

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5289952号
(P5289952)

(45) 発行日 平成25年9月11日(2013.9.11)

(24) 登録日 平成25年6月14日(2013.6.14)

| | | |
|-----------------------|------------------|----------------|
| (51) Int. Cl. | | F I |
| A 6 1 K 31/702 | (2006.01) | A 6 1 K 31/702 |
| A 6 1 P 37/08 | (2006.01) | A 6 1 P 37/08 |
| A 6 1 P 27/14 | (2006.01) | A 6 1 P 27/14 |
| C 0 7 H 3/06 | (2006.01) | C 0 7 H 3/06 |

請求項の数 1 (全 19 頁)

| | | | |
|---------------|------------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2008-525832 (P2008-525832) | (73) 特許権者 | 397077760 株式会社林原 岡山県岡山市中区藤崎675番地1 |
| (86) (22) 出願日 | 平成19年7月6日(2007.7.6) | (72) 発明者 | 日野 恵子 日本国岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/JP2007/063582 | (72) 発明者 | 定清 剛 日本国岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内 |
| (87) 国際公開番号 | W02008/010428 | (72) 発明者 | 谷口 美文 日本国岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内 |
| (87) 国際公開日 | 平成20年1月24日(2008.1.24) | (72) 発明者 | 岩城 完三 日本国岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内 |
| 審査請求日 | 平成22年6月28日(2010.6.28) | | 最終頁に続く |
| (31) 優先権主張番号 | 特願2006-197075 (P2006-197075) | | |
| (32) 優先日 | 平成18年7月19日(2006.7.19) | | |
| (33) 優先権主張国 | 日本国(JP) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 特願2006-258120 (P2006-258120) | | |
| (32) 優先日 | 平成18年9月22日(2006.9.22) | | |
| (33) 優先権主張国 | 日本国(JP) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 特願2007-146033 (P2007-146033) | | |
| (32) 優先日 | 平成19年5月31日(2007.5.31) | | |
| (33) 優先権主張国 | 日本国(JP) | | |

(54) 【発明の名称】 免疫調節剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

有効成分としてラクトスクロースを含んでなる、花粉症の治療又は予防剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は免疫調節に関するものであり、とりわけ、ラクトスクロースを含んでなる免疫調節剤及びラクトスクロースを利用する免疫調節方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

ヒトをはじめとする高等生物は、細菌、ウイルス、寄生虫などの病原体の感染を防護するために、免疫機能を備えており、各種の抗体やサイトカインの産生が生体内において、適正に調節されている。特に、抗体は、イムノグロブリンG(IgG)、イムノグロブリンA(IgA)、イムノグロブリンE(IgE)などが知られ、免疫系における極めて重要な因子である。近年、生活環境が清潔になるにつれ、食中毒などの経口感染症は減少傾向にある。しかしながら、逆に清潔な生活環境は、抗原刺激の機会を少なくするため、常在的なIgAやIgEのレベルを低下させ、経口感染症に対する抵抗力を弱め、また、アレルゲンや自己抗原に対して過度に反応して、抗原特異的IgEや自己抗体を産生しやすくする。よって、結果的に、現代人は、経口感染症や、花粉症や食物アレルギーなどのアレルギー症、自己免疫疾患に罹患しやすい体質になっていると考えられる。

10

20

【 0 0 0 3 】

腸管免疫を調節する方法として、国際公開W O 0 2 / 0 3 8 1 4 6号公報は、糖質の一種のトレハロースがパイエル板細胞に作用して、I g Aやインターフェロン - (I F N -)の産生調節作用を有していることを開示している。また、特開2 0 0 2 - 3 2 5 5 5 5号公報は、ニゲロオリゴ糖が栄養障害による免疫機能低下を防止することを開示している。また、全身性免疫を調節する方法として、特開2 0 0 3 - 4 0 7 7 9号公報は、アレルギー症の予防又は治療に、非還元末端に - 1 , 6結合のガラクトースを有するオリゴ糖を利用する方法を開示している。しかしながら、それらの効果は十分でない。

