

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6338414号
(P6338414)

(45) 発行日 平成30年6月6日 (2018.6.6)

(24) 登録日 平成30年5月18日 (2018.5.18)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 36/8962 (2006.01)

A 6 1 K 36/8962 Z N A

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/00

A 2 3 L 29/206 (2016.01)

A 2 3 L 29/206

請求項の数 4 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2014-60236 (P2014-60236)
 (22) 出願日 平成26年3月24日 (2014.3.24)
 (65) 公開番号 特開2015-71584 (P2015-71584A)
 (43) 公開日 平成27年4月16日 (2015.4.16)
 審査請求日 平成29年1月12日 (2017.1.12)
 (31) 優先権主張番号 特願2013-185977 (P2013-185977)
 (32) 優先日 平成25年9月9日 (2013.9.9)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 000000918
 花王株式会社
 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1
 〇号
 (74) 代理人 110000084
 特許業務法人アルガ特許事務所
 (74) 代理人 100077562
 弁理士 高野 登志雄
 (74) 代理人 100096736
 弁理士 中嶋 俊夫
 (74) 代理人 100117156
 弁理士 村田 正樹
 (74) 代理人 100111028
 弁理士 山本 博人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 筋萎縮抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ネギ又はその抽出物を有効成分とするアトロジン - 1 発現増加抑制剤。

【請求項 2】

ネギ又はその抽出物を有効成分とする筋萎縮抑制剤。

【請求項 3】

ネギ又はその抽出物を有効成分とするアトロジン - 1 発現増加抑制用食品組成物。

【請求項 4】

ネギ又はその抽出物を有効成分とする筋萎縮抑制用食品組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、筋萎縮を抑制する筋萎縮抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

骨格筋は人体で最大の器官であり、エネルギー代謝や糖取り込み、運動において重要な役割を果たす。ところが、一般的に、骨格筋は加齢に伴い量が減少することが知られており、超高齢化社会を迎える日本において、骨格筋量の減少を抑制することは重要な課題であると考えられる。

【0003】

これに対して、近年、医薬用の筋肉増強剤（特許文献１）や、補助食品として摂取可能な筋肉増強サプリメント（特許文献２）が提供され始めている。

【０００４】

しかしながら、特許文献１に開示の医薬用筋肉増強剤は、医薬品であるＩＧＦ－１を有効成分としており、医師の適切な指導を必要とするため、生活の質を向上するなどの医療対象とならない筋萎縮抑制手段には用いることができない。また、この医薬品である筋肉増強剤は、高価であるため、対象者であっても、経済的な観点から、継続的に使用するには、困難がある。特許文献２に開示の筋肉増強用サプリメントは、食品成分であるアミノ酸やミネラルを有効成分としているが、レジスタンス運動と呼ばれる高負荷の運動を併用することが不可欠であり、臥床や運動不足、老化により筋肉の萎縮が生じてしまった者の筋肉を十分に回復させるのは難しい。したがって、より顕著な効果を発揮する筋萎縮抑制技術の開発が待たれている。

10

【０００５】

アトロジン（atrogin）－１は、加齢に伴う筋量の減少をはじめとして、さまざまな筋萎縮時に発現が増加する遺伝子で（非特許文献１）、ノックアウトマウスでは筋萎縮に抵抗性を示すことから（非特許文献２）、筋萎縮において重要な役割を果たすと考えられている。したがって、アトロジン－１の発現を抑制する素材は、筋萎縮の抑制に効果的であると考えられる。

【０００６】

一方、ネギ（Allium fistulosum）は、中国西部・中央アジアを原産地とする植物であり、日本では広く食用として用いられている。また当該ネギには、硫化アリル、アリシン等の辛み成分を含有し、これらの成分が食欲増進や血管障害の改善作用を有することが知られている。

20

しかしながら、斯かるネギに、アトロジン－１の発現抑制作用があること、筋萎縮抑制作用があることはこれまで全く知られていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】特表２００５－５３４６５１号公報

【特許文献２】特開２００４－２５６５１３号公報

30

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】FASEB J. 18:39-51, 2004

【非特許文献２】Science 294: 1704-1708, 2001

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００９】

本発明は、アトロジン－１発現抑制作用を有し、筋萎縮抑制効果を発揮する医薬品、医薬部外品、食品、飼料、及び医薬品や食品等に配合した場合に当該効果を発揮する素材を提供することに関する。

