酸菌，例如可例舉球狀乳酸球菌、桿狀乳酸桿菌等。作為乳酸菌，例如可例舉為革蘭氏陽性，且為桿菌或球菌，無芽孢，無運動性，相對於消耗之葡萄糖產生50%以上之乳酸，且必需菸鹼酸(B3)之菌類。作為乳酸菌，例如可例舉：腸道系乳酸菌、動物性乳酸菌、植物性乳酸菌、海洋乳酸菌等。作為乳酸菌，例如可例舉乳桿菌目乳酸菌、放線菌門乳酸菌等。作為乳桿菌目乳酸菌，例如可例舉：乳桿菌屬(*Lactobacillus*)乳酸菌、腸球菌屬(*Enterococcus*)乳酸菌、乳球菌屬(*Lactococcus*)乳酸菌、小球菌屬(*Pediococcus*)乳酸菌、明串珠菌屬(*Leuconostoc*)乳酸菌、鏈球菌屬(*Streptococcus*)乳酸菌等。作為放線菌門乳酸菌，例如可例舉雙叉桿菌屬(*Bifidobacterium*)之乳酸菌等。作為乳桿菌屬乳酸菌，例如可例舉：副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*菌)、植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*菌)、短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*菌)、德氏乳桿菌(*Lactobacillus delbrueckii*菌)、嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*菌)、乾酪乳桿菌(*Lactobacillus casei*菌)、保加利亞乳桿菌(*Lactobacillus bulgaricus*菌)、加氏乳桿菌(*Lactobacillus gasseri*菌)、嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*菌)、食果糖乳桿菌(*Lactobacillus fructivorans*菌)、希氏乳桿菌(*Lactobacillus hilgardii*菌)、鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*菌)、植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*菌)、代田菌(*Lactobacillus casei* Shirota菌)等。作為腸球菌屬乳酸菌，例如可例舉糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*菌)、屎腸球菌(*Enterococcus faecium*菌)等。作為乳球菌屬乳酸菌，例如可例舉雷特氏乳球菌(*Lactococcus lactis*菌)、乳脂乳球菌(*Lactococcus cremoris*菌)等。作為小球菌屬乳酸菌，例如可例舉有害片球菌(*Pediococcus damnosus*)菌等。作為明串珠菌

屬乳酸菌，例如可例舉腸膜狀明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*菌)等。作為鏈球菌屬乳酸菌，例如可例舉嗜熱鏈球菌(*Streptococcus thermophiles*菌)、變異鏈球菌(*Streptococcus mutans*菌)等。作為雙叉桿菌屬乳酸菌，例如可例舉雙歧雙叉桿菌(*Bifidobacterium bifidum*菌)、青春雙叉桿菌(*Bifidobacterium adolescentis*菌)等。

已知藉由投予副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*菌)來將肝臟之庫佛氏細胞(Kupffer cell)(肝固有巨噬細胞)轉化為M2而改善非酒精性脂肪肝炎之症狀(Sohn et al, Dig Dis Sci, 2015 Nov;60(11):3340-50)。已知投予副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*菌)會激活M2巨噬細胞從而減輕由藍光引起之視網膜變性(Morita et al, Nutrients, 2018 Dec15;10(12):1991)。已知投予植物乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*菌)會促進自M1巨噬細胞向M2巨噬細胞極化從而緩解結腸炎(Jang et al, Int Immunopharmacol, 2014 Jul;21(1):186-92)。已知投予短乳桿菌(*Lactobacillus brevis*菌)會促進自M1巨噬細胞向M2巨噬細胞極化從而緩解結腸炎(Jang et al, J Appl Microbiol, 2013 Sep;115(3):888-96)。如此，已知投予乳桿菌屬等乳桿菌目之乳酸菌會誘導及激活向M2巨噬細胞極化。因此，乳酸菌較佳為乳桿菌屬等乳桿菌目之乳酸菌。

【0024】

亦可於M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質向對象之脈絡膜之傳遞中使用DDS(Drug Delivery Systems，藥物傳遞系統)。

例如，於M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質為核酸之情形時，編碼M2

巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質之DNA或RNA(信使RNA)亦可使用脂質體等DDS投予至對象。作為可使用之其他DDS，可例舉帶電脂質、核酸-蛋白複合體、及生物聚合物等。又，M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質亦可以蛋白之形態投予至對象。投予例如可藉由局部投予至脈絡膜來進行。

【0025】

M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質向對象之脈絡膜之傳遞亦可藉由將分泌M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質之細胞移植至對象而進行。分泌M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質之細胞例如可為視網膜色素上皮細胞(RPE)等。或者，亦可為經基因工程修飾以分泌M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質之細胞。

【0026】

本發明之抑制或治療近視之方法中的對象可為包括人在內之哺乳動物、包括狗、貓、牛、馬在內之非人類哺乳動物，較佳為人。

【0027】

[抑制或治療近視之組合物]

本發明之一態樣係關於一種使用M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌來抑制、改善或治療近視之組合物。更詳細而言，本發明之一態樣係

關於一種含有治療有效量之M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌的抑制或治療近視之組合物。此種組合物可用於向對象之脈絡膜傳遞M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。此種組合物可為醫藥組合物、食品或補充品。

【0028】

本發明之醫藥組合物例如被投予至眼睛局部。作為本組合物之投予形態，例如可例舉：滴眼投予(亦包括眼藥膏之滴入、洗眼)、結膜下投予、結膜囊內投予、Tenon囊下投予等。

【0029】

本組合物之劑型無特別限定，例如可例舉滴眼劑、眼藥膏、注射劑、貼附劑、凝膠、插入劑等，例如較佳為滴眼劑。再者，其等可使用該領域通用之普通技術來製備。

【0030】

滴眼劑可視需要自以下製劑中選擇使用並進行製備：氯化鈉、氯化鉀、濃甘油等等張劑；磷酸鈉、乙酸鈉、 ϵ -胺基己酸等緩衝劑；聚氧乙烯山梨醇酐單油酸酯、硬脂酸聚烴氧(40)酯、聚氧乙烯氫化蓖麻油等界面活性劑；檸檬酸鈉、乙二胺四乙酸鈉等穩定劑；對羥苯甲酸酯等防腐劑；等。pH值只要處於眼科製劑所容許之範圍內即可，通常較佳為4~8之範圍內。眼藥膏可使用白凡士林、液態石蠟等通用之基劑來製備。