【 0 0 0 4 】

- D - ガラクトシル - (1 , 4) - - D - グルコシル - (1 , 2) - - D - フラクトシド、すなわちラクトスクロースは、例えば、特開平3 - 2 7 2 8 5号公報に記載されているように、スクロースとラクトースとを含有する溶液に、微生物由来の - フラクトフラノシダーゼを作用させ、この - フラクトフラノシダーゼが触媒する糖転移反応によって工業的に製造される。近年、ラクトスクロースは、難消化性、ピフィズス菌増殖促進性、難う蝕性、保湿性を有することが明かになり、食品、化粧品、医薬品など広範な用途に使用されている。しかしながら、ラクトスクロースの免疫調節作用については知られていない。

10

【 発明の開示 】

【 0 0 0 5 】

斯かる状況に鑑み、本発明は、日常の食生活で継続的に摂取可能であり、副作用の心配のない免疫調節剤及び免疫調節方法を提供することを課題とする。

20

【 0 0 0 6 】

本発明者等が鋭意研究したところ、ラクトスクロースは、経口摂取により、パイエル板細胞などの腸管免疫組織を介して、腸内におけるI g Aの分泌を促進するという新規な知見を得た。さらに、ラクトスクロースは、アレルゲンをアラムアジュバントと共に免疫することによって増強するI g Eの産生を抑制することを発見した。さらに、ラクトスクロースを含有する組成物は、経口摂取により、腸管免疫を増強するとともに、アレルギーなどの全身性免疫を抑制することを確認し、本発明を完成するに至った。

【 0 0 0 7 】

すなわち、本発明は、有効成分としてラクトスクロースを含んでなる免疫調節剤及びラクトスクロースを経口摂取させることを特徴とする動物の免疫調節方法を提供することによって、前記課題を解決するものである。

30

【 0 0 0 8 】

本発明によれば、手軽に免疫調節することができるので、経口感染症、アレルギー症、自己免疫疾患などの予防又は治療に効果的である。また、本発明の免疫調節剤は、日常の食生活で継続的に摂取可能であり、副作用の心配がない。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 0 9 】

【 図 1 】 花粉症による鼻の臨床症状のスコアの経時的変化を示す図である。

【 図 2 】 花粉症による眼の臨床症状のスコアの経時的変化を示す図である。

40

【 図 3 】 花粉症による日常生活の支障度のスコアの経時的変化を示す図である。

【 符号の説明 】

【 0 0 1 0 】

： 対照摂取群のスコア

： ラクトスクロース摂取群のスコア

： スギ花粉の飛散開始時期

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 1 】

本発明の免疫調節剤は、有効成分としてのラクトスクロースを含有するものである。ラクトスクロースの形態としては、本発明の効果を損ねない範囲で、通常、シラップ、含蜜

50

結晶粉末、含水結晶、非晶質固体等から適宜選択することができる。また、市販品を利用することができ、例えば、株式会社林原商事（商品名『乳果オリゴ550』、『乳果オリゴ700』など）や塩水港精糖株式会社（商品名『LS-90P』など）により販売されているラクトスクロース含有糖質を利用してもよい。本発明の免疫調節剤におけるラクトスクロースの含量としては、ヒトを含む動物に摂取せしめて免疫調節作用が発揮されればよく、通常、固形物当たり、1乃至100%（w/w）、好ましくは10乃至100%（w/w）、さらに好ましくは20乃至100%（w/w）である。

【0012】

本発明でいう免疫調節作用とは、腸管免疫においてはIgAの分泌を促進することによって強化する作用、及び、全身性免疫においては過剰な免疫反応を制御する作用という二つおりの免疫調節作用を意味するものである。すなわち、前者は、パイエル板細胞などの腸管免疫組織を活性化して、腸管内においては、IgA、あるいは、IgAの産生を促進するサイトカイン類、例えばインターロイキン-6（IL-6）やトランスフォーミンググロースファクター-（TGF-）の産生を促進することによって発揮されるものであり、後者は、脾臓細胞などの全身性の免疫担当細胞に対して、制御性T細胞の活性化等を介して、アレルギーや自己免疫疾患などの過剰な免疫応答を抑制することによって発揮されるものである。

