

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-527671

(P2021-527671A)

(43) 公表日 令和3年10月14日 (2021. 10. 14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/198 (2006. 01)	A 6 1 K 31/198	4 B 0 1 8
A 6 1 P 3/08 (2006. 01)	A 6 1 P 3/08	4 C 0 8 4
A 6 1 P 5/50 (2006. 01)	A 6 1 P 5/50	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/405 (2006. 01)	A 6 1 K 31/405	4 C 2 0 6
A 6 1 K 38/05 (2006. 01)	A 6 1 K 38/05	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 88 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-570747 (P2020-570747)	(71) 出願人	516077688
(86) (22) 出願日	令和1年6月19日 (2019. 6. 19)		アクセラ・ヘルス・インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	令和3年2月15日 (2021. 2. 15)		A x c e l l a H e a l t h I n c .
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/038037		アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 O
(87) 国際公開番号	W02019/246299		2 1 3 9, ケンブリッジ, 3階, 8 4 0
(87) 国際公開日	令和1年12月26日 (2019. 12. 26)		メモリアル ドライブ
(31) 優先権主張番号	62/687, 727	(74) 代理人	100092783
(32) 優先日	平成30年6月20日 (2018. 6. 20)		弁理士 小林 浩
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100093676
(31) 優先権主張番号	62/794, 134		弁理士 小林 純子
(32) 優先日	平成31年1月18日 (2019. 1. 18)	(74) 代理人	100120134
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 大森 規雄
		(74) 代理人	100153693
			弁理士 岩田 耕一
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 インスリン抵抗性及び代謝疾患の軽減又は治療のための組成物及び方法

(57) 【要約】

本開示は、対象におけるインスリン抵抗性を軽減又は治療するための組成物及び方法を提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象における耐糖能を改善するための方法であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) N－アセチルシステイン（NAC）実体

を含む組成物を有効量で、それを必要とする前記対象に投与し、それによって、前記対象における耐糖能を改善することを含み；

ただし：

前記耐糖能は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、方法。

【請求項 2】

対象におけるインスリン抵抗性を軽減するための方法であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) N－アセチルシステイン（NAC）実体

を含む組成物を有効量で、それを必要とする前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記インスリン抵抗性を軽減することを含み；

ただし：

前記インスリン抵抗性は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、方法。

【請求項 3】

必要とする対象におけるインスリン抵抗性を治療する方法であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) NAC実体

を含む組成物を有効量で、前記対象に投与し、それによって、前記対象における前記インスリン抵抗性を治療することを含み；

ただし：

前記インスリン抵抗性は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、方法。

【請求項 4】

対象における耐糖能を改善するのに使用するための組成物であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) N－アセチルシステイン（NAC）実体

を含む組成物を有効量で含み；

ただし：

前記耐糖能は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、組成物。

【請求項 5】

対象におけるインスリン抵抗性を軽減するのに使用するための組成物であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) N－アセチルシステイン（NAC）実体

10

20

30

40

50

を含む組成物を有効量で含み；

ただし：

前記インスリン抵抗性は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、組成物。

【請求項6】

必要とする対象におけるインスリン抵抗性を治療するのに使用するための組成物であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニン-アミノ酸実体、
- c) グルタミン-アミノ酸実体；及び
- d) NAC実体

を含む組成物を有効量で含み；

ただし：

前記インスリン抵抗性は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない、組成物。

【請求項7】

前記組成物の投与が、減少した遊離脂肪酸、低下した脂質代謝、増加したインスリン分泌、又は耐糖能異常の1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）から選択される代謝症状の改善をもたらす、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～6のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項8】

前記対象が、インスリン抵抗性又は耐糖能異常の一方又は両方を有するか、又はインスリン抵抗性又は耐糖能異常の一方又は両方であると診断されている、請求項1～3又は7のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～7のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項9】

前記対象が、前糖尿病、腎不全を有するか、又は妊娠している、請求項1～3、7、又は8のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～8のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項10】

前記対象が、心血管の疾患又は障害（例えば、高血圧症、脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、若しくは閉塞性睡眠時無呼吸）、内分泌の疾患又は障害（例えば、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、甲状腺機能亢進症、クッシング病、クッシング症候群末端肥大症、若しくは褐色細胞腫）、又は遺伝性の疾患又は障害（例えば、ダウン症、ターナー症候群、クラインフェルター症候群、サラセミア、ヘモクロマトーシス、リポジストロフィー、早老症、ハンチントン舞蹈病、フリードライヒ運動失調症、ローレンス・ムーア・ビードル症候群、1型糖原病、3型糖原病、若しくは遺伝性ミトコンドリア異常症）を有する、請求項1～3又は7～9のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～9のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項11】

前記対象が、癌又は認知症を有する、請求項1～3又は7～10のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～10のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項12】

前記癌が、結腸癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎細胞癌、又は乳癌から選択される、請求項11に記載の方法、又は請求項11に記載の使用のための組成物。

【請求項13】

前記認知症が、アルツハイマー病又はレビー小体型認知症から選択される、請求項11に記載の方法、又は請求項11に記載の使用のための組成物。

【請求項14】

前記対象が、重度インスリン抵抗性症候群（SSIR）に罹患している、請求項1～3

10

20

30

40

50

又は 7～13 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～13 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 15】

前記対象が、インスリン抵抗性の遺伝性障害を有する、請求項 1～3 又は 7～14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記インスリン抵抗性の遺伝性障害が、ドナヒュー症候群、ラブソン・メンデンホール症候群、又は A 型インスリン抵抗性から選択される、請求項 15 に記載の方法、又は請求項 15 に記載の使用のための組成物、又は請求項 4～15 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

10

【請求項 17】

前記方法が、(a) 体重；(b) BMI；(c) HOMA-IR；(d) 高インスリン正常血糖クランプにおけるグルコース利用；(e) エクスビボ骨格筋又は脂肪細胞調製物における 2-デオキシグルコース取り込み；(f) 18FDG PET；(g) アディポネクチン；(h) レチノール結合タンパク質 4 (RBP4)；(i) レジスチン；(j) インスリン；(k) グルコース；(l) レプチン；又は (m) 脂肪細胞サイズのうちの 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを決定することをさらに含む、請求項 1～3 又は 7～16 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～16 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 18】

前記組成物が、(e) イソロイシンアミノ酸実体又は (f) バリンアミノ酸実体の一方又は両方をさらに含む、請求項 1～3 又は 7～17 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～17 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

20

【請求項 19】

前記組成物が、(g) ヒスチジンアミノ酸実体、(h) リジンアミノ酸実体、(i) フェニルアラニンアミノ酸実体、又は (j) トレオニンアミノ酸実体のうちの 1 つ、2 つ、3 つ、又はそれ以上（例えば、全て）をさらに含む、請求項 1～3 又は 7～18 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～18 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 20】

(a)～(d) の総重量%が、前記組成物（例えば、乾燥形態で）中の他のアミノ酸実体成分、非アミノ酸実体タンパク質成分（例えば、ホエータンパク）、又は非タンパク質成分の 1 つ、2 つ、又は 3 つの総重量%を超える、請求項 1～3 又は 7～19 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～19 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

30

【請求項 21】

前記組成物が、18 以下のアミノ酸実体の組合せを含む、請求項 1～3、又は 7～20 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～20 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 22】

前記組成物が、20 を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、ホエータンパク）を含まないか、又は 20 を超えるアミノ酸残基長のペプチドが存在する場合、前記ペプチドは、前記組成物（例えば、乾燥形態で）の非アミノ酸実体タンパク質成分又は全成分の総重量の 10 重量%未満で存在する、請求項 1～3、又は 7～21 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～21 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

40

【請求項 23】

メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの 1 つ、2 つ、3 つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、前記組成物に存在しないか、又は存在する場合、前記組成物（例えば、乾燥形態で）の総重量の 10 重量%未満で存在する、請求項 1～3 又は 7～22 のいずれか一項に記載の方法、又は請求項 4～22 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 24】

50

(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ、又はそれ以上（例えば、全て）が、表1から選択される、請求項1～3又は7～23のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～23のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項25】

前記ロイシンアミノ酸実体、前記アルギニンアミノ酸実体、前記グルタミンアミノ酸実体、及び前記NACアミノ酸実体の重量比が、 $1+/-20\%:1.5+/-20\%:2+/-20\%:0.15+/-20\%$ である、請求項1～3又は7～24のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～24のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項26】

前記ロイシンアミノ酸実体、前記イソロイシンアミノ酸実体、前記バリンアミノ酸実体、前記アルギニンアミノ酸実体、前記グルタミンアミノ酸実体、及び前記NACアミノ酸実体の重量比が、 $1+/-20\%:0.5+/-20\%:0.5+/-20\%:1.5+/-20\%:2+/-20\%:0.15+/-20\%$ である、請求項18～25のいずれか一項に記載の方法、又は請求項18～25のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項27】

前記組成物が、以下を含み、

a) 以下から選択されるロイシンアミノ酸実体：

i) L-ロイシン若しくはその塩、

ii) L-ロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、又は

iii) β -ヒドロキシー β -メチルブチレート (HMB) 若しくはその塩；

b) 以下から選択されるアルギニンアミノ酸実体：

i) L-アルギニン若しくはその塩、

ii) L-アルギニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、

iii) クレアチン若しくはその塩、又は

iv) クレアチンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；

c) 前記グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン若しくはその塩又はL-グルタミンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩であり；及び

d) 前記NAC実体は、NAC若しくはその塩又はNACを含むジペプチド若しくはその塩である、請求項1～3、又は7～24のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～27のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項28】

前記組成物が、

e) L-イソロイシン若しくはその塩又はL-イソロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又は

f) L-バリン若しくはその塩又はL-バリンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩

のうちの一方又は両方をさらに含む、請求項27に記載の方法、又は請求項27に記載の使用のための組成物。

【請求項29】

前記組成物が、(g) L-ヒスチジン若しくはその塩又はL-ヒスチジンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；(h) L-リジン若しくはその塩又はL-リジンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；

(i) L-フェニルアラニン若しくはその塩又はL-フェニルアラニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又は(j) L-トレオニン若しくはその塩又はL-トレオニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩のうちの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）をさらに含む、請求項

10

20

30

40

50

1～3又は7～28のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～28のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項30】

前記組成物が、以下を含み、

a) 前記ロイシンアミノ酸実体は、L-ロイシン又はその塩であり；b) 前記アルギニンアミノ酸実体は、L-アルギニン又はその塩であり；c) 前記グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン又はその塩であり；及びd) 前記NAC実体は、NAC又はその塩である、請求項1～3又は7～29のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～29のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項31】

前記組成物が、薬学的に許容できる担体とともに製剤化される、請求項1～3又は7～30のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～30のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項32】

前記組成物が、食品組成物として製剤化される、請求項1～3又は7～30のいずれか一項に記載の方法、又は請求項4～13のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

〔背景技術〕

インスリン抵抗性は、通常、グルコースの取り込み及びその後の、グルコースの、グリコーゲンなどの貯蔵型への変換をもたらすホルモンに応答するインスリン感受性細胞の障害によって特徴付けられる深刻な健康問題である。インスリン抵抗性を有する個体では、脂質代謝の異常、特に、高い血中トリグリセリド及び低い高比重リポタンパクがあることが多い。2型糖尿病、前糖尿病、メタボリック・シンドローム、肥満、高血圧症、脂質異常症、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、及び甲状腺機能亢進症などの、様々な疾患及び障害が、インスリン抵抗性に関連している。インスリン抵抗性のための一次治療は、運動及び減量であるが、メトホルミンが、広く処方されている薬剤の1つである。しかしながら、メトホルミンは、他の副作用を引き起こすとともにビタミンB12欠乏症を隠す（mask）ことが知られている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0002】

利用可能な治療の制限を考えると、対象におけるインスリン抵抗性を軽減する薬剤、例えば、食品組成物及び治療薬が依然として必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0003】

対象、例えば、インスリン抵抗性疾患又は障害を有する対象におけるインスリン抵抗性又は耐糖能を改善するのに有用なアミノ酸実体を含む組成物が、本明細書において提供される。組成物は、それを必要とする対象（例えば、ヒト）におけるインスリン抵抗性を軽減及び／又は治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）方法に使用され得る。本方法は、アミノ酸実体を含む組成物の投与の後、インスリン抵抗性の1つ又は複数の症状の改善について対象を監視することをさらに含み得る。

【0004】

一態様において、本発明は、対象における耐糖能を改善するための方法であって、

a) ロイシンアミノ酸実体、

b) アルギニンアミノ酸実体、

c) グルタミンアミノ酸実体；及び

d) N-アセチルシステイン（NAC）実体

を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる組成物（例えば、活性部分）

10

20

30

40

50

を有効量で、それを必要とする対象に投与し；

それによって、対象における耐糖能を改善することを含む方法の特徴とする。

【0005】

ある実施形態において、耐糖能は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連していない。

【0006】

別の態様において、本発明は、対象におけるインスリン抵抗性を軽減するための方法であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) N-アセチルシステイン (NAC) 実体

を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる組成物（例えば、活性部分）を有効量で、それを必要とする対象に投与し；

それによって、対象におけるインスリン抵抗性を軽減することを含む方法の特徴とする。

【0007】

別の態様において、本発明は、必要とする対象におけるインスリン抵抗性を治療する方法であって、

- a) ロイシンアミノ酸実体、
- b) アルギニンアミノ酸実体、
- c) グルタミンアミノ酸実体；及び
- d) NAC 実体

を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなる組成物（例えば、活性部分）を有効量で、対象に投与し；

それによって、対象におけるインスリン抵抗性を治療することを含む方法の特徴とする。

【0008】

ある実施形態において、インスリン抵抗性は、肝臓の疾患又は障害、2型糖尿病、肥満、メタボリック・シンドローム、又は高いBMIに関連している。

【0009】

ある実施形態において、組成物の投与は、対象における代謝症状、例えば、減少した遊離脂肪酸、低下した脂質代謝、増加したインスリン分泌、又は耐糖能異常の1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）から選択される代謝症状の改善をもたらす。

【0010】

ある実施形態において、組成物は、インスリン抵抗性を有する対象に投与される。特定の実施形態において、対象は、インスリン抵抗性であると診断されている。

【0011】

ある実施形態において、組成物は、耐糖能異常（例えば、高血糖）を有する対象に投与される。

【0012】

ある実施形態において、対象は、前糖尿病、2型糖尿病、又はメタボリック・シンドローム（X症候群）に罹患している。

【0013】

ある実施形態において、対象は、過体重又は肥満である。

【0014】

ある実施形態において、対象は、心血管の疾患又は障害を有する。特定の実施形態において、対象は、高血圧症、脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、又は閉塞性睡眠時無呼吸から選択される心血管の疾患又は障害を有する。

【0015】

10

20

30

40

50

ある実施形態において、対象は、内分泌の疾患又は障害を有する。特定の実施形態において、内分泌の疾患又は障害は、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、甲状腺機能亢進症、クッシング病、クッシング症候群、末端肥大症、又は褐色細胞腫から選択される。

【0016】

ある実施形態において、対象は、妊娠している。

【0017】

ある実施形態において、対象は、腎不全を有する。

【0018】

ある実施形態において、対象は、遺伝性の疾患又は障害を有する。特定の実施形態において、対象は、ダウン症、ターナー症候群、クラインフェルター症候群、サラセミア、ヘモクロマトーシス、リポジストロフィー、早老症、ハンチントン舞蹈病、筋強直性ジストロフィー、フリードライヒ運動失調症、ローレンス・ムーン・ビードル症候群、1型糖原病、3型糖原病、又は遺伝性ミトコンドリア異常症から選択される遺伝性の疾患又は障害を有する。

【0019】

ある実施形態において、対象は、癌に罹患している。特定の実施形態において、癌は、結腸癌；子宮内膜癌；膵臓癌；腎細胞癌；又は乳癌から選択される。

【0020】

ある実施形態において、対象は、認知症に罹患している。特定の実施形態において、認知症は、アルツハイマー病又はレビー小体型認知症から選択される。

【0021】

ある実施形態において、対象は、重度インスリン抵抗性症候群（SSIR）に罹患している。特定の実施形態において、SSIRは、リポジストロフィーに関連している。

【0022】

ある実施形態において、対象は、インスリン抵抗性の遺伝性障害に罹患している。特定の実施形態において、インスリン抵抗性の遺伝性障害は、ドナヒュー症候群；ラブソン・メンデンホール症候群；又はA型インスリン抵抗性から選択される。

【0023】

ある実施形態において、本方法は、（a）血漿中インスリン；（b）血漿中グルコース；（c）ACOX1；（d）Acta2；（e）血漿中アディポネクチン；（f）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）；（g）アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）；（h）カスパーゼ切断ケラチン18断片（例えば、M30及びM65）；（g）FGF-21；（i）ヒドロキシプロリン；（j）IL-1 β ；又は（k）IL-2のうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを決定することをさらに含む。

【0024】

ある実施形態において、本方法は、（a）体重；（b）BMI；（c）HOMA-IR；（d）高インスリン正常血糖クランプにおけるグルコース利用；（e）エクスピボ骨格筋又は脂肪細胞調製物における2-デオキシグルコース取り込み；（f）18FDG PET；（g）アディポネクチン；（h）レチノール結合タンパク質4（RBP4）；（i）レジスチン；（j）インスリン；（k）グルコース；（l）レプチン；又は（m）脂肪細胞サイズのうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、又はそれ以上（例えば、全て）のレベルを決定することをさらに含む。

【0025】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、（e）イソロイシニアミノ酸実体又は（f）バリンアミノ酸実体の一方又は両方をさらに含む。

【0026】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、（g）ヒスチジニアミノ酸実体、（h）リジンアミノ酸実体、（i）フェニルアラニンアミノ酸実体、又は（j）トレオニンアミノ酸実体のうちの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）をさらに

10

20

30

40

50

含む。

【0027】

ある実施形態において、(a)～(d)、(a)～(f)、又は(a)～(j)の総重量％は、組成物(例えば、乾燥形態で)中の他のアミノ酸実体成分、非アミノ酸実体タンパク質成分(例えば、ホエータンパク)、又は非タンパク質成分の1つ、2つ、又は3つの総重量％を超え、例えば、(a)～(d)、(a)～(f)、又は(a)～(j)は、組成物(例えば、乾燥形態で)中のアミノ酸実体成分又は全成分の一方又は両方の総重量の少なくとも：50重量％、75重量％、又は90重量％である。

【0028】

ある実施形態において、組成物(例えば、活性部分)は、18以下、15以下、又は10以下のアミノ酸実体の組合せを含み、例えば、組合せは、組成物(例えば、乾燥形態で)中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：42重量％、75重量％、又は90重量％を含む。

【0029】

ある実施形態において、組成物は、20を超えるアミノ酸残基長のペプチド(例えば、ホエータンパク)を含まないか、又は20を超えるアミノ酸残基長のペプチドが存在する場合、ペプチドは、組成物(例えば、乾燥形態で)の非アミノ酸実体タンパク質成分又は全成分の総重量の10重量％、1重量％、0.5重量％、0.1重量％、0.05重量％、0.01重量％、0.001重量％未満、又はそれ以下で存在する。

【0030】

ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上(例えば、全て)が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物(例えば、乾燥形態で)中の全成分の総重量の10重量％、1重量％、0.5重量％、0.1重量％、0.05重量％、0.01重量％、0.001重量％未満、又はそれ以下で存在する。ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上(例えば、全て)が、存在する場合、遊離形態で存在する。ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上(例えば、全て)が、存在する場合、塩形態で存在する。

【0031】

ある実施形態において、メチオニン、トリプトファン、バリン、又はシステインは、存在する場合、オリゴペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質中で存在してもよく、ただし、タンパク質は、無傷のタンパク質として存在するか又はタンパク質加水分解物として存在するかにかかわらず、ホエー、カゼイン、ラクトアルブミン、又は栄養補給食品、医療食、若しくは同様の製品として使用される任意の他のタンパク質でない。

【0032】

ある実施形態において、(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上(例えば、全て)が、表1から選択される。

【0033】

ある実施形態において、ロイシニアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比は、 $1+/-20\%:1.5+/-20\%:2+/-20\%:0.15+/-20\%$ である。ある実施形態において、ロイシニアミノ酸実体、イソロイシニアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比は、 $1+/-20\%:0.5+/-20\%:0.5+/-20\%:1.5+/-20\%:2+/-20\%:0.15+/-20\%$ である。

【0034】

ある実施形態において、組成物(例えば、活性部分)は、以下を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなり、

a) 以下から選択されるロイシニアミノ酸実体：i) L-ロイシン若しくはその塩、i

10

20

30

40

50

i) L-ロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、又は i i i) β -ヒドロキシ- β -メチルブチレート (HMB) 若しくはその塩；

b) 以下から選択されるアルギニンアミノ酸実体：i) L-アルギニン若しくはその塩、i i) L-アルギニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩、i i i) クレアチン若しくはその塩、又は i v) クレアチンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；

c) グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン若しくはその塩又はL-グルタミンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩であり；

d) NAC実体は、NAC若しくはその塩又はNACを含むジペプチド若しくはその塩である。

10

【0035】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、e) L-イソロイシン若しくはその塩又はL-イソロイシンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又はf) L-バリン若しくはその塩又はL-バリンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩のうちの一方又は両方をさらに含む。

【0036】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、(g) L-ヒスチジン若しくはその塩又はL-ヒスチジンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；(h) L-リジン若しくはその塩又はL-リジンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；(i) L-フェニルアラニン若しくはその塩又はL-フェニルアラニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩；又は(j) L-トレオニン若しくはその塩又はL-トレオニンを含むジペプチド若しくはその塩、又はトリペプチド若しくはその塩のうちの1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）をさらに含む。

20

【0037】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなり、

a) ロイシンアミノ酸実体は、L-ロイシン又はその塩であり；b) アルギニンアミノ酸実体は、L-アルギニン又はその塩であり；c) グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン又はその塩であり；及びd) NAC実体は、NAC又はその塩である。

30

【0038】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなり、

a) ロイシンアミノ酸実体は、L-ロイシン又はその塩であり；b) アルギニンアミノ酸実体は、L-アルギニン又はその塩であり；c) グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン又はその塩であり；d) NAC実体は、NAC又はその塩であり；e) イソロイシンアミノ酸実体は、L-イソロイシン又はその塩であり；及びf) バリンアミノ酸実体は、L-バリン又はその塩である。

【0039】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下を含むか、それらから本質的になるか、又はそれらからなり、

a) ロイシンアミノ酸実体は、L-ロイシン又はその塩であり；b) アルギニンアミノ酸実体は、L-アルギニン又はその塩であり；c) グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン又はその塩であり；d) NAC実体は、NAC又はその塩であり；e) イソロイシンアミノ酸実体は、L-イソロイシン又はその塩であり；f) バリンアミノ酸実体は、L-バリン又はその塩であり；(g) L-ヒスチジン又はその塩；(h) L-リジン又はその塩；(i) L-フェニルアラニン又はその塩；又は(j) L-トレオニン又はその塩である。

40

【0040】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、薬学的に許容できる担体と

50

もに製剤化される。

【0041】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、食品組成物として製剤化される。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1A】図1：STAMマウスモデル（図1A）及びFATZOマウスモデル（図1B）において、NAFLD活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症に対するアミノ酸組成物（アミノ酸組成物A-1）による処理の効果を示すグラフである。

【図1B】（上記の通り。）

10

【図2】STAM及びFATZOマウスへのアミノ酸組成物の投与のための処理計画を示す概略図である。

【図3A】図3：組織学を用いて決定される際の、NAFLD活動性スコア（NAS）、脂肪症、炎症、及び肝線維症に対する、アミノ酸組成物によるSTAM及びFATZOマウスの処理の効果を示す一連のグラフ及び画像である。

【図3B】（上記の通り。）

【図3C】（上記の通り。）

【図3D】（上記の通り。）

【図3E】（上記の通り。）

【図4A】図4：アミノ酸組成物で処理されたSTAMマウスの肝臓不飽和脂肪酸及びアシルカルニチンのレベルを示す画像である。

20

【図4B】（上記の通り。）

【図5】ACOX1の活性化を示すSTAMマウスにおけるアミノ酸組成物による処理の後の肝臓遺伝子発現パターンの遺伝子地図の画像である。

【図6A】図6：抗炎症性IL-10の上流のレギュレータ活性化（図6A）；炎症性NF- κ Bの阻害（図6B）、インターフェロン、IL-1 β 、及びIL-2（図6C）；並びに線維形成性TGF- β シグナル伝達経路の抑制（図6D）を示すSTAMマウスにおけるアミノ酸組成物による処理の後の肝臓遺伝子発現パターンの遺伝子地図の画像である。

【図6B】（上記の通り。）

30

【図6C】（上記の通り。）

【図6D】（上記の通り。）

【図7】アミノ酸組成物による処理の後の、C-Cケモカイン受容体2型（CCR2）及び5型（CCR5）のリガンドであるMCP-1及びMIP-1タンパク質レベルを示す一連のグラフである。

【図8A-L】ビヒクル対照（図8A～8D）、LIVRQNA Cアミノ酸組成物（図8E～8H）、又は遊離脂肪酸及びTNF α （FF+TNF；図8I～8L）による処理の後の初代ヒト肝細胞における脂質蓄積を示す一連の顕微鏡画像である。

【図9】示されるアミノ酸組成物の投与後のFATZOマウスからの肝組織像（コラーゲン沈着のためのH&E染色又はシリウスレッド染色）を示す一連の顕微鏡画像である。

40

【図10】示されるアミノ酸組成物の投与後のFATZOマウスからの肝組織像を示す一連の顕微鏡画像である。

【図11】示されるアミノ酸組成物の投与後のFATZOマウスからの固定した肝組織において観察される、NAFLD活動性スコア（左上のパネル）、シリウスレッド染色（右上のパネル）、脂肪症レベル（左下のパネル）、炎症レベル（下の真ん中のパネル）及び肝細胞風船様腫大（右下のパネル）を示す一連のグラフである。

【図12A】図12：グルコース（図12A）、インスリン（図12B）、HOMA-IR（図12C）、血漿中アディポネクチン（図12D）、肝臓脂肪及び体重（図12E）、及び血漿中 β -ヒドロキシ酪酸（図12F）のレベルに対する、アミノ酸組成物でヒト対象を処理する効果を示す一連のグラフである。

50

【図 1 2 B】（上記の通り。）
【図 1 2 C】（上記の通り。）
【図 1 2 D】（上記の通り。）
【図 1 2 E】（上記の通り。）
【図 1 2 F】（上記の通り。）
【発明を実施するための形態】

【0043】

1 つには、アミノ酸実体を含む組成物（例えば、活性部分）及び有効量の組成物を投与することによってインスリン抵抗性を軽減する方法が、本明細書に記載される。組成物は、それを必要とする対象におけるインスリン抵抗性を治療又は予防するために投与され得る。組成物中のアミノ酸実体及びアミノ酸実体の相対量は、例えば、多くの生物学的、細胞、及び分子過程の調整を必要とする対象におけるインスリン抵抗性を軽減するために、注意深く選択されてきた。組成物は、インスリン抵抗性、グルコース恒常性、及び脂質代謝に参与するシグナル伝達経路の調節を最適化するために、グルコース及び脂質代謝に対する多経路の有益な効果を可能にする。特に、組成物は、グルコース利用を改善し、脂肪酸酸化を増加させ、インスリン感受性を増加させるように特異的に調整されてきた。

10

【0044】

以下に詳細に記載される例において、本発明の組成物は、空腹時インスリン（低下した）、HOMA-IR（低下した）及びアディポネクチン（増加した）によって測定される際にインスリン感受性を改善し、 β ヒドロキシ酪酸（増加した）によって測定される際に脂肪酸酸化を増加させた。

20

【0045】

定義

特許請求の範囲及び本明細書において使用される用語は、特に規定されない限り、以下に記載されるとおりに定義される。

【0046】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される際、単数形「1つの（a）」、「1つの（an）」及び「その（the）」は、文脈上特に明記されない限り、複数の指示対象を含むことに留意されなければならない。