【0031】

又，本發明之醫藥組合物不限於投予至眼睛局部，亦可藉由經腸投

予(經口、管灌、注射等)、非經口投予(經靜脈、經動脈、經皮、肌肉注射等)等任意投予路徑進行投予。用於該等投予形態之組合物之劑型可適當選擇，例如可製為錠劑、顆粒劑、散劑、膠囊劑、咀嚼劑等固體製劑、或液劑、糖漿劑、注射劑、點滴劑等液體製劑等。

可於不損害本發明之效果之範圍內於本發明之醫藥組合物中適量調配其他成分。作為其他成分，可例舉：任意之載體、緩衝劑、稀釋劑、賦形劑、懸浮劑、潤滑劑、佐劑、介質、傳遞系統、乳化劑、錠劑分解物質、吸收劑、保存劑、界面活性劑、著色劑、香料或甜味料等。該等成分可單獨使用1種或適當組合2種以上進行調配。

【0032】

醫藥組合物100重量%中之M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之含有比率例如可於0.001~99.99重量%之範圍內適當設定。

【0033】

本發明之醫藥組合物之投予量並無特別限制，可根據投予形態、投予對象之年齡、體重、所需之效果程度等適當選擇。M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之投予量例如可設為每天100~1000000 nmol、較佳為150~100000 nmol，投予頻率例如可設為每月1~100次。

【0034】

又，本發明之組合物可為食品或補充品。作為食品或補充品之形態，例如可任意選擇液體狀、固體狀、錠劑狀、顆粒狀、粉狀、膠囊狀、糊狀、凝膠狀等之例如上文所述之固體或液體製劑等。作為食品之具體

例，例如除了果汁飲料、蔬菜汁、清涼飲料、茶等飲料類、湯、布丁、酸乳酪、蛋糕預混製品、點心類、曲奇、糖果、軟糖、口香糖等各種一般加工食品以外，還可例舉特殊用途食品、特定保健用食品、營養功能食品、功能性食品、營養輔助食品、健康輔助食品、營養強化食品、營養調整食品等，例如補充品、飲劑等。

【0035】

本發明之食品或補充品可包含：任意之功能性材料(維生素類、礦物質類等)、任意之賦形劑、任意之添加劑(呈味劑、甜味料、酸味劑、著色劑、增黏劑、結合劑、強化劑、崩解劑、緩衝劑、界面活性劑、增溶劑、再吸收促進劑、分散劑、穩定劑、膠化劑、乳化劑、抗氧化劑、界面活性劑、保存劑、防濕劑、pH值調整劑、著色料、鎮痛劑、等張劑等)。

【0036】

本發明之一態樣係關於一種M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於抑制或治療近視。進而，本發明之另一態樣係關於一種M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、化學介質游離抑制劑等脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於製造抑制或治療近視之藥物。

【0037】

[篩選方法]

本發明之一態樣係關於一種探尋用於控制近視發病機制即脈絡膜薄化的促使巨噬細胞向M2巨噬細胞極化之成分之篩選方法、及探尋對預防及治療近視有效之成分之篩選方法。

於某些實施方式中，篩選方法包括：(i)向模型動物投予候選物質之步驟；(ii)測定模型動物之眼軸長度、脈絡膜厚度、屈光度之步驟。於某些實施方式中，篩選方法包括：(i)向模型動物投予候選物質之步驟；(ii)測定來自模型動物之試樣中之M2巨噬細胞標記物等脈絡膜固有免疫細胞標記物之表現之步驟。於某些實施方式中，篩選方法進而包括：(iii)測定M1巨噬細胞標記物等脈絡膜固有免疫細胞標記物之表現之步驟。

又，於某些實施方式中，亦包括體外(in vitro)篩選方法，該方法係於包括候選物質之培養基中培養RAW264細胞、J774細胞、U937細胞等單核球系細胞株、小鼠腹腔內巨噬細胞、骨髓源性巨噬細胞等脈絡膜固有免疫細胞等細胞，並對M2巨噬細胞標記物等脈絡膜固有免疫細胞標記物之表現進行評估。

於某些實施方式中，模型動物可為近視誘導處置中之動物。

於某些實施方式中，M2巨噬細胞標記物等脈絡膜固有免疫細胞標記物可為CD163、CD206、精胺酸酶、IL-10。作為巨噬細胞標記物等脈絡膜固有免疫細胞標記物之測定方法，可例舉定量PCR(Polymerase chain reaction，聚合酶鏈反應)、流式細胞分析、免疫染色法、螢光素酶測定法、精胺酸酶活性染色等。

【0038】

藉由此種篩選方法鑑定出之物質可用於抑制或治療近視。

【0039】

雖然在本說明書中示出了本發明之較佳實施方式，但業者顯然可知此種實施方式僅為了例示而提供，業者可於不脫離本發明之情況下加以各種變化、變更、替換。應理解本說明書中所記載之發明之各種替代實施方

式可於實施本發明時使用。又，本申請案主張以日本專利特願2022-72596為申請號之日本專利申請之優先權利益，該日本專利申請之內容、以及本說明書中參照之包括專利及專利申請文件在內之所有刊物中記載之內容應解釋為藉由引用而與本說明書中明確記載之內容同樣地併入本文中。

[實施例]