【0013】

本発明の免疫調節剤は、ラクトスクロース単独であってもよいが、有効成分としてラクトスクロースを含む、飲食物、医薬品、医薬部外品、健康食品、飼料又は餌料などの形態の組成物とすることもできる。組成物としては、上記形態において許容される成分、例えば、水、アルコール、澱粉、蛋白質、食物繊維、糖質、脂質、ビタミン、ミネラル、着香料、着色料、甘味料、調味料、香辛料、安定剤、酸化防止剤、防腐剤などを配合することができる。とりわけ、ラクトフェリン、カゼイン、コラーゲン、大豆蛋白質などの蛋白質またはその分解物、ルチン、ヘスペリジン、ケルセチン、イソフラボンなどのフラボノイド又はそれらの配糖体、乳酸カルシウム、グリセロリン酸カルシウムなどのカルシウム塩、ビタミンA、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンEなどのビタミン類またはその誘導体、ショ糖（スクロース）、マルトース、トレハロース、マルトシルトレハロース、ニゲロース、イソマルトース、ニゲロオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、環状四糖、サイクロデキストリンなどの糖類、グルコサミン、ガラクトサミン、マンノサミンなどのアミノ糖、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸などのグリコサミノグリカン、ソルビトール、マルチトールなどの糖アルコール、カルシトニン、エストロゲン、蛋白質同化ホルモンなどのホルモン類、感光素101号、感光素201号、感光素301号、感光素401号などの感光色素、藍、シソ、中国パセリ、パフィア、鹿角霊芝、アガリクス、メシマコブ、コタラヒム、プロポリス、ローヤルゼリーなどの植物、菌類又はそれらの抽出物、さらには、ビフィズス菌増殖糖質、粉末ミルク、貝殻粉末、珊瑚粉末、蜂蜜、L-アスコルビン酸2-グルコシドなどを配合することができる。

【0014】

本発明の免疫調節剤は、上記のとおりIgAの分泌を促進して腸管免疫を強化することから、A型肝炎ウイルス、ポリオウイルス、ロタウイルスなどのウイルス、コレラ菌、赤痢菌、腸チフス菌、サルモネラ菌、キャンピロバクター、類鼻疽菌、腸炎ピブリオ菌、ブルセラ菌、大腸菌O-157などの細菌、広節裂頭条虫、横川吸虫、肝吸虫、棘口吸虫、肺吸虫、アニサキス、顎口虫、広東住血線虫、赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、マラリア、ミクロフィラリアなどの寄生虫などが原因となる疾患の予防又は治療に有利に用いられる。また、本発明の免疫調節剤は、抗原特異的なIgEの分泌を抑制したり、特異抗原に対する過剰な免疫応答を抑制するので、例えば、卵、乳、小麦、そば、落花生、あわび、いか、いくら、えび、オレンジ、かに、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、さけ、さば、大豆、鶏肉、バナナ、まつたけ、もも、やまいも、りんご、ゼラチンなどによる食物アレルギー、例えば、スギ花粉、ヒノキ花粉、カモガヤ花粉、オオアワガエリ花粉、ハン

10

20

30

40

50

ノキ花粉、ホソムギ花粉、シラカバ花粉、ブタクサ花粉、オオブタクサ花粉、ヨモギ花粉、カナムグラ花粉、セイダカアワダチソウ花粉、前記以外のイネ科植物の花粉などによる花粉症、例えば、ハウスダスト、金属、化学物質などによるアレルギー、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性胃腸炎、喘息、蕁麻疹などのアレルギー症、クローン病、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、全身性強皮症、多発性筋炎、混合性結合組織病、結節性動脈周囲炎、バセドウ病、橋本病、重症筋無力症、糖尿病、原発性胆汁性肝硬変、ギラン・バレー症候群、シェーグレン症候群、抗リン脂質抗体症候群、多発性硬化症などの自己免疫疾患の予防又は治療、さらには、これらの疾患に伴う臨床症状やそれに伴う日常生活の支障の緩和などにも有利に用いられる。また、本発明の免疫調節剤は、免疫調節作用、上記疾患や症状に対する予防・治療効果やその疾患に伴う日常生活の支障の緩和作用があることを標榜して販売することも有利に実施できる。

10

【0015】

本発明の腸管免疫調節剤の投与又は摂取方法としては、腸内にラクトスクロースを到達させることができるのならいかなる方法でもよく、通常、経口または経管経路が選択される。投与又は摂取量としては、投与方法又は摂取方法、適用する動物の種類などを考慮して適宜決定すればよく、有効成分としてのラクトスクロースを、1日当たり通常0.001乃至20g/kg体重、好ましくは0.01乃至15g/kg体重、さらに好ましくは0.02乃至10g/kg体重の範囲内で投与又は摂取すればよい。0.001g/kg体重未満だと、所期の効果が発揮されず、20g/kg体重を超えても量の割に効果が発揮されない。なお、ヒトに投与又は摂取する場合、ラクトスクロースの最大無作用量は0.6乃至0.8g/kg体重であることが確認されていることから、この範囲を超えた投与又は摂取は、下痢を起こす可能性があるので注意が必要である。