40

【課題を解決するための手段】

【００１０】

本発明者らは、筋萎縮の抑制に有効な成分の探索を行った結果、ネギ抽出物に筋萎縮原因遺伝子であるアトロジン－１の遺伝子発現抑制作用があり、これが筋萎縮抑制等の効果を発揮し得る素材として有用であることを見出した。

【００１１】

すなわち、本発明は下記に関するものである。

（１）ネギ又はその抽出物を有効成分とするアトロジン－１発現抑制剤。

（２）ネギ又はその抽出物を有効成分とする筋萎縮抑制剤。

【発明の効果】

50

【0012】

本発明のアトロジン - 1 発現抑制剤及び筋萎縮抑制剤を含む組成物は、幅広い年齢層に対して、医師の指導や高負荷の運動を必要とせず、日常の活動時における筋萎縮を抑制するための食品、医薬品、医薬部外品、飼料として有用である。特に、食品又はサプリメントによる筋萎縮抑制が可能であることから、高齢者のQOL改善に資する。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】Foxo1誘導性アトロジン - 1プロモーター活性化に対する作用を示すグラフ。

【図2】無血清刺激によるアトロジン - 1発現に及ぼす作用を示すグラフ。

10

【図3】尾懸垂処置による筋萎縮に対する作用を示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明で用いるネギとは、ネギ科ネギ属の*Allium fistulosum*を意味する。

【0015】

上記ネギは、全草、葉、茎、芽、根茎等、又はこれらを組み合わせて使用することが可能であるが、根茎をそのまま又は粉碎して用いるのが好ましい。

斯かるネギは、そのまま若しくはそれを圧搾することにより得られる搾汁、植物体自身を乾燥した乾燥物若しくはその粉碎物、あるいはこれらから抽出した抽出物として用いることができるが、抽出物として用いるのが好ましい。

20

【0016】

抽出物としては、植物体を常温又は加温下にて抽出するか又はソックスレー抽出器等の抽出器具を用いて抽出すること等の、公知の抽出方法により得られる各種溶媒抽出液、その希釈液、その濃縮液又はその乾燥末が挙げられる。

公知の抽出方法としては、例えば、浸漬、煎出、浸出、還流抽出、超臨界抽出、超音波抽出及びマイクロ波抽出等が挙げられる。

【0017】

当該抽出物を得るために用いられる抽出溶剤としては、極性溶剤、非極性溶剤のいずれをも使用することができる。例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；プロピレングリコール、ブチレングリコール等の多価アルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等の鎖状及び環状エーテル類；ポリエチレングリコール等のポリエーテル類；ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類；ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の炭化水素類；ベンゼン、トルエン等の芳香族炭化水素類；ピリジン類等が挙げられ、これらは単独又は混合物として用いることができる。このうち、水、アルコール系（アルコール類及び/又は多価アルコール類）溶剤、及び水 - アルコール系混合溶剤を用いるのが好ましく、水 - アルコール系混合溶剤が好ましい。さらに、アルコール類としてはメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールがより好ましく、エタノールがさらに好ましい。また、多価アルコール類としてはブチレングリコールがより好ましい。

30

40

より好適な水 - アルコール系混合溶剤としては、20%（v/v）以上、好ましくは50%（v/v）以上、そして95%（v/v）以下、90%（v/v）以下のエタノール水溶液が挙げられる。例えば、20～95%（v/v）エタノール水溶液、好ましくは50～95%（v/v）エタノール水溶液が挙げられる。

【0018】

ネギ抽出物は、例えば、植物体1質量部に対して5～60質量部、好ましくは5～30質量部の抽出溶剤を用い、4～100にて1時間～30日間、好ましくは7～21日抽出することにより行うことができる。

【0019】

上記の抽出物は、そのまま用いることもできるが、当該抽出物を希釈、濃縮若しくは凍

50

結乾燥した後、粉末又はペースト状に調製して用いることもできる。また、凍結乾燥し、用時に、通常抽出に用いられる溶剤、例えば水、エタノール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、水・エタノール混液、水・プロピレングリコール混液、水・ブチレングリコール混液等の溶剤で希釈して用いることもできる。また、リボソーム等のベシクルやマイクロカプセル等に内包させて用いることもできる。