【0040】

以下，藉由實驗例進而詳細地對本發明進行說明。

【0041】

<試驗例1 因投予LPS而引起之脈絡膜薄化及近視>

為了確認向M1巨噬細胞極化是否參與脈絡膜薄化及近視，而對投予LPS後之脈絡膜中之極化標記基因之表現與脈絡膜厚度、眼軸長度及屈光值進行了測定。

【0042】

對進行2週LPS投予之小鼠及PBS(Phosphate Buffered Saline，磷酸鹽緩衝鹽水)投予之對照小鼠，測定脈絡膜厚度、眼軸長度及屈光值，並算出其變化量(圖1A、B)。其後，摘除眼球，藉由定量PCR法測定極化標記基因之表現(圖2)。

【0043】

使用C57BL6J小鼠(各組n=4)。

對於LPS投予組，以10 mg/kg BW之投予量，每天腹腔內投予LPS溶液。

對於PBS投予組，投予PBS來代替LPS溶液。

【0044】

(眼軸長度、脈絡膜厚度、屈光度之測定)

測定各組小鼠之眼軸長度、脈絡膜厚度、屈光度。使用譜域光干涉斷層掃描儀(Envisu R4310, Leica公司製造)進行眼軸長度之測定及脈絡膜厚度之測定。使用小鼠用紅外攝影驗光儀(Infrared photorefractor for mice, 圖賓根(Tubingen)大學Schaeffel教授製作)進行屈光度測定。

【0045】

(利用電子顯微鏡觀察脈絡膜)

採取各組小鼠之眼睛，利用PBS(Phosphate Buffered Saline, 磷酸鹽緩衝鹽水)中之2.5%戊二醛於4℃下固定一晚，利用0.1 M二甲胂酸鈉緩衝液沖洗1小時。繼而，用0.1 M二甲胂酸緩衝液中之1%之OsO₄固定2小時後，分階段用乙醇溶液進行脫水。進而，將眼睛於環氧丙烷與epon-Araldite之1：2混合物中浸透一晚，並包埋於100%樹脂中。切塊並使用穿透式電子顯微鏡(JEM1400 plus; JEOL)於加速電壓100 kV下進行觀察。

【0046】

(基因標記之表現評估)

自如上所述進行2週LPS投予之小鼠採取脈絡膜、視網膜、及鞏膜樣品，並藉由定量PCR法進行M1巨噬細胞標記基因及氧化壓力相關基因之表現分析。

【0047】

(結果)

相對於進行PBS投予之對照組，LPS投予組在1週、2週之投予期間均觀察到屈光下降(圖1B左)、眼軸伸長(圖1B中央)、脈絡膜薄化(圖1B右)。

【0048】

又，基因表現分析之結果，尤其於脈絡膜中觀察到M1標記基因及氧化壓力相關基因之表現亢進(圖2)。

【0049】

如該等結果所示，確認了脈絡膜中M1巨噬細胞之增加會誘導近視。

【0050】

<試驗例2 藉由投予IL-4、IL-13而產生之M2巨噬細胞極化及近視抑制效果>

M1巨噬細胞主要參與炎症之引發，與此相對，M2巨噬細胞以參與炎症之終止及抑制之方式發揮對抗作用。由於M1巨噬細胞具有近視誘導作用，故認為M2巨噬細胞對近視發病、發展具有抑制作用。

因此，對小鼠投予向M2巨噬細胞極化所需之細胞激素即IL-4，並藉由M2巨噬細胞標記物即CD163、CD206之表現量分析來確定於脈絡膜中是否發生向M2之極化(圖3A、B)。

【0051】

<投予IL-4>

向C57BL6J小鼠(各組n=4)腹腔內投予IL-4溶液0.1 μg/100 μl(10 μg/kg BW)，於0小時(投予前)及投予4、24、48小時後採取脈絡膜、視網膜、及肝臟樣品，並藉由西方墨點法(Western Blot)及實時PCR進行M2巨噬細胞標記基因之表現分析(圖3)。又，於0小時(投予前)及投予後4、24小時採取脈絡膜及視網膜樣品，並藉由實時PCR進行氧化壓力相關基因之表現分析(圖4)。

【0052】

又，向近視誘導中之小鼠投予IL-4，並評估是否具有近視抑制效果(圖4)。

對於近視誘導中之C57BL6小鼠(-30D鏡片，n=4)，向腹腔內投予IL-4溶液0.1 µg/100 µl(10 µg/kg BW)3週。使用近視誘導中之C57BL6J小鼠(0D鏡片、-30D鏡片、各組n=4)作為對照組。3週後，以與試驗例1相同之方式對屈光、眼軸之伸長、脈絡膜薄化進行測定。

【0053】

(結果)

其結果，藉由投予IL-4而於脈絡膜中觀察到M2標記物即CD163與CD206之表現量增加(圖3B、C)，確認到向M2巨噬細胞極化。又，藉由基因表現分析，觀察到M2巨噬細胞標記基因之表現亢進、及氧化壓力相關基因之表現抑制(圖5)。該等結果提示，藉由投予IL-4，而誘導向M2巨噬細胞極化，抑制氧化壓力相關基因之表現，從而抑制近視發展(圖5)。

【0054】

又，藉由於近視誘導期間投予IL-4，確認到屈光下降之抑制(圖5B左)、眼軸伸長之抑制(圖5B中央)、脈絡膜薄化之抑制(圖5B右)。

【0055】

根據以上結果，確認到因投予IL-4而引起之脈絡膜巨噬細胞之M2極化顯示出近視抑制效果。

【0056】

<投予IL-13>

以與IL-4同樣之方式，在近視誘導期間投予作為使巨噬細胞向M2極化之細胞激素而周知之IL-13，藉此，使用C57BL6J小鼠而確認到：與IL-

4之結果同樣地，由佩戴負鏡片引起之眼軸伸長、屈光近視化以及脈絡膜薄化得到抑制，且誘導向M2巨噬細胞極化(圖6)。

再者，血流變化、巨噬細胞數量之計測係以如下方式進行。

血流變化係使用波長掃描型光干涉斷層掃描儀(OCT S-1，Canon)來測定。

巨噬細胞數量係於脈絡膜消化後，利用F4/80抗體及CD11b抗體進行染色，並利用流式細胞儀(CytoFLEX S，貝克曼庫爾特)進行測定。M2巨噬細胞數量之測定除了追加利用CD206抗體之染色過程以外，以與巨噬細胞數量之測定相同之方式進行測定。