20

【0016】

本発明の免疫調節剤は、通常、ヒトに適用されるものであるが、ヒトと同様の免疫系を有する脊椎動物全般に適用することができる。例えば、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジなどの家畜、イヌ、ネコ、サルなどのペット、ニワトリ、アヒル、七面鳥などの家禽、タイ、ブリなどの魚類があげられ、それらの飼育用の飼料や餌料に配合することができる。ラクトスクロースを含有する飼料や餌料は、高温、低温などの環境ストレスにより免疫力が低下した家畜や家禽に対して、ウイルスや細菌等の感染症への罹患を予防することができるし、アレルギー症状を緩和することができるので、家畜や家禽の体力消耗を防止し、効率よく生育させることができる。また、例えば、乳牛に対しては搾乳量の低下を防止し、ニワトリに対しては産卵率の低下を防止するという効果も発揮する。

30

【0017】

以下、この発明の実施の形態につき、実験に基づいて説明する。

【0018】

<実験1：ラクトスクロース摂取マウスにおけるIgA産生調節作用>

ラクトスクロース摂取により、腸管免疫が増強されるかどうか、糞中のIgA量を測定することにより調べた。6週齢雌性BALB/cマウスを、米国国立栄養研究所から1993年に発表されたマウス・ラットを用いた栄養研究のための標準精製飼料(繁殖用)であるAIN-93G(コーンスターチ40%(w/w)、カゼイン20%(w/w)、コーンスターチ13.2%(w/w)、スクロース10%(w/w)、大豆油7%(w/w)、セルロース5%(w/w)、ミネラル混合物3.5%(w/w)、ビタミン混合物1%(w/w)、L-シスチン0.3%(w/w)、ヒドロキノン0.0014%(w/w))で1週間予備飼育した後、上記精製飼料に、市販のラクトスクロース含有糖質(商品名『LS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算で、ラクトスクロース91.8%(w/w)含有)を配合して、ラクトスクロース含量を5%(w/w)とした試験飼料(ラクトスクロース含有糖質の質量分を、コーンスターチから減じた)を1群5匹のマウスに自由摂食させた。また、対照として、ラクトスクロースを配合しない標準精製飼料(AIN-93G)を与えたマウスを用意した。試験飼料又は対照飼料の自由摂食を開

40

50

始してから、1週間、2週間、3週間、4週間後に、マウスから新鮮な糞を採取して、抗IgA抗体を用いるELISA法（マウスIgA ELISA Quantitation Kit、BETHYL社製）でIgA量を測定した。IgA量は糞の湿質量当たりのミリグラムで表し、5匹のマウスの平均値を求めた。その結果を表1に示す。なお、表中の括弧内のパーセント数値はそれぞれの週における対照との相対値を示す。

【0019】

【表1】

| 糖 質 | IgA量 (mg/g) | | | |
|---------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 1週間後 (8週齢) | 2週間後 (9週齢) | 3週間後 (10週齢) | 4週間後 (11週齢) |
| 対 照 | 5.6±1.1 | 2.0±0.60 | 1.4±0.36 | 1.1±0.55 |
| 5%(w/w) ラクトスクロース | 13±2.6 (232%) | 5.7±2.3 (285%) | 7.6±1.4 (543%) | 8.3±1.9 (755%) |

10

【0020】

表1の結果から、対照の精製飼料によって飼育されたマウスは、飼育期間（週齢）が進むにつれ、糞中のIgA量が減少する現象が確認された。この現象は、マウスに清潔な精製飼料を与えて飼育したため、経口摂取される抗原量が減少し、マウスの腸管免疫機能が低下したものと考えられる。一方、ラクトスクロースを含有する精製飼料もまた、清潔であるものの、これを与えて飼育したマウスでは、その糞中のIgA量が飼育期間を通じて高かった。したがって、ラクトスクロースは、腸管免疫系を活性化し、高水準でIgAの分泌量を維持する作用を有していることが判明した。