【0047】

本明細書において使用される際、「アミノ酸実体」という用語は、遊離形態若しくは塩形態（又は両方）の左旋性（L）-アミノ酸、20未満のアミノ酸残基のペプチド（例えば、オリゴペプチド、例えば、ジペプチド若しくはトリペプチド）のL-アミノ酸残基、アミノ酸の誘導体、アミノ酸の前駆体、又はアミノ酸の代謝産物を指す（例えば、表1を参照）。アミノ酸実体は、遊離L-アミノ酸の生物学的機能性をもたらすことが可能な、アミノ酸の誘導体、アミノ酸の前駆体、アミノ酸の代謝産物、又はアミノ酸の塩形態を含む。アミノ酸実体は、完全な（whole）又は修飾された形態、例えば、加水分解された形態のいずれかの、20を超えるアミノ酸残基の天然ポリペプチド又はタンパク質を含まない。

30

【0048】

アミノ酸の塩は、任意の摂取可能な塩を含む。医薬組成物については、組成物（例えば、活性部分）中に存在するアミノ酸の塩形態は、薬学的に許容できる塩であるべきである。特定の例において、塩形態は、アミノ酸の塩酸塩（HCl）形態である。

40

【0049】

ある実施形態において、アミノ酸実体の誘導体は、アミノ酸エステル（例えば、アミノ酸実体のアルキルエステル、例えば、エチルエステル若しくはメチルエステル）又はケト酸を含む。

【0050】

【表 1】

表 1. アミノ酸実体は、本明細書に記載される組成物のアミノ酸、前駆体、代謝産物、及び誘導体を含む。

	例示的な アミノ酸	前駆体	代謝産物	誘導体
ロイシン	L-ロイシン	オキソ-ロイシン	HMB (β-ヒドロキシ-β- メチルブチレート); オキソ-ロイシン; イソバレリル-CoA	N-アセチル- ロイシン
イソロイシン	L-イソロイシン	2-オキソ-3-メチル- 吉草酸;	2-オキソ-3-メチル- 吉草酸; メチルブチリル-CoA	N-アセチル- イソロイシン
バリン	L-バリン	2-オキソ-吉草酸	イソブチリル-CoA	N-アセチル-バリン
アルギニン	L-アルギニン	アルギニノコハク酸; ア スパルテート; グルタメート	アグマチン; クレアチン	N-アセチル- アルギニン
グルタミン	L-グルタミン	グルタメート	カルバモイル-P; グルタメート	N-アセチル- グルタミン

10

20

【 0 0 5 1 】

【表 2】

NAC	N- アセチルシステイン	アセチルセリン; シスタチオニン	グルタチオン; シスタチオニン; ホモシステイン; メチオニン	システイン; システアミン
セリン	L-セリン	ホスホセリン、P- ヒドロキシピルビン酸、 L-グリシン	グリシン、 トリプトファン、 アセチルセリン、 シスタチオニン、 ホスファチジルセリン	
ヒスチジン	L-ヒスチジン	ヒスチジノール; ヒスチジナール; リボース-5-リン酸	カルノシン; ヒスタミン; ウロカニン酸	N-アセチル- ヒスチジン
リジン	L-リジン	ジアミノピメリン酸; アスパルテート	トリメチルリジン; サッカロビン	N-アセチル-リジン
フェニルアラニン	L- フェニルアラニン	フェニルピルビン酸	チロシン	N-アセチル- フェニルアラニン
トレオニン	L-トレオニン	ホモセリン; O-ホスホホモセリン	オキソ酪酸	N-アセチル- トレオニン

10

20

30

【0052】

「約」及び「およそ」は、一般に、測定 of 性質又は精度を所与として、測定される量に対する誤差の許容される程度を意味するものである。例示的な誤差の程度は、所与の値又は値の範囲の15パーセント(%)以内、典型的に、10%以内、より典型的に、5%以内である。

40

【0053】

「アミノ酸」は、アミノ基($-NH_2$)、カルボン酸基($-C(=O)OH$)、及び中心の炭素原子を介して結合された側鎖を有する有機化合物を指し、必須及び非必須アミノ酸、並びに天然、非タンパク及び非天然アミノ酸を含む。

【0054】

本明細書において使用される際、「活性部分」という用語は、全体として、本明細書に記載される生理学的効果、例えば、インスリン抵抗に対する効果を有する能力を有する4

50

つ以上のアミノ酸実体の組合せを意味する。例えば、活性部分は、疾患又は障害に罹患した対象における代謝機能不全のバランスを調節し直すことができる。本発明の活性部分が、他の生物学的に有効な成分を含有し得る。ある例において、活性部分は、以下に詳細に記載される、4つ以上のアミノ酸実体の定義された組合せを含む。他の実施形態において、活性部分は、以下に詳細に記載される、アミノ酸実体の定義された組合せからなる。

【0055】

個々のアミノ酸実体が、重量基準の量（例えば、グラムで）、アミノ酸実体の互いの重量比、モル基準の量、組成物の重量パーセント基準の量、組成物のモルパーセント基準の量、カロリー量、組成物へのカロリー寄与率パーセントなどとして示され得る様々な量又は比率で、組成物、例えば、活性部分中に存在する。一般に、本開示は、剤形におけるアミノ酸実体のグラム、組成物の重量に対するアミノ酸実体の重量パーセント、すなわち、組成物中に存在する全てのアミノ酸実体及び任意の他の生物学的に有効な成分の重量を、又は比率で提供する。ある実施形態において、組成物、例えば、活性部分は、薬学的に許容できる製剤（例えば、医薬品）として提供される。

【0056】

本明細書において使用される際の「有効量」という用語は、治療される症状を軽減及び／又は病態を改善する（例えば、所望の臨床反応をもたらす）のに十分な、本発明の組成物、特に、本発明の医薬組成物における、本発明の有効成分の量を意味する。組成物において使用するための有効成分の有効量は、担当医の知識及び専門知識により、治療される具体的な病態、病態の重症度、治療期間、併用療法の性質、用いられる具体的な有効成分、用いられる具体的な薬学的に許容できる賦形剤及び／又は担体、及び類似の要因により変化するであろう。

【0057】

本明細書に記載される「医薬組成物」は、少なくとも1つの「活性部分」及び薬学的に許容できる担体又は賦形剤を含む。ある実施形態において、医薬組成物は、治療薬として使用される。医薬品規格（GMP；医薬品グレード成分）を満たす必要のない他の組成物が、栄養補給食品、医療食、又は栄養補助食品として使用され得、これらは、「消費者健康（consumer health）組成物」と呼ばれる。

【0058】

本明細書において使用される際の「薬学的に許容できる」という用語は、妥当な医学的判断の範囲内で、妥当なリスク・ベネフィット比に見合って、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、ヒト及び動物の組織と接触した状態で使用するのに好適なアミノ酸、材料、賦形剤、組成物、及び／又は剤形を指す。特定の実施形態において、「薬学的に許容できる」は、検出可能な内毒素を含まないか、又は内毒素レベルが、医薬品中で許容できるレベル未満であることを意味する。

【0059】

特定の実施形態において、「薬学的に許容できる」は、1つ又は複数の製品品質パラメータが、薬剤、医薬組成物、治療、又は他の治療薬のために許容できる範囲内であることを確実にするために、製薬業界又は製薬業界を規制する機関若しくは事業体（例えば、政府若しくは商業機関若しくは事業体）によって使用される規格を意味する。製品品質パラメータは、組成物；組成物の均一性；投与量；投与量の均一性；存在、非存在、及び／又は汚染物質若しくは不純物のレベル；及び無菌のレベル（例えば、微生物の存在、非存在及び／又はレベル）を含むがこれらに限定されない、製薬業界又は機関若しくは事業体、例えば、政府若しくは商業機関若しくは事業体によって規制される任意のパラメータであり得る。例示的な政府の規制機関としては、アメリカ食品医薬品局（Federal Drug Administration）（FDA）、欧州医薬品庁（European Medicines Agency）（EMA）、スイスメディック（Swiss Medic）、中華人民共和国国家食品薬品监督管理局（China Food and Drug Administration）（CFDA）、又は医薬品医療機器総合機構（Japanese Pharmaceuticals and Medical Dev

ices Agency) (PMDA) が挙げられる。

【0060】

「薬学的に許容できる賦形剤」という用語は、生理学的に適合する、有効成分以外の、医薬製剤の成分を指す。薬学的に許容できる賦形剤としては、限定はされないが、緩衝剤、甘味料、分散促進剤、香味料、苦味マスキング剤、天然着色料、人工着色料、安定剤、溶媒、又は防腐剤が挙げられる。特定の実施形態において、薬学的に許容できる賦形剤は、クエン酸又はレシチンの一方又は両方を含む。

【0061】

本明細書において使用される際の「非アミノ酸実体タンパク質成分」という用語は、ペプチド（例えば、ポリペプチド又はオリゴペプチド）、その断片、又は分解されたペプチドを指す。例示的な非アミノ酸実体タンパク質成分としては、限定はされないが、ホエータンパク、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タンパク質、エンドウ豆タンパク質、玄米タンパク質、又はそれらの断片若しくは分解されたペプチドのうちの1つ又は複数

10

【0062】

本明細書において使用される際の「非タンパク質成分」という用語は、タンパク質成分以外の組成物の任意の成分を指す。例示的な非タンパク質成分としては、限定はされないが、糖（例えば、単糖（例えば、デキストロース、グルコース、若しくはフルクトース）、二糖、オリゴ糖、若しくは多糖）；脂質（例えば、硫黄含有脂質（例えば、 α -リポ酸）、長鎖トリグリセリド、 ω 3脂肪酸（例えば、EPA、DHA、STA、DPA、若しくはALA）、 ω 6脂肪酸（GLA、DGLA、若しくはLA）、中鎖トリグリセリド、若しくは中鎖脂肪酸）；ビタミン（例えば、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンB6、ビタミンB12、ビオチン、若しくはパントテン酸）；ミネラル（亜鉛、セレン、鉄、銅、葉酸、リン、カリウム、マンガン、クロム、カルシウム、若しくはマグネシウム）；又はステロール（例えば、コレステロール）が挙げられる。

20

【0063】

組成物、製剤又は生成物は、それが所望の臨床効果を提供する場合「治療薬」である。所望の臨床効果は、疾患の進行を低下させ、及び／又は疾患の1つ又は複数の症状を軽減することによって示され得る。

【0064】

「単位用量」又は「単位投与量」は、特定の構造（例えば、カプセル殻など）中で、及び特定の用量に分配されて（例えば、複数のスティックパック中で）、有効成分及び非有効成分（賦形剤）の特定の混合物を含む、使用のために市販される形態における1つ又は複数の製剤を含む。

30

【0065】

本明細書において使用される際、インスリン抵抗性の「治療する (treat)」、「治療すること (treating)」、又は「治療 (treatment)」という用語は、インスリン抵抗性を改善すること（例えば、インスリン抵抗性又はその臨床症状の少なくとも1つの発生を遅らせるか、停止させるか、又は軽減すること）；患者によって識別できないものを含む少なくとも1つの物理的パラメータを軽減又は改善すること；及び／又はインスリン抵抗性の開始又は発生又は進行を予防するか又は遅らせることを指す。

40

【0066】

アミノ酸実体（例えば、活性部分）を含む組成物

本明細書に記載される本発明の組成物（例えば、活性部分）は、アミノ酸実体、例えば、表1に示されるアミノ酸実体を含む。

【0067】

特定の実施形態において、ロイシンアミノ酸実体は、L-ロイシン、 β -ヒドロキシ- β -メチルブチレート (HMB)、オキソ-ロイシン (α -ケトイソカプロン酸 (KIC))、イソバレリル-CoA、n-アセチル-ロイシン、又はそれらの組合せから選択される。

50

【0068】

特定の実施形態において、アルギニンアミノ酸実体は、L-アルギニン、クレアチン、アルギニノコハク酸、アスパルテート、グルタメート、アグマチン、N-アセチル-アルギニン、又はそれらの組合せから選択される。

【0069】

特定の実施形態において、グルタミンアミノ酸実体は、L-グルタミン、グルタメート、カルバモイル-P、グルタメート、n-アセチルグルタミン、又はそれらの組合せから選択される。

【0070】

特定の実施形態において、NAC-アミノ酸実体は、NAC、アセチルセリン、シスタチオニン、シスタチオニン、ホモシステイン、グルタチオン、又はそれらの組合せから選択される。

10

【0071】

特定の実施形態において、イソロイシンアミノ酸実体は、L-イソロイシン、2-オキソ-3-メチル-吉草酸 (α -ケト- β -メチル吉草酸 (KMV))、メチルブチル-CoA、N-アセチル-イソロイシン、又はそれらの組合せから選択される。

【0072】

特定の実施形態において、バリンアミノ酸実体は、L-バリン、2-オキソ-吉草酸 (α -ケトイソ吉草酸 (KIV))、イソブチル-CoA、N-アセチル-バリン、又はそれらの組合せから選択される。

20

【0073】

特定の実施形態において、ヒスチジンアミノ酸実体は、L-ヒスチジン、ヒスチジノール、ヒスチジナル、リボース-5-リン酸、カルノシン、ヒスタミン、ウロカニン酸、N-アセチル-ヒスチジン、又はそれらの組合せから選択される。

【0074】

特定の実施形態において、リジンアミノ酸実体は、L-リジン、ジアミノピメリン酸、アスパルテート、トリメチルリジン、サッカロピン、N-アセチル-リジン、又はそれらの組合せから選択される。

【0075】

特定の実施形態において、フェニルアラニンアミノ酸実体は、L-フェニルアラニン、フェニルピルビン酸、チロシン、N-アセチル-フェニルアラニン、又はそれらの組合せから選択される。

30

【0076】

特定の実施形態において、トレオニンアミノ酸実体は、L-トレオニン、ホモセリン、O-ホスホホモセリン、オキソ酪酸、N-アセチル-トレオニン、又はそれらの組合せから選択される。

【0077】

特定の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、L-セリン、ホスホセリン、p-ヒドロキシピルビン酸、グリシン、アセチルセリン、シスタチオニン、ホスファチジルセリン、又はそれらの組合せから選択される。ある実施形態において、セリンアミノ酸実体は、L-セリン又はL-グリシンから選択される。一実施形態において、セリンアミノ酸実体は、L-セリンである。別の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、L-グリシンである。別の実施形態において、セリンアミノ酸実体は、L-グリシン及びL-セリンである（例えば、1:1の重量比におけるL-グリシン及びL-セリン）。

40

【0078】

本明細書に記載される組成物は、L-セリン、L-グリシン、クレアチン、又はグルタチオンのうちの1つ、2つ、3つ又はそれ以上（例えば、全て）をさらに含み得る。ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、L-グルタミン又はその塩）、NAC実体、及びL-セリンを含む。ある実施形態において、組成

50

物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、L-グルタミン又はその塩）、NAC実体、及びL-グリシンを含む。ある実施形態において、組成物は、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体（例えば、L-グルタミン又はその塩）、NAC実体、L-グリシン、及びL-セリンを含む。

【0079】

ある実施形態において、(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）が、組成物中で遊離アミノ酸形態であり、例えば、アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：42重量%、75重量%、90重量%、又はそれ以上が、組成物（例えば、乾燥形態）中で遊離アミノ酸形態の(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）である。

10

【0080】

ある実施形態において、(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）が、組成物中で塩形態であり、例えば、アミノ酸実体成分又は全成分の総重量の少なくとも：0.01重量%、0.1重量%、0.5重量%、1重量%、5重量%、若しくは10重量%、又はそれ以上が、組成物中で塩形態の(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）である。

20

【0081】

ある実施形態において、(a)～(j)の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）が、例えば、組成物のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：0.01重量%、0.1重量%、0.5重量%、1重量%、5重量%、若しくは10重量%、又はそれ以上の量で、ジペプチド又はトリペプチドの一部として提供される。

【0082】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、脂肪酸酸化を促進すること、例えば、（例えば、STAMマウスモデル又はFATZOマウスモデルにおいて）不飽和脂肪酸のレベルを低下させるか又はアシルカルニチンのレベルを増加させるかの一方又は両方が可能である。特定の実施形態において、不飽和脂肪酸のレベルの低下は、例えば、実施例3において記載されるように測定される、表53に示される変化のレベルの少なくとも25%、40%、又は50%である。特定の実施形態において、アシルカルニチンのレベルの増加は、例えば、実施例3において記載されるように測定される、表53に示される変化のレベルの少なくとも25%、40%、又は50%である。

30

【0083】

特定の実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、例えば、対照組成物（例えば、より低い濃度の組成物、ビヒクル対照（PBS）、単一のアミノ酸実体、又はアミノ酸実体の組合せ）と比べて、例えば、実施例7において記載されるように、例えば、比色分析を用いて評価される際、例えば、少なくとも15%、20%、又は30%だけ肝細胞におけるトリグリセリドレベルを低下させることが可能であるか、又は低下させる。

40

【0084】

i. 量

組成物（例えば、活性部分）は、0.5g+/-20%～10g+/-20%のロイシンアミノ酸実体、1g+/-20%～15g+/-20%のアルギニンアミノ酸実体、0.5g+/-20%～20g+/-20%のグルタミンアミノ酸実体、及び0.1g+/-20%～5g+/-20%のNAC実体を含み得る。

【0085】

例示的な組成物は、1gのロイシンアミノ酸実体、0.5gのイソロイシンアミノ酸実体、0.5gのバリンアミノ酸実体、1.5g又は1.81gのアルギニンアミノ酸実体

50

、2 g のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g のNAC実体（例えば、表3に示されるg/パッケージ）を含み得る。

【0086】

【表3】

表3. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パッケージ (R)	g / パッケージ (R HCl)	g用量#1 (R)	g用量#1 (R HCl)	g用量#2 (R)	g用量#2 (R HCl)
ロイシン	1	1	17.70	16.78	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	8.85	8.39	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.5	0.5	8.85	8.39	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
アルギニン	1.5	1.81	26.55	30.37	1.5 g	1.81 g	3	3.62 g	6	7.24 g
グルタミン	2	2	35.4	33.56	2.00 g	2.00 g	4	4 g	8	8 g
NAC	0.15	0.15	2.65	2.52	0.15 g	0.15 g	0.3	0.3 g	0.6	0.6 g
総アミノ酸					5.65 g	5.96 g	11.3 g	約12 g	2. 2.6 g	約24 g

【0087】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、1 g + / - 20 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 20 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 15 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 15 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 10 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 10 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 10 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 10 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 5 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 5 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 5 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 5 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g のロイシンアミノ酸実体、0.5 g のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g のバリンアミノ酸実体、1.5 g 又は1.81 g のアルギニンアミノ酸実体、2 g のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g のNAC実体を含む。

【0088】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、1 g + / - 20 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g + / - 20 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 + / - 15 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g + / - 15 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10 % のイソロイシンアミ

ノ酸実体、0.5 g + / - 10 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 10 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 10 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g + / - 10 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 % g のバリンアミノ酸実体、1.5 g + / - 5 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 5 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g + / - 5 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g のロイシンアミノ酸実体、0.5 g のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g のバリンアミノ酸実体、1.5 g 又は1.81 g のアルギニンアミノ酸実体、2 g のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g のNAC実体を含む。

【0089】

例示的な組成物は、1 g のロイシンアミノ酸実体、0.5 g のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g のバリンアミノ酸実体、0.75 g 又は0.905 g のアルギニンアミノ酸実体、2 g のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g のNAC実体（例えば、表4に示されるg / パッケージ）を含み得る。

【0090】

【表4】

表4. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パッケージ (R)	g / パッケージ (R HCl)	g用量#1 (R)	g用量#1 (R HCl)	g 用量 #2 (R)	g 用量#2 (R HCl)
ロイシン	1	1	20.41	19.78	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	10.20	9.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.5	0.5	10.20	9.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
アルギニン	0.75	0.905	15.31	17.90	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	2	2	40.82	39.56	2.00 g	2.00 g	4	4 g	8	8 g
NAC	0.15	0.15	3.06	2.97	0.15 g	0.15 g	0.3	0.3 g	0.6	0.6 g
総アミノ酸					4.9 g	5.06 g	9.8 g	約10 g	19.6 g	約20 g

【0091】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、1 g + / - 20 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 20 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 15 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 10 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 10 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 10 % のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 5 % のアルギニンアミノ酸実体、2 g + / - 5 % のグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 g + / - 5 % のNAC実体を含む。

。ある実施形態において、組成物は、1 gのロイシンアミノ酸実体、0.5 gのイソロイシンアミノ酸実体、0.5 gのバリンアミノ酸実体、0.75 g又は0.905 gのアルギニンアミノ酸実体、2 gのグルタミンアミノ酸実体、及び0.15 gのNAC実体を含む。

【0092】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、1 g＋／－20%のロイシンアミノ酸実体、0.5 g＋／－20%のイソロイシンアミノ酸実体、0.5＋／－20% gのバリンアミノ酸実体、0.75 g＋／－20%のアルギニンアミノ酸実体、2 g＋／－20%のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g＋／－20%のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g＋／－15%のロイシンアミノ酸実体、0.5 g＋／－15%のイソロイシンアミノ酸実体、0.5＋／－15% gのバリンアミノ酸実体、0.75 g＋／－15%のアルギニンアミノ酸実体、2 g＋／－15%のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g＋／－15%のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g＋／－10%のロイシンアミノ酸実体、0.5 g＋／－10%のイソロイシンアミノ酸実体、0.5＋／－10% gのバリンアミノ酸実体、0.75 g＋／－10%のアルギニンアミノ酸実体、2 g＋／－10%のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g＋／－10%のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g＋／－5%のロイシンアミノ酸実体、0.5 g＋／－5%のイソロイシンアミノ酸実体、0.5＋／－5% gのバリンアミノ酸実体、0.75 g＋／－5%のアルギニンアミノ酸実体、2 g＋／－5%のグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 g＋／－5%のNAC実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 gのロイシンアミノ酸実体、0.5 gのイソロイシンアミノ酸実体、0.5 gのバリンアミノ酸実体、0.75 g又は0.905 gのアルギニンアミノ酸実体、2 gのグルタミンアミノ酸実体、及び0.3 gのNAC実体を含む。

【0093】

例示的な組成物は、1 gのロイシンアミノ酸実体、0.5 gのイソロイシンアミノ酸実体、0.25 gのバリンアミノ酸実体、0.75 g又は0.905 gのアルギニンアミノ酸実体、1 gのグルタミンアミノ酸実体、及び0.225 gのNAC実体（例えば、表5に示されるg／パッケージ）を含み得る。

【0094】

【表5】

表5. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl))を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パッケージ (R)	g / パッケージ (R HCl)	g用量#1 (R)	g用量#1 (R HCl)	g用量#2 (R)	g用量#2 (R HCl)
ロイシン	1	1	26.85	25.77	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	13.42	12.89	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	6.71	6.44	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	20.13	23.32	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	26.85	25.77	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	6.04	5.80	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
総アミノ酸					3.725 g	3.88 g	7.45 g	7.76 g	14.9 g	15.52 g

【0095】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、1 g＋／－20%のロイシンアミノ酸実体、0.5 g＋／－20%のイソロイシンアミノ酸実体、0.25＋／－20

% g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、及び 0.225 g + / - 20 % の N A C 実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、及び 0.225 g + / - 15 % の N A C 実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 10 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 10 % のグルタミンアミノ酸実体、及び 0.225 g + / - 10 % の N A C 実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 20 % g のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 5 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 5 % のグルタミンアミノ酸実体、及び 0.225 g + / - 5 % の N A C 実体を含む。例示的な組成物は、1 g のロイシンアミノ酸実体、0.5 g のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g のバリンアミノ酸実体、0.75 g 又は 0.905 g のアルギニンアミノ酸実体、1 g のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g の N A C 実体、及び 1.5 g のセリンアミノ酸実体（例えば、表 6 に示される g / パッケージ）を含み得る。

【0096】

【表 6】

表6. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl)を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パッケージ (R)	g / パッケージ (R HCl)	g用量#1 (R)	g用量#1 (R HCl)	g 用量#2 (R)	g 用量#2 (R HCl)
ロイシン	1	1	19.14	18.59	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	9.57	9.29	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	4.78	4.65	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	14.35	16.82	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	19.14	18.59	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	4.31	4.18	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
セリン	1.5	1.5	28.71	27.88	1.5	1.5	3	3	6	6
総アミノ酸					<u>5.225</u>	<u>5.38 g</u>	<u>10.45</u>	<u>10.76 g</u>	<u>20.9</u>	<u>21.52 g</u>

【0097】

ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 20 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 20 % のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 20 % の N A C - アミノ酸実体、及び 1.5 g + / - 20 % のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 15 % のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 15 % の N A C - アミノ酸実体、及び 1.5 g + / - 15 % のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10

%のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 10 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 10 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 10 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 10 %のNACアミノ酸実体、及び1.5 g + / - 10 %のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 %のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 %のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 5 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 5 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 5 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 5 %のNACアミノ酸実体、及び1.5 g + / - 5 %のセリンアミノ酸実体を含む。

【0098】

例示的な組成物は、1 gのロイシンアミノ酸実体、0.5 gのイソロイシンアミノ酸実体、0.25 gのバリンアミノ酸実体、0.75 g又は0.905 gのアルギニンアミノ酸実体、1 gのグルタミンアミノ酸実体、0.225 gのNAC実体、及び1.667 gのセリンアミノ酸実体（例えば、表7に示されるg / パッケージ）を含み得る。

【0099】

【表7】

表7. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl (R HCl)を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比 (R)	重量比 (R HCl)	重量% (R)	重量% (R HCl)	g / パッケージ (R)	g / パッケージ (R HCl)	g用量#1 (R)	g用量 #1 (R HCl)	g用量#2 (R)	g用量#2 (R HCl)
ロイシン	1	1	18.54	18.02	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
イソロイシン	0.5	0.5	9.27	9.01	0.50 g	0.50 g	1	1 g	2	2 g
バリン	0.25	0.25	4.64	4.50	0.25 g	0.25 g	0.5	0.50 g	1	1 g
アルギニン	0.75	0.905	13.91	16.31	0.75 g	0.905 g	1.5	1.81 g	3	3.62 g
グルタミン	1	1	18.54	18.02	1.00 g	1.00 g	2	2 g	4	4 g
NAC	0.225	0.225	4.17	4.05	0.225 g	0.225 g	0.45	0.45 g	0.9	0.9 g
セリン	1.667	1.667	30.92	30.09	1.67 g	1.67 g	3.33 g	3.33 g	6.67 g	6.67 g
総アミノ酸					5.395 g	5.55 g	10.78 g	11.09 g	21.57 g	22.19 g

【0100】

ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 20 %のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 %のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 20 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 20 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 20 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 20 %のNACアミノ酸実体、及び1.667 g + / - 20 %のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 %のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 %のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 15 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 15 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 15 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 15 %のNACアミノ酸実体、及び1.667 g + / - 15 %のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 10 %のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 10 %のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 10 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 10 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 10 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 10 %のNACアミノ酸実体、及び1.667 g + / - 10 %のセリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 5 %のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 5 %のイソロイシンアミノ酸実体、0.25 g + / - 5 %のバリンアミノ酸実体、0.75 g + / - 5 %のアルギニンアミノ酸実体、1 g + / - 5 %のグルタミンアミノ酸実体、0.225 g + / - 5 %のNACアミノ酸

実体、及び 1.667 g + / - 5 % のセリンアミノ酸実体を含む。

【0101】

例示的な組成物は、1 g のロイシンアミノ酸実体、0.5 g のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g のバリンアミノ酸実体、1.5 g 又は 1.81 g のアルギニンアミノ酸実体、1.33 g のグルタミンアミノ酸実体、0.15 g の NAC 実体、0.08 g のヒスチジンアミノ酸実体、0.35 g のリジンアミノ酸実体、0.08 g のフェニルアラニンアミノ酸実体、及び 0.17 g のトレオニンアミノ酸実体（例えば、表 8 に示される g / パケット）を含み得る。

【0102】

【表 8】

表8. 形態L-アルギニン (R)又はL-アルギニン HCl(R HCl)を含む例示的な組成物。

アミノ酸	重量比	g / パケット	g / 用量1	合計g 1日用量1	g / 用量 2	合計g 1日用量2
ロイシン	2.0	1.0	1.0	3	4	12
イソロイシン	1.0	0.5	0.5	1.5	2	6
バリン	1.0	0.5	0.5	1.5	2	6
アルギニン HCl	3.62	1.81	1.81	5.43	7.24	21.72
グルタミン	2.66	1.33	1.33	3.99	5.32	15.96
N-アセチルシステイン	0.3	0.15	0.15	0.45	0.6	1.8
ヒスチジン	0.16	0.08	0.08	0.24	0.32	0.96
リジン	0.7	0.35	0.35	1.05	1.4	4.2
フェニルアラニン	0.16	0.08	0.08	0.24	0.32	0.96
トレオニン	0.34	0.17	0.17	0.51	0.68	2.04
総アミノ酸		約6 g	約6 g	約18 g	約24 g	約72 g