【0020】

ネギ抽出物は、食品上・医薬品上許容し得る規格に適合し本発明の効果を発揮するものであれば粗精製物であってもよく、さらに得られた粗精製物を公知の分離精製方法を適宜組み合わせるこれらの純度を高めてもよい。精製手段としては、有機溶剤沈殿、遠心分離、限界濾過膜、高速液体クロマトグラフやカラムクロマトグラフ等が挙げられる。

10

【0021】

後記実施例に示すように、ネギ抽出物は、アトロジン - 1 の発現を抑制 (Foxo を介したアトロジン - 1 のプロモーター活性を抑制、及び無血清刺激によるアトロジン - 1 発現を抑制) し、筋萎縮抑制作用を有する。アトロジン - 1 は筋肉のタンパク質分解系の一つであるユビキチン・プロテアソーム分解系の律速酵素であるため、アトロジン - 1 の発現を抑制することは、筋肉のタンパク質分解を阻害し、筋萎縮抑制に寄与する (前記非特許文献 2 参照)。

【0022】

したがって、ネギ又はその抽出物は、アトロジン - 1 発現抑制剤及び筋萎縮抑制剤 (以下、「アトロジン - 1 発現抑制剤等」という) となり得、アトロジン - 1 発現抑制及び筋萎縮抑制のために使用することができる。例えばネギ又はその抽出物は加齢に伴って生ずる筋萎縮を抑制するために使用することができる。ここで、当該使用は、ヒト若しくは非ヒト動物、又はそれらに由来する検体における使用であり得、また治療的使用であっても非治療的使用であってもよい。ここで、「非治療的」とは、医療行為を含まない概念、すなわち人間を手術、治療又は診断する方法を含まない概念、より具体的には医師又は医師の指示を受けた者が人間に対して手術、治療又は診断を実施する方法を含まない概念である。

20

また、ネギ又はその抽出物は、アトロジン - 1 発現抑制剤等を製造するために使用することができる。

【0023】

本発明において、アトロジン - 1 の発現抑制とは、典型的には、i) アトロジン - 1 mRNA へのアトロジン - 1 遺伝子の転写を阻害又は抑制する、ii) アトロジン - 1 タンパク質へのアトロジン - 1 mRNA の翻訳を阻害又は抑制することが挙げられる。

30

より具体的には、フォークヘッド型転写因子である Foxo を介したアトロジン - 1 のプロモーター活性の抑制 (試験例 1)、無血清刺激による筋管細胞におけるアトロジン - 1 の発現抑制 (試験例 2)、マウスの尾懸垂処置による筋萎縮抑制 (試験例 3) が挙げられる。

【0024】

アトロジン - 1 プロモーターの上流には Foxo 結合配列が存在し、Foxo がアトロジン - 1 プロモーターに直接結合することで、アトロジン - 1 の転写を正に調節することが知られている (Cell 117: 399-412, 2004)。また、種々の筋萎縮において Foxo の遺伝子発現が増加すること (FEBS Lett. 536: 232-236, 2003)、さらには、筋特異的に Foxo1 を過剰発現させた Foxo1 トランスジェニックマウスの骨格筋では、筋萎縮が生じるとともに、アトロジン - 1 遺伝子発現の増加が認められていることから (J Biol Chem. 279: 41114-41123, 2004)、Foxo を介したアトロジン - 1 の発現を抑制することが、筋萎縮の抑制に繋がると考えられる。

40

また、絶食は、骨格筋においてアトロジン - 1 の発現を上昇させ、筋萎縮を誘導させる一方、無血清刺激は培養筋管細胞において、アトロジン - 1 の発現を上昇させる (Hum. Gene Ther. 22: 313-324, 2011)。そのため、無血清刺激によるアトロジン - 1 の発現抑制は、筋萎縮抑制の指標となる。