20

【0021】

<実験2：盲腸内容物中のIgA及びIgG量>

さらに、腸管免疫の増強作用を盲腸内容物中のIgA及びIgG量を測定することにより調べた。実験1において、5%(w/w)ラクトスクロース入りの精製飼料あるいは対照の精製飼料(AIN-93G)で4週間飼育したマウスを屠殺し、盲腸を摘出した。盲腸内容物を盲腸から取りだし、そのpH、質量、IgA量及びIgG量を測定した。IgA量については、抗IgA抗体を用いるELISA法、IgG量については、抗IgG抗体を用いるELISA法（マウスIgG ELISA Quantitation Kit、BETHYL社製）で内容物グラム当りの抗体量を測定した。結果を表2に示す。なお、表中の括弧内のパーセント数値はそれぞれの週における対照との相対値を示す。

30

【0022】

【表2】

| 糖 質 | pH | 重量 (mg) | IgA (mg/g) | IgG (ng/g) |
|---------------------|-----------|----------------------|-------------------|------------------|
| 対 照 | 7.80±0.23 | 0.13±0.032 | 0.57±0.15 | 120±52 |
| 5%(w/w) ラクトスクロース | 6.63±0.27 | 0.22±0.051 (169%) | 5.6±1.6 (982%) | 140±54 (117%) |

40

【0023】

表2に示すとおり、ラクトスクロースは盲腸内容物のpHを低下させ、内容物の量を著しく増加させたことから、有機酸量を増加させ、腸内環境を改善する作用を有することが示唆された。また、ラクトスクロースは、IgG量に影響を与えないで、IgAの分泌量

50

を約10倍近く増加させた。表1及び表2の結果は、ラクトスクロースが腸管免疫を増強する作用を有することを示している。

【0024】

<実験3：パイエル板又は腸間膜リンパ節におけるIgA、IgG及び各種サイトカインの産生>

腸管免疫増強作用がどの免疫担当組織を介してなされているかを、IgA、IgG及び各種サイトカインの産生量を測定することにより調べた。実験1と同様にして、6週齢雌性BALB/cマウスを、実験1で用いた標準精製飼料(AIN-93G)で1週間予備飼育した後、上記精製飼料に、市販のラクトスクロース含有糖質(商品名『LS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算でラクトスクロース含有91.8%(w/w))を配合して、ラクトスクロース含量を2%(w/w)又は5%(w/w)とした試験飼料(ラクトスクロース含有糖質の質量分を、コーンスターチから減じた)を1群5匹のマウスに自由摂食させた。また、対照として、ラクトスクロースを配合しない標準精製飼料(AIN-93G)を与えたマウスを用意した。試験飼料を与え始めてから4週間後に、マウスからパイエル板及び腸管リンパ節をそれぞれ摘出し、ハサミで裁断し、0.2%(w/v)コラゲナーゼ水溶液で37、30分間処理し、セルストレーナーで濾過して、細胞を含む液を得、これを遠心分離して細胞を回収し、45%(v/v)パーコール(GEヘルスサイエンス社販売)溶液中に浮遊させて細胞浮遊液を調製した。これをさらに75%(v/v)パーコールに重層して、1,000gで10分間遠心した。45%(v/v)パーコール層と75%(v/v)パーコール層との界面辺りに浮遊する細胞を回収し、10%FCS及び10mM HEPESを含有するRPMI1640培地で懸濁し、細胞濃度 1×10^6 個/mlに調製した。それを24ウェルマイクロプレートに1ウェルに1mlずつ播種し、さらに、T細胞に対する刺激剤としての $2 \mu\text{g/ml}$ のコンカナバリンA(ConA)又はB細胞やマクロファージ細胞に対する刺激剤としての $10 \mu\text{g/ml}$ のリポ多糖(LPS)を添加し、5%(v/v)炭酸ガス雰囲気中で37で48時間培養した。各ウェルから培地上清を回収し、それに含まれるIgA、IgG、IFN-、インターロイキン-4(IL-4)、IL-6、インターロイキン-10(IL-10)及びTGF-の量を、抗マウスIgA抗体、抗マウスIgG抗体、抗マウスIFN-抗体(ペプロテック社販売)、抗マウスIL-4抗体(アールアンドディー社販売)抗マウスIL-6抗体(アールアンドディー社販売)、抗マウスIL-10抗体(アールアンドディー社販売)又は抗マウスTGF-抗体(プロメガ社販売)を用いるELISA法で測定し、5匹の平均値を求めた。パイエル板細胞についての結果を表3に、腸管リンパ節細胞についての結果を表4に示す。なお、表中の括弧内のパーセント数値は対照のマウスから採取したパイエル板細胞又は腸管リンパ節細胞において産生されたIgA、IgG、IFN-、IL-4、IL-6、IL-10又はTGF-量に対しての相対値を示す。