【0103】

ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 20 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 20 % のバリンアミノ酸実体、1.5 g 又は 1.81 g + / - 20 % のアルギニンアミノ酸実体、1.33 g + / - 20 % のグルタミンアミノ酸実体、0.15 g + / - 20 % の NAC 実体、0.08 g + / - 20 % のヒスチジンアミノ酸実体、0.35 g + / - 20 % のリジンアミノ酸実体、0.08 g + / - 20 % のフェニルアラニンアミノ酸実体、及び 0.17 g + / - 20 % のトレオニンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1 g + / - 15 % のロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のイソロイシンアミノ酸実体、0.5 g + / - 15 % のバリンアミノ酸実体、1.5 g 又は 1.81 g + / - 15 % のアルギニンアミノ酸実体、1.33 g + / - 15 % のグルタミンアミノ酸実体、0.15 g + / - 15 % の NAC 実体、0.08 g + / - 15 % のヒスチジンアミノ酸実体、0.35 g + / - 15 % のリジンアミノ酸実体、0.08 g + / - 15 % のフェニルアラニンアミノ酸実体、及び 0.17 g + / - 15 % のトレオニンアミノ酸実体を含む。

【0104】

i i. 比率

例示的な組成物は、1 + / - 15 % : 0.5 + / - 15 % : 0.5 + / - 15 % : 1.5 + / - 15 % : 2 + / - 15 % : 0.15 + / - 15 % 又は 1 + / - 15 % : 0.5 +

10

20

30

40

50

重量 (w t .) 比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 75 + / - 15 \% : 2 + / - 15 \% : 0 . 15 + / - 15 \%$ 又は $1 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 905 + / - 15 \% : 2 + / - 15 \% : 0 . 15 + / - 15 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 75 + / - 10 \% : 2 + / - 10 \% : 0 . 15 + / - 10 \%$ 又は $1 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 905 + / - 10 \% : 2 + / - 10 \% : 0 . 15 + / - 10 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 75 + / - 5 \% : 2 + / - 5 \% : 0 . 15 + / - 5 \%$ 又は $1 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 905 + / - 5 \% : 2 + / - 5 \% : 0 . 15 + / - 5 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 : 0 . 5 : 0 . 5 : 0 . 75 : 2 : 0 . 15$ 又は $1 : 0 . 5 : 0 . 5 : 0 . 905 : 2 : 0 . 15$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。

10

20

【0107】

例示的な組成物は、 $1 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 75 + / - 20 \% : 2 + / - 20 \% : 0 . 3 + / - 20 \%$ 又は $1 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 905 + / - 20 \% : 2 + / - 20 \% : 0 . 3 + / - 20 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量 (w t .) 比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 75 + / - 15 \% : 2 + / - 15 \% : 0 . 3 + / - 15 \%$ 又は $1 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 5 + / - 15 \% : 0 . 905 + / - 15 \% : 2 + / - 15 \% : 0 . 3 + / - 15 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 75 + / - 10 \% : 2 + / - 10 \% : 0 . 3 + / - 10 \%$ 又は $1 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 5 + / - 10 \% : 0 . 905 + / - 10 \% : 2 + / - 10 \% : 0 . 3 + / - 10 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 75 + / - 5 \% : 2 + / - 5 \% : 0 . 3 + / - 5 \%$ 又は $1 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 5 + / - 5 \% : 0 . 905 + / - 5 \% : 2 + / - 5 \% : 0 . 3 + / - 5 \%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 : 0 . 5 : 0 . 5 : 0 . 75 : 2 : 0 . 3$ 又は $1 : 0 . 5 : 0 . 5 : 0 . 905 : 2 : 0 . 3$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びN A C -アミノ酸実体の重量比を含む。

30

40

【0108】

例示的な組成物は、 $1 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 25 + / - 20 \% : 0 . 75 + / - 20 \% : 1 + / - 20 \% : 0 . 225 + / - 20 \%$ 又は $1 + / - 20 \% : 0 . 5 + / - 20 \% : 0 . 25 + / - 20 \% : 0 . 905 + / - 20 \% : 1 + / - 20 \% :$

50

0.225+/-20%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量(wt.)比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、1+/-15%:0.5+/-15%:0.25+/-15%:0.75+/-15%:1+/-15%:0.225+/-15%又は1+/-15%:0.5+/-15%:0.25+/-15%:0.905+/-15%:1+/-15%:0.225+/-15%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1+/-10%:0.5+/-10%:0.25+/-10%:0.75+/-10%:1+/-10%:0.225+/-10%又は1+/-10%:0.5+/-10%:0.25+/-10%:0.905+/-10%:1+/-10%:0.225+/-10%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1+/-5%:0.5+/-5%:0.25+/-5%:0.75+/-5%:1+/-5%:0.225+/-5%又は1+/-5%:0.5+/-5%:0.25+/-5%:0.905+/-5%:1+/-5%:0.225+/-5%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1:0.5:0.25:0.75:1:0.225又は1:0.5:0.25:0.905:1:0.225の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びNAC-アミノ酸実体の重量比を含む。

10

20

【0109】

アミノ酸実体を含む例示的な組成物は、1+/-20%:0.5+/-20%:0.25+/-20%:0.75+/-20%:1+/-20%:0.225+/-20%:1.5+/-20%又は1+/-20%:0.5+/-20%:0.25+/-20%:0.905+/-20%:1+/-20%:0.225+/-20%:1.5+/-20%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NAC-アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量(wt.)比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、1+/-15%:0.5+/-15%:0.25+/-15%:0.75+/-15%:1+/-15%:0.225+/-15%:1.5+/-15%又は1+/-15%:0.5+/-15%:0.25+/-15%:0.905+/-15%:1+/-15%:0.225+/-15%:1.5+/-15%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NAC-アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1+/-10%:0.5+/-10%:0.25+/-10%:0.75+/-10%:1+/-10%:0.225+/-10%:1.5+/-10%又は1+/-10%:0.5+/-10%:0.25+/-10%:0.905+/-10%:1+/-10%:0.225+/-10%:1.5+/-10%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NAC-アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1+/-5%:0.5+/-5%:0.25+/-5%:0.75+/-5%:1+/-5%:0.225+/-5%:1.5+/-5%又は1+/-5%:0.5+/-5%:0.25+/-5%:0.905+/-5%:1+/-5%:0.225+/-5%:1.5+/-5%の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NAC-アミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、1:0.5:0.25:0.75:1:0.225:1.5又は1:0.5:0.25:

30

40

50

0.905:1:0.225:1.5の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。

【0110】

例示的な組成物は、 $1 + \text{---} 20\% : 0.5 + \text{---} 20\% : 0.25 + \text{---} 20\% : 0.75 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 0.225 + \text{---} 20\% : 1.667 + \text{---} 20\%$ 又は $1 + \text{---} 20\% : 0.5 + \text{---} 20\% : 0.25 + \text{---} 20\% : 0.905 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 0.225 + \text{---} 20\% : 1.667 + \text{---} 20\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量 (wt.) 比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、 $1 + \text{---} 15\% : 0.5 + \text{---} 15\% : 0.25 + \text{---} 15\% : 0.75 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 0.225 + \text{---} 15\% : 1.667 + \text{---} 15\%$ 又は $1 + \text{---} 15\% : 0.5 + \text{---} 15\% : 0.25 + \text{---} 15\% : 0.905 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 0.225 + \text{---} 15\% : 1.667 + \text{---} 15\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + \text{---} 10\% : 0.5 + \text{---} 10\% : 0.25 + \text{---} 10\% : 0.75 + \text{---} 10\% : 1 + \text{---} 10\% : 0.225 + \text{---} 10\% : 1.667 + \text{---} 10\%$ 又は $1 + \text{---} 10\% : 0.5 + \text{---} 10\% : 0.25 + \text{---} 10\% : 0.905 + \text{---} 10\% : 1 + \text{---} 10\% : 0.225 + \text{---} 10\% : 1.667 + \text{---} 10\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 + \text{---} 5\% : 0.5 + \text{---} 5\% : 0.25 + \text{---} 5\% : 0.75 + \text{---} 5\% : 1 + \text{---} 5\% : 0.225 + \text{---} 5\% : 1.667 + \text{---} 5\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。ある実施形態において、組成物は、 $1 : 0.5 : 0.25 : 0.75 : 1 : 0.225 : 1.667$ 又は $1 : 0.5 : 0.25 : 0.905 : 1 : 0.225 : 1.667$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、及びセリンアミノ酸実体の重量比を含む。

【0111】

例示的な組成物は、 $2 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 3.62 + \text{---} 20\% : 2.66 + \text{---} 20\% : 0.3 + \text{---} 20\% : 0.16 + \text{---} 20\% : 0.7 + \text{---} 20\% : 0.16 + \text{---} 20\% : 0.34 + \text{---} 20\%$ 又は $2 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 1 + \text{---} 20\% : 2.66 + \text{---} 20\% : 0.3 + \text{---} 20\% : 0.16 + \text{---} 20\% : 0.7 + \text{---} 20\% : 0.16 + \text{---} 20\% : 0.34 + \text{---} 20\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、ヒスチジンアミノ酸実体、リジンアミノ酸実体、フェニルアラニンアミノ酸実体、及びトレオニンアミノ酸実体の重量 (wt.) 比を含み得る。ある実施形態において、組成物は、 $2 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 3.62 + \text{---} 15\% : 2.66 + \text{---} 15\% : 0.3 + \text{---} 15\% : 0.16 + \text{---} 15\% : 0.7 + \text{---} 15\% : 0.16 + \text{---} 15\% : 0.34 + \text{---} 15\%$ 又は $2 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 1 + \text{---} 15\% : 3.62 + \text{---} 15\% : 2.66 + \text{---} 15\% : 0.3 + \text{---} 15\% : 0.16 + \text{---} 15\% : 0.7 + \text{---} 15\% : 0.16 + \text{---} 15\% : 0.34 + \text{---} 15\%$ の、ロイシンアミノ酸実体、イソロイシンアミノ酸実体、バリンアミノ酸実体、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、NACアミノ酸実体、ヒスチジンアミノ酸実体、リジンアミ

10

20

30

40

50

ノ酸実体、フェニルアラニンアミノ酸実体、及びトレオニンアミノ酸実体の重量比を含む。

【0112】

ある実施形態において、組成物は、10重量%+/-15%～30重量%+/-15%のロイシンアミノ酸実体、5重量%+/-15%～15重量%+/-15%のイソロイシンアミノ酸実体、5重量%+/-15%～15重量%+/-15%のバリンアミノ酸実体、15重量%+/-15%～40重量%+/-15%のアルギニンアミノ酸実体、20重量%+/-15%～50重量%+/-15%のグルタミンアミノ酸実体、及び1重量%+/-15%～8重量%+/-15%のNAC実体を含む。

【0113】

ある実施形態において、組成物は、10重量%+/-15%～30重量%+/-15%のロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、5重量%+/-15%～15重量%+/-15%のイソロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、5重量%+/-15%～15重量%+/-15%のバリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、15重量%+/-15%～40重量%+/-15%のアルギニンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、20重量%+/-15%～50重量%+/-15%のグルタミンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1重量%+/-15%～8重量%+/-15%のNAC実体を含む。

【0114】

ある実施形態において、組成物は、16重量%+/-15%～18重量%+/-15%のロイシンアミノ酸実体、7重量%+/-15%～9重量%+/-15%のイソロイシンアミノ酸実体、7重量%+/-15%～9重量%+/-15%のバリンアミノ酸実体、28重量%+/-15%～32重量%+/-15%のアルギニンアミノ酸実体、31重量%+/-15%～34重量%+/-15%のグルタミンアミノ酸実体、及び1重量%+/-15%～5重量%+/-15%のNAC実体を含む。

【0115】

ある実施形態において、組成物は、16重量%+/-15%～18重量%+/-15%のロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、7重量%+/-15%～9重量%+/-15%のイソロイシンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、7重量%+/-15%～9重量%+/-15%のバリンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、28重量%+/-15%～32重量%+/-15%のアルギニンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、31重量%+/-15%～34重量%+/-15%のグルタミンアミノ酸実体を含む。ある実施形態において、組成物は、1重量%+/-15%～5重量%+/-15%のNAC実体を含む。

【0116】

ある実施形態において、組成物は、16.8重量%+/-15%のロイシンアミノ酸実体、8.4重量%+/-15%のイソロイシンアミノ酸実体、8.4重量%+/-15%のバリンアミノ酸実体、30.4重量%+/-15%のアルギニンアミノ酸実体、33.6重量%+/-15%のグルタミンアミノ酸実体、及び2.5重量%+/-15%のNAC実体を含む。

【0117】

i i i. アミノ酸実体の関係

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、以下の特性の1つ又は複数を有し、

- a) 組成物中のQ-アミノ酸実体の重量%が、R-アミノ酸実体の重量%より多く；
- b) 組成物中のQ-アミノ酸実体の重量%が、L-アミノ酸実体の重量%より多く；
- c) 組成物中のR-アミノ酸実体の重量%が、L-アミノ酸実体の重量%より多く；又は

d) (a)～(c)のうちの2つ又は3つの組合せである。

【0118】

10

20

30

40

50

ある実施形態において、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より少なくとも５％多く、例えば、グルタミンアミノ酸実体の重量％は、アルギニンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１０％又は２５％多い。

【０１１９】

ある実施形態において、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２０％多く、例えば、組成物中のグルタミンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５％又は５０％多い。

10

【０１２０】

ある実施形態において、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１０％多く、例えば、組成物中のアルギニンアミノ酸実体の重量％は、ロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも１５％又は３０％多い。

【０１２１】

ある実施形態において、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のイソロイシンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のイソロイシンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５重量％多い。

20

【０１２２】

ある実施形態において、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のバリンアミノ酸実体の重量％より多く、例えば、組成物中のロイシンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のバリンアミノ酸実体の重量％より少なくとも２５重量％多い。

【０１２３】

ある実施形態において、アルギニンアミノ酸実体、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ実体の重量％は、組成物中のアミノ酸実体の少なくとも：５０重量％又は７０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体の９０重量％以下である。

【０１２４】

ある実施形態において、ＮＡＣ実体の重量％は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：１重量％又は２重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の１０重量％以下である。

30

【０１２５】

ある実施形態において、組み合わせたイソロイシンアミノ酸実体、及びバリンアミノ酸実体は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：１５重量％、又は２０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の５０重量％以下である。

【０１２６】

ある実施形態において、グルタミンアミノ酸実体、及びＮＡＣ実体は、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の少なくとも：４０重量％又は５０重量％であるが、組成物中のアミノ酸実体成分又は全成分の９０重量％以下である。

40

【０１２７】

ある実施形態において、組成物（例えば、活性部分）は、セリンアミノ酸実体をさらに含み、例えば、セリンアミノ酸実体は、組成物中の任意の他のアミノ酸実体成分より多い量で存在する。ある実施形態において、セリンアミノ酸実体の重量％は、組成物中のアミノ酸実体又は全成分の少なくとも２０重量％又はそれ以上である。

【０１２８】

i v. 組成物から除外又は制限するアミノ酸分子

ある実施形態において、組成物は、卵白タンパク質、大豆タンパク質、カゼイン、麻タンパク質、エンドウ豆タンパク質、又は玄米タンパク質の１つ、２つ、３つ、４つ、５つ

50

、又はそれ以上（例えば、全て）から選択されるか又はそれらに由来する20を超えるアミノ酸残基長のペプチド（例えば、タンパク質補充剤）を含まず、又はペプチドが存在する場合、ペプチドは、組成物（例えば、乾燥形態で）中の非アミノ酸実体タンパク質成分又は全成分の総重量の10重量（wt.）5重量%、1重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%未満で存在する。

【0129】

ある実施形態において、組成物は、3～19、3～15、又は3～10の異なるアミノ酸実体の組合せを含み、例えば、組合せは、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量%の少なくとも：42重量%、75重量%、又は90重量%を含む。

10

【0130】

ある実施形態において、ジペプチド若しくはその塩又はトリペプチド若しくはその塩は、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分の総重量の10重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

【0131】

ある実施形態において、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分の全グラムの少なくとも50%、60%、70%、又はそれ以上は、（a）～（j）の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）からのものである。

20

【0132】

ある実施形態において、組成物（例えば、乾燥形態で）中のアミノ酸実体成分又は全成分からのカロリーの少なくとも：50%、60%、70%、又はそれ以上は、（a）～（j）の1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、7つ、8つ、9つ又はそれ以上（例えば、全て）からのものである。

【0133】

ある実施形態において、炭水化物（例えば、デキストロース、マルトデキストロース、スクロース、デキストリン、フルクトース、ガラクトース、グルコース、グリコーゲン、高フルクトースコーンシロップ、蜂蜜、イノシトール、転化糖、ラクトース、果糖、マルトース、糖蜜、サトウキビ、又はキシロースのうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、又は18）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

30

【0134】

ある実施形態において、ビタミン（例えば、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB3、ビタミンB6、ビタミンB12、ビタミンC、又はビタミンDのうちの1、2、3、4、5、6、又は7つ）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

40

【0135】

ある実施形態において、硝酸塩又は亜硝酸塩の一方又は両方が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

【0136】

ある実施形態において、4-ヒドロキシイソロイシンが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%

50

未満、又はそれ以下で存在する。

【0137】

ある実施形態において、プロバイオティック（例えば、バチルスプロバイオティック（*Bacillus probiotic*））が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

【0138】

ある実施形態において、酢酸フェニルが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

10

【0139】

ある実施形態において、ゼラチン（例えば、ゼラチンカプセル）が、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

【0140】

ある実施形態において、S-アシルシステイン、S-アシルメルカプトシステイン、又はフルクトシル-アルギニンのうちの1、2、又は3つが、組成物に存在しないか、又は存在する場合、例えば、組成物（乾燥形態で）の総重量の10重量%、5重量%、1重量%、0.5重量%、0.1重量%、0.05重量%、0.01重量%、0.001重量%未満、又はそれ以下で存在する。

20

【0141】

使用、例えば、治療の方法

本明細書に記載される本発明の組成物（例えば、活性部分）は、対象におけるインスリン抵抗性を改善又は軽減する、例えば、インスリン抵抗性を治療又は予防するために投与され得る。組成物は、例えば、インスリン抵抗性を有する患者における耐糖能異常を改善するために投与され得る。組成物は、インスリン抵抗性又は耐糖能異常の一方又は両方を有する対象を治療するために、本明細書に記載される投与計画にしたがって投与され得る。

30

【0142】

本開示は、インスリン抵抗性又は耐糖能異常を改善又は軽減するための方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示される組成物（例えば、活性部分）を有効量で投与することを含む方法の特徴とする。本方法は、対象におけるインスリン抵抗性又は耐糖能異常を軽減又は阻害するのに十分な量の本明細書に記載される組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0143】

ある実施形態において、本明細書に記載される組成物（例えば、活性部分）は、対象におけるインスリン抵抗性又は耐糖能異常の一方又は両方を治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）際の薬剤として使用するためのものである。ある実施形態において、本明細書に記載される組成物（例えば、活性部分）は、対象におけるインスリン抵抗性又は耐糖能異常の一方又は両方を治療する（例えば、食い止める、軽減、改善、又は予防する）ための薬剤の製造に使用するためのものである。

40

【0144】

ある実施形態において、対象は、インスリン抵抗性を有するか、又はインスリン抵抗性であると診断されている。ある実施形態において、対象は、耐糖能異常を有するか、又は耐糖能異常（例えば、高血糖）であると診断されている。

【0145】

ある実施形態において、対象はヒトである。ある実施形態において、対象は、組成物に

50

よる以前の治療を受けたことがない（例えば、未処理の対象）。

【0146】

特定の実施形態において、組成物の投与は、増加した遊離脂肪酸代謝、増加した脂質代謝、減少したインスリン分泌、又は増加した耐糖能の1つ、2つ、3つ、又はそれ以上（例えば、全て）をもたらす。特定の実施形態において、組成物の投与は、増加した白色脂肪組織のブラウニングをもたらす。特定の実施形態において、組成物の投与は、軽減された脂肪症（例えば、大滴性脂肪変性又は小滴性脂肪変性）をもたらす。特定の実施形態において、組成物の投与は、例えば、不飽和脂肪酸レベル又はアシルカルニチンレベルの一方又は両方を低下させることによって、脂肪酸酸化を促進する。

【0147】

ある実施形態において、対象は、過体重又は肥満である。特定の実施形態において、対象は、肥満又は過体重であることがリスク因子である疾患に罹患しているか、又は罹患するリスクがあり得る。ある実施形態において、組成物は、対象の減量を促進する。ある実施形態において、インスリン抵抗性又は耐糖能の一方又は両方の改善は、対象の生存期間を延長させる。

【0148】

本明細書に記載される組成物で治療され得る例示的な疾患及び障害としては、限定はされないが、前糖尿病；2型糖尿病；メタボリック・シンドローム；心血管の疾患又は障害、例えば、高血圧症、脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、若しくは閉塞性睡眠時無呼吸；内分泌の疾患又は障害、例えば、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、甲状腺機能亢進症、クッシング病、クッシング症候群、末端肥大症、若しくは褐色細胞腫；遺伝性の疾患又は障害、例えば、ダウン症、ターナー症候群、クラインフェルター症候群、サラセミア、ヘモクロマトーシス、リポジストロフィー、早老症、ハンチントン舞蹈病、フリードライヒ運動失調症、ローレンス・ムーン・ビードル症候群、1型糖原病、3型糖原病、若しくは遺伝性ミトコンドリア異常症；腎不全；妊娠；癌、例えば、結腸癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎細胞癌、若しくは乳癌；認知症、例えば、アルツハイマー病又はレビー小体型認知症；筋強直性ジストロフィー；重度インスリン抵抗性症候群（SSIR）；又はインスリン抵抗性の遺伝性障害、例えば、ドナヒュー症候群、ラブソン・メンデンホール症候群、若しくはA型インスリン抵抗性が挙げられる。

【0149】

ある実施形態において、インスリン抵抗性又は耐糖能は、肝臓の疾患又は障害、例えば、非アルコール性脂肪肝（NAFL）、非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、アルコール性脂肪肝疾患（ALFD）、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、又は肝硬変から選択される肝臓の疾患又は障害に関連している。

【0150】

ある実施形態において、インスリン抵抗性又は耐糖能は、肝臓の疾患又は障害、例えば、非アルコール性脂肪肝（NAFL）、非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、アルコール性脂肪肝疾患（ALFD）、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、又は肝硬変から選択される肝臓の疾患又は障害に関連していない。

【0151】

ある実施形態において、インスリン抵抗性又は耐糖能は、筋肉の疾患又は障害に関連していない。

【0152】

投与計画

組成物（例えば、活性部分）は、インスリン抵抗性を軽減若しくは治療又は耐糖能を改善するために、本明細書に記載される投与計画にしたがって投与され得る。例えば、組成物は、1日に2g＋／－20％g～1日に90g＋／－20％g（例えば、1日に72g＋／－20％の総アミノ酸実体）の用量で、例えば、2週間、3週間、4週間、5週間、

10

20

30

40

50

6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、13週間、14週間、15週間、16週間、又はそれより長い治療期間にわたって、対象に投与され得る。

【0153】

ある実施形態において、組成物は、単回又は複数回投与計画のいずれかで、対象（例えば、インスリン抵抗性を有する対象）に提供され得る。ある実施形態において、用量は、1日2回、1日3回、1日4回、1日5回、1日6回、1日7回、又はそれ以上で投与される。特定の実施形態において、組成物は、1日1回、2回、又は3回投与される。ある実施形態において、組成物は、少なくとも2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、又は2週間にわたって投与される。ある実施形態において、組成物は、長期間に（例えば、30日間超、例えば、31日間、40日間、50日間、60日間、3ヶ月間、6ヶ月間、9ヶ月間、1年間、2年間、又は3年間）投与される。

10

【0154】

ある実施形態において、組成物は、食事前に投与される。他の実施形態において、組成物は、食事と同時に投与される。他の実施形態において、組成物は、食後に投与される。

【0155】

組成物は、対象（例えば、vを有する対象）におけるインスリン抵抗性を改善又は軽減するために、2時間置き、3時間置き、4時間置き、5時間置き、6時間置き、7時間置き、8時間置き、9時間置き、又は10時間置きに投与され得る。

【0156】

ある実施形態において、組成物は、4つのスティックパックを含み、例えば、各スティックパックは、本明細書に記載される組成物に含まれる各アミノ酸実体の量の25%+/-15%を含む。特定の実施形態において、4つのスティックパックは、1日3回投与される。ある実施形態において、組成物は、3つのスティックパックを含み、例えば、各スティックパックは、本明細書に記載される組成物に含まれる各アミノ酸実体の量の33.3%+/-15%を含む。特定の実施形態において、3つのスティックパックは、1日3回投与される。

20

【0157】

ある実施形態において、組成物は、例えば、1日1回、1日2回、1日3回、1日4回、1日5回、又は1日6回（例えば、1日3回）、約2g+/-20%~50g+/-20%の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、1日3回、2g+/-20%~10g+/-20%の総アミノ酸実体、例えば、1日3回、8g+/-20%又は10g+/-20%の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、1日3回、10g+/-20%~20g+/-20%の総アミノ酸実体、例えば、1日3回、11g+/-20%、12g+/-20%、15g+/-20%、16g+/-20%、又は20g+/-20%の総アミノ酸実体の用量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、1日3回、20g+/-20%~30g+/-20%の総アミノ酸実体、例えば、1日3回、21g+/-20%、22g+/-20%、23g+/-20%、又は24g+/-20%の総アミノ酸実体の用量で投与される。

30

【0158】

活性部分及び医薬組成物の製造

本開示は、上記の発明の組成物（例えば、活性部分）を製造又は作製する方法を特徴とする。組成物を作製するのに使用されるアミノ酸実体は、分散及び/又は可溶化を補助するために、凝集され、及び/又はインスタント化され得る（instantized）。

【0159】

組成物は、以下の供給源からのアミノ酸実体を用いて作製され得るか、又は他の供給源が使用され得る：例えば、FUSI-BCAA（商標）インスタント化ブレンド（Instantized Blend）（2:1:1の重量比でL-ロイシン、L-イソロイシン及びL-バリン）、インスタント化L-ロイシン、及び他の酸が、味の素株式会社（Ajinomoto Co., Inc.）から入手可能である。医薬品グレードのアミノ酸

50

実体原料が、医薬品アミノ酸実体製品の製造に使用され得る。食品（又は栄養補助食品）グレードのアミノ酸実体原料が、食品アミノ酸実体製品の製造に使用され得る。

【0160】

本開示の組成物を製造するために、以下の一般的な工程が使用され得る：出発材料（個々のアミノ酸実体及び賦形剤）が、混合ユニット中で混合され、続いて、混合均一性及びアミノ酸含量が確認され、混合された粉末がスティックパック又は他の単位剤形へと充填され得る。スティックパック又は他の単位剤形の内容物は、経口投与のために使用時に水中に分散され得る。

【0161】

本発明の栄養補助食品及び医学的栄養組成物は、経口投与に好適な形態である。

10

【0162】

原料、例えば、医薬品グレードアミノ酸実体及び／又は賦形剤を、組成物に組み合わせるとき、汚染物質が、組成物中に存在し得る。組成物が、汚染物質を実質的に含まない（例えば、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1、0.1、0.01、又は0.001%（w/w）未満を含む）場合、組成物は、汚染のレベルの基準を満たす。ある実施形態において、本明細書の方法において記載される組成物は、汚染物質を含まない。汚染物質は、組成物中に意図的に存在しない何らかの物質（例えば、医薬品グレードアミノ酸実体及び賦形剤、例えば、経口投与成分は、意図的に存在し得る）又は組成物の製品品質パラメータ（例えば、対象における副作用、減少した効力、減少した安定性／貯蔵期間、変色、匂い、不快な味、不快な質感／口当たり、又は組成物の成分の分離の増加）に悪影響を与える何らかの物質を含む。ある実施形態において、汚染物質は、微生物、内毒素、金属、又はそれらの組合せを含む。ある実施形態において、例えば、組成物の各部分の金属、レシチン、コリン、内毒素、微生物、又は他の汚染物質（例えば、原料からの汚染物質）による汚染のレベルが、食品中で許容されるレベル未満である。