50

【0025】

本発明において、「筋萎縮」とは、筋蛋白質の分解速度が合成速度を上回ることにより、筋蛋白質が減少する、もしくは筋細胞が減少し、結果的に筋量が低下することを意味する。具体的には、長期間の安静臥床や骨折等によるギプス固定、或いは微小重力暴露による筋萎縮（廃用性筋萎縮という）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）等の疾病による進行性筋萎縮の他、加齢に伴って筋萎縮と同様の症状を呈する加齢性筋減弱症（サルコペニア）や、ガン（悪液質）、敗血症、Ⅰ型糖尿病、長期臥床等に伴って生じる筋萎縮が包含される。したがって「筋萎縮の抑制」とは、不活動や加齢、疾病等による筋量の低下を抑制することをいう。

【0026】

10

本発明のアトロジン - 1 発現抑制剤等を含む組成物は、それ自体、ヒトを含む動物に摂取又は投与した場合に筋萎縮抑制効果を発揮する、ヒト若しくは動物用の医薬品、医薬部外品、食品、又は飼料となり、アトロジン - 1 発現抑制剤等は、当該医薬品、医薬部外品、食品又は飼料に配合して使用される素材又は製剤となり得る。

【0027】

また、当該食品には、運動不足者や中高年者、ベッドレスト者等におけるアトロジン - 1 発現抑制剤及び筋萎縮抑制剤をコンセプトとし、必要に応じてその旨を表示した食品、機能性食品、病者用食品、特定保健用食品、サプリメントが包含される。

【0028】

上記医薬品の投与形態としては、例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与又は注射剤、坐剤、吸入薬、経皮吸収剤、外用剤等による非経口投与が挙げられる。また、このような種々の剤型の製剤は、ネギ又はその抽出物と、他の薬学的に許容される賦形剤、結合剤、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、矯味剤、香料、被膜剤、担体、希釈剤、ネギ又はその抽出物以外の薬効成分等を適宜組み合わせ合わせて調製することができる。また、これらの投与形態のうち、好ましい形態は経口投与であり、経口用液体製剤は、矯味剤、緩衝剤、安定化剤等を加えて常法により調製することができる。

20

【0029】

経口投与用製剤中のネギ又はその抽出物の含有量（抽出物の乾燥物換算）は、一般的に製剤全質量の 0.01 質量%以上、好ましくは 0.1 質量%以上であり、更に好ましくは 1 質量%以上であり、且つ 100 質量%以下、好ましくは 90 質量%以下である。また 0.01 ~ 100 質量%、好ましくは 0.1 ~ 100 質量%、好ましくは 1 ~ 100 質量%である。

30

【0030】

上記食品の形態としては、清涼飲料水、茶系飲料、コーヒー飲料、果汁飲料、炭酸飲料、ジュース、ゼリー、ウエハース、ビスケット、パン、麺、ソーセージ等の飲食品や栄養食等の各種食品の他、さらには、上述した経口投与製剤と同様の形態（錠剤、カプセル剤、シロップ等）の栄養補給用組成物が挙げられる。

【0031】

種々の形態の食品は、ネギ又はその抽出物と、他の食品材料や、溶剤、軟化剤、油、乳化剤、防腐剤、香料、安定剤、着色剤、酸化防止剤、保湿剤、増粘剤、本発明以外の有効成分等を適宜組み合わせ合わせて調製することができる。

40

【0032】

また、病者用食品、例えば適当量の栄養補給が困難な高齢者やベッドレスト状態の病者に対する食品としては、経腸栄養剤等の栄養組成物の形態とすることが可能である。

【0033】

また、飼料としては、ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料、犬、猫等に用いるペットフード等の飼料等が挙げられ、上記食品と同様の形態に調製できる。

【0034】

当該食品又は飼料中のネギ又はその抽出物の含有量（抽出物の乾燥物換算）は、一般的

50

に製剤全質量の0.01質量%以上、好ましくは0.1質量%以上であり、更に好ましくは1質量%以上であり、且つ100質量%以下、好ましくは90質量%以下である。また0.01～100質量%、好ましくは0.1～100質量%、好ましくは1～100質量%である。