【0025】

10

20

30

【表 3】

| | 対照 | | 2%(w/w) ラクトスクロース | | 5%(w/w) ラクトスクロース | |
|--------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | ConA | LPS | ConA | LPS | ConA | LPS |
| IgA (μ g/ml) | 1.5 \pm 0.45 | 0.88 \pm 0.24 | 1.9 \pm 0.49 (127%) | 1.9 \pm 1.8 (216%) | 4.5 \pm 2.6 (300%) | 7.0 \pm 4.0 (795%) |
| IgG (ng/ml) | 73 \pm 14 | 45 \pm 9.1 | 110 \pm 28 (151%) | 110 \pm 90 (244%) | 270 \pm 120 (370%) | 370 \pm 150 (822%) |
| IFN- γ (ng/ml) | 11 \pm 5.1 | 0.82 \pm 0.61 | 11 \pm 5.0 (100%) | 1.2 \pm 0.44 (146%) | 21 \pm 13 (191%) | 3.0 \pm 2.1 (366%) |
| IL-4 (pg/ml) | 21 \pm 0.70 | 14 \pm 1.6 | 22 \pm 0.58 (105%) | 15 \pm 1.6 (107%) | 20 \pm 0.74 (95%) | 14 \pm 0.88 (100%) |
| IL-6 (pg/ml) | 33 \pm 8.9 | 220 \pm 69 | 35 \pm 14 (106%) | 250 \pm 27 (114%) | 84 \pm 39 (255%) | 470 \pm 250 (214%) |
| IL-10 (pg/ml) | 検出限界 以下 | 210 \pm 14 | 検出限界 以下 | 200 \pm 57 (95%) | 検出限界 以下 | 160 \pm 56 (76%) |
| TGF- β (ng/ml) | 0.30 \pm 0.23 | 1.3 \pm 0.14 | 0.40 \pm 0.24 (133%) | 1.3 \pm 0.20 (100%) | 0.66 \pm 0.13 (220%) | 1.2 \pm 0.090 (92%) |

10

20

【 0 0 2 6 】

【表 4】

| | 対照 | | 2%(w/w) ラクトスクロース | | 5%(w/w) ラクトスクロース | |
|--------------------------|----------------|----------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | ConA | LPS | ConA | LPS | ConA | LPS |
| IgA (ng/ml) | 48 \pm 26 | 41 \pm 23 | 41 \pm 15 (85%) | 38 \pm 17 (93%) | 37 \pm 31 (77%) | 29 \pm 22 (71%) |
| IgG (ng/ml) | 1.9 \pm 1.1 | 1.3 \pm 0.28 | 1.9 \pm 1.5 (100%) | 1.5 \pm 1.0 (115%) | 1.00 \pm 0.94 (53%) | 0.79 \pm 0.79 (61%) |
| IFN- γ (ng/ml) | 6.7 \pm 3.8 | 検出限界 以下 | 8.5 \pm 3.4 (127%) | 検出限界 以下 | 3.8 \pm 1.2 (57%) | 検出限界 以下 |
| IL-4 (pg/ml) | 25 \pm 2.8 | 検出限界 以下 | 22 \pm 0.89 (88%) | 検出限界 以下 | 21 \pm 1.1 (84%) | 検出限界 以下 |
| IL-6 (pg/ml) | 2.9 \pm 0.61 | 6.9 \pm 2.0 | 3.0 \pm 0.81 (103%) | 7.4 \pm 2.6 (107%) | 2.7 \pm 0.44 (93%) | 4.3 \pm 1.1 (62%) |
| IL-10 (pg/ml) | 11 \pm 7.8 | 検出限界 以下 | 14 \pm 15 (127%) | 検出限界 以下 | 14 \pm 12 (127%) | 検出限界 以下 |