20

【0163】

賦形剤

本開示のアミノ酸組成物は、1つ又は複数の賦形剤とともに配合又は製剤化され得る。好適な賦形剤の非限定的な例としては、味物質、香料、緩衝剤、保存料、安定剤、結合剤、圧密剤（compact ion agent）、潤滑剤、分散促進剤、崩壊剤、香味料、甘味料、及び着色剤が挙げられる。

30

【0164】

ある実施形態において、賦形剤は、緩衝剤を含む。好適な緩衝剤の非限定的な例としては、クエン酸、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、及び重炭酸カルシウムが挙げられる。

【0165】

ある実施形態において、賦形剤は、保存料を含む。好適な保存料の非限定的な例としては、酸化防止剤、例えば α -トコフェロール及びアスコルベート、並びに抗菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、及びフェノールが挙げられる。

【0166】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として結合剤を含む。好適な結合剤の非限定的な例としては、でんぷん、アルファでんぷん、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキシアゾリドン（polyvinyl oxoazolidone）、ポリビニルアルコール、C12～C18脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、サッカリド、オリゴ糖、及びそれらの組合せが挙げられる。

40

【0167】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として潤滑剤を含む。好適な潤滑剤の非限定的な例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、硬化植物油、ステロテックス（stero tex）、モノステアリン酸ポリオキシエチレン、タルク、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウ

50

ム、ラウリル硫酸マグネシウム、及び軽油が挙げられる。

【0168】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として分散促進剤を含む。好適な分散剤の非限定的な例としては、でんぷん、アルギン酸、ポリビニルピロリドン、グアーガム、カオリン、キサンタンガム、ベントナイト、精製木材セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、イソアモルファスシリケート (isoamorphous silicate)、及び高HLB乳化剤界面活性剤としての微結晶性セルロースが挙げられる。

【0169】

ある実施形態において、組成物は、賦形剤として崩壊剤を含む。ある実施形態において、崩壊剤は、非発泡性崩壊剤である。好適な非発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、でんぷん (トウモロコシでんぷん、ジャガイモデンプン、それらのアルファ化及び加工でんぷんなど)、甘味料、例えばベントナイトなどの粘土、微結晶性セルロース、アルギン酸塩、デンプングリコール酸ナトリウム、ガム (寒天、グアー、イナゴマメ、カラヤ、ペクチン、及びトラガカントなど) が挙げられる。ある実施形態において、崩壊剤は、発泡性崩壊剤である。好適な発泡性崩壊剤の非限定的な例としては、クエン酸と組み合わされた炭酸水素ナトリウム、及び酒石酸と組み合わされた炭酸水素ナトリウムが挙げられる。

【0170】

ある実施形態において、賦形剤は、香味料を含む。香味料は、合成香味油及び香味芳香族化合物；天然油；植物、葉、花、及び果実からの抽出物；並びにそれらの組合せから選択され得る。ある実施形態において、香味料は、ケイ皮油；ウインターグリーン油；ペパーミント油；クローバー油；干し草油 (hay oil)；アニス油；ユーカリ；バニラ；レモン油、オレンジ油、ブドウ及びグレープフルーツ油などの柑橘類油；並びにリンゴ、モモ、セイヨウナシ、イチゴ、ラズベリー、サクランボ、プラム、パイナップル、及びアンズを含む果実エキスから選択される。

【0171】

ある実施形態において、賦形剤は、甘味料を含む。好適な甘味料の非限定的な例としては、グルコース (コーンシロップ)、デキストロース、転化糖、フルクトース、及びそれらの混合物 (担体として使用されない場合)；サッカリン及びナトリウム塩などのその様々な塩；アスパルテームなどのジペプチド甘味料；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリチン；ステビア (Stevia Rebaudiana) (ステビオシド)；スクラロースなどのスクロースのクロロ誘導体；及びソルビトール、マンニトール、キシリトールなどの糖アルコールが挙げられる。水素化でんぷん加水分解物及び合成甘味料 3, 6-ジヒドロ-6-メチル-1, 2, 3-オキサチアジン-4-オン-2, 2-ジオキシド、特に、カリウム塩 (アセスルファム-K)、並びにそのナトリウム塩及びカルシウム塩も考えられる。

【0172】

ある実施形態において、組成物は、着色剤を含む。好適な着色剤の非限定的な例としては、食品、医薬品、及び化粧品用着色剤 (FD & C)、医薬品及び化粧品用着色剤 (D & C)、並びに外用医薬品及び化粧品用着色剤 (Ext. D & C) が挙げられる。着色剤は、染料又はそれらの対応するレーキとして使用され得る。

【0173】

特定の賦形剤は、クエン酸、レシチン、(例えば Alcolac F100)、甘味料 (例えばスクラロース、微粉化スクラロース NF、アセスルファムカリウム (例えば Ace-K))、分散促進剤 (例えばキサンタンガム (例えば Ticaxan Rapid-3))、香味料 (例えばバニラカスタード #4306、Nat Orange WOLF #1326、ライム 865.0032U、及びレモン 862.2169U)、苦味マスキング剤 (例えば 936.2160U)、及び天然又は人工着色料 (例えば FD & C Yellow 6) のうちの 1 つ又は複数を含み得る。各スティックパックの例示的な成分含量が、表 9 に示される。

【0174】

10

20

30

40

50

【表 9】

表9. 各スティックパック中の成分含量。

成分	グレード	機能	供給業者; 注記
アミノ酸	USP	医薬品有効成分(API)	様々な供給業者; 非インスタント化形態 (MFG 規模)
クエン酸	USP	pH、香料料	Spectrum Chems; f(体積) ≤ 1.0% w/v
アセスルファム K	NF	甘味料(早い発現)	Spectrum Chems; ターゲット 1 甘味料
スクラロース	NF	甘味料(遅い発現)	Spectrum Chems; WHO ADI ≤ 15 mg/kg
レシチン(Alecolec F100)	FCC	湿潤剤	American Lecithin Company
キサントガム	FCC	安定剤/増粘剤	TIC Gums; f(体積) ≤ 0.5% w/v
バニラカスタード(人工)	GRAS	味/香料	David Michael; 硫黄を マスクする
オレンジ(天然及び WONF)	GRAS	1° 香料料	David Michael; 柑橘類 プロファイルが、低 pH に 合う
ライム(天然及び WONF)	GRAS	2° 香料料	FONA; 単一の香料料供給 業者
レモン(天然及び人工)	GRAS	2° 香料料	FONA; 単一の香料料供給 業者
味調節剤	GRAS	苦味マスキング剤	FONA; 低体積で有用
FD&C Yellow No.6	USP	着色料	Sensient; 香料料 プロファイルに合う

【0175】

別の実施形態において、賦形剤は、クエン酸、甘味料（例えば、スクラロース）、キサントガム、香料剤（例えば、バニラカスタード # 4036）、香料料（例えば、ナットオレンジ (Nat orange) WONF # 1362）、及び着色剤（例えば、FD & C Yellow 6）に限定され、例えば、賦形剤は、レシチンを特に除外する（表 10）。

【0176】

10

20

30

40

【表 10】

表 10. 各スティックパック中の例示的な含量。

成分	グレード	機能
アミノ酸	USP	医薬品有効成分(API)
クエン酸	USP	pH、香味料
スクラロース	NF	甘味料 (遅い発現)
キサンタンガム	FCC	安定剤/増粘剤
バニラカスタード (人工)	GRAS	香料
オレンジ (天然+WONF)	GRAS	1° 香味料
FD&C Yellow No. 6	USP	着色料

10

【0177】

食品組成物

アミノ酸実体を含む組成物（例えば、活性部分）は、例えば、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される食品組成物として製剤化され、使用され得る。このような実施形態において、原料及び最終生成物は、食品の基準を満たすべきである。

20

【0178】

本明細書に開示される態様及び実施形態のいずれかの組成物は、例えば、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される食品組成物として使用するためのものであり得る。ある実施形態において、食品組成物は、組成物を対象に投与することを含む方法において使用するためのものである。組成物は、インスリン抵抗性を改善又は軽減する目的のために食品組成物において使用するためのものであり得る。

【0179】

ある実施形態において、食品組成物は、医療食、機能性食品、又は栄養補助食品から選択される。ある実施形態において、組成物は、本明細書に記載される組成物を含む、栄養補給食品、食品製剤、機能性食品、医療食、食品、又は飲料の形態である。ある実施形態において、（例えば、インスリン抵抗性を有する対象における）インスリン抵抗性又は耐糖能の管理に使用するための、本明細書に記載される組成物を含む、栄養補給食品、食品製剤、機能性食品、医療食、食品、又は飲料。

30

【0180】

本開示は、インスリン抵抗性又は耐糖能を改善する方法であって、有効量の本明細書に記載される食品組成物を対象に投与することを含む方法の特徴とする。

【0181】

本開示は、インスリン抵抗性を有する対象（例えば、本明細書に記載される疾患又は障害を有する対象）に栄養補給又は栄養補助を提供する方法であって、有効量の本明細書に記載される組成物を対象に投与することを含む方法の特徴とする。

40

【0182】

本開示は、インスリン抵抗性の管理を助ける栄養補給又は栄養補助を提供する方法であって、有効量の本明細書に記載される組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む方法の特徴とする。

【0183】

ある実施形態において、対象は、インスリン抵抗性を有するか、又はインスリン抵抗性であると診断されている。他の実施形態において、対象は、インスリン抵抗性を有さない。

【0184】

50

さらに、組成物は、対象（例えば、インスリン抵抗性を有さない対象）の食事の管理の方法に使用され得る。

【0185】

ある実施形態において、対象は、前糖尿病、2型糖尿病、又はメタボリック・シンドローム（X症候群）に罹患している。ある実施形態において、対象は、過体重又は肥満である。

【0186】

ある実施形態において、対象は、心血管の疾患又は障害を有する。特定の実施形態において、対象は、高血圧症、脂質異常症、アテローム性動脈硬化症、又は閉塞性睡眠時無呼吸を有する。

【0187】

ある実施形態において、対象は、内分泌障害を有する。特定の実施形態において、内分泌障害は、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、甲状腺機能亢進症、クッシング病、クッシング症候群、末端肥大症、又は褐色細胞腫から選択される。

【0188】

ある実施形態において、対象は、妊娠している。

【0189】

ある実施形態において、対象は、腎不全を有する。

【0190】

ある実施形態において、対象は、遺伝性の疾患又は障害を有する。特定の実施形態において、対象は、ダウン症、ターナー症候群、クラインフェルター症候群、サラセミア、ヘモクロマトーシス、リポジストロフィー、早老症、ハンチントン舞蹈病、筋強直性ジストロフィー、フリードライヒ運動失調症、ローレンス・ムーア・ビードル症候群、1及び3型糖原病、又は遺伝性ミトコンドリア異常症から選択される遺伝性の疾患又は障害を有する。

【0191】

ある実施形態において、対象は、癌に罹患している。特定の実施形態において、癌は、結腸癌、子宮内膜癌、膵臓癌、腎細胞癌、又は乳癌から選択される。

【0192】

ある実施形態において、対象は、認知症に罹患している。特定の実施形態において、認知症は、アルツハイマー病又はレビー小体型認知症から選択される。

【0193】

ある実施形態において、対象は、重度インスリン抵抗性症候群（SSIR）に罹患している。特定の実施形態において、SSIRは、リポジストロフィーに関連している。

【0194】

ある実施形態において、対象は、インスリン抵抗性の遺伝性障害を有する。特定の実施形態において、インスリン抵抗性の遺伝性障害は、ドナヒュー症候群、ラブソン・メンデンホール症候群、又はA型インスリン抵抗性から選択される。

【0195】

バイオマーカー

本明細書に開示される方法のいずれかは、本明細書に記載される本発明の組成物（例えば、活性部分）を、インスリン抵抗性を有する対象（例えば、インスリン抵抗性を有する対象）に投与することの有効性を評価又は監視することを含み得る。値が治療の有効性の指標であるように、組成物に有効性の値を取得することを含む。

【0196】

ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのp r o C 3を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのA L Tを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのA S Tを示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗

10

20

30

40

50

性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのTIMP（例えば、TIMP1又はTIMP2）を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのColla1を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのActa2を示す。ある実施形態において、対象は、例えば、インスリン抵抗性を有さない健常な対象と比べて、増加したレベルのヒドロキシプロリンを示す。

【0197】

ある実施形態において、対象への本明細書に記載される投与計画における組成物（例えば、活性部分）の投与は、以下：（a）III型コラーゲンのN末端断片（proC3）；（b）メタロプロテイナーゼの組織阻害剤（TIMP）タンパク質；例えば、TIMP1又はTIMP2；（c）Colla1；（d）Acta2；（e）ALT；（f）AST；（g）ヒドロキシプロリン；（h）TGF- β ；（i）MCP-1；（j）MIP-1；（k）コラーゲン、例えば、I及びIII型コラーゲン；（l） α -平滑筋アクチン（ α SMA）；（m）PIINP；又は（o）トリグリセリドのうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、又はそれ以上（例えば、全て）のレベル又は活性を低下させる。

【実施例】

【0198】

以下の実施例が、本発明の理解を助けるために記載されるが、決して本発明の範囲を限定することは意図されず、限定するように解釈されるべきではない。

【0199】

実施例1. アミノ酸組成物A-1による治療的処理が、前臨床動物モデルにおいて経口耐糖能を改善する。

アミノ酸組成物A-1及びメトホルミンを、遺伝性肥満であるB6. Cg-Lep^{ob}/J（ob/ob）マウスモデルにおける耐糖能に作用するそれらの能力について試験した（Maida A, et al., 2010, PMID: 20972533）。

【0200】

モデルの説明

B6. Cg-Lep^{ob}/J（ob/ob）マウスは、レプチン（Lep）遺伝子の自然突然変異を有する。ob/obマウスは、過食症、肥満、及びメタボリック・シンドローム/T2DM様症状、例えば高血糖、高インスリン血症、及びインスリン抵抗性を示す。ob/obマウスは、腸バリア機能の低下、腸内微生物の移行（gut microbial translocation）、及び肝星細胞の炎症性、線維形成性表現型を有する（Brun P et al., 2004, PMID: 17023554）。ob/obマウスは、ヒトの老化の作用と同様に、大腿四頭筋における骨格筋低形成を発生させる（Hamrick MW et al., 2004, PMID: 15003785）。ob/obマウスは、グルコース及びインスリンに対する不耐性を示す。メトホルミンは、血漿中グルコース（Cool B, et al., Cell Metab 2006, PMID: 16753576）、肝臓トリグリセリドを低下させ、ob/obマウスにおけるNAFLDを食い止める（Lin HZ et al., 2000, PMID: 10973319; Cool B, et al., Cell Metab 2006, PMID: 16753576）。単回投与のメトホルミン処理は、C57/BL6における血糖を低下させ、耐糖能（OGTT）を改善する。

【0201】

実験計画

8週齢の雄ob/obマウスに、被験物質（アミノ酸組成物A-1及びメトホルミン）の処理、その後、3日目に経口耐糖能試験（OGTT）を行った。マウスを、-1日目に体重及び非空腹時血糖によって無作為に分けた。体重を、1日目、2日目、及び3日目のAMの投与前の朝に毎日記録した。被験物質を、10ml/kgで強制経口投与によって投与した。被験物質の投与量を、1日体重に基づいて計算した。処理スケジュール及び用

量が、以下の節に列挙される（表 3 4）。A Mの用量を 0 7 0 0 に投与し、P Mの用量を 1 8 0 0 に投与した。経口耐糖能試験（O G T T）を、3 日目に、6 時間の絶食後に行った。

【 0 2 0 2 】

【表 1 1】

表34. 処理スケジュール

群	被験物質	#	投与スケジュール
群 1	ビヒクル	N= 5	1 日目及び 2 日目の 0700 及び 1800、並びに 3 日目の 0700 及び OGTT の 30 分前の合計 6 回の投与で、ビヒクルを投与した。
群 2	メトホルミン	N= 5	-1 日目、1 日目、及び 2 日目の 1800、及び 3 日目の OGTT の 30 分前の合計 4 回の投与で、メトホルミン塩酸塩 (450 mg/kg、暗サイクルの開始時に 1 日 1 回経口で(QD PO))を投与した。
群 3	アミノ酸組成物 A-1	N= 5	1 日目及び 2 日目の 0700 及び 1800、並びに 3 日目の 0700 及び OGTT の 30 分前の合計 6 回の投与で、アミノ酸組成物 A-1 (1500 mg/kg、0700 及び 1800 に 1 日 2 回経口で(BID PO))を投与した。
群 4	アミノ酸組成物 A-1	N= 5	1 日目及び 2 日目の 0700 及び 1800、並びに 3 日目の 0700 及び OGTT の 30 分前の合計 6 回の投与で、アミノ酸組成物 A-1 (3000 mg/kg、0700 及び 1800 に 1 日 2 回経口で(BID PO))を投与した。

10

20

【 0 2 0 3 】

ベースライングルコース及び生化学（インスリン、トリグリセリド及びコレステロール）マウスを、O G T T 試験前の 6 時間にわたって絶食させた。3 日目の 0 7 0 0 時に食事を除去し；絶食中、水を与えた。血液試料を、ベースライングルコース及び血液生化学（インスリン、トリグリセリド、及びコレステロール）のために、（O G T T に対して）－ 3 0 分の時点で尾切断又は顔穿刺により K₂ E D T A 管中に採取した。血糖を、血糖値測定器（S D I S t a t S t r i p X p r e s s 又は同等物）によって測定した。血漿を K₂ E D T A 中に採取し、－ 8 0 °C で保存した。

30

【 0 2 0 4 】

経口耐糖能試験（O G T T）

マウスを、－ 3 0 分の時点でベースライングルコース及び血漿のために出血させた。次に、被験物質を、－ 3 0 分の時点で強制経口投与によって投与した。グルコースを、2 . 0 g / k g 体重の投与量で経口（P . O . ）投与した。血糖値を、グルコース注入の直前の 0 分の時点で、次に、その後 1 5、3 0、6 0、1 2 0 及び 2 4 0 分の時点で測定した（以下の表 3 5 中で 0 . 2 5、0 . 5、1、2、及び 4 時間として示される）。

【 0 2 0 5 】

結果が、表 3 5 に示される。データは、平均±標準偏差（s t d e v）である。（ダネットの多重比較による p 値：ビヒクル対照と比較して * * p < 0 . 0 0 5；ビヒクル対照と比較して * * * p < 0 . 0 0 1；ビヒクル対照と比較して * * * * p < 0 . 0 0 0 5）。

40

【 0 2 0 6 】

結果

【 0 2 0 7 】

【表 1 2】

表35. OGTTの結果: 平均血糖値 (mg/dl) 及び標準偏差 (stdev)

時点 (時間)	ビヒクル		アミノ酸 組成物 A-1、 1500 mg/kg		アミノ酸 組成物 A-1、 3000 mg/kg		メトホルミン	
	平均 血糖値 (mg/dl)	標準偏差	平均 血糖値 (mg/dl)	標準偏差	平均 血糖値 (mg/dl)	標準偏差	平均 血糖値 (mg/dl)	標準偏差
-1	241.8	108.3	245.6	89.4	229.6	78.2	196.4	59.8
0	282.6	47.0	374.6	97.6	303.0	77.1	199.4	62.6
0.25	655.0	107.2	575.6	73.8	456.2**	36.6	353.6****	73.6
0.5	640.6	92.6	555.2	84.0	513.0	47.9	390.2***	99.5
1	378.0	111.1	386.6	27.5	316.4	86.1	317.6	116.9
2	236.6	54.8	243.5	18.4	230.0	101.1	158.2	44.0
4	197.8	53.3	214.8	56.8	179.8	81.3	109.4	29.0

10

20

【0 2 0 8】

概要

アミノ酸組成物 A-1 による処理が、経口グルコース負荷時の血糖クリアランスの改善によって示されるように、経口耐糖能の改善をもたらした。さらに、アミノ酸組成物 A-1 による 3 日の処理は、o b / o b マウスにおいてベースライン血糖を変化させなかった (表 3 6)。

【0 2 0 9】

【表 1 3】

表36. OGTTの結果: 血糖値 (mg/dl) 生データ

時点 (時間)	ビヒクル				
-1	211	141	211	219	427
0	239	256	273	284	361
0.25	741	676	514	578	766
0.5	551	621	604	630	797
1	305	317	327	369	572
2	182	243	230	203	325
4	146	203	167	188	285

10

時点 (時間)	アミノ酸組成物 A-1、 1500 mg/kg				
-1	224	220	190	191	403
0	331	548	347	316	331
0.25	526	702	580	531	539
0.5	532	419	621	587	617
1	431	365	367	395	375
2	246		243	220	265
4	192		193	175	299

20

時点 (時間)	アミノ酸組成物 A-1、 3000 mg/kg				
-1	137	294	179	214	324
0	242	359	203	329	382
0.25	412	490	438	443	498
0.5	513	482	467	512	591
1	240	351	220	342	429
2	161	334	148	160	347
4	120	235	110	139	295

30

時点 (時間)	メトホルミン				
-1	265	248	183	120	166
0	274	234	220	129	140
0.25	387	397	427	310	247
0.5	462	439	482	307	261
1	365	399	431	239	154
2	154	183	219	124	111
4	118	93	155	101	80

40

【0 2 1 0】

実施例 2 : 前臨床動物モデルにおけるアミノ酸組成物 A-1 による N A F L D、N A S H、及び H C C の治療的処理

アミノ酸組成物 A-1 及びオベチコール酸 (6 α-エチルーケノデオキシコール酸 ; 「

50

O C A」) を、S T A M (商標) モデルにおけるN A S Hを治療するそれらの能力について試験した (S t e l i c I n s t i t u t e & C o . , T o k y o , J a p a n ; S a i t o K . e t a l . , 2 0 1 5 S c i R e p 5 : 1 2 4 6 6) 。標準食を与えられた正常なC 5 7 B L / 6 マウス及びビヒクル処理S T A M (商標) マウスの2つのさらなる群が、対照として含まれていた。処理又はビヒクルを与えられる全ての動物を、6週間から開始して9週齢まで処理した。化合物を、1 0 m l / k g の用量体積で、強制経口投与によって投与した。アミノ酸組成物A - 1 を、1 5 0 0 m g / k g の用量で1日2回投与し、O C A を、3 0 m g / k g の用量で1日1回投与した。

【0211】

S T A M (商標) マウスモデルの説明

10

S T A M (商標) は、S M C L a b o r a t o r i e s , I n c . によって開発された、非アルコール性脂肪性肝炎 (N A S H) 及び肝細胞癌 (H C C) のモデルであり、C 5 7 B L / 6 マウスを用いた薬品及び食事介入の組合せによって作成されている (S a i t o K . e t a l . , 2 0 1 5 S c i R e p 5 : 1 2 4 6 6) 。マウスは、出生時に低用量のストレプトゾトシンで処理され、4週間から開始して高脂肪食を与えられる。脂肪肝のエビデンスが、5週間までに存在し、続いて、7週間までにN A S H及び9週間までに線維症のエビデンスが存在する。

【0212】

N A S Hの誘導

出生の2日後の2 0 0 μ g のストレプトゾトシン (S T Z、S i g m a - A l d r i c h , U S A) 溶液の単回皮下注射、及び4週齢後の高脂肪食 (H F D、5 7 k c a l % の脂肪、C a t # H F D 3 2、日本クレア (C L E A J a p a n)、日本) の供給によって、N A S Hを、53匹の雄マウスにおいて誘導した。

20

【0213】

医薬品投与の経路、投与溶液の調製、投与溶液の投与及び投与用量の投与用量

アミノ酸組成物A - 1、O C A及びビヒクル(後述される)を、1 0 m l / k g の体積で経口経路によって投与した。アミノ酸組成物A - 1を、脱イオン水中で1 5 0 m g / m l (10倍)になるまで可溶化した。O C A (A d v a n c e d C h e m B l o c k s I n c .) を、水中0. 5 %のメチルセルロース中で、3 m g / m l (10倍)になるまで再懸濁させた。アミノ酸組成物A - 1を、1日2回(9 a m及び7 p m)、1 5 0 0 m g / k g の用量で投与した。O C Aを、1日1回(9 a m)、3 0 m g / k g の用量で投与した。

30

【0214】

組織学的分析

群2(ビヒクル)、3(アミノ酸組成物A - 1)及び4(O C A)のマウスからの肝臓試料を、以下のアッセイに使用した。H E染色のため、ブアン液中で予め固定され、リリー・マイヤーヘマトキシリン液(武藤化学株式会社(M u t o P u r e C h e m i c a l s C o . , L t d .)、日本)及びエオシン溶液(和光純薬工業(W a k o P u r e C h e m i c a l I n d u s t r i e s))で染色された肝臓組織のパラフィンブロックから切片を切り取った。N A F L D活動性スコア(N A S)を、K l e i n e r の基準(K l e i n e r D . E . e t a l . , H e p a t o l o g y , 2 0 0 5 ; 4 1 : 1 3 1 3)にしたがって計算した。

40

【0215】

実験計画

試験群

群1: S T Z: S T Zを前投与された10匹の新生マウスに、9週齢まで処理なしで通常の食事を自由に与えた。

群2: ビヒクル: 10匹のN A S Hマウスに、6~9週齢で、1日2回(9 a m及び7 p m)、1 0 m l / k g の体積のビヒクル(10%のリン酸緩衝生理食塩水、p H 7. 2)を経口投与した。

50

群 3：アミノ酸組成物 A-1：10 匹の NASH マウスに、6～9 週齢で、1 日 2 回（9 a m 及び 7 p m）、1 5 0 0 m g / k g の用量のアミノ酸組成物 A-1 を補充した灌注用水を経口投与した。

群 4：OCA：10 匹の NASH マウスに、6～9 週齢で、1 日 1 回（9 a m）、3 0 m g / k g の用量の OCA を補充した 0. 5 % のメチルセルロースを経口投与した。

群 5：正常：10 匹の正常なマウスに、9 週齢まで処理なしで通常の食事を自由に与えた。

群 6：HFD：10 匹の正常なマウスに、9 週齢まで処理なしで高脂肪食を自由に与えた。

【0 2 1 6】

組織学的結果：H E 染色、NAFLD 活動性スコア及び α -平滑筋アクチン染色
非アルコール性脂肪肝疾患活動性スコア

非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）活動性スコアを、各動物からの H & E 染色された肝臓切片の組織学的分析及び等級付けによって評価した。このスコアは、脂肪症（0～3）、炎症（0～2）、及び肝細胞風船様腫大（0～2）の程度を等級付けする 3 つの個々のスコアの合計である。全ての組織を、K l e i n e r らの採点基準（K l e i n e r e t a l . H e p a t o l o g y . 2 0 0 5 ; 4 1 (6) : 1 3 1 3 - 2 1 ）を用いて等級付けした。結果が、表 3 7 に示される。データは、平均±標準偏差（s t d e v ）である。標準食を与えられた正常な C 5 7 B L / 6 マウスは、0 + / - 0 の平均スコアを有していた。ビヒクル処理 STAM（商標）マウスは、4. 7 + / - 0. 6 7 の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物 A-1 処理マウスは、3. 1 + / - 0. 7 4 の平均スコアを有していた。OCA 処理マウスは、2. 9 + / - 0. 7 4 の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物 A-1 及び OCA の両方は、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、NAFLD 活動性スコアについてビヒクルと統計的に異なっていた（アミノ酸組成物 A-1 $p = 0. 0 0 0 1$ 、OCA $p = 0. 0 0 0 1$ ）。