【0035】

上記医薬品又は食品の成人1人当たりの1日の投与又は摂取量は、通常、ネギ又はその抽出物（抽出物の乾燥物換算）として0.01mg以上、好ましくは0.1mg以上であり、且つ100mg以下、好ましくは10mg以下である。また、0.01～100mg、好ましくは0.1～10mgである。また、上記製剤の摂取頻度は任意であるが、1日1回～数回に分けて摂取することが好ましい。

10

【0036】

投与又は摂取対象としては、筋萎縮抑制を必要とする若しくは希望する動物又はヒトであれば特に限定されないが、特に、運動不足者、ロコモティブシンドローム発症者、加齢性筋減弱症（サルコペニア）者における摂取が有効である。

【0037】

上述した実施形態に関し、本発明においては以下の態様が開示される。

- < 1 > ネギ又はその抽出物を有効成分とするアトロジン - 1 発現抑制剤。
- < 2 > ネギ又はその抽出物を有効成分とする筋萎縮抑制剤。
- < 3 > アトロジン - 1 発現抑制剤を製造するための、ネギ又はその抽出物の使用。
- < 4 > 筋萎縮抑制剤を製造するための、ネギ又はその抽出物の使用。
- < 5 > アトロジン - 1 発現抑制に使用するための、ネギ又はその抽出物。
- < 6 > 筋萎縮抑制に使用するための、ネギ又はその抽出物。
- < 7 > ネギ又はその抽出物の有効量を投与又は摂取することによるアトロジン - 1 発現抑制方法。
- < 8 > ネギ又はその抽出物の有効量を投与又は摂取することによる筋萎縮抑制方法。
- < 9 > 上記< 5 >～< 6 >において、使用は非治療的使用である。
- < 10 > 上記< 7 >～< 8 >において、方法は非治療的方法である。
- < 11 > 上記< 7 >～< 8 >において、投与又は摂取の対象は、それぞれ筋萎縮抑制を必要とする若しくは希望する動物又はヒトである。

20

【実施例】

30

【0038】

製造例 ネギ抽出物の調製

ねぎパウダー（商品名、こだま食品より入手）10gに、50%EtOH水溶液100mLを加え、室温、静置条件下で1週間抽出した後に、ろ過することで、抽出液を得た。抽出液の固形分濃度は4.04%（w/v）であった。

【0039】

試験例1 Foxo1誘導性アトロジン - 1プロモーター活性化に対する作用

（1）マウスアトロジン - 1プロモーター領域のクローニング及びレポータープラスミド構築

マウスアトロジン - 1プロモーター領域としてエキソン1上流の約3.5kbの長さの領域をクローニングするために、フォワードプライマー（attggtacctcggtggaaggtctctgta [配列番号1]）、リバースプライマー（attctcgagacggattgacagccaggaa [配列番号2]）を利用し、マウスBACクローン（RP23-391D2；Children's Hospital Oakland）を鋳型にし、DNAポリメラーゼ（Takara LA-taqTM；宝酒造社）を用い、94℃1分間の後、94℃30秒、60℃30秒、及び72℃4分のサイクルを25回、続いて72℃5分間の条件でPCRを行った。得られたPCR産物をクローニングベクター（pGEMR-T Easy Vector Systems；プロメガ社）にサブクローニングし、制限酵素（Kpn1、Xho1；宝酒造社）処理によりDNA断片を調整した。調整したDNA断片をpGL3-Basicベクター（Promega）のマルチクローニングサイト（Kpn1/Xho1）に挿入

40

50

し、pGL3 - アトロジン - 1 を得た。

【0040】

(2) マウス Foxo1 の CDS のクローニング

マウス Foxo1 は、pENTR223.1 ベクターに挿入された Foxo1 の CDS (Open Biosystems) を pCDNA-DEST40 ベクター (Invitrogen) に LR クロナーゼ (Invitrogen) により挿入した。

【0041】

(3) プロモーター活性化の測定

マウス骨格筋細胞株 (C2C12) を 24 穴プレートに播種し、DMEM 培地 (10% ウシ胎児血清) 中で 1 日培養した。pGL3 - アトロジン - 1 プラスミドとウミシイタケ (renilla) 由来ルシフェラーゼ発現ベクターである phRL-TK (Promega)、pCDNA-DEST40-Foxo1 を同時に各々トランスフェクション試薬 (LipofectamineTM Reagent: Invitrogen) を用いて導入した。トランスフェクション 4 時間後に DMEM (5% チャコール処理ウシ胎児血清) に交換した。さらに 4 時間後に無血清培地 (DMEM) に交換し、同時に被験物質として、ネギを終濃度 0.0808% (w/v) で添加し、22 時間培養した。