30

40

【 0 0 2 7 】

表 3 に示す結果のとおり、ラクトスクロースは、用量依存的にパイエル板細胞からの IgA 及び IgG の産生量を増加させ、加えて、IL-6 や TGF- β などの IgA の分泌を促進するサイトカインも産生促進した。この結果は、ラクトスクロースはパイエル板細胞に対して IgA の分泌促進作用を有することを示している。一方、表 4 に示すとおり、腸間膜リンパ節においては、IgA や各種サイトカインの産生量の増加は認められなかった。以上から、ラクトスクロースによる腸管免疫機能の増強効果は、主にパイエル板細胞

50

が関与して発揮されるものであると考えられる。

【0028】

<実験4：血清中における抗体産生>

ラクトスクロースが全身性免疫に関与するかを、抗体の血清レベルを測定することにより調べた。実験1と同様にして、6週齢雌性BALB/cマウスを、実験1で用いた標準精製飼料(AIN-93G)で1週間予備飼育した後、上記精製飼料に、市販のラクトスクロース含有糖質(商品名『乳果オリゴ700』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース71.4%(w/w)含有)を配合して、ラクトスクロース含量を2%(w/w)又は5%(w/w)とした試験飼料(ラクトスクロース含有糖質の質量分を、コーンスターチから減じた)を1群5乃至7匹のマウスに自由摂食させた。また、対照として、ラクトスクロースを配合しない標準精製飼料(AIN-93G)を与えたマウスを用意した。試験飼料を与え始めてから10日後に抗原として20 μ gの卵白アルブミン(OVA)(シグマ社販売、グレードV)及び免疫アジュバントとして4.5mgのアラム(登録商標『Imject』、ピアス社製)を腹腔内投与することで抗原感作し、その15日後に再度同様に抗原感作した。2回目の感作から1、2又は3週間後に、マウスの尾静脈から採血し、遠心分離により血清を採取し、OVAに対するIgE量をEIA法で測定した。また、IgG1またはIgG2aについては、2回目の抗原感作から2週間後に採取した血清中の抗体量を測定した。なお、IgE抗体価及びIgG2a抗体価はキャプチャーEIA法により、IgG1抗体価はインダイレクトEIA法により測定した。標準血清には、抗OVAマウス血清(IgE:1,760U/ml、IgG1:128,000U/ml、IgG2a:7,040U/ml)を使用し、作成した検量線により検体の各抗体価を算出した。2回目の抗原感作から1、2又は3週間後のIgE量を表5に、2回目の抗原感作から2週間後のIgG1又はIgG2a量を表6に示す。なお、表中の括弧内のパーセント数値は対照のマウスの血清中の各抗体濃度に対する相対値を表す。

【0029】

【表5】

| | 抗OVA-IgE (U/ml) | | |
|--------------|-----------------|------------------------|-----------------------|
| | 対照 | 2%(w/w) ラクトスクロース | 5%(w/w) ラクトスクロース |
| 2回目の感作から1週間後 | 310 \pm 43 | 270 \pm 160 (87%) | 290 \pm 77 (94%) |
| 2回目の感作から2週間後 | 260 \pm 30 | 150 \pm 35 (58%) | 120 \pm 32 (46%) |
| 2回目の感作から3週間後 | 210 \pm 38 | 110 \pm 62 (52%) | 160 \pm 57 (48%) |

【0030】

【表6】

| | 対照 | 2%(w/w) ラクトスクロース | 5%(w/w) ラクトスクロース |
|-------------------------------------|---------------|------------------------|------------------------|
| 抗OVA-IgG1 ($\times 10^4$ U/ml) | 40 \pm 18 | 27 \pm 10 (68%) | 28 \pm 7.5 (70%) |
| 抗OVA-IgG2a ($\times 10^4$ U/ml) | 9.8 \pm 7.0 | 4.0 \pm 3.4 (41%) | 4.8 \pm 3.8 (49%) |

10

20

30

40

50

【0031】

表5の結果が示すとおり、2回目の感作から1週間後には、ラクトスクロースの摂取の有無に関係なく多量の抗OVA-IgEが分泌したが、感作から2週間後と比較すると抗OVA-IgEの血清レベルがラクトスクロース摂取群において有意に低下することが判明した。また、表6の結果が示すとおり、2回目の感作から2週間後のIgG1およびIgG2aの血清レベルについてもラクトスクロース摂取群の方が有意に低下したことから、ラクトスクロースはアラムアジュバントで免疫した抗原(OVA)に対する、宿主の免疫応答を抑制する作用を有しており、抗OVA-IgEの血清レベルを減少させたものと推測される。したがって、ラクトスクロースは全身性免疫に対して抑制的に作用し、アレルギーなどの過剰な免疫応答を抑制する作用を発揮するものと考えられる。