【0057】

如試驗例1、2之結果所示，確認到尤其藉由控制脈絡膜中之巨噬細胞之狀態，可誘導或抑制近視。自抑制近視發展及治療之觀點來看，尤其是促使向M2巨噬細胞極化可有效實現該目標。

【0058】

<試驗例3 藉由肥大細胞穩定劑之滴眼而抑制近視化>

為了驗證藉由肥大細胞穩定劑之滴眼而產生之近視發展抑制效果，使用藉由給小鼠佩戴負鏡片而誘導近視之鏡片誘導型近視(Lens-induced myopia)模型，於其近視誘導期間每天滴眼投予一次色甘酸溶液(4%溶液)或吡嘧司特鉀(0.1%溶液)。

【0059】

按照上述試驗方法，對進行了3週近視誘導及色甘酸溶液或吡嘧司特鉀溶液之滴眼投予之小鼠與對照小鼠，測定眼軸長度、屈光值及脈絡膜厚度，並算出其變化量(圖7A、B、C)。

【0060】

其結果，與對照眼睛相比，進行PBS投予之對照組之佩戴負鏡片之眼睛中觀察到眼軸伸長(圖7A)、屈光近視化(圖7B)、及脈絡膜薄化(圖7C)。另一方面，於滴眼投予色甘酸溶液或吡嘧司特鉀溶液之投予組中，未觀察到於PBS投予組中觀察到之上述變化。

【0061】

如該等結果所示，確認到滴眼投予肥大細胞穩定劑會抑制近視發展。

【0062】

<試驗例4 肥大細胞穩定劑滴眼與組胺受體抑制劑滴眼之近視抑制效果之比較>

抗過敏藥大致分為兩類：肥大細胞穩定劑，其抑制肥大細胞脫顆粒；及組胺受體抑制劑，其抑制肥大細胞脫顆粒所分泌之組胺之作用。為了明確試驗例3之肥大細胞穩定劑滴眼之近視抑制效果為抗過敏藥之作用，抑或為藉由抑制肥大細胞脫顆粒而產生之作用，對利用LIM(Lens Induced Myopia，鏡片誘導型近視)實施了近視誘導之小鼠，滴眼投予作為肥大細胞穩定劑之吡嘧司特鉀(0.1%溶液)及作為組胺受體抑制劑之左卡巴斯汀溶液(0.025%溶液)，並比較其近視抑制效果。將結果示於圖8。

【0063】

如圖8所示，其結果，與試驗例3同樣地，於吡嘧司特鉀投予組中，未觀察到於對照組中觀察到之眼軸伸長、屈光近視化、及脈絡膜薄化。另一方面，於左卡巴斯汀投予組中，與對照組同樣地，觀察到眼軸伸長、屈光近視化、及脈絡膜薄化。

【0064】

根據以上結果，確認到抗過敏藥中之肥大細胞穩定劑具有近視抑制效果。

【0065】

<試驗例5 藉由投予副乾酪乳桿菌而抑制近視發展>

由於誘導M2巨噬細胞可抑制近視發展，故將養樂多(養樂多股份有限公司總公司)中所含之副乾酪乳桿菌作為乳酸菌來進行培養、增殖，並投予至近視模型小鼠，以與試驗例3～試驗例4相同之方式測定眼軸長度、屈光值及脈絡膜厚度，並算出其變化量(圖9)。其結果，確認到投予乳酸菌會抑制近視發展(圖9)。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抑制、改善或治療近視之方法，其包括對需要處置之對象投予治療有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質為M2巨噬細胞極化誘導物質、肥大細胞穩定劑、或化學介質游離抑制劑。

【請求項3】

如請求項2之方法，其中M2巨噬細胞極化誘導物質選自由蛋白、肽、核酸、低分子化合物、及高分子化合物所組成之群。

【請求項4】

如請求項2之方法，其中M2巨噬細胞極化誘導物質選自由IL-4、IL-10、IL-13、TLR2,4,7,9及其配體、比生群二鹽酸鹽、雷公藤甲素(triptolide)、洛伐他汀(lovastatin)、QS11、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)、伊沙佐米(ixazomib)、GW-843682X、KW 2449、阿西替尼(axitinib)、JTE 013、嘌嗎啡胺(purmorphamine)、阿奇里亞黃素A(arcyriaflavin A)、達沙替尼(dasatinib)、NVP-LDE225、1-萘基PP1(1-naphthyl PP1)、MGCD-265、博舒替尼(bosutinib)所組成之群。

【請求項5】

如請求項2之方法，其中肥大細胞穩定劑或化學介質游離抑制劑為色甘酸、或吡嘧司特、或其鹽。

【請求項6】

如請求項1之方法，其中乳酸菌為乳桿菌(Lactobacillus)屬。

【請求項7】

如請求項1之方法，其中乳酸菌為副乾酪乳桿菌(*Lactobacillus paracasei*)。

【請求項8】

如請求項1之方法，其中脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌包含於醫藥組合物、補充品或食品中。