PBS にて洗浄後、デュアルルシフェラーゼアッセイシステム (Promega) を用いて細胞を溶解、溶解液にルシフェリンを含む基質溶液を加え、ルミノメーターにてホタル及びウミシイタケルシフェラーゼ活性を各々測定した。ルシフェラーゼ活性は、ホタルルシフェラーゼ活性 / ウミシイタケルシフェラーゼ活性とし、Foxo1 刺激を行っていない群を 100 とした際の相対値を計算した。統計は、unpaired student's t-test を用い、有意水準は $P < 0.05$ とした。その結果を図 1 に示す。

図 1 の結果に示すように、Foxo1 により、アトロジン - 1 のプロモーター活性は有意に増加した。ネギ抽出物は、Foxo1 による活性化を有意に抑制した。

【0042】

試験例 2 無血清刺激によるアトロジン - 1 発現に及ぼす作用

マウス骨格筋細胞株 C2C12 (ATCC) を DMEM 培地 (10% ウシ胎児血清) にて培養し、DMEM 培地 (2% 馬血清) で分化誘導を行った。2 日ごとに培地を交換し、分化誘導 6 日目の C2C12 細胞の培地を PBS に置換した (無血清刺激)。ネギは PBS 置換時に、終濃度 0.0808% (w/v) で同時に添加した。PBS 置換 6 時間後に RNA を回収した。

細胞の RNA 抽出は、RNeasy mini kit (QIAGEN) を用いて、添付のプロトコール通りに行った。

各 RNA は濃度を揃えた後、65 で 10 分間の熱処理を行い、急冷後に 1 μ g の RNA を用いて逆転写反応を行った。逆転写反応は High Capacity RNA-to-cDNA Kit (アプライドバイオシステムズ社) を用いて、添付のプロトコールどおりに行った。反応後は 4 で急冷した。サンプルは使用まで -20 で保存した。

逆転写反応によって得られた cDNA を鋳型として、ABI PRISM 7700 Sequence Detector (アプライドバイオシステムズ社) によりリアルタイム PCR を行った。リアルタイム PCR の反応液組成は、10 μ L Fast SYBR Green PCR Master Mix (アプライドバイオシステムズ社)、0.1 μ L の 100 μ M 5' - プライマー及び 3' - プライマー、4.8 μ L dH₂O とし、これに 5 μ L の cDNA を加えて 20 μ L の反応系で行い、得られた解析結果は 36B4 mRNA の発現量を基準として補正し、相対的 mRNA 発現量として示した。用いたプライマーは表 1 に示した。統計は、unpaired student's t-test を用い、有意水準は $P < 0.05$ とした。その結果を図 2 に示す。

【0043】

【表 1】

遺伝子名	Accession#	プライマー塩基配列		
36B4	NM007475	Forwardプライマー	GACATCACAGAGCAGGCCCT	配列番号 3
		Reverseプライマー	TCTCCACAGACAATGCCAGG	配列番号 4
アトロジン-1	NM026346	Forwardプライマー	GCAGCAGCTGAATAGCATCCA	配列番号 5
		Reverseプライマー	GGTGATCGTGAGGCCTTTGAA	配列番号 6

【 0 0 4 4 】

10

図 2 の結果に示すように、無血清刺激により、アトロジン - 1 の遺伝子発現を有意に増加した。ネギ抽出物は、無血清刺激によるアトロジン - 1 の発現増加を有意に抑制した。

【 0 0 4 5 】

試験例 3：尾懸垂処置による筋萎縮に対する作用の評価

10 週齢の B A L B / c マウスを 2 週間予備飼育した後、体重（約 27 g）が等しくなるように、コントロール - 対照食群（n = 8）、尾懸垂 - 対照食群（n = 9）、尾懸垂 - ネギ食群（n = 7）の 3 群に群わけした。