【0 2 1 7】

同様に、アミノ酸組成物 A-1 処理マウスは、1. 6 + / - 0. 5 2 のビヒクル処理 STAM（商標）マウスの平均肝細胞風船様腫大スコア、及び 0. 3 + / - 0. 4 8 の OCA 処理マウスの平均肝細胞風船様腫大スコアと比較して、0. 4 + / - 0. 5 2 の平均肝細胞風船様腫大スコアを示した。アミノ酸組成物 A-1 及び OCA の両方は、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、肝細胞風船様腫大スコアについてビヒクルと統計的に異なっていた（アミノ酸組成物 A-1 $p = 0. 0 0 0 1$ 、OCA $p = 0. 0 0 0 1$ ）。生データが、表 3 7 ～ 4 0 に示される。

【0 2 1 8】

【表 1 4】

表37. NAFLD活動性スコア

NAFLD 活動性スコア (NAS)				
条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0	4.7	3.1	2.9
標準偏差	0	0.67	0.74	0.74

【0 2 1 9】

【表 1 5】

表38. NAFLD活動性: 脂肪症スコア

	脂肪症			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0	1	0.9	0.8
標準偏差	0	0.00	0.32	0.42

10

【0 2 2 0】

【表 1 6】

表39. NAFLD活動性: 炎症スコア

	炎症			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0	2.1	1.8	1.8
標準偏差	0	0.32	0.63	0.79

20

【0 2 2 1】

【表 1 7】

表40. NAFLD活動性: 肝細胞風船様腫大スコア

	肝細胞風船様腫大			
	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0	1.6	0.4	0.3
標準偏差	0	0.52	0.52	0.48

30

【0 2 2 2】

線維症: シリウスレッド染色の結果

線維症を、各動物からの染色された肝臓切片からのシリウスレッド陽性染色細胞面積の分析によって評価した。画像を、線維症の指標として使用される陽性染色面積のパーセントを用いて定量化した。この分析の結果が、表 3 9 に示される。データは、平均±標準偏差 (s t d e v) である。標準食を与えられた正常な C 5 7 B L / 6 マウスは、0 . 2 8 6 + / - 0 . 0 9 の平均陽性面積を有していた。ビヒクル処理 S T A M (商標) マウスは、1 . 1 + / - 0 . 2 6 の平均陽性面積を有していた。アミノ酸組成物 A - 1 処理マウスは、0 . 8 2 8 + / - 0 . 3 3 の平均陽性面積を有していた。O C A 処理マウスは、0 . 7 7 6 + / - 0 . 2 5 の平均スコアを有していた。アミノ酸組成物 A - 1 及び O C A は、ダネットの多重比較検定を用いて比較したとき、ビヒクルと統計的に異なっていた (アミノ酸組成物 A - 1 $p = 0 . 0 0 4 9 4$ 、O C A $p < 0 . 0 1 6$)。生データが、表 4 1 に示される。

40

【0 2 2 3】

【表 18】

表41. 線維症 (平均陽性染色面積、シリウスレッド)

条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0.286	1.1	0.828	0.776
標準偏差	0.09	0.26	0.33	0.25

10

【0224】

アミノ酸組成物 A-1 による処理の後の STAM マウスモデルにおける NAFLD 活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症の統計的に有意な改善 (図 1A) と同様に、アミノ酸組成物 A-1 による処理の後の高脂肪、高フルクトース及びコレステロール食 (HFFC) マウスモデルにおいて、NAFLD 活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症の統計的に有意な改善が決定された (図 1B)。

【0225】

α -平滑筋アクチン (α -SMA) 染色の結果

全てのマウスの肝臓切片を、活性化された肝星細胞を同定するために、マーカー α -平滑筋アクチン (α -SMA) について染色した。画像を、星細胞活性化の指標として使用される陽性染色面積のパーセントを用いて定量化した。結果が、表 42 に示される。データは、平均±標準偏差 (std dev) であり; p 値が、片側 T 検定によって、ビヒクル処理 STAM マウス対照と比較される。

20

【0226】

標準食を与えられた正常な C57BL/6 マウスは、 0.682 ± 0.26 の平均陽性面積を有していた。ビヒクル処理 STAM (商標) マウスは、 2.128 ± 0.50 の平均陽性面積を有していた。アミノ酸組成物 A-1 処理マウスは、 1.657 ± 0.84 の平均陽性面積を有していた。OCA 処理マウスは、 1.562 ± 0.31 の平均スコアを有していた。

【0227】

30

【表 19】

表42. 活性化肝星細胞 (平均陽性染色面積、 α -平滑筋アクチン)

条件	正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
平均	0.682	2.128	1.657	1.562
標準偏差	0.26	0.50	0.84	0.31
			p=0.073	p<0.05

40

【0228】

概要

アミノ酸組成物 A-1 による処理が、NAFLD 活動性スコア (NAS) の有意な減少 (平均 NAS: 2.9 ± 0.74 の OCA 処理マウス平均スコアと比較して、アミノ酸組成物 A-1 について 3.1 ± 0.74 対 4.7 ± 0.67 のビヒクル処理 STAM (商標) マウス平均スコア) によって示されるように、OCA (NASH の治療について、Intercept Pharmaceuticals, Inc. によって現在臨床試験中である) によるファルネソイド X 受容体 (FXR) 阻害と同等のレベルまで NASH 重症度を有意に低下させ、肝星細胞活性化 (平均 α -SMA 陽性染色面積: 1.56

50

2 + / - 0.31 の OCA 処理マウス平均面積と比較して、アミノ酸組成物 A-1 について 1.657 + / - 0.84 対 2.128 + / - 0.50 の ビヒクル処理 STAM（商標）マウス平均面積）の下方制御によって示されるように、線維症の発生を有意に低下させた。

【0229】

【表20】

表43. NAFLD活動性スコア：生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	6	3	4
0	5	4	2
0	5	4	2
0	4	3	4
0	5	2	3
0	5	2	3
0	4	3	2
0	4	3	3
0	4	3	3
0	4	3	3
0	5	4	3

【0230】

【表21】

表44. NAFLD活動性：脂肪症スコア：生データ

脂肪症			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	1	1
0	1	0	1
0	1	1	0
0	1	1	1
0	1	1	0
0	1	1	1
0	1	1	1

【0231】

【表 2 2】

表45. NAFLD活動性: 炎症スコア: 生データ

炎症			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	3	1	2
0	2	2	1
0	2	2	1
0	2	2	2
0	2	1	2
0	2	1	3
0	2	2	1
0	2	2	3
0	2	2	2
0	2	3	1

10

【 0 2 3 2】

20

【表 2 3】

表46. NAFLD活動性: 肝細胞風船様腫大スコア: 生データ

肝細胞風船様腫大			
正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0	2	1	1
0	2	1	0
0	2	1	0
0	1	0	1
0	2	1	0
0	2	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	1	0	0
0	2	0	1

30

【 0 2 3 3】

40

【表 2 4】

表47. 線維症 (平均陽性染色面積、シリウスレッド): 生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0.26	0.79	1.07	0.36
0.35	1.43	0.58	0.56
0.19	1.44	0.48	1.1
0.31	1.36	0.58	1.19
0.19	1.04	1.07	0.89
0.36	0.75	0.34	0.91
0.24	1.07	0.86	0.66
0.37	1.13	1.43	0.72
0.18	0.83	0.96	0.68
0.41	1.16	0.91	0.69

10

【 0 2 3 4】

【表 2 5】

20

表48. 活性化肝星細胞 (平均陽性染色面積、 α -平滑筋アクチン): 生データ

正常な C57BL/6 マウス	ビヒクル処理 STAM マウス	アミノ酸 組成物 A-1 処理 STAM マウス	OCA 処理 STAM マウス
0.47	2.16	0.81	1.46
0.59	2.77	1.35	1.51
1.13	2.21	1.3	1.49
0.52	1.5	3.03	1.17
0.75	2.87	2.04	1.49
0.46	1.93	0.97	1.5
0.37	1.6	3.08	1.13
0.85	1.46	1.91	2.03
0.62	2.36	1.15	1.87
1.06	2.42	0.93	1.97

30

【 0 2 3 5】

実施例 3：アミノ酸組成物による処理が、脂質代謝、炎症、及び線維症に影響を与えることによって、2匹のげっ歯類モデルにおける N A S H 進行を改善する。

40

アミノ酸組成物は、N A S H を安全且つ有効に治療するために疾患病状の複数の機構を同時に標的にするように製剤化される（表 5 2）。本明細書に記載されるように、アミノ酸組成物の有効性を、N A S H の 2 匹の確立されたマウスモデルにおいて試験して、N A S H 及び関連疾患に関連する兆候及び症状に対するアミノ酸組成物の影響を決定した。

【 0 2 3 6】

【表 2 6】

表52. アミノ酸組成物の例示的なアミノ酸成分。

アミノ酸	重量比	重量%	g /パッケージ	g用量 #1	g用量 #2
ロイシン	1	16.78	1.00 g	2 g	4 g
イソロイシン	0.5	8.39	0.50 g	1 g	2 g
バリン	0.5	8.39	0.50 g	1 g	2 g
アルギニン HCl	1.81	30.37	1.81 g	3.62 g	7.24 g
グルタミン	2	33.56	2.00 g	4 g	8 g
N-アセチルシステイン	0.15	2.52	0.15 g	0.3 g	0.6 g
総アミノ酸			5.96 g	約12 g	約24 g

10

【0237】

動物実験

20

STAM（商標）マウスは、SMC Laboratories, Inc. によって開発された、非アルコール性脂肪性肝炎（NA SH）及び肝細胞癌（HCC）のモデルである。脂肪肝のエビデンスが、5週齢までに存在し、続いて、7週齢までにNA SH、及び9週齢までに線維症のエビデンスが存在する。出生の2日後に低用量のストレプトゾトシンを投与し、4週齢から開始して高脂肪食（57% kcalの脂肪、HFD 32、日本クレア（CLEA Japan, Inc.））を与えたC57BL/6マウスにおいて、雄STAMマウスを作成した（全体が参照により本明細書に援用される；Saito K. et al., 2015 Sci Rep 5:12466）。アミノ酸組成物を、6週齢から開始して3週間にわたって、1日2回、1.6m/kgの用量でSTAMマウスに投与した。ビヒクル処理STAMマウスの1つの群が、対照として含まれていた。非絶食マウスを、9週齢で安楽死させた。血漿及び肝臓試料を、さらなる分析のために採取した（図2）。

30

【0238】

FATZO（商標）マウスは、Crown Bioscience, Inc.によって開発された、肥満、メタボリック・シンドローム、及びNA SHの、近交系のポリジーンモデルである（全体が参照により本明細書に援用される；Peterson RG. Et al., 2017 PLoS One）。雄FATZOマウスに、6週齢から開始して、高脂肪、フルクトース、及びコレステロール（HFFC）食（40% kcalの脂肪、D12079B、Research Diets, Inc. 及び飲料水中5%のフルクトース）を与えて、NAFLD及びNA SHを誘導した。脂肪肝のエビデンスが、誘導の4週間後までに存在し、続いて、誘導の16週間後までにNA SH及び誘導の20週間後までに線維症のエビデンスが存在する。設計されたアミノ酸組成物を、誘導の16週間後から開始して、4週間にわたって1日2回、3.0g/kgの用量で投与した（図2）。ビヒクル処理FATZOマウスの1つの群が、対照として含まれていた。非絶食マウスを、誘導の20週間後の時点で安楽死させた。血漿及び肝臓試料を、さらなる分析のために採取した。

40

【0239】

組織学的分析

Aperio ScanScope CSホールスライドデジタルイメージングシステム（Vista, CA）を、H&E、Picricシリウスレッド、SMA、F4/80

50

におけるイメージングに使用した。画像を、ホールスライドから獲得した。

【0240】

肝臓を、NASH Clinical Research Network (CRN) 肝臓組織学的採点システムを用いて、サンプルIDを知らされていない獣医病理学者によって評価した（全体が参照により本明細書に援用される、Kleiner DE, et al., 2015）。NASH CRN Scoring Systemは、脂肪症、小葉炎症、肝細胞風船様腫大、変性、及び線維症の進行を評価する。各事例の肝臓の1つの断面を、NASHスコアシステムを用いて分析した。脂肪症、小葉炎症、及び線維症の進行を、0～3の尺度で評価した。肝細胞風船様変性を、0～2の尺度で評価した。

【0241】

Aperio Automatic Image QuantitationのPositive Pixel Countアルゴリズムを用いて、走査されたスライド画像中に存在する特定の染色のパーセンテージを定量化した。色の範囲（色相及び彩度の範囲）並びに3つの輝度範囲（弱、ポジティブ（positive）、及び強）をマスクし、評価した。アルゴリズムは、3つのさらなる量：平均輝度、強／総数の比率、及び弱いポジティブピクセルの平均輝度とともに、各輝度範囲における数及び輝度の総和を計数した。

【0242】

特定のポジティブピクセルアルゴリズムを、シリウスレッド及びオイルレッドO肝臓切片をイメージングするのに使用した。ポジティブピクセルアルゴリズムは、オレンジ色と青色を区別するように調節された。通常の「色相値」（0.1～0.96）及び「彩度」（0.04～0.29）からの変更が、シリウスレッド評価のためになされた。血管系及び人工物は、分析から除外された。

【0243】

肝臓トリグリセリド及びコレステロール測定

肝臓総脂質抽出物を、Folchの方法によって得た（全体が参照により本明細書に援用される；Folch J. et al., J. Biol. Chem. 1957；226：497）。肝臓試料を、クロロホルム-メタノール（2：1、v/v）中で均質化し、室温で一晩インキュベートした。クロロホルム-メタノール-水（8：4：3、v/v/v）での洗浄の後、抽出物を、蒸発乾固させ、イソプロパノールに溶解させた。肝臓トリグリセリド及びコレステロール含量を、それぞれトリグリセリドE-試験及びコレステロールE-試験によって測定した。

【0244】

遺伝子発現分析

肝臓RNA試料を、Illumina TruSeq Stranded mRNA試料調製キット（Illumina # RS-122-2103）を用いてcDNAライブラリーに変換した。トランスクリプトームを、Q2 Solutions（Morrisville, NC）において分析した。RNA Seqデータを正規化し、Ingenuity Pathway Analysis（QIAGEN Bioinformatics）を用いて分析した。ヒトNAFLDに変換可能であるため、経路レベルでのマウス肝臓遺伝子発現に焦点を合わせた（全体が参照により本明細書に援用される、Teufel A, et al., Gastroenterology, 2016）。

【0245】

代謝分析

キャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析法（CE-TOFMS）及びLC-TOFMSプラットフォームの両方に基づいた代謝プロファイルを、ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ（Human Metabolome Technologies）（山形、日本）において行った。試料中の代謝産物を、移動時間及びm/z比を認証標準と比較することによって同定し、それらのピーク面積を認証標準のものと比較することによって定量化した。

【0246】

肝臓サイトカイン／ケモカイン測定

肝臓におけるIL-1b、MCP-1、及びMIP-1タンパク質のレベルを、多重ELISA Assay (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland) を用いて定量化した。

【0247】

アミノ酸組成物は、STAM及びFATZ Oマウスの両方において肝細胞風船様腫大及び線維症を改善する。

アミノ酸組成物による処理は、STAM及びFATZ Oマウスの両方においてNAFLD活動性スコア(NAS)を有意に低下させた(図3A)。アミノ酸組成物による処理はまた、STAMマウスにおいて肝細胞風船様腫大を有意に軽減した(図3B)。脂肪症及び炎症のスコアは、組織学的指標によれば、アミノ酸組成物によるSTAMマウスの処理によって変化されなかった。シリウスレッド陽性の、線維症領域は、STAMマウスをアミノ酸組成物で処理することによって有意に低下された一方、オイルレッドO領域は、STAMマウスをアミノ酸組成物で処理することによって変化されなかった(図3C)。肝臓トリグリセリド及びコレステロールレベルは変化されなかった。

【0248】

アミノ酸組成物による処理はまた、FATZ Oマウスにおいて肝細胞風船様腫大を有意に軽減した(図3D)。脂肪症及び炎症並びに肝臓トリグリセリド及びコレステロールレベルのスコアは、アミノ酸組成物処理で処理されたFATZ Oマウスにおいて変化されなかった。シリウスレッド陽性の、線維症領域は、アミノ酸組成物によるFATZ Oマウスの処理によって有意に低下された一方、オイルレッドO領域は、アミノ酸組成物処理によるFATZ Oマウスの処理によって変化されなかった(図3E)。

【0249】

アミノ酸組成物は、脂肪酸酸化を促進する

NAFLDは、肝臓脂質蓄積によって特徴付けられる。肝臓トリグリセリドは、脂肪酸酸化及びトリグリセリドリッチリポタンパク質の分泌による除去に対する、デノボ脂質生成による取得と血漿からの非エステル化脂肪酸の取り込みとの間の正確なバランスに起因する(全体が参照により本明細書に援用される、Kawano Y, Cohen DE, J Gastroenterol. 2013)。対照マウスと比較して、STAMマウスは、より多い肝臓不飽和脂肪酸を有しており、これは、アミノ酸組成物による処理によって減少された(図4A及び表53)。STAMマウスにおける肝臓アシルカルニチンは、アミノ酸組成物による処理によって増加され、これは、脂肪酸 β -酸化の促進を示唆している(図4B及び表53)。

【0250】

10

20

30

【表 2 7】

表 53. 対照と比較した、アミノ酸組成物(処理)による STAM マウスの処理の後の、肝臓アシルカルニチン及び不飽和脂肪酸についての P 値及び倍率変化。

脂質	KEGG ID	HMDB ID	対照 p 値	対照 倍率変化	処理 p 値	処理 倍率変化
AC(13:1)	ID なし	ID なし		-1.61	7.94E-02	1.32
FA(14:3)	ID なし	ID なし	5.17E-03	1.69	4.83E-01	-1.24
FA(20:3)	ID なし	ID なし	6.97E-06	18.29	1.35E-01	-2.17
FA(22:4)	ID なし	ID なし	7.12E-07	34.79	3.15E-01	-1.79
FA(22:5)-1	ID なし	ID なし	2.39E-02	3.31	1.19E-01	-1.80
FA(22:5)-2	ID なし	ID なし	2.11E-04	3.03	1.69E-02	-1.92
リノール酸	C01595	HMDB00673	9.90E-04	3.18	1.68E-02	-1.77
リノレン酸	C06427	HMDB01388	3.57E-05	35.88	4.08E-02	-1.99
オレイン酸	C00712	HMDB00207	1.95E-04	18.05	3.67E-02	-1.88
パルミトレイン酸	C08362	HMDB03229	9.84E-05	2.69	2.70E-02	-1.48

10

20

【0 2 5 1】

アミノ酸組成物による処理によって影響される肝臓中の差次的遺伝子発現パターンは、Ingenuity Pathway Analysisによって開発された上流レギュレータシステム生物学知識ベースフレームワーク (upstream regulator systems biology knowledgebase framework) の文脈において解釈された。計算された z スコアは、遺伝子発現パターンが、上流レギュレータとしてペルオキシソーム脂肪酸酸化をコードする、ACOX1 の活性化と一致することを示した (図 5 及び表 5 4)。

【0 2 5 2】

30

【表 2 8】

表 54. 対照と比較した、アミノ酸組成物(処理)による STAM マウスの処理の後の、ACOX1 経路に関連する遺伝子発現についての P 値及び倍率変化。

遺伝子	IPA_上流_ レギュレータ	ACOX1 _経路	IPA_ 遺伝子_名	対照 倍率変化	対照 p 値	処理 倍率変化	処理 p 値
Akr1c6	ACOX1	ACOX1	AKR1C4	-1.68	1.88E-06	1.207	8.606E-02
C9	ACOX1	ACOX1		-3.10	7.81E-07	1.370	1.678E-02
Ces3a	ACOX1	ACOX1		-2.10	2.69E-06	1.379	3.900E-02
Ces3b	ACOX1	ACOX1		-3.16	1.05E-07	1.476	8.274E-02
Cyp2c50	ACOX1	ACOX1	Cyp2c54	-1.72	1.24E-04	1.243	6.999E-02
Cyp4a12a	ACOX1	ACOX1		-1.59	4.60E-03	1.293	8.589E-02
Cyp7b1	ACOX1	ACOX1		-4.45	4.29E-04	1.408	7.877E-02
Egfr	NFKB;ACOX1	ACOX1		-1.98	1.31E-04	1.348	1.187E-02
Gstp1	ACOX1	ACOX1		-2.31	2.56E-06	1.281	2.924E-02
Mup1	ACOX1	ACOX1		-7.69	1.47E-03	1.781	7.683E-02
Mup11	ACOX1	ACOX1		-2.47	9.01E-03	1.703	5.779E-02
Mup14	ACOX1	ACOX1		-2.05	1.27E-02	1.395	4.890E-02
Mup16	ACOX1	ACOX1		-6.27	4.38E-03	1.465	7.558E-02
Mup6	ACOX1	ACOX1		-1.73	2.27E-02	1.330	5.784E-02
Selenbp2	TGFB;IL10; ACOX1	ACOX1	Selenbp1	-15.77	3.73E-05	3.015	2.916E-02
Serpina1c	TGFB;ACOX1	ACOX1		-2.25	7.22E-09	1.290	5.612E-02
Serpina1e	TGFB;ACOX1	ACOX1		-43.20	3.93E-08	2.361	1.852E-02
Slc4a4	ACOX1	ACOX1		1.55	7.00E-06	-1.209	4.682E-03
Trib3	IL2;NFKB;AC OX1	ACOX1		2.40	3.14E-04	-1.472	1.987E-02

【0 2 5 3】

アミノ酸組成物は、炎症経路を抑える。

炎症は、NASHの「セカンドヒット (second-hit)」である。アミノ酸組成物による処理の結果としての肝臓中の差次的遺伝子発現パターンにより、抗炎症性IL-10の上流のレギュレータ活性化(図6A)及び炎症性NF-κBの阻害(図6B及び表30)、インターフェロン、IL-1b、及びIL-2(図6C及び表55)に関連するIPA分析内のzスコアが得られた。タンパク質レベルにおいて、アミノ酸組成物による処理は、それぞれC-Cケモカイン受容体2型(CCR2)及び5型(CCR5)のリガンドである肝臓MCP-1及びMIP-1を有意に下方制御した(図7)。したがって、アミノ酸組成物による処理は、抗炎症状態へと免疫系を抑制し、それにより、NASHの進行を抑え得る。

【0 2 5 4】

【表 29】

表 55. 対照と比較した、アミノ酸組成物(処理)による STAM マウスの処理の後の、ACOX1 経路に関連する遺伝子発現についての P 値及び倍率変化。

遺伝子	IPA 上流 レギュレータ	IPA 遺伝子名	IL10_ 経路	IL1b_ 経路	IL2 経路	NFKB_ 経路	TGFB_ 経路	対照 倍率 変化	対照 p 値	処理 倍率 変化	処理 p 値
Abcb1a	NFKB; IL10		IL10			NFKB		3.02	1.55E-06	-1.239	1.047E-01
Abcb1b	NFKB; IL10		IL10			NFKB		-2.24	4.90E-03	1.272	9.745E-02
Acta1	TGFB						TGFB	7.96	5.87E-03	-1.849	1.044E-01
Adora1	TGFB						TGFB	1.94	1.99E-05	-1.222	3.262E-02
AK0074 36	NFKB	ADAMTS9				NFKB		2.32	6.38E-03	-1.788	6.451E-02
AK0436 76	IL1b	PFKP		IL1b				1.68	3.12E-03	-1.462	1.586E-02
AK1541 84	IL1b; TGFB	CYBA		IL1b			TGFB	1.99	1.02E-03	-1.222	9.247E-02
AK1580 38	IL2	NAV1			IL2			1.62	2.63E-02	-1.659	1.587E-02
Atf5	IL1b; IL2			IL1b	IL2			1.71	3.00E-04	-1.223	9.622E-02
Bcl2a1d	IL1b; IL2; NFKB			IL1b	IL2	NFKB		4.00	1.74E-04	-1.733	3.064E-02
Capn5	IL2				IL2			1.51	2.05E-05	-1.235	5.908E-03
Cer1	IL1b; IL2; TGFB			IL1b	IL2		TGFB	2.82	1.28E-03	-1.352	7.496E-02
Cd274	IL1b; IL2; NFKB			IL1b	IL2	NFKB		2.37	1.71E-07	-1.282	1.506E-02
Cd83	IL1b; IL2; NFKB; T GFB			IL1b	IL2	NFKB	TGFB	2.41	5.36E-07	-1.434	6.661E-03
Chst11	TGFB						TGFB	2.91	7.87E-06	-1.308	1.881E-02
Clec2i	TGFB						TGFB	1.80	1.01E-03	-1.226	5.963E-02

10

20

【0255】

30

【表 3 0】

Egfr	NFKB					NFKB		-1.98	1.31E-04	1.348	1.187E-02
Entpd1	IL2				IL2			1.87	1.84E-04	-1.218	8.413E-02
Fgf21	TGFB						TGFB	49.56	1.03E-03	-1.478	4.472E-02
Gabrd	TGFB						TGFB	5.82	1.48E-04	-1.511	5.978E-02
Gbp4	IL1b;IL10	Gbp6	IL10	IL1b				1.60	1.01E-03	-1.234	5.234E-02
Gbp5	IL10		IL10					1.81	7.82E-05	-1.217	6.120E-02
Gm8909	IL1b;NFKB;IL10	HLA-A	IL10	IL1b		NFKB		4.03	8.19E-04	-1.943	2.569E-02
Gpr85	TGFB						TGFB	2.46	1.77E-02	-1.685	6.628E-02
Gucy2c	TGFB						TGFB	2.35	8.97E-03	-1.395	1.080E-01
Hk2	IL1b;IL2			IL1b	IL2			2.00	2.01E-04	-1.301	9.834E-02
Hsd17b6	TGFB						TGFB	2.89	4.20E-05	-1.244	1.036E-02
Il1rn	IL1b;NFKB;TGFB; IL10		IL10	IL1b		NFKB	TGFB	4.43	5.94E-09	-1.273	1.951E-02
Lama3	IL1b			IL1b				-3.09	1.90E-05	1.650	5.542E-02
Lck	IL2				IL2			1.92	8.87E-04	-1.246	3.027E-02
Lifr	IL1b;IL2;TGFB			IL1b	IL2		TGFB	-4.43	2.43E-05	1.406	2.099E-02
Msr1	TGFB						TGFB	1.58	1.13E-03	-1.226	5.836E-02
Mst1r	TGFB						TGFB	2.08	4.17E-03	-1.523	1.147E-02
Nlrp3	TGFB						TGFB	1.93	1.30E-03	-1.506	2.456E-02
P2ry14	TGFB						TGFB	3.29	4.67E-05	-1.268	4.039E-02
Pcsk1	IL1b			IL1b				2.07	9.00E-03	-2.070	8.150E-02
Pla2g4a	IL1b;TGFB			IL1b			TGFB	2.10	7.94E-05	-1.265	1.064E-01
Plb1	IL1b			IL1b				2.01	2.09E-02	-1.696	2.324E-02
Rgs16	IL1b;IL2;NFKB			IL1b	IL2	NFKB		7.68	2.47E-05	-1.604	4.319E-02
Saa4	IL1b			IL1b				-1.72	4.76E-02	1.283	9.771E-02
Selenbp2	TGFB;IL10	Selenbp1	IL10				TGFB	-15.77	3.73E-05	3.015	2.916E-02
Sema3b	TGFB						TGFB	4.12	4.78E-05	-1.285	9.461E-02
Serpina1 c	TGFB						TGFB	-2.25	7.22E-09	1.290	5.612E-02
Serpina1 c	TGFB						TGFB	-43.20	3.93E-08	2.361	1.852E-02
Serpina3 k	IL1b;NFKB;TGFB			IL1b		NFKB	TGFB	-2.95	1.85E-08	1.500	1.125E-02
Serpib2	IL1b;NFKB			IL1b		NFKB		1.94	4.98E-02	-1.935	1.865E-02
Slc23a2	TGFB						TGFB	2.00	1.02E-05	-1.258	2.229E-02
Slc2a6	NFKB;IL10		IL10			NFKB		1.79	2.68E-02	-1.281	9.775E-02
Slc7a1	NFKB;TGFB					NFKB	TGFB	1.64	3.96E-03	-1.324	8.657E-02
Slc7a11	IL1b;IL10		IL10	IL1b				65.45	1.35E-03	-1.869	1.068E-01
Tk1	IL1b			IL1b				-2.40	4.99E-06	1.295	4.036E-02
Tlr11	IL10		IL10					1.66	6.11E-03	-1.368	6.005E-02
Tlr2	IL1b;IL2;NFKB;TGFB; IL10		IL10	IL1b	IL2	NFKB	TGFB	2.12	5.32E-05	-1.300	5.430E-02
Trib3	IL2;NFKB				IL2	NFKB		2.40	3.14E-04	-1.472	1.987E-02
Xcl1	IL2				IL2			2.52	1.22E-03	-1.796	6.279E-02