【請求項9】

如請求項1之方法，其可抑制屈光下降、眼軸伸長、及/或脈絡膜薄化。

【請求項10】

一種抑制或治療近視之組合物，其含有治療有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

【請求項11】

一種抑制或改善近視之補充品，其含有有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

【請求項12】

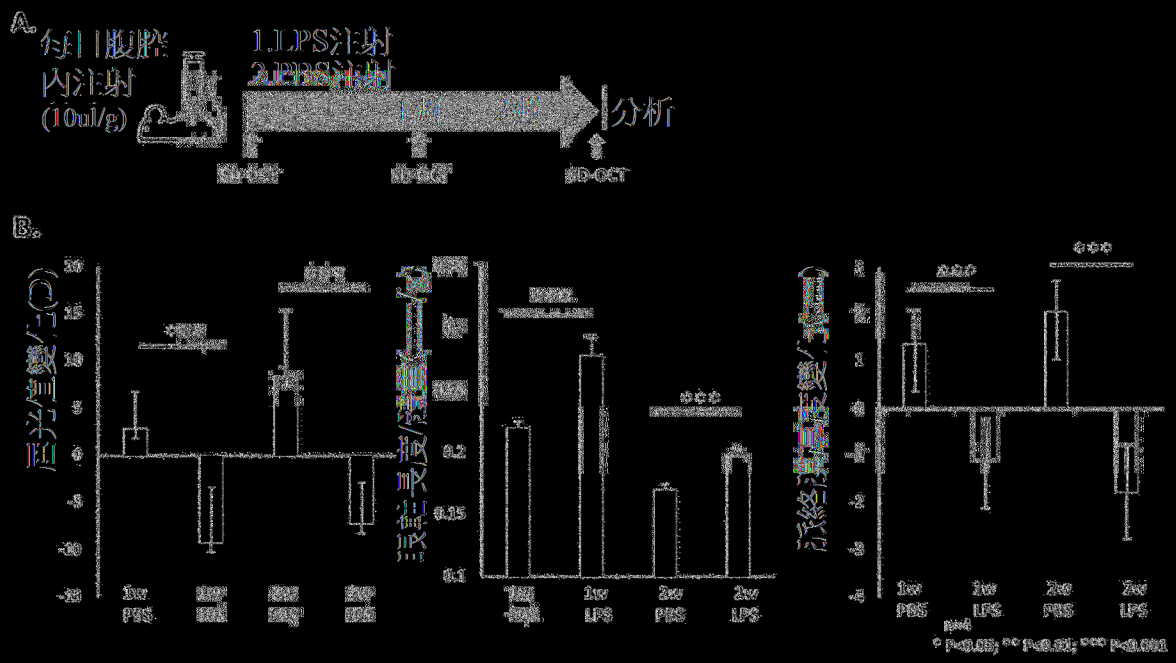
一種抑制或改善近視之食品，其含有有效量之脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌。

【請求項13】

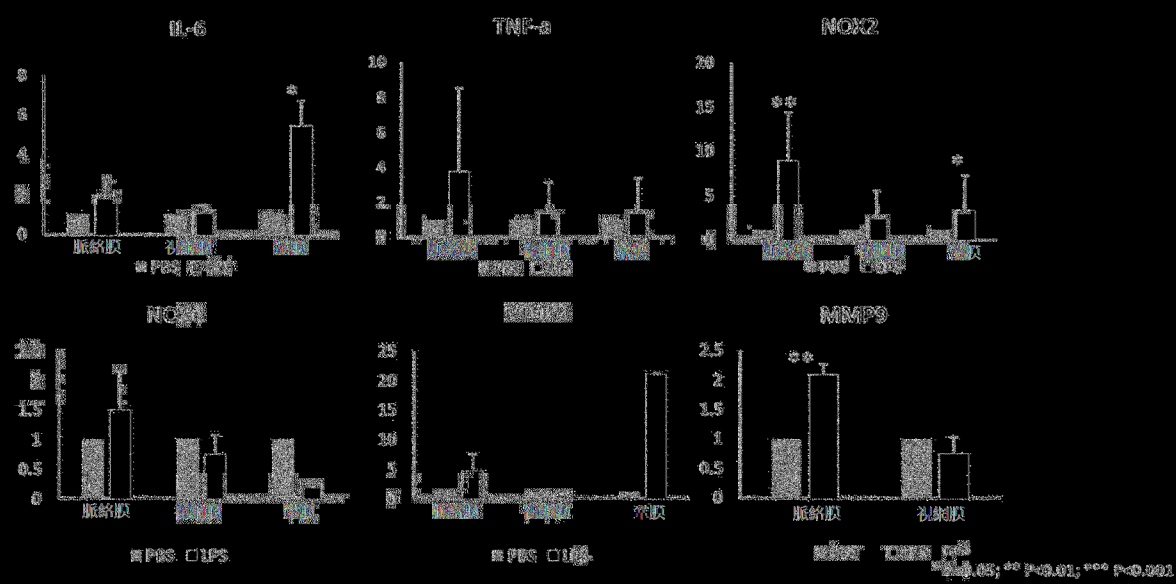
一種脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於製造抑制或治療近視之藥物。