製造例で調製したネギ抽出物を用いて、表 2 に示す組成（単位は質量％）の各食餌を作製し、各食餌で 7 日間飼育した後に、尾懸垂処置を施した。尾懸垂処置は、マウスの尾に両面テープなどにより針金を固定し、この針金をケージの金網に固定することにより、マウス後肢が宙に浮いた状態にさせ、7 日間放置した。尾懸垂処置終了後、マウス後肢のヒラメ筋重量を測定した。なお、尾懸垂処置期間中も各食餌を自由摂餌させた。統計は、unpaired student's t-testを用い、有意水準は $P < 0.05$ とした。その結果を図 3 に示す。

20

【 0 0 4 6 】

【表 2】

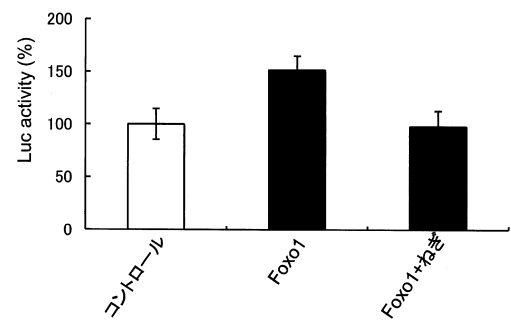
	対照食	ネギ食
カゼイン	20	20
コーン油	10	10
ポテトスターチ	55.5	54.5
セルロース	8.1	8.1
ミネラル混合	4	4
ビタミン混合	2.2	2.2
メチオニン	0.2	0.2
ネギ抽出物		1

30

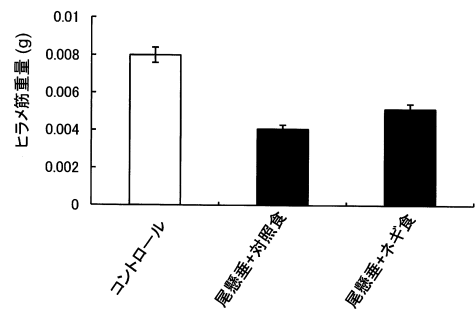
【 0 0 4 7 】

図 3 の結果に示すように、尾懸垂処置により、マウス後肢のヒラメ筋重量は減少した。ネギ食摂取群では、当該尾懸垂処置によるヒラメ筋重量の減少は有意に抑制された。すなわちネギ抽出物は筋萎縮抑制作用があることが確認された。

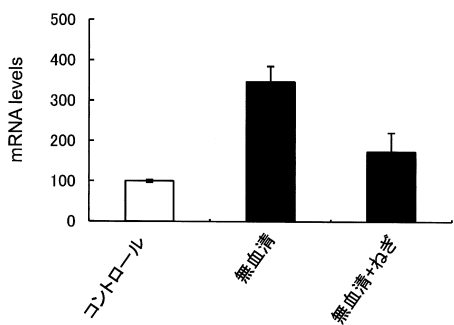
【図 1】



【図 3】



【図 2】



【配列表】

0006338414000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 杉田 聡
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 原水 聡史
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 太田 宣康
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 橋爪 浩二郎
栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内

審査官 横田 倫子

- (56)参考文献 特開 2 0 1 1 - 0 8 8 8 8 1 (J P , A)
特開 2 0 0 2 - 3 2 5 5 5 0 (J P , A)
特開 2 0 1 1 - 1 8 2 7 5 6 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 1 / 1 1 8 0 6 7 (W O , A 1)
特開 2 0 0 8 - 0 7 4 7 9 2 (J P , A)
特開 2 0 0 2 - 2 7 5 0 7 9 (J P , A)
特開昭 5 9 - 1 5 2 3 2 2 (J P , A)
特開 2 0 0 7 - 0 9 9 7 1 5 (J P , A)
Nao Yu Shenjing Jibing Zazhi, 2009, Vol.17 No.2, p.159-160
J Agric Food Chem., 1998, Vol.46, p.4097-4101
FASEB J., 2004, Vol.18, p.39-51
Science, 2001, Vol.294, p.1704-08

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 6 / 0 0
A 6 1 P 2 1 / 0 0
A 6 1 P 4 3 / 0 0
A 2 3 L 2 9 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)