10

20

30

40

50

【0256】

アミノ酸組成物は、線維成長経路を防止する。

線維症は、代謝調節異常、炎症、及び細胞死などの、いくつかの生物学的過程の中心である。肝細胞内の脂質蓄積及び慢性炎症は、肝星細胞の線維形成性活性化を誘導する（全体が参照により本明細書に援用される、Wobser H, et al., Cell Res. 2009）。アミノ酸組成物による処理から得られる肝臓遺伝子発現パターンは、

線維形成性 TGF- β シグナル伝達経路の抑制と一致していた (図 6 D)。

【0257】

増加するエビデンスは、CCR2/CCR5 及び MCP-1/MIP-1 を含むそれらのリガンドが、肝臓組織損傷後の線維症の原因となるマクロファージ動員及び肝星細胞活性化を促進することを示唆する (全体が参照により本明細書に援用される、LeFebvre E, et al., PLoS One 2016)。アミノ酸組成物は、減少する肝臓 TGF- β シグナル伝達並びに MCP-1 及び MIP-1 タンパク質によって、NA SH の STAM モデルにおける強力な抗線維化活性を示した (図 7)。

【0258】

結論

アミノ酸組成物は、NA S の改善並びに肝細胞風船様腫大及び線維症の改善を含む、NA SH の STAM 及び FATZO マウスモデルの両方における一貫した疾患修飾活性を示した。アミノ酸組成物の活性は、少なくとも部分的に、脂肪酸酸化の増加、主要なサイトカインのレベルの低下並びに肝臓炎症及び線維症に関連する転写経路によって駆動されるようである。

【0259】

実施例 4：脂肪症及び炎症の肝細胞モデル

肝細胞脂肪毒性は、酸化的ストレス及び小胞体 (ER) ストレスによる肝細胞障害の中心的な駆動因子であるようである。肝細胞における脂肪症 (脂質蓄積) 及び炎症に影響を与えるアミノ酸の能力を、ヒト初代肝細胞 (Lonza, TRL) を用いて評価した。

【0260】

細胞播種及び維持

2 人の健常なヒトドナーからの初代肝細胞ロット番号を、10% の熱で不活性化した FBS (Atlanta Bio)、2 mM の Glutamax (Gibco) 及び 0.2% の Primocin (InvivoGen) を補充した肝細胞平板培養培地 (ウイリアム E 培地 (Gibco) 中で、96 ウェル光学的マイクロプレート (ThermoFisher) 中で、6e04 細胞の密度で、0 日目に播種し、37°C、5% の CO₂ で 6 時間インキュベートした。6 時間後、細胞を 2 回洗浄し、2 mM の Glutamax (Gibco) 及び 1×ペニシリン/ストレプトマイシンを補充した肝細胞用規定培地 (Corning) を用いて、37°C、5% の CO₂ で一晩インキュベートした。1 日目に、細胞を 2 回洗浄し、上述されるのと同じ条件で、肝細胞培地中で、24 時間インキュベートした。

【0261】

アミノ酸前処理

2 日目に、細胞を、DPBS 1× (Gibco) で 2 回洗浄し、血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を含むアミノ酸不含 WEM (US Biologicals) 中で維持した。値は、Human Metabolome Database において公開されている (全体が参照により本明細書に援用される; Wishart DS, Tzur D, Knox C, et al., HMDB: the Human Metabolome Database. Nucleic Acids Res. 2007 Jan; 35 (Database issue): D521-6. 17202168)。この特別な培地には、11 mM のグルコース、0.272 mM のピルビン酸ナトリウム、及び様々な範囲の濃度における所定のアミノ酸組成物 (すなわち、ビヒクル、LIVRQ+N-アセチルシステイン、LIVRQ、RQ+N-アセチルシステイン、N-アセチルシステイン単独、LIV、又は個別に、L-ロイシン、L-イソロイシン、L-バリン、L-アルギニン、L-グルタミン、及び L-システイン) の用量曲線が補充されている。細胞を、37°C、5% の CO₂ で 24 時間にわたってこの規定培地中で維持した。

【0262】

遊離脂肪酸及び様々なアミノ酸の組合せによる併用治療

10

20

30

40

50

前処理の後、細胞を、 1 ng/ml の $\text{TNF-}\alpha$ (ThermoFisher) 又はビヒクルを補充した2:1 (オレエート:パルミテート) の比率を有する $250\text{ }\mu\text{M}$ の遊離脂肪酸 (FFA) に曝した。細胞を、 37°C 、5%の CO_2 で24時間にわたって、FFA混合物及び様々なアミノ酸の組合せとともにインキュベートした。24時間のインキュベーションの後、培地を、サイトカイン分析のために除去し、同じ刺激条件及びアミノ酸濃度を含む新鮮な培地に交換した。細胞を、さらに48時間、合計で72時間のFFA及び $\text{TNF-}\alpha$ 刺激のためにインキュベートした。

【0263】

ELISAによる24時間後のサイトカイン分析

ヒトCCL2 (MCP-1) を、 $1\times\text{Reagent Diluent (Reagent Ancillary Kit 2, R\&D Systems)}$ 中 $1/5$ 又は $1/10$ の希釈で、ELISA (ヒトCCK2/MCP-1 DuoSet ELISA, R&D Systems) によって測定した。データを、後述される蛍光顕微鏡法においてHoechst 3342 (Life technologies) によって染色される核数によって決定される特定のウェル当たりの細胞密度に対して正規化した。

10

【0264】

蛍光顕微鏡法による72時間後の細胞内脂質蓄積の分析

72時間後、細胞を、 $100\text{ }\mu\text{l}$ のPBS $1\times$ (Gibco) 中で2回洗浄し、4%のバラホルムアルデヒドで固定し、PBS $1\times$ ($100\text{ }\mu\text{l}$) で2回洗浄した。固定の後、脂質を、1000倍に希釈されたHCS LipidTOX Red Neutral (ThermoFisher Scientific) で染色し、核を、 $4\text{ }\mu\text{g/ml}$ に希釈されたHoechst 3342 (Life Technologies) で染色した。LipidTOX (商標) 中性脂質染色は、ハイコンテンツイメージャー (high content imager) (Molecular Devices) を用いて蛍光顕微鏡法によって検出された中性脂質滴に対する非常に高い親和性を有する。

20

【0265】

結果

脂質蓄積及び脂肪症表現型

健常なドナーからの初代ヒト肝細胞が、低いレベルの脂質蓄積を有することが分かった (図8A~8D)。遊離脂肪酸 (FF) + $\text{TNF-}\alpha$ による細胞の処理は、大滴性脂肪変性表現型を有する脂質蓄積を誘導した (図8I~8L)。LIVRQNACによる処理は、肝細胞表現型を、大滴性脂肪変性から小滴性脂肪変性へと変化させた (図8E~8H)。

30

【0266】

MCP1/CCL2分泌

表56~59は、2人の健常なドナー (表56及び57のドナー1、並びに表58及び59のドナー2) からの初代ヒト肝細胞におけるMCP1/CCL2のベースライン減算した分泌を示す。LIVRQNAC、LIVRQNAC+G、LIVRQNAC+S、LIVRQ及びRQNACは、両方のドナーにおいてMCP1/CCL2分泌を有意に減少させた。しかしながら、組合せLIVは、ドナーの一方のみにおいてMCP1/CCL2分泌を有意に増加させた。LIVの組合せへのアルギニン (R) 及びグルタミン (Q) の添加が、LIV単独と比較して、両方のドナーにおいてMCP1/CCL2の分泌を減少させた。個別に、N-アセチルシステイン及びグルタミンが、MCP1/CCL2分泌を有意に減少させることが示される一方、アルギニンは、MCP1分泌を増加させた。イソロイシン、ロイシン及びバリンは、MCP1/CCL2分泌に対する影響を与えなかった。

40

【0267】

【表 3 1】

表 56. アミノ酸組成物の投与時のドナー1 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	対照と比べた MCP1 発現 - ドナー1				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-24.1616	0.032252	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-22.2916	2.119583	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-18.4363	0.850597	3	0.0005	***
LIVRQNAC	10	-14.3383	1.854977	3	0.0074	**
LIVRQNAC	1	0	1.048045	3		
LIVRQNAC+G	40	-22.0824	0.873105	3	0.0001	****
LIVRQNAC+G	30	-19.2605	1.611788	3	0.0003	***
LIVRQNAC+G	20	-17.5807	2.893835	3	0.0009	***
LIVRQNAC+G	10	-13.7521	3.068991	3	0.0106	*
LIVRQNAC+G	1	0	1.682719	3		
LIVRQNAC+S	40	-32.4703	0.340537	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-30.768	1.339048	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-25.5964	1.854519	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	10	-17.8326	1.974033	3	0.0008	***
LIVRQNAC+S	1	2.37E-15	18.41384	3		
LIV	40	15.52052	6.323205	3	0.0094	**
LIV	30	12.3111	10.02706	3	0.0475	*
LIV	20	12.6686	4.109608	3	0.0401	*
LIV	10	-5.18869	1.579468	3	0.6477	ns
LIV	1	-1.2E-15	8.178943	3		
LIVRQ	40	-25.9576	0.484283	3	0.0028	**
LIVRQ	30	-23.6562	2.599721	3	0.0099	**
LIVRQ	20	-13.4723	3.427666	3	0.6401	ns
LIVRQ	10	-9.22141	7.599407	3	0.9986	ns
LIVRQ	1	-8.23198	5.80889	3		
RQNAC	40	-21.4681	2.903892	3	0.0003	***
RQNAC	30	-17.1873	5.202568	3	0.0038	**
RQNAC	20	-12.1782	2.907484	3	0.0506	ns
RQNAC	10	-8.89378	4.748653	3	0.206	ns
RQNAC	1	1.18E-15	10.02527	3		
N-アセチルシステイン	40	-17.6065	1.211739	3	0.0009	***
N-アセチルシステイン	20	-10.8919	2.27818	3	0.0545	ns
N-アセチルシステイン	10	-2.49755	8.795693	3	0.9424	ns
N-アセチルシステイン	5	-0.76286	7.457085	3	0.9991	ns
N-アセチルシステイン	0	0	6.716428	3		

【表 3 2】

表 57. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー1 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μ M)	対照と比べた MCP1 発現- ドナー1				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	14.16805	19.23365	3	0.6777	ns
バリン	11710	77.73396	137.82	3	0.9998	ns
バリン	4684	23.6867	46.48697	3	0.2502	ns
バリン	234	-2.4E-15	13.86902	3		
アルギニン	5440	10.9386	4.79774	3	0.0057	**
アルギニン	2720	6.526801	4.266971	3	0.1517	ns
アルギニン	1088	5.114414	4.685563	3	0.3321	ns
アルギニン	109	2.37E-15	0.666016	3		
グルタミン	22484	-21.8392	1.113443	3	0.0004	***
グルタミン	11242	-9.00139	1.68951	3	0.2459	ns
グルタミン	3747	-0.89805	6.374471	3	0.9991	ns
グルタミン	749	0	9.549143	3		
イソロイシン	6639	-0.205	2.292188	3	0.9998	ns
イソロイシン	3320	-2.41722	2.382379	3	0.4907	ns
イソロイシン	1328	-0.30729	2.409691	3	0.9992	ns
イソロイシン	66	-1.2E-15	3.163838	3		
ロイシン	15270	-1.36762	3.37035	3	0.8675	ns
ロイシン	7635	1.895506	3.757642	3	0.6872	ns
ロイシン	3054	3.340489	3.016641	3	0.2201	ns
ロイシン	153	5.92E-16	3.132507	3		
N-アセチルシステイン	10000	-17.6065	1.211739	3	0.0009	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.8919	2.27818	3	0.0545	ns
N-アセチルシステイン	2500	-2.49755	8.795693	3	0.9424	ns
N-アセチルシステイン	1000	-0.76286	7.457085	3	0.9991	ns
N-アセチルシステイン	0	0	6.716428	3		

【表 3 3】

表 58. アミノ酸組成物の投与時のドナー2 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	対照と比べた MCP1 発現 - ドナー2				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	40	-24.5376	1.632923	3	0.0001	****
LIVRQNAC	30	-13.6824	2.562571	3	0.0001	****
LIVRQNAC	20	-8.42053	1.545343	3	0.0001	****
LIVRQNAC	10	2.126223	0.453924	3	0.0007	***
LIVRQNAC	1	-4.7E-15	0.412226	3		
LIVRQNAC+G	40	-35.3651	2.08381	3	0.0007	***
LIVRQNAC+G	30	-30.3247	5.225183	3	0.001	***
LIVRQNAC+G	20	-17.0719	4.522244	3	0.0119	*
LIVRQNAC+G	10	-14.2586	2.767898	3	0.049	*
LIVRQNAC+G	1	-7.1E-15	7.613666	3		
LIVRQNAC+S	40	-35.8381	1.404782	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	30	-30.9946	2.372062	3	0.0001	****
LIVRQNAC+S	20	-16.8831	3.223007	3	0.0004	***
LIVRQNAC+S	10	-5.60595	10.2119	3	0.1887	
LIVRQNAC+S	1	2.37E-15	4.4168	3		
LIV	40	-46.7898	8.664441	3	0.3692	ns
LIV	30	-34.5953	16.84743	3	0.6246	ns
LIV	20	-28.0851	31.84348	3	0.7684	ns
LIV	10	-11.0006	72.74556	3	0.9889	ns
LIV	1	9.47E-15	60.93638	3		
LIVRQ	40	-129.802	7.067989	3	0.0008	***
LIVRQ	30	-110.034	4.53852	3	0.0042	**
LIVRQ	20	-33.3611	31.87706	3	0.6524	
LIVRQ	10	-3.30904	71.03267	3	0.9999	
LIVRQ	1	-4.7E-15	46.12987	3		
RQNAC	40	-133.48	1.908424	3	0.0006	***
RQNAC	30	-123.712	1.043889	3	0.0013	**
RQNAC	20	-109.575	5.533323	3	0.0044	**
RQNAC	10	-55.8583	22.72309	3	0.2273	
RQNAC	1	1.42E-14	43.79031	3		
N-アセチルシステイン	10000	-28.4419	1.694	3	0.0001	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.5725	4.362178	3	0.0012	**
N-アセチルシステイン	2500	-4.0591	5.600773	3	0.0572	ns
N-アセチルシステイン	1000	1.602474	3.423109	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	0	2.068861	3		

【0 2 7 0】

【表 3 4】

表 59. 単一のアミノ酸組成物の投与時のドナー2 についての MCP1 発現の変化

アミノ酸補充剤	濃度 (μ M)	対照と比べた MCP1 発現- ドナー2				
		平均	標準偏差	数値	P 値*	有意性
バリン	23420	-30.7921	22.55378	3	0.6118	ns
バリン	11710	38.24762	28.44112	3	0.4268	ns
バリン	4684	10.79011	51.87642	3	0.9835	ns
バリン	234	-1.4E-14	30.91388	3		
アルギニン	5440	8.493664	22.98385	3	0.9913	ns
アルギニン	2720	24.06261	63.49489	3	0.7429	ns
アルギニン	1088	24.95224	52.94171	3	0.7192	ns
アルギニン	109	-4.7E-15	11.27976	3		
グルタミン	22484	-138.873	10.74317	3	0.0001	****
グルタミン	11242	-90.6558	15.43989	3	0.0037	**
グルタミン	3747	-45.0574	41.63249	3	0.2474	ns
グルタミン	749	2.84E-14	59.86955	3	0.7631	
イソロイシン	6639	18.62132	26.01824	3	0.5663	ns
イソロイシン	3320	-5.64461	7.719105	3	0.9882	ns
イソロイシン	1328	26.62309	5.65413	3	0.2613	ns
イソロイシン	66	0	4.245462	3		
ロイシン	15270	-26.6436	10.08177	3	0.2607	ns
ロイシン	7635	-2.98815	21.00205	3	0.9989	ns
ロイシン	3054	16.11014	8.662188	3	0.68	ns
ロイシン	153	-4.7E-15	7.63396	3		
N-アセチルシステイン	10000	-28.4419	1.694	3	0.0001	***
N-アセチルシステイン	5000	-10.5725	4.362178	3	0.0012	**
N-アセチルシステイン	2500	-4.0591	5.600773	3	0.0572	ns
N-アセチルシステイン	1000	1.602474	3.423109	3	0.0001	****
N-アセチルシステイン	0	0	2.068861	3		

【0 2 7 1】

実施例 5. アミノ酸組成物による、マウスモデルの N A S H の処理

マウスでの N A S H の誘導

一例において、F A T Z O マウスモデルにおける肥満、代謝に起因する非アルコール性脂肪性肝炎 (N A S H) における L I V R Q N A C 及び関連するアミノ酸組成物の影響を調べた。

【0 2 7 2】

マウスでの N A S H の誘導

1 6 週間の誘導中に、飲料水 (W D F) 中 5 % のフルクトースを補充した西洋型食 (Research Diet # D12079B; 脂肪 40 % k c a l、タンパク質 17 % k c a l、炭水化物 43 % k c a l) によって、N A S H を、60 匹の雄 F A T Z O マウスにおいて誘導した。食事及び水は、自由に摂取可能であった。同腹子対照雄 F A T Z O マウスには、対照食 (n = 6、Purina # 5008; 脂肪 17 % k c a l、タンパク質 27 % k c a l、炭水化物 56 % k c a l) を与え、滅菌水を、対照目的で提供した。マウスを、マイクロアイソレータを備えたプラスチックのケージ中で飼育した。滅菌した寝床を、週に 1 回交換した。マウスを、1 つのケージにつき 3 匹飼育し、試験期間を通して 12 時間の明サイクルで維持した。室温を毎日監視し、22 ~ 25 °C に維持した。体重を、誘導期中に毎週記録した。

【0273】

試験計画

16週間の食事誘導の後、6匹のマウスは、対照食（群1、対照）のままであった一方、60匹の誘導マウスは、以下の処理への割り当てのために体重及び血漿グルコース（fed）について無作為化された。FATZOマウスに、4週間にわたる西洋型食NASH誘導後16週間の時点から開始して、被験物質を投与した。被験物質を、強制経口投与によって投与した。動物を、西洋型食NASH誘導後20週間の時点で安楽死させ、組織を分析のために採取した。

【0274】

【表35】

10

群	(n)	処理 (経口)	食事
1	6	ビヒクル	5008 WDF
2	10	ビヒクル	D12079B + 5%のフルクトース
3	10	LIVRQNAC (1500 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
4	10	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
5	10	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
6	10	LRQNAC (2469 mg/kg)	D12079B + 5%のフルクトース
7	10	オベチコール酸 (OCA) 30 mg/kg/日	D12079B + 5%のフルクトース

20

【0275】

被験物質

LIVRQNAC、LIVRQNAC+G、LRQNAC、及びOCA（Advanced ChemBlocks, Inc.）、賦形剤（incipient）、及び灌注用水を、Axcella Health, Inc.によって提供した。0.5%のメチルセルロースは、CrownBio, Inc.によって提供された。投与溶液を、付属書（Appendix）1にしたがって調製した。TA化合物（アミノ酸組成物）は、灌注用水（Baxter # 27F7114）並びに賦形剤0.125%のキサンタンガム、1.5mMのラウリル硫酸ナトリウム及び0.28%のレシチン中で毎日新たに製剤化されるアミノ酸ブレンドであった。オベチコール酸（OCA）を、灌注用水中0.5%のメチルセルロース中で懸濁させた。全ての被験物質を、冷蔵保存した。TA化合物は、スポンサーによって凍結粉末で提供された。投与を4週間にわたって続けた。

30

【0276】

LIVRQNAC+G及びLRQNACのロイシン投与量を、LIVRQNACのものに適合させた。

40

【0277】

【表 3 6】

成分	グレード	供給業者	供給業者 品番	ロット番号
風味付けされていない Fusi-BCAA (2:1:1 L-Leu:L-Ile:L-Val)	インスタント化(0.3～ 0.9%のレシチン)	味の素(AjiPure)	33555	OH704
L-アルギニン HCl	USP	Sigma (味の素)	A4599	CDB0352V
L-アルギニン HCl	USP	Sigma (味の素)	A4599	CDB0352V
L-グルタミン	USP	味の素	32824	R014A003
グリシン	USP	味の素	30359	R015T008
アセチルシステイン(NAC)	USP	Spectrum Chemical	AC126	1FI0576

10

【 0 2 7 8】

【表 3 7】

20

	LIVRQNAC	LIVRQNAC+G	LRQNAC
成分	1 日 用量 (g)	1 日 用量 (g)	1 日 用量 (g)
風味付けされていない Fusi-BCAA (2:1:1 L-Leu:L-Ile:L-Val)	24.0	24.0	
Fusil (L-ロイシン)			12.0
L-アルギニン HCl	18.0	18.0	18.0
L-グルタミン	24.0	24.0	24.0
グリシン		20.0	
アセチルシステイン (NAC)	1.8	1.8	1.8
アミノ酸 =	67.8	87.8	55.8

30

【 0 2 7 9】

40

LIVRQNAC、LIVRQNAC+G、LRQNAC、OCA及びビヒクルを、試験全体を通して10mL/kgの体積で、強制経口投与によって投与した。投与量を、一日体重によって計算した。LIVRQNAC、LIVRQNAC+G、LRQNAC、及びビヒクルを、1日2回（BID）投与した一方、OCAを、午前中に1日1回（QD）投与した。マウスは、1日1回（QD）OCA、及び1日1回（QD）1つのビヒクルを投与されている。用量を、4週間にわたって、強制経口投与によって0700及び1800に投与した。

【 0 2 8 0】

体重及び血糖

生存率、臨床兆候及び行動を毎日監視した。体重を、投与期間の間、毎日記録した。血

50

液試料を、グルコース測定 (Stat Strip 血糖値測定器) のために、尾切断によって毎週 AM (0700) に採取した。

【0281】

部検及び試料採取

動物に、CO₂ 吸入により麻酔をかけ、安楽死のために心穿刺によって放血させた。末梢血試料 (KETTA) を、終了時に、麻酔された動物において心穿刺によって取得した。試料は、Axcella Health に、凍結された状態で提供された。臓器重量 (肝臓全体、生殖腺脂肪パッド (gonadal fat pad)) を記録した。脾臓、及び小腸及び生殖腺脂肪パッドを、10% の緩衝ホルマリン中で固定し、プロトコルにおいて指示どおりに調製した。また、小腸、生殖腺脂肪パッド及び肝臓の切片を、液体窒素中で急速凍結させ、スポンサーに輸送した。

10

【0282】

組織学的分析

肝臓組織を、24 時間にわたって 4℃ で、ブアン液、続いて標準的な濃度のアルコールの浴、次にキシレン中で固定して、パラフィン包埋のための組織を調製した。パラフィンに包埋され、冷却された後、5 ミクロンの切片を切断し、慣例的な H&E 及びピクリン酸シリウスレッドで染色した。肝臓の右葉及び左葉の両方の切片を、オイルレッド (染色を用いた脂質含量の分析のために OCT 中で凍結させた。Aperio ホールスライドデジタルイメージングシステム (Scan Scope CS, Vista, CA) を、イメージングに使用した。全てのスライドを 20 倍でイメージングした。走査時間は、1.5 分から 2.25 分の最大時間までの範囲であった。全画像を収納し、それらの Spectrum ソフトウェアシステムに保存し、画像をホールスライドから撮影した。

20

【0283】

肝臓を、採点のための NASH 肝臓基準を用いて評価した。このマウス試験では、各事例の肝臓の 1 つの断面を、NASH スコアシステムを用いて分析した。公開された NASH CRN Scoring System によれば、この採点システムは、NAFLD 活動性スコア (NAS)、線維症段階及びパターン認識による NASH の同定を含む。NAS は、0~8 の範囲であり得、H&E 染色された切片からの脂肪症 (0~3)、小葉炎症 (0~3) 及び肝細胞風船様腫大 (0~2) のスコアの合計によって計算される。線維症を、ピクロシリウスレッド染色されたスライドから採点した (0~4)。NASH システムを、ヒト肝臓 18 ゲージ生検に使用した。脂肪症、小葉炎症、肝細胞、肝細胞風船様変性、線維症、NAS 及びパターン認識による NASH の存在を、組織的に評価した。この試験では、この試験において 1 匹のマウスにつき肝臓の 1 つの全断面積を評価した。これは、18 ゲージヒト肝生検のサイズの約 15 倍である。病理学的スコアを、0、+1、+2、又は +3 として決定した。病変を、場所 (門脈周囲、小葉中心、及び中間帯) 及び脂肪蓄積 (限局性、門脈周囲、及び/又は小葉中心) について採点した。スコアの他の部分は、病変の分布: 限局性、多発性及び/又は広範性であった。また、病変の軽度、中等度及び重症度。これらのパラメータが、全 NASH スコアを構成していた。

30

【0284】

全ての免疫組織化学的染色工程を、自動免疫染色装置 (automated immunostainer) において Dako FLEX SYSTEM を用いて行い; インキュベーションを、室温で行い、トリス緩衝生理食塩水及び 0.05% の Tween 20、pH 7.4 (TBS-Dako Corp.) を、全ての洗浄剤及び希釈剤に使用した。十分な洗浄を、各インキュベーション後に行った。一次抗体は、抗マウス SMA、F4/80、Mac-2、及びピクリン酸シリウスレッドを含んでいた。対照切片を、一次抗体と同じ濃度を用いてアイソタイプコントロールで処理して、染色特異性を確認した。

40

【0285】

白色脂肪組織 (WAT) 脂肪細胞サイズを、H&E で染色された切片から分析した。Aperio Image Scope アプリケーションを用いて、各組織標本の 3 つの局所的な領域 (組織の縁部、血管領域を囲んでいない組織、血管領域を囲んでいる組織) を

50

、この領域の大きい順に10の脂肪細胞の面積を測定することによって評価した。各組織内で、各領域の10のホットスポットを定量化し (μm^2)、平均した。

【0286】

膵臓 β 島細胞を、免疫組織化学的染色によって同定した。

【0287】

画像分析

Aperio Automatic Image Quantitationが、免疫組織化学的染色、オイルレッドO、及びシリウスレッド染色のポジティブピクセルを定量化するのに用いられた。Positive Pixel Countアルゴリズムを用いて、走査されたスライド画像中に存在する特定の染色のパーセンテージを定量化した。色の範囲（色相及び彩度の範囲）及び3つの輝度範囲（弱、ポジティブ、及び強）をマスクし、評価した。アルゴリズムは、3つのさらなる量：平均輝度、強／総数の比率、及び弱いポジティブピクセルの平均輝度とともに、各輝度範囲における数及び輝度の総和を計数した。ポジティブピクセルアルゴリズムは、オレンジ色と青色を区別するように調節された。通常の「色相値」（0.1～0.96）及び「彩度」（0.04～0.29）からの変更が、シリウスレッド評価のためになされた。血管系及び人工物は、分析から除外された。

10

【0288】

肝臓遺伝子発現分析

MCP-1及びMIP-1aの肝臓遺伝子発現を、定量PCRによって測定した。

20

【0289】

肝臓サイトカイン及びケモカイン測定

肝臓IL-1b、MCP-1、及びMIP-1タンパク質レベルを、多重ELISAアッセイ (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland) を用いて定量化した。

【0290】

統計的分析

肝臓組織学的スコアの統計的分析を、GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., USA) においてボンフェローニの多重比較検定を用いて行った。P値<0.05は、統計的に有意であると見なされた。結果を、平均±SEMとして表した。群2（ビヒクル）と、以下の群；群3（LIVRQNA C 1, 500mg/kg）、群4（LIVRQNA C 3, 000mg/kg）、群5（LIVRQNA C+G, 3, 885mg/kg）、及び（LRQNA C, 2, 469mg/kg）との間で、比較を行った。