【請求項14】

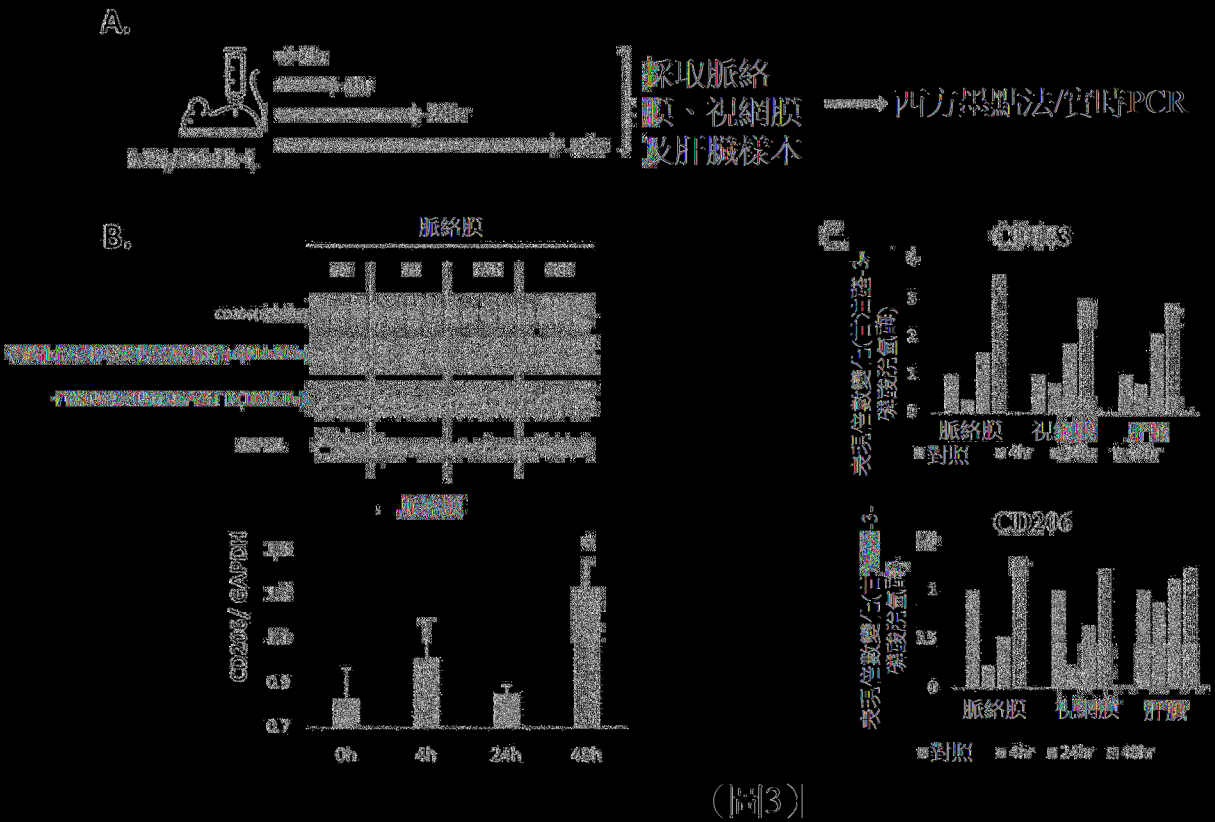
一種脈絡膜固有免疫細胞功能調節物質或乳酸菌之用途，其用於抑制或治療近視。



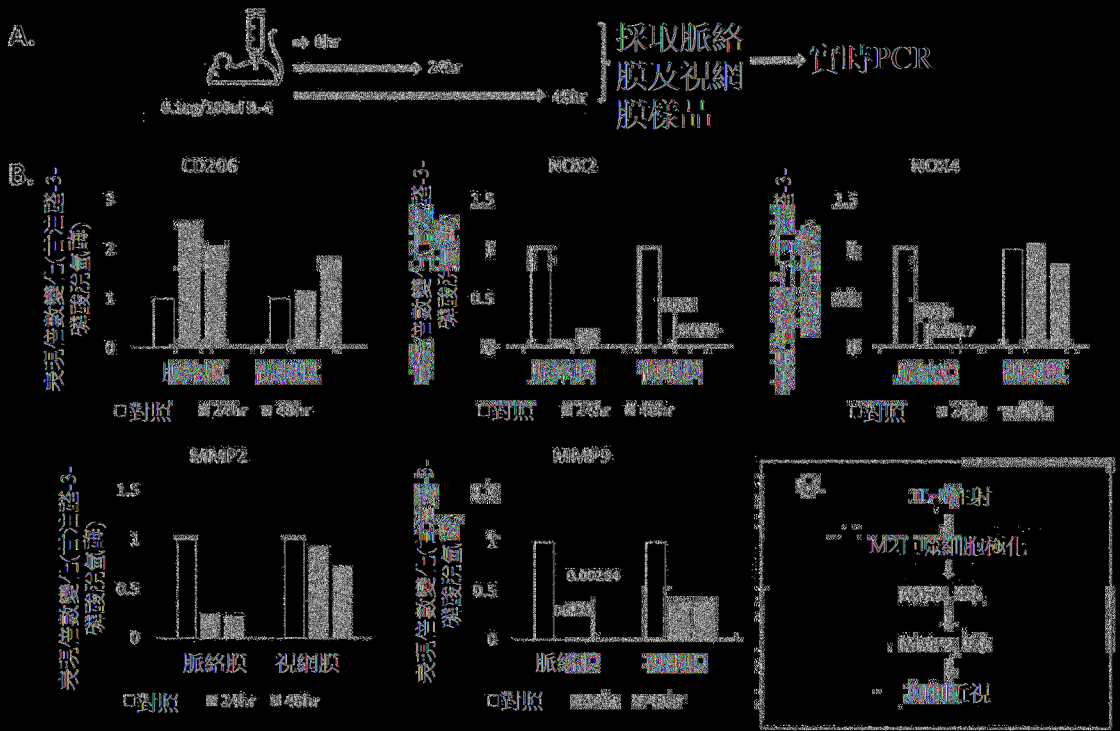
[(圖1)]



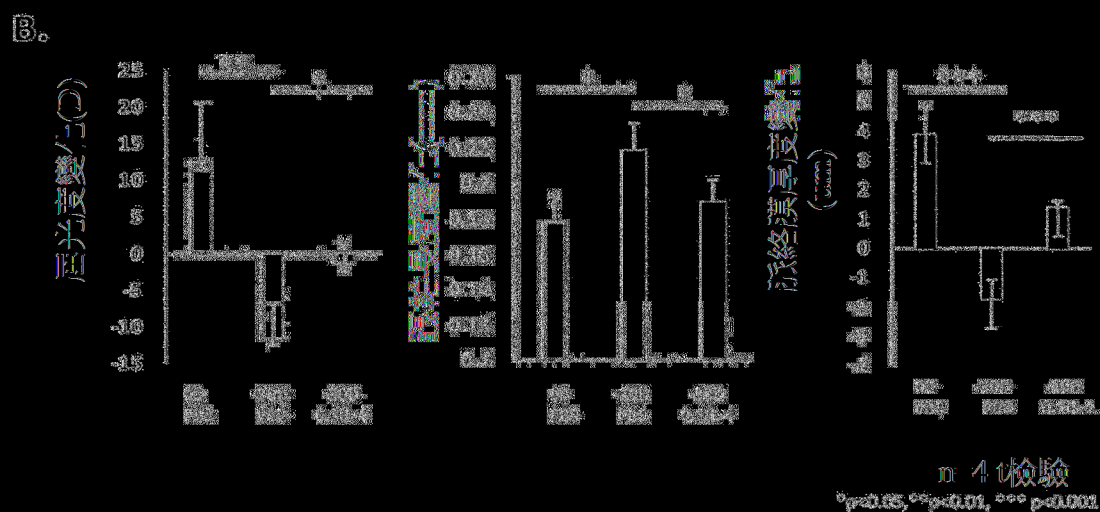
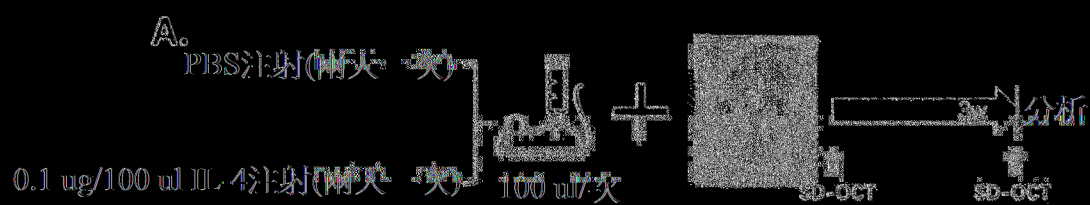
[(圖2)]