30

【0291】

体重及び肝臓重量

16週間にわたって、フルクトース (WDF) を補充した西洋型食を供給することにより、対照を供給された動物と比較して、体重に対する有意な効果を誘発した。試験薬剤の投与の前に、WDFを供給された動物は、対照食を供給された動物と比較して、有意に重かった (47.6 ± 0.45 対 43.9 ± 1.03 g; $p < 0.01$)。

40

【0292】

体重は、全ての処理群においてベースライン値と比較して減少し；ビヒクルと比較して体重減少の有意差はなかった（対照、ビヒクル、LIVRQNA C (1500mg/kg)、LIVRQNA C (3000mg/kg)、LIVRQNA C+G、LRQNA C、及びOCAについてそれぞれ、 -7.6 ± 0.9 、 -6.9 ± 1.3 、 -6.8 ± 1.4 、 -5.7 ± 1.2 、 -6.4 ± 1.0 、 -4.7 ± 1.6 及び -3.9 ± 1.5 %; $p < 0.4992$)。

【0293】

肝臓重量 (% 体重) は、対照食と比較してWDFを供給されたビヒクル処理動物において有意に多かったが (7.22 ± 0.3 対 5.05 ± 0.24 %; $p < 0.0001$) ;

50

W D Fを供給された動物において、ビヒクルと比較して有意な効果は、いずれの処理群においても示されなかった（ビヒクル、L I V R Q N A C（1 5 0 0 m g / k g）、L I V R Q N A C（3 0 0 0 m g / k g）、L I V R Q N A C + G、L R Q N A C、及びO C Aについてそれぞれ、 7.22 ± 0.3 、 7.14 ± 0.3 、 7.19 ± 0.26 、 6.69 ± 0.18 、 7.02 ± 0.5 及び 6.81 ± 0.2 ； $p < 0.7450$ ）。

【0294】

血糖

16週間にわたってフルクトース（W D F）を補充した西洋型食を供給することにより、対照を供給された動物と比較して血糖に対する有意な効果を誘発した。試験薬剤の投与の前に、W D Fを供給された動物は、対照食を供給された動物と比較して、グルコースを有意に低下させた（ 160.0 ± 3.01 対 218.3 ± 28.6 m g / d L； $p < 0.0001$ ）。

【0295】

血糖は、ベースラインで対照動物においてより高かったが、化合物投与の4週間で、比較的安定したままであった。投与期間にわたって平均した場合、いずれの処理群についてもビヒクルと比較して平均血糖の有意差はなかった（対照、ビヒクル、L I V R Q N A C（1 5 0 0 m g / k g）、L I V R Q N A C（3 0 0 0 m g / k g）、L I V R Q N A C + G、L R Q N A C、及びO C Aについてそれぞれ、 166.0 ± 9.7 、 157.1 ± 4.6 、 154.6 ± 2.3 、 159.4 ± 3.8 、 155.5 ± 3.8 、 153.6 ± 3.0 及び 169.7 ± 6.3 m g / d L； $p < 0.1587$ ）。

【0296】

肝臓トリグリセリド及びコレステロール

肝臓トリグリセリド及びコレステロール含量は、対照食を供給されたビヒクル処理動物と比較して、W D F供給後に同様に上昇された（肝臓トリグリセリド $p < 0.0040$ ；肝臓コレステロール： $p < 0.0001$ ）。W D Fを供給された動物の中でも、いずれの処理群についてもビヒクルと比較した際に、肝臓トリグリセリドの有意差はなかった（ $p < 0.1206$ ）。O C Aが、ビヒクルと比較して32%だけ肝臓コレステロール含量を減少させた一方（ $p < 0.05$ ）、いずれのアミノ酸組成物処理群も、W D F供給ビヒクル群と比較して肝臓コレステロールに影響を与えなかった。

【0297】

【表38】

肝臓	ビヒクル	L I V R Q N A C	L I V R Q N A C	L I V R Q N A C + G	L R Q N A C	O C A
		1.5 g/kg	3.0 g/kg			
トリグリセリド	31.49±5.85	47.63±1.19	47.94±1.37	50.57±1.58	49.47±1.4	49.81±1.63
コレステロール	8.37±0.065	7.74±0.318	7.48±0.697	6.42±0.648	7.84±0.104	5.63±0.495

【0298】

肝組織像

対照食を供給されたF A T Z Oマウスは、軽度の脂肪症を発症し、炎症、肝細胞風船様腫大、又は線維症を発症しなかった（図9）。W D Fを供給され、且つビヒクルで処理されたF A T Z Oマウスは、重篤な脂肪症、軽度の炎症、肝細胞風船様腫大、及び線維症を発症した。ビヒクル群における主に大滴性（m a c r o v e s i c u l a r）脂肪症と対照的に、主に小滴性（m i c r o v e s i c u l a r）及び低下した大滴性脂肪症の混合が、図10に示されるように、L I V R Q N A C、L I V R Q N A C + G及びL R Q N A C群において観察された。

【0299】

N A F L D活動性スコアは、固定した肝組織における脂肪症（0～3）、炎症（0～3

）、及び肝細胞風船様腫大（0～2）の組織学的採点から計算される。WDFを供給された動物において、全てのアミノ酸組成物処理は、ビヒクル処理群と比較して、NASの有意な軽減をもたらした（図11）。LIVRQNAC及びアミノ酸組成物処理は、ビヒクルと比較して、肝臓脂肪症を軽減したが、LIVRQNAC+G及びLRQNACのみが統計的有意性（ $p < 0.05$ ）に達した一方、LIVRQNACは達しなかった（LIVRQNAC 3.0 g/kg、 $p = 0.12$ ）。全てのアミノ酸組成物処理は、脂肪毒性及び細胞死のバイオマーカーである、肝細胞風船様腫大を有意に緩和した。アミノ酸組成物処理は、肝臓炎症を有意に変化させなかった。結論として、肝臓病変のアミノ酸組成物に関連する改善は、主に、肝細胞風船様腫大の緩和に起因している。

【0300】

ビヒクルと比較して、NASスコア及びNAS構成要素に対するOCAの有意な効果はなかった。

【0301】

【表39】

肝臓病変	ビヒクル	LIVRQNAC	LIVRQNAC	LIVRQNAC+G	LRQNAC	OCA
		1.5 g/kg	3.0 g/kg			
NAS	3.65±0.183	2.70±0.213	2.89±0.111	2.83±0.186	2.72±0.147	3.72±0.147
脂肪症	1.8±0.133	1.6±0.163	1.44±0.176	1.33±0.167	1.33±0.167	1.78±0.147
炎症	0.9±0.1	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
肝細胞風船様腫大	0.95±0.05	0.1±0.1	0.44±0.176	0.50±0.144	0.39±0.111	0.94±0.056

【0302】

ビヒクル処理動物からの肝臓は、軽度の線維症； 0.8 ± 0.1 のスコアを示した。LIVRQNAC（1500 mg/kg）で処理された動物からの肝臓のみが、ビヒクル処理群と比較した際に、線維症の有意な軽減（ 0.2 ± 0.1 対 0.8 ± 0.1 、 $p < 0.01$ ）を示したが、LIVRQNAC（3000 mg/kg）、LIVRQNAC+G又はLRQNACでの処理に関しては示さなかった。シリウスレッドコラーゲン染色は、全てのアミノ酸組成物処理が、ビヒクルと比較して、コラーゲン沈着を有意に低下させたことを示した（LIVRQNAC 1500 mg/kg、 $p < 0.01$ ；LIVRQNAC 3000 mg/kg、 $p < 0.01$ ；LIVRQNAC+G、 $p = 0.09$ ；LRQNAC、 $p < 0.05$ ）。OCAは、肝線維症スコア又はシリウスレッドコラーゲン染色面積に影響を与えなかった。

【0303】

【表40】

線維症	ビヒクル	LIVRQNAC	LIVRQNAC	LIVRQNAC+G	LRQNAC	OCA
		1.5 g/kg	3.0 g/kg			
線維症	0.8±0.133	0.2±0.133	0.44±0.176	0.44±0.176	0.33±0.167	0.67±0.167
シリウスレッド	1.82±0.279	0.77±0.116	0.72±0.092	0.107±0.218	0.79±0.183	1.59±0.36

【0304】

肝臓トリグリセリドレベルと一致して、アミノ酸組成物処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓オイルレッドO染色面積を変化させなかった。OCAは、オイルレッドO染色面積を減少させた（ $p < 0.05$ ）。

【0305】

【表41】

オイルレッドO	ビヒクル	LIVRQNAC 1.5 g/kg	LIVRQNAC 3.0 g/kg	LIVRQNAC+G	LRQNAC	OCA
オイルレッドO	0.32±0.019	0.28±0.022	0.30±0.022	0.26±0.023	0.29±0.018	0.24±0.021
トリグリセリド	31.49±5.85	47.63±1.19	47.94±1.37	50.57±1.58	49.47±1.4	49.81±1.63

10

【0306】

肝臓遺伝子発現

MCP-1 (CCL2) 及びMIP-1a (CCL3) は、マクロファージ及び好中球動員によって肝臓炎症を媒介する炎症性ケモカインである。MCP-1 及びMIP-1a は、NASHにおける肝線維症を治療するための有望な治療標的である、それぞれCCR2 及びCCR5 のリガンドである。肝臓におけるMCP-1 及びMIP-1a RNA 発現レベルは、表74 及び75 に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、WDF を供給されたマウスにおいて有意に上方制御された。

【0307】

【表42】

20

表 74. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 mRNA レベルの倍率変化

MCP-1	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	0.1457	1.079	1.396	0.6102	0.8777
SEM	0.0291	0.1956	0.3414	0.09597	0.2315

【0308】

【表43】

30

表 75. アミノ酸組成物の投与後の MIP-1a mRNA レベルの倍率変化

MIP-1a	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	0.08328	1.194	1.67	0.814	1.514
SEM	0.02141	0.25	0.3366	0.1029	0.525

【0309】

LIVRQNAC 及びLRQNAC 処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓MCP-1 及びMIP-1a RNA 発現を有意に変化させなかった。LIVRQNAC+G 処理は、ビヒクル群 ($p=0.054$) 及びLIVRQNAC 群 ($p<0.05$) と比較して、肝臓MCP-1 RNA 発現をわずかに低下させた。同様に、LIVRQNAC+G 処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓MCP-1 RNA 発現をわずかに低下させたが、差は有意でなかった ($p=0.19$) 及びLIVRQNAC 群 ($p<0.05$)。

40

【0310】

肝臓ケモカイン及びサイトカイン

RNA データと一致して、肝臓MCP-1 及びMIP-1a タンパク質レベルは、表76 及び77 に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、WDF を供給されたマウスにおいて上昇された。

50

【 0 3 1 1 】

【 表 4 4 】

表 76. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 MCP-1 タンパク質レベル

MCP-1	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	41.47	278.3	392	221.1	247.1
SEM	7.463	61.41	83.97	36.6	75.16

10

【 0 3 1 2 】

【 表 4 5 】

表 77. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 MIP-1a タンパク質レベル

MIP-1a	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	23.16	191.8	282.9	142.8	141.1
SEM	5.429	30.03	58.88	17.04	24.36

20

【 0 3 1 3 】

肝臓 MCP-1 及び MIP-1a タンパク質レベルも、表 78 及び 79 に示されるように、RNA 発現レベルと正に相関していた。

【 0 3 1 4 】

【 表 4 6 】

表 78. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 タンパク質及び RNA レベルの間の相関

対照食	$y=0.0022x+0.0542$	$R^2=0.3202$
ビヒクル	$y=0.0029x+0.3316$	$R^2=0.7986$
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	$y=0.0036x+0.0144$	$R^2=0.7831$
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	$y=0.0018x+0.2542$	$R^2=0.3988$
LRQNAC (2469 mg/kg)	$y=0.0027x+0.2969$	$R^2=0.6857$

30

【 0 3 1 5 】

【 表 4 7 】

表 79. アミノ酸組成物の投与後の MIP-1a タンパク質及び RNA レベルの間の相関

対照食	$y=0.001x+0.0593$	$R^2=0.069$
ビヒクル	$y=0.0057x+0.191$	$R^2=0.4202$
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	$y=0.0051x+0.2334$	$R^2=0.7887$
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	$y=0.0045x+0.1817$	$R^2=0.4403$
LRQNAC (2469 mg/kg)	$y=0.0064x+0.1814$	$R^2=0.4875$

40

【 0 3 1 6 】

LIVRQNAC 及び LRQNAC 処理は、ビヒクル群と比較して、肝臓 MCP-1 及び MIP-1a タンパク質レベルを有意に変化させなかった。LIVRQNAC+G 処理

50

は、L I V R Q N A C 群と比較して、肝臓M C P - 1 ($p = 0.095$) 及びM I P - 1 a ($p < 0.05$) タンパク質レベルをわずかに低下させた。さらに、肝臓M C P - 1 及びM I P - 1 a タンパク質レベルは、表 8 0 に示されるように、正に相関していた。

【 0 3 1 7 】

【表 4 8 】

表 80. アミノ酸組成物の投与後の MCP-1 及び MIP-1a タンパク質レベルの間の相関

対照食	$y=0.6803x-5.0537$	$R^2=0.8744$
ビヒクル	$y=0.389x+83.574$	$R^2=0.6325$
LIVRQNAC (3000 mg/kg)	$y=0.6615x+23.609$	$R^2=0.8903$
LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	$y=0.4437x+44.728$	$R^2=0.9082$
LRQNAC (2469 mg/kg)	$y=0.3108x+75.901$	$R^2=0.9241$

10

【 0 3 1 8 】

肝臓における炎症性サイトカイン I L - 1 b 、 I L - 6 、 T N F a 、 及び C X C L 1 タンパク質レベルは、表 8 1 ～ 8 4 に示されるように、対照食を供給されたマウスと比較して、W D F を供給されたマウスにおいて上昇された。

【 0 3 1 9 】

【表 4 9 】

20

表 81. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 IL-1b タンパク質レベル

IL-1b	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	10.53	22.31	22.11	14.42	28.85
SEM	1.248	6.063	5.739	3.299	10.41

【 0 3 2 0 】

【表 5 0 】

30

表 82. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 IL-6 タンパク質レベル

IL-6	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	5.838	8.452	7.298	5.77	6.71
SEM	0.3536	2.723	2.043	1.06	1.625

【 0 3 2 1 】

【表 5 1 】

40

表 83. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 CXCL1 タンパク質レベル

CXCL1	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	41.42	105.9	119.6	77.77	84.9
SEM	2.487	13.26	26.15	8.023	10.49

【 0 3 2 2 】

【表 5 2】

表 84. アミノ酸組成物の投与後の平均肝臓 TNF α タンパク質レベル

TNF α	対照食	ビヒクル	LIVRQNAC (3000 mg/kg)	LIVRQNAC+G (3885 mg/kg)	LRQNAC (2469 mg/kg)
平均	1.703	3.71	4.574	2.974	4.119
SEM	0.5641	0.4647	0.5654	0.1513	0.8341

【0323】

10

LIVRQNAC、LIVRQNAC+G、及びLRQNAC処理は、ビヒクルと比較して、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、及びCXCL1タンパク質レベルを有意に変化させなかった。肝臓TNF α レベルは、LIVRQNACと比較して、LIVRQNAC+G処理によって低下された。

【0324】

概要

臨床的観察に基づいて、WDFを供給されたFATZOマウスは、対照食を供給されたマウスより体重を増加させた。食事摂取状態の血糖値は、体重変化の差にもかかわらず、WDFを供給されたマウスと対照食を供給されたマウスとの間で同等であった。全ての処理は、FATZOマウスにおいて良好な忍容性を示した。WDFを供給されたマウス及び対照食を供給されたマウスは両方とも、治療期間中に体重を減少させ、これは、1日2回の強制経口投与による被験物質又はビヒクルの投与に関連するストレスに起因し得る。

20

【0325】

NASは、主に肝細胞風船様腫大スコアに起因して、ビヒクルと比較して、全てのアミノ酸組成物処理群において有意に緩和された。肝細胞風船様腫大は、全てのアミノ酸組成物処理群において有意に軽減された。脂肪症は、LIVRQNAC+G及びLRQNAC処理群において有意に軽減された。LIVRQNACも、脂肪症を低下させたが、差は有意でなかった。炎症は、アミノ酸組成物処理によって影響されなかった。LIVRQNAC+G及びLRQNAC処理群における脂肪症スコアの組織学的改善にもかかわらず、肝臓トリグリセリド、コレステロール、及びオイルレッドO染色は、アミノ酸組成物処理によって変化されないままであった。組織学的及び生化学的データと一致して、デノボ脂質生成酵素FASN及びACACA RNAレベルは、アミノ酸組成物処理によって影響されなかった。

30

【0326】

肝臓トリグリセリドレベルは、アミノ酸組成物処理によって影響されなかったが、肝細胞脂肪症の特徴は、アミノ酸組成物処理により変化された。WDFを供給されたマウス（ビヒクル群）の肝臓は、主に、大滴性脂肪症を示した。対照的に、大滴性脂肪症は減少され、全てのアミノ酸組成物処理群において小滴性及び大滴性脂肪症の混合であった。大滴性ないし小滴性脂肪症表現型におけるアミノ酸組成物の生物学的意味及び機構は、さらに調査する価値がある。

40

【0327】

NAFLDのFATZOモデルにおける肝線維症スコアは、高用量ではなく低用量でのLIVRQNAC処理によって有意に緩和された。LIVRQNAC+G及びLRQNACは、線維症に対する効果を与えなかった。それにもかかわらず、シリウスレッドコラーゲン染色は、LIVRQNAC、LIVRQNAC+G及びLRQNACが、肝臓におけるコラーゲン沈着を有意に減少させたことを示した。

【0328】

肝臓炎症スコアと一致して、炎症性ケモカインMCP-1及びMIP-1 α 及びサイトカインIL-1 β 、IL-6、TNF α 、及びCXCL1の肝臓RNA及びタンパク質レベルは、アミノ酸組成物処理によって有意に影響されなかった。LIVRQNAC+G（

50

L I V R Q N A C 及びグリシンに相当する) 処理が、L I V R Q N A C と比較して、肝臓 M C P - 1、M I P - 1 a、及び T N F a を低下させたことに留意することは興味深い。

【0329】

炎症に関連して増加した肝臓の酸化ストレスが、N A F L D 及び N A S H の間で観察された。グルタチオン (G S H) は、活性酸素種を抑え得る、極めて重要な内因性酸化防止剤である。グリシン及びその直接の代謝前駆体であるセリンは、G S H 生合成の基質である。したがって、セリン及び／又はグリシン補給は、G S H を補充するのを助け、N A F L D 及び N A S H を改善する。L I V R Q N A C G 処理は、肝臓における炎症ケモカイン及びサイトカインを低下させ、これは、グリシン又はセリンの補給が、N A F L D 及び N A S H において有益であることを示唆している。

10

【0330】

結論として、F A T Z O マウスにおいて試験される3つ全てのアミノ酸組成物 (L I V R Q N A C、L I V R Q N A C + G 及び L R Q N A C) は、N A F L D 活動性スコア、肝細胞風船様腫大、及び線維症を緩和する。これらのアミノ酸組成物は、N A S H を治療するのに使用され得る。グリシン含有アミノ酸組成物は、肝臓炎症をさらに軽減することができ、これにより、肝線維症の軽減をもたらす。

【0331】

実施例6. アミノ酸組成物による対象の処理

本明細書に記載される試験は、2型糖尿病 (T 2 D M) 及び非アルコール性脂肪肝疾患 (N A F L D) に罹患した対象への、アミノ酸を含む組成物の投与を特徴とする。このプレ I N D 及び I R B 承認試験の目的は、投与の6週間及び12週間後に、インスリン感受性、グルコース及び脂質代謝の様々なマーカーを調べることによって、アミノ酸組成物の安全性及び忍容性並びにヒト生理学の構造及び機能に対するその影響を決定することであった。組成物は、1日3回の4つのスティックパックの投与 (例えば、1日に合計で約72g、又は約24gを1日3回) のために、スティックパッケージ当たり、約1gのL-ロイシン、約0.5gのL-イソロイシン、約0.5gのL-バリン、約1.5gのL-アルギニン (又は1.81gのL-アルギニン H C l)、約2.0gのL-グルタミン、及び約0.15gのN-アセチルシステインを含んでいた。

20

【0332】

この試験において、対象に、12週間にわたって1日3回、アミノ酸組成物を与えた。アミノ酸を、12オンスの水に溶解されるべき粉末形態で提供した。参加者に、12週間の試験期間にわたってアミノ酸組成物を与えた。

30

【0333】

この試験の主要評価項目は、安全性及び忍容性であった。二次評価項目は、代謝、炎症及び線維症に関連するバイオマーカーによって、ヒト生理学に対する影響を調べることであった。評価を、ベースライン (1日目)、試験の6週、及び12週の時点で行った。

【0334】

対象を選択するための主要な基準は、以下を含んでいた：18歳以上70歳以下の男性又は女性；書面によるインフォームド・コンセントを提供する意思があり、提供できる；スクリーニングの時点で6.5%以上及び10%未満のT 2 D M 又はヘモグロビン A 1 c (H b A 1 c) の病歴；以下の基準の1つによる脂肪肝疾患の実証：a. 以下の方法の少なくとも1つによって3か月のスクリーニング中に確認された脂肪症の前歴：8%以上のP D F F を有するM R I による肝臓脂肪；300 d B / m 以上の制御減衰パラメータ (C o n t r o l A t t e n u a t i o n P a r a m e t e r) を有するフィブロスキャン (F i b r o s c a n) ；グレードIを超える非N A S H N A F L D 脂肪症を示す肝臓生検。患者が、(4aに示されるように) 3か月のスクリーニング中に脂肪症のこの実証された前歴を有さない場合、10%以上の肝臓脂肪スコアが、下式を用いて、スクリーニング時に実証されなければならない：

40

予測される肝臓脂肪パーセント = $10 \times (-0.805 + (0.282 * \text{メタボリック・シンドローム} [あり = 1 / なし = 0]) + (0.078 * 2 \text{型糖尿病} [あり = 2 / なし =$

50

$$0] + (0.525 * \log_{10}(\text{インスリン mU/L})) + (0.521 * \log_{10}(\text{AST U/L})) - (0.454 * \log_{10}(\text{AST/ALT})) \quad 34$$

注記：インスリン、ALT及びASTは、空腹時の血清試料において測定されるべきである。対象は、大きな体重の変動がなく、スクリーニング前の3か月以内に、運動、食事及び生活様式の一定の習慣がなければならず、すなわち、対象は、スクリーニングの時点で、過去3か月間にわたって体重の±3%以内であるべきである。スクリーニングの時点で32kg/m²以上のボディマス指数(BMI)。MRI機器が45kg/m²以上のBMIを有する患者に対応できない部位については、40～45kg/m²の上限が適用され得る。対象は、スクリーニング前の少なくとも3か月間にわたってグルコースを低下させる薬剤(メトホルミン、スルホニル尿素、ジペプチジルペプチダーゼ-4 [DPP-4] 阻害剤、ナトリウム-グルコース共輸送体2 [SGLT2] 阻害剤、又は長時間作用型基礎インスリンを含み得る)の一定の用量を継続し、試験期間にわたってそれらの薬剤の予測される用量の調節なしに同じ薬剤を服用し続ける予定でなければならない。除外される糖尿病関連の薬剤の詳細な一覧については、以下のセクション8を参照されたい。対象が、高血圧治療薬(例えば、β遮断薬、ヒドロクロロチアジド、ACE阻害剤、アンジオテンシン受容体遮断薬)、脂質異常症のための薬剤(例えば、スタチン、フィブラート系薬)、及び甲状腺機能低下症のための薬剤(例えば、レボチロキシン)で同時に治療される場合、スクリーニング前の少なくとも3か月間にわたってこれらの薬剤の一定の用量及び投与計画を継続しており、試験期間にわたってそれらの薬剤の予測される用量の調節なしに同じ薬剤を服用し続ける予定である限り、その対象は試験に含まれ得る。対象は、ビタミン補充剤(例えば、マルチビタミン；ビタミンE<400IU/日)を服用し続けていてもよい。しかしながら、対象は、試験期間にわたって予測される用量の調節なしにスクリーニング前の少なくとも3か月間にわたってこれらのビタミン補充剤の一定の用量及び投与計画を継続していなければならない。妊娠の可能性がある女性対象は、スクリーニングの時点で血清妊娠検査陰性を有さなければならず、全試験期間中及び治験薬の最後の投与の後30日間にわたって、異性との性交渉の際に極めて有効な避妊方法に同意し、使用しなければならない。妊娠の可能性は、無月経の期間を有する、子宮摘出、両側卵巣摘出を受けていないか、若しくは卵巣不全が医学的に確認されていない女性対象、又は50歳未満の女性を指す。

10

20

30

【0335】

インスリン感受性、グルコース及び脂質代謝

LIVRQNACは、減少した空腹時グルコース(図12A)、空腹時インスリン(図12B)及びHOMA-IR(図12C)、及びインスリン感受性のバイオマーカーである血漿中アディポネクチンの12週目の時点での増加(図12D)によって示されるように、主に、インスリン感受性を改善することによってグルコース恒常性を改善する。値は、平均+/-SEMである。対象の数は、示される通りである。

【0336】

肝臓脂肪、体重及び脂肪酸酸化

LIVRQNACは、脂肪酸化を増加させる一方、肝臓脂肪を減少させ、体重の変化はない。

40

【0337】

ベースラインから6及び12週までの肝臓脂肪(%)の平均変化をMRI-PDFFによって測定し、ベースラインから6及び12週までの体重(kg)の平均変化を測定し、平均レベル+/-SEMが、図12Eに示される。βヒドロキシ酪酸の血漿中レベルを測定し、平均レベル+/-SEMが、図12Fに示される。図12Eは、投与期間中(最大で12週間)の体重の有意な変化を示さないが、12週の時点で、1日目(ベースライン)レベルと比較して肝臓脂肪レベルの低下を示した。さらに、アミノ酸組成物による処理は、β-ヒドロキシ酪酸のレベルを増加させた(図12F、mg/dl、平均+/-SEM)。したがって、LIVRQNACは、β-ヒドロキシ酪酸の増加によって示されるように、脂肪酸酸化を増加させながら、体重を減少させずに肝臓脂肪を減少させた。

50

【0338】

この試験からの知見は、アミノ酸組成物が、好ましい安全性及び忍容性プロファイルを有し、インスリン抵抗性、グルコース恒常性の改善、及び脂質代謝の改善に関連するヒト身体の構造及び機能についてのバイオマーカーに影響を与えることを裏付けている。

【0339】

実施例7. トリグリセリドレベルを測定するための肝細胞モデル

肝細胞の細胞質におけるトリグリセリド (TG) 蓄積は、NAFLD/NAASHの特徴である。トリグリセリドレベルを低下させるアミノ酸の組合せL-ロイシン、L-イソロイシン、L-バリン、L-アルギニン、L-グルタミン、及びN-アセチルシステイン (LIVRQNAC) の能力を、ヒト初代肝細胞 (Lonza, TRL) を用いて評価した。

10

【0340】

細胞播種及び維持

2人の健常なヒトドナーからの初代肝細胞を、10%の熱で不活性化したFBS (Atlanta Bio)、2mMのGlutamax (Gibco)、及び0.2%のPrimocin (InvivoGen)を補充した肝細胞平板培養培地 (ウイリアムE培地 (Gibco)) 中で、24ウェルコラーゲン被覆プレート (Corning) 中で、 3.5×10^5 細胞の密度で、0日目に播種し、37℃、5%のCO₂で6時間インキュベートした。6時間後、細胞を2回洗浄し、37℃、5%のCO₂で一晩インキュベートした。1日目に、細胞を2回洗浄し、2mMのGlutamax (Gibco)、及び1×ペニシリン/ストレプトマイシン (P/S)を補充した肝細胞用規定培地 (Corning) を用いて、37℃、5%のCO₂で24時間インキュベートした。