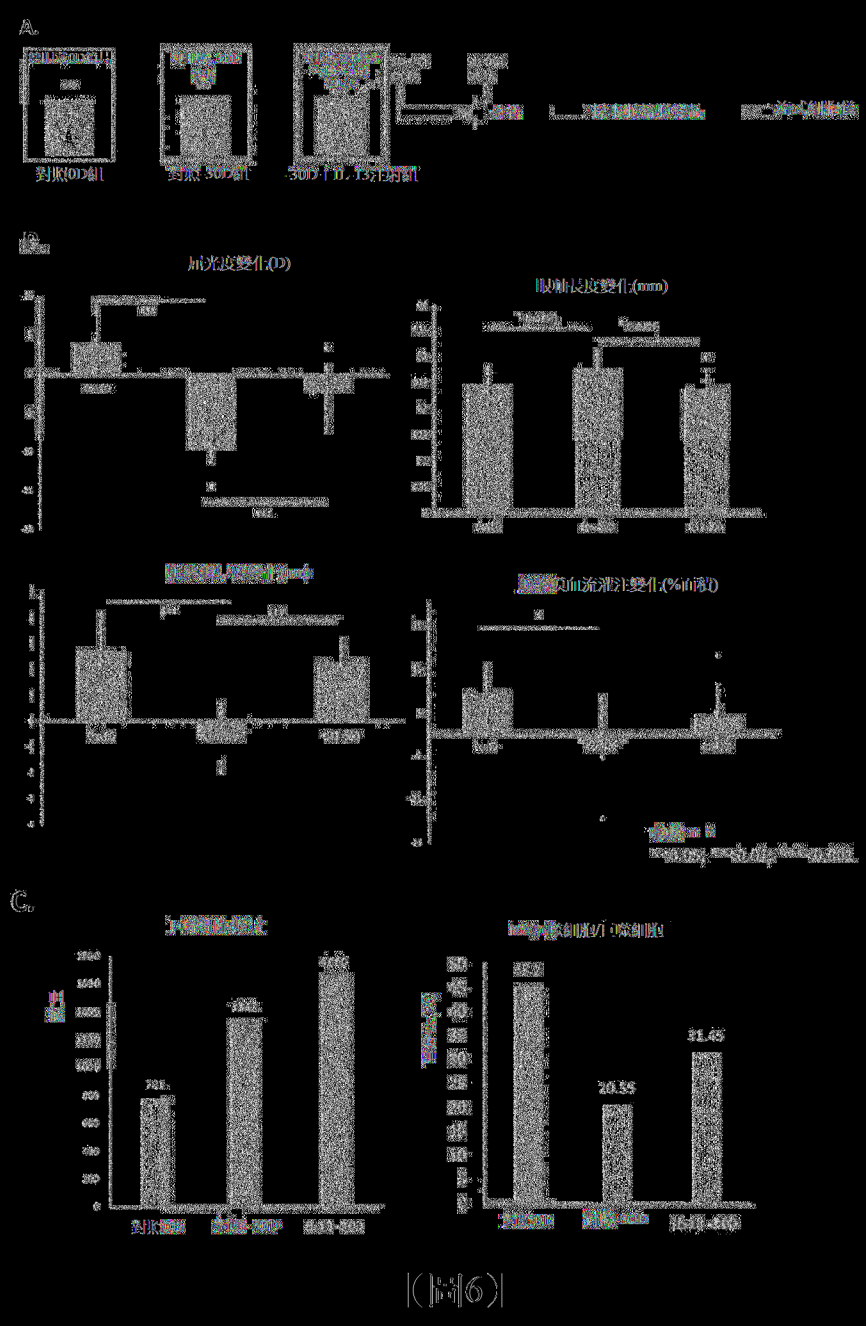
(圖3)

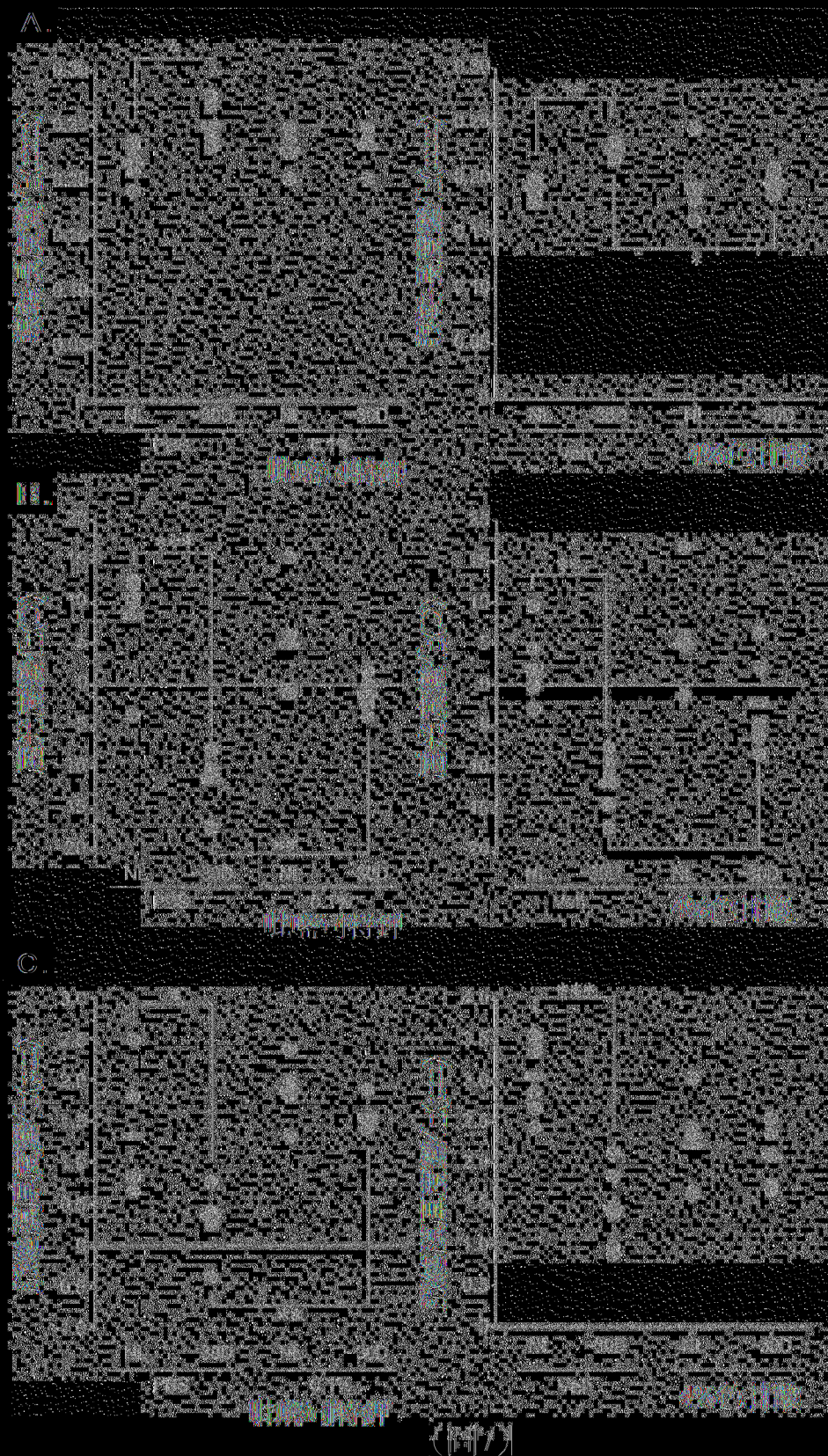


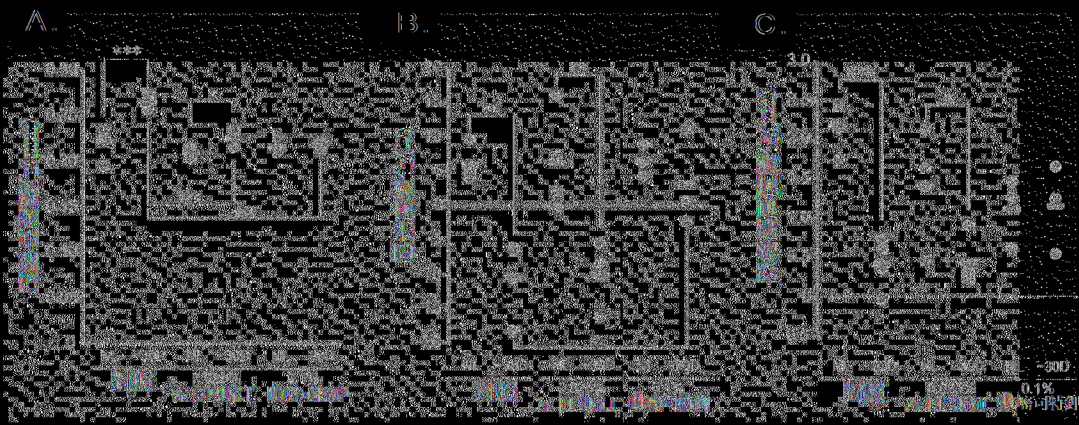
(圖4)



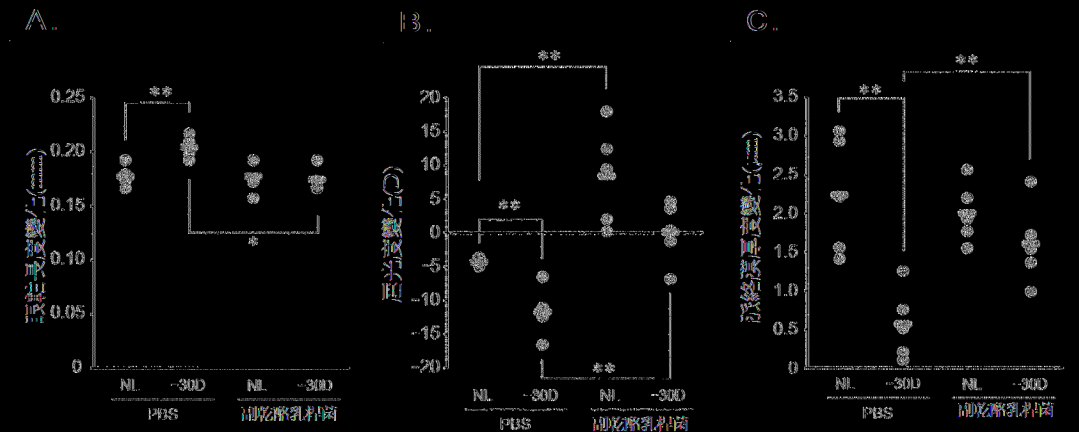
(HIS)







(图8)



(图9)