20

【0341】

アミノ酸前処理

2日目に、細胞を、DPBS 1× (Gibco) で2回洗浄し、

a. 11mMのグルコース (Sigma)、0.272mMのビルビン酸ナトリウム (Sigma)、1×P/S (Gibco)を補充した、血液中の平均生理学的濃度に基づいた所定の特別なアミノ酸濃度を含有するアミノ酸不含WEM (US Biologicals) ; 又は

b. 30倍の所定のアミノ酸組成物LIVRQNACの1つの濃度を有する、上述される同じ培地
の中で維持した。

30

【0342】

細胞を、37℃、5%のCO₂で24時間にわたって規定培地 (a. 及びb.) 中で維持した。

【0343】

遊離脂肪酸及びLIVRQNACによる併用治療

24時間の前処理の後、細胞を、上述される同じ培地中で維持し、1ng/mlのTNF-α (ThermoFisher) 又はビヒクルを補充した2:1 (オレエート: パルミテート) の比率を有する250uMの遊離脂肪酸 (FFA) に曝した。細胞を、遊離脂肪酸混合物 (FFA+TNFα) ±LIVRQNACとともに、最初の24時間後に培地を交換しながら、37℃、5%のCO₂で72時間インキュベートした。

40

【0344】

72時間後の細胞内トリグリセリドレベル

72時間後、細胞を、冷PBS 1× (Gibco) で1回洗浄し、こすり取り、75ulの標準的な希釈剤 (Cayman) 中に収集した。収集された細胞を、2500rpmの速度で1分間ボルテックスした後、1分間ずつ2回の超音波処理 (Elmasonic sonicator) を行った。4℃で10分間にわたる1000rpmでの遠心分離の後、上清を、トリグリセリド分析のために収集した。細胞内トリグリセリドレベルを、トリグリセリド比色分析キット (Cayman) を用いて、製造業者の勧告にしたがっ

50

て評価した。データを、ビシンコニン酸タンパク質アッセイキット（Sigma）を用いて、タンパク質の総量に対して正規化した。

【0345】

表85は、遊離脂肪酸混合物（FFA+TNF α ）+FFA+TNF α ベースライン（LIVRQNAC1倍）に対して正規化されたLIVRQNAC（30倍）で処理された2人の健常なドナーからの初代ヒト肝細胞におけるトリグリセリドレベルの倍率変化を示す。t検定によって計算される統計的有意性は、LIVRQNAC30倍による処理が、初代ヒト肝細胞の細胞質におけるトリグリセリドレベルを有意に低下させたことを示した。

【0346】

【表53】

10

表 85. アミノ酸組成物の投与後のドナー1 及び 2 についてのトリグリセリドレベルの変化

アミノ酸補充剤	濃度 (倍)	対照と比べたトリグリセリドレベル - ドナー1				
		平均 log2	標準偏差	数値	P 値*	有意性
LIVRQNAC	30	-0.36	0.23	4	0.0461	*
LIVRQNAC	1	-0.01	0.15	4	n/a	n/a

20

【0347】

本発明は、好ましい実施形態及び様々な代替的な実施形態を参照して、具体的に示され、記載されているが、形態及び詳細の様々な変更が、本発明の趣旨及び範囲を逸脱せずに行われ得ることが、関連技術の当業者によって理解されるであろう。

【0348】

本明細書の本文内に引用される全ての参照文献、発行特許及び特許出願は、あらゆる目的のために、全体が参照により本明細書に援用される。

30

【図 1 A】

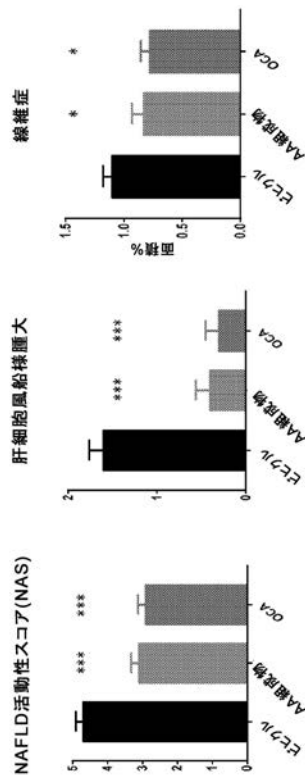


図 1A

【図 1 B】

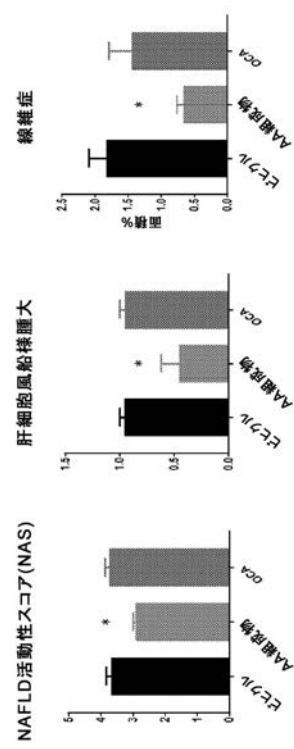


図 1B

【図 2】

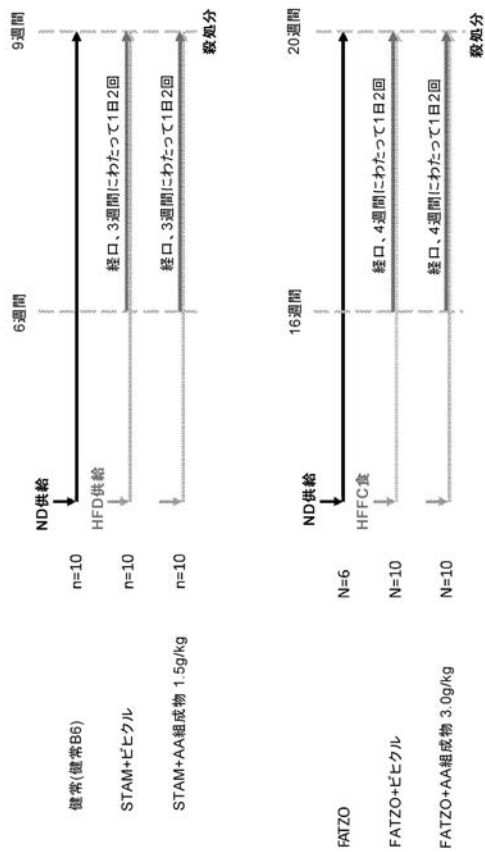


図 2

【図 3 A】

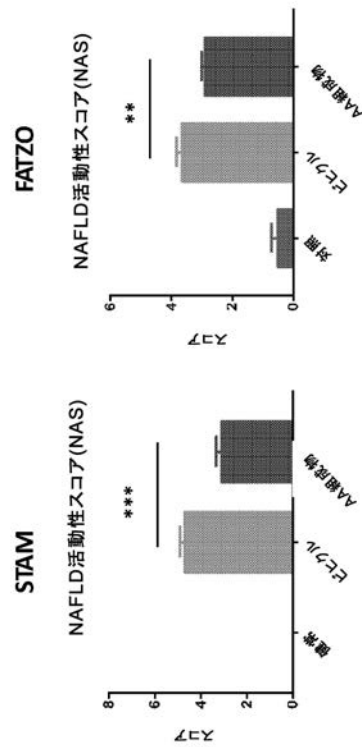


図 3A

【図 3 B】

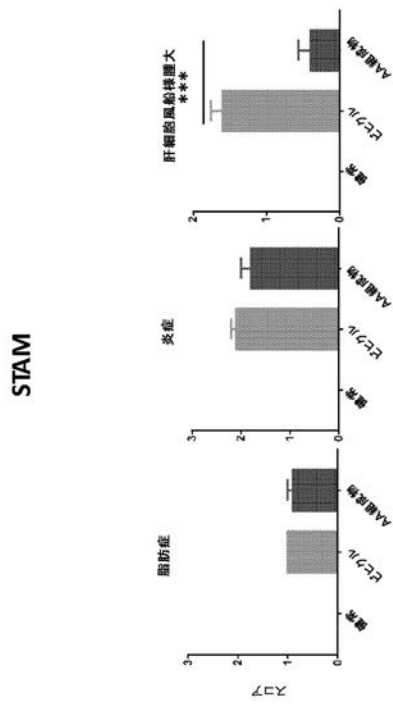


図 3B

【図 3 C】

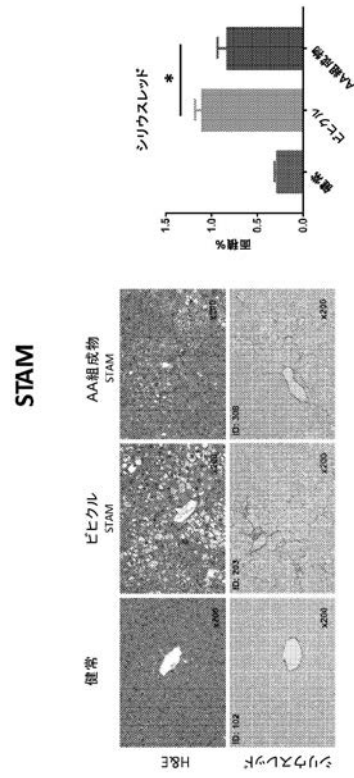


図 3C

【図 3 D】

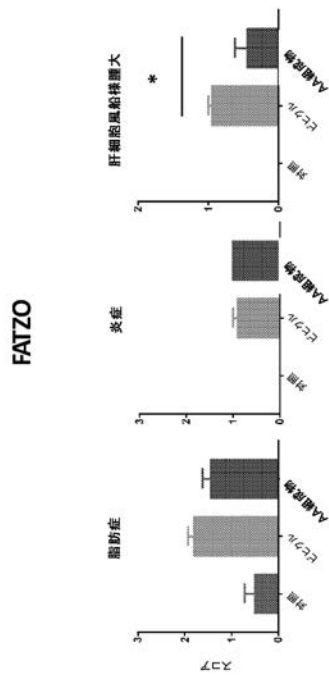


図 3D

【図 3 E】

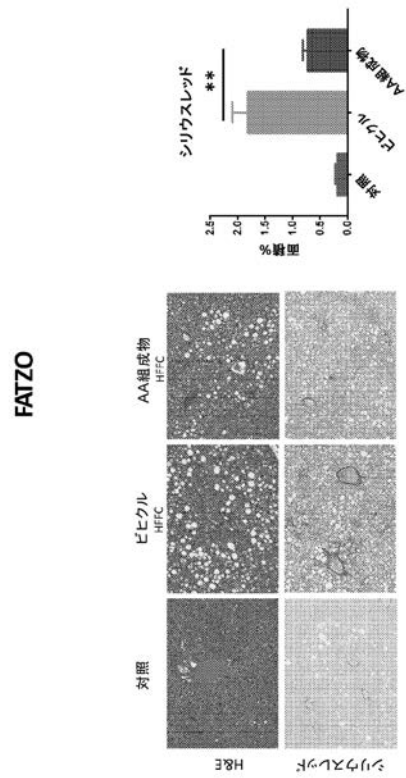


図 3E

【図 4 B】



【図 6 A】



【図 6 B】

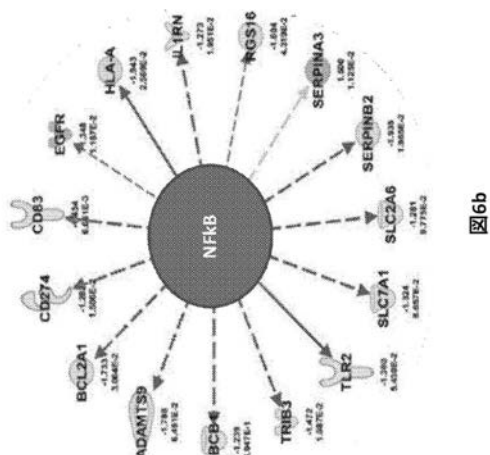


図 6b

【図 6 C】

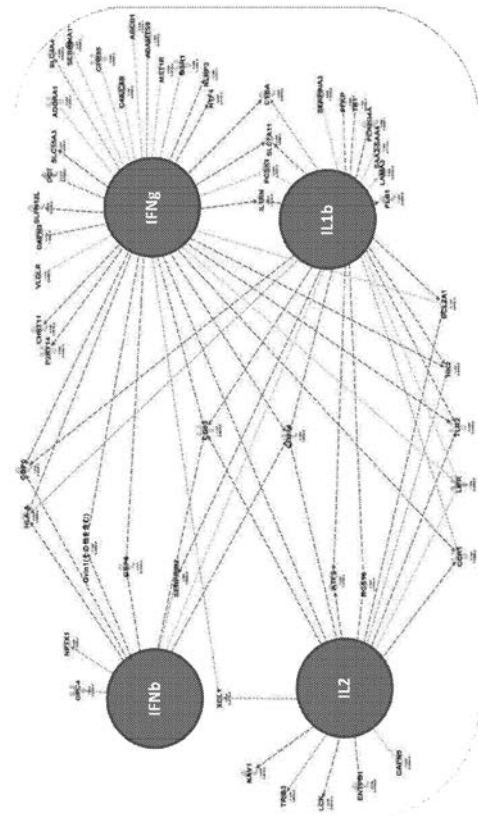


図 6C

【図 6 D】

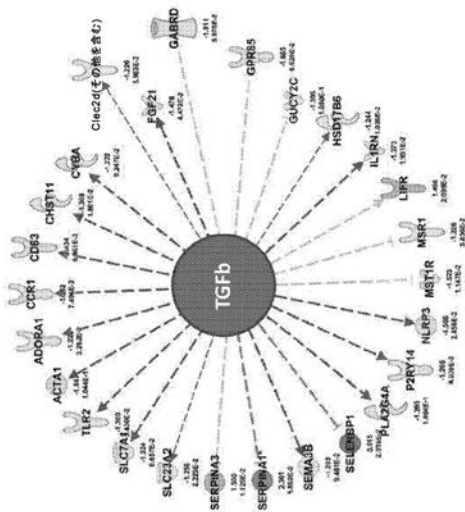


図 6D

【図 7】

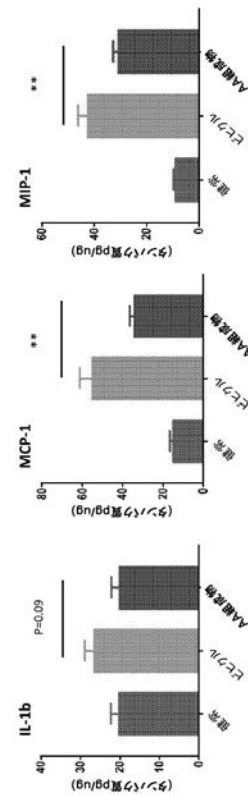
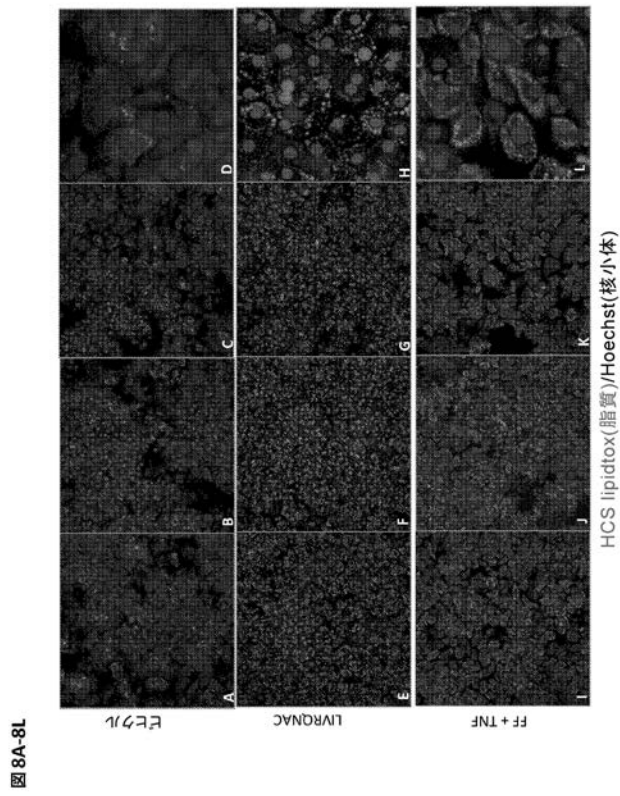
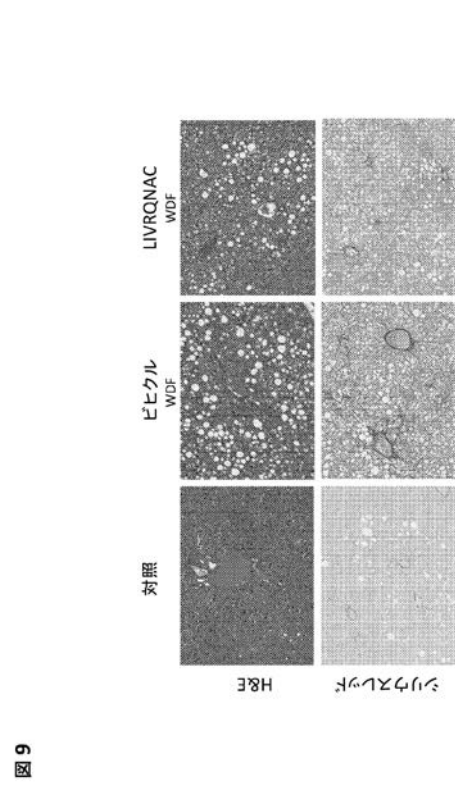


図 7

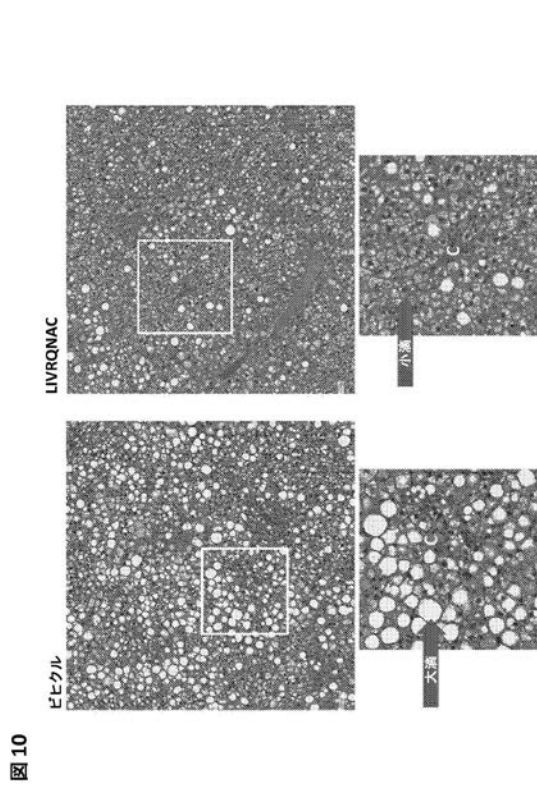
【図 8 A - L】



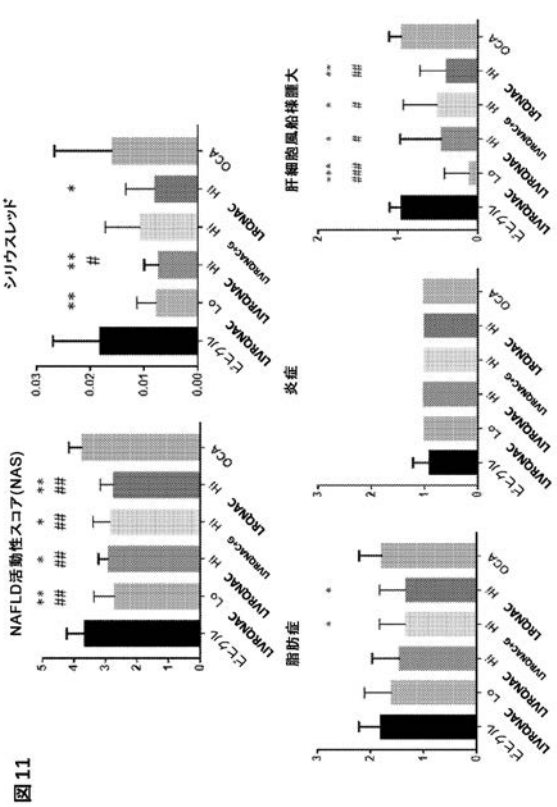
【図 9】



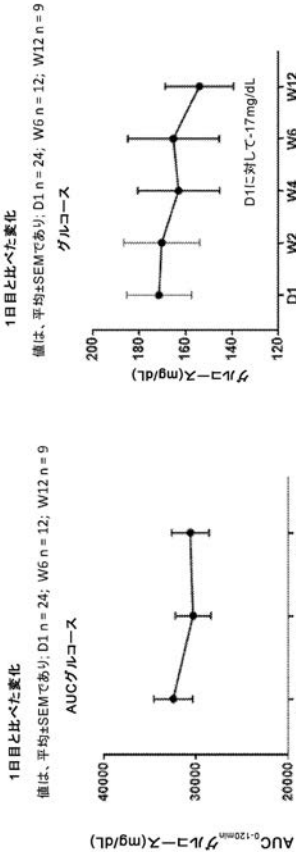
【図 10】



【図 11】



【図 1 2 A】



【図 1 2 C】

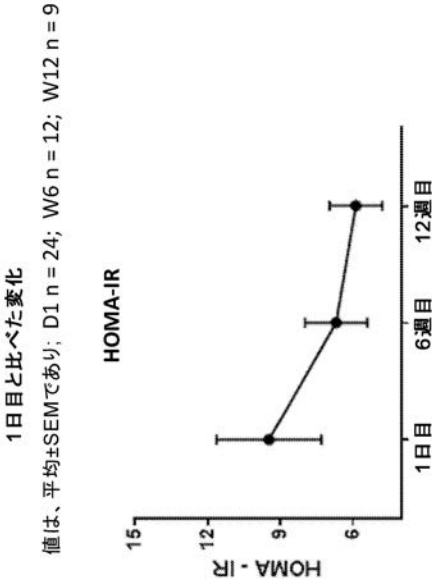


図 12A

【図 1 2 B】

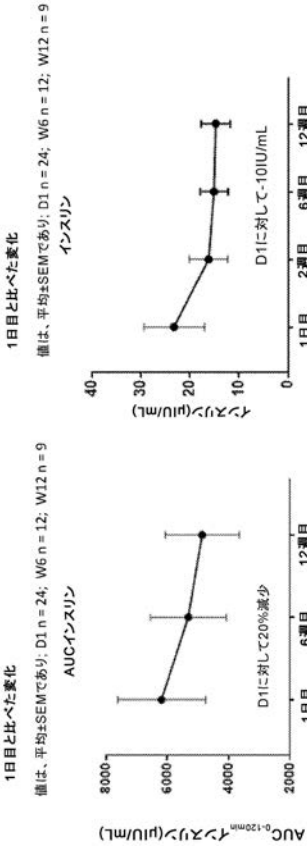


図 12B

【図 1 2 D】

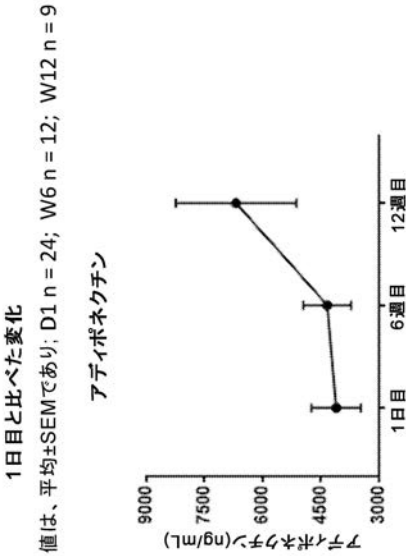


図 12C

図 12D

【図 1 2 E】

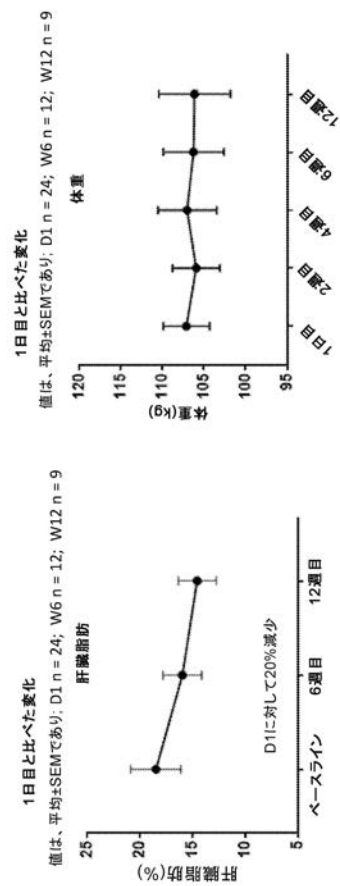


図 12E

【図 1 2 F】

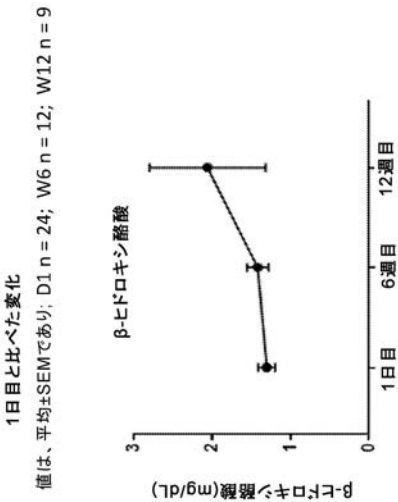


図 12F

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/038037

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/198 A61P3/08
ADD.

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)

A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/233014 A1 (LEE STEVE S [US] ET AL) 20 October 2005 (2005-10-20)	1-8, 18-26, 28,29, 31,32
Y	paragraph [0080]; claims 1,14,27; examples I-II	9-17,27, 30
X	US 2005/176827 A1 (LEE STEVE S [US] ET AL) 11 August 2005 (2005-08-11)	1-8, 18-26, 28,29,31
Y	paragraphs [0074] - [0075], [0102] - [0104]	9-17,27, 30
	----- -/--	

☒ 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 September 2019

Date of mailing of the international search report

30/09/2019

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bochelen, Damien

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2019/038037

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LAVIGNE C ET AL: "COD AND SOY PROTEINS COMPARED WITH CASEIN IMPROVE GLUCOSE TOLERANCE AND INSULIN SENSITIVITY IN RATS", AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY: ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM, AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY, BETHESDA, MD, US, vol. 278, no. 3 part 1, 1 January 2000 (2000-01-01), pages E491-E500, XP000978740, ISSN: 0193-1849	1-7, 18-21, 23-26, 28,29, 31,32
Y	page E494 - page E496; figures 1,3; table 2	8-17,27, 30
Y	----- WANG BEI ET AL: "Amino acid mixture acutely improves the glucose tolerance of healthy overweight adults", NUTRITION RESEARCH, vol. 32, no. 1, 2012, pages 30-38, XP028884962, ISSN: 0271-5317, DOI: 10.1016/J.NUTRES.2011.11.006 pages 33-34	1-32
Y	----- MAXIMILIAN KLEINERT ET AL: "An amino acid mixture enhances insulin-stimulated glucose uptake in isolated rat epitrochlearis muscle", JOURNAL OF APPLIED PHYSIOLOGY, vol. 111, no. 1, 28 April 2011 (2011-04-28), pages 163-169, XP55622113, US ISSN: 8750-7587, DOI: 10.1152/japplphysiol.01368.2010 pages 165-166	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/038037

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005233014	A1	20-10-2005	NONE
US 2005176827	A1	11-08-2005	US 2005176827 A1 11-08-2005
		WO 2005021596 A2	10-03-2005

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 K 38/06 (2006.01)	A 6 1 K 38/06	
A 6 1 K 31/19 (2006.01)	A 6 1 K 31/19	
A 6 1 K 31/197 (2006.01)	A 6 1 K 31/197	
A 6 1 K 31/4172 (2006.01)	A 6 1 K 31/4172	
A 2 3 L 33/175 (2016.01)	A 2 3 L 33/175	

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

- (74)代理人 100104282
弁理士 鈴木 康仁
- (72)発明者 ハミル, マイケル
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 アフェイエン, ラフィ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 リー, チュン-ウェイ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 ルトハルト, ハリー
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 コーム, ウィリアム
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 ダウ, ナディン
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア
- (72)発明者 マルキアン, スヴェトラナ
アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 8 4
0, サード フロア

F ターム(参考) 4B018 LB08 LB10 MD19 MD20 ME08 ME14
4C084 AA02 BA02 BA14 BA15 BA23 DC50 MA02 MA52 NA14 ZC351
4C086 AA01 AA02 BC14 BC38 MA03 MA04 MA52 NA14 ZC35
4C206 AA01 AA02 DA02 FA53 GA20 GA22 HA32 JA27 JA58 MA03
MA04 MA72 NA14 ZC35