10

【0032】

<実験5：血清中における抗体産生(Cryj1)>

スギ花粉症の治療又は予防にラクトスクロースの摂取が有効かどうかを調べるために、スギ花粉抗原Cryj1により惹起されるIgE産生に対する抑制効果を調べた。すなわち、OVAの代わりにCryj1(商品名『精製スギ花粉アレルゲンCryj1』、生化学工業株式会社販売)20μgを投与する以外は実験4におけると同様の方法により実験を行い、2回目の感作から1週間後又は2週間後の抗Cryj1-IgE量を測定した。また、同時に、2回目の感作から2週間後の抗Cryj1-IgG1の測定も行った。抗Cryj1-IgE量及び抗Cryj1-IgG1の測定は、固相に「精製スギ花粉抗原Cryj1-Biotin」(生化学工業株式会社販売)を用いる以外は実験4と同様にして行った。IgEについての結果を表7に、IgG1についての結果を表8に示す。

20

【0033】

【表7】

| | 抗Cryj1-IgE(U/ml) | | |
|--------------|------------------|------------------|------------------|
| | 対照 | 2%(w/w)ラクトスクロース | 5%(w/w)ラクトスクロース |
| 2回目の感作から1週間後 | 802±91.4 | 351±277 (44%) | 620±157 (77%) |
| 2回目の感作から2週間後 | 1060±281 | 239±180 (23%) | 404±114 (38%) |

30

【0034】

【表8】

| | 対照 | 2%(w/w)ラクトスクロース | 5%(w/w)ラクトスクロース |
|--|-----------|--------------------|--------------------|
| 抗Cryj1-IgG1 (×10 ⁴ U/ml) | 12.9±3.81 | 10.3±6.01 (80%) | 7.51±2.89 (58%) |

40

【0035】

表7の結果から明らかなように、スギ花粉抗原Cryj1で2回目の感作により対照群のマウスの抗Cryj1-IgE抗体の血清レベルは急激に増加し、1週間後では800U/ml、2週間後では1,000U/mlを越えるところ、2%(w/w)ラクトスクロース摂取群では44%(1週間後)、さらには23%(2週間後)にまで抑制された。なお、5%(w/w)ラクトスクロース摂取群での抑制効果は、2%(w/w)ラクトスクロース摂取群よりも劣る結果であったが、統計的な有意差は無く、誤差の範囲であると

50

考えられた。また、表 8 の結果から明らかなように、ラクトスクロース投与群は抗 C r y j 1 - I g G 1 抗体の血清レベルが低下しており、免疫応答が抑制されていると考えられた。

【 0 0 3 6 】

< 実験 6 : 脾臓におけるサイトカイン産生 >

ラクトスクロースの全身性免疫への影響を調べるために、脾臓細胞におけるサイトカイン産生能について調べた。実験 4 において、2 回目の感作から 2 週間後のマウス (ラクトスクロース投与群及び対照群) からそれぞれ脾臓を摘出し、脾細胞を細胞濃度 1×10^7 個 / m l に調製した後、それを 24 ウェルプレートに播種した。50 μ g / m l の O V A を添加してから 2 日後或いは 4 日後に培養上清中の I F N - 、インターロイキン - 2 (I L - 2)、I L - 4、インターロイキン - 5 (I L - 5)、I L - 10 をそれぞれに対する抗体 (全て B D - ファーミンゲン社販売) を用いた常法の E I A 法で測定した。結果を表 7 に示す。表中の括弧内のパーセント数値は対照のマウスの脾細胞から産生された各サイトカイン濃度に対する相対値を表す。

10

【 0 0 3 7 】

【表 9】

| | 対照 | | 5%(w/w)ラクトスクロース | |
|--------------------------|-----------------|----------------|---------------------------|--------------------------|
| | 2日後 | 4日後 | 2日後 | 4日後 |
| IFN- γ (IU/ml) | 0.97 \pm 0.37 | 3.3 \pm 0.69 | 1.1 \pm 0.19 (113%) | 2.9 \pm 0.91 (88%) |
| IL-2 (pg/ml) | 370 \pm 110 | - | 290 \pm 160 (78%) | - |
| IL-4 (pg/ml) | 30 \pm 9.1 | 98 \pm 29 | 32 \pm 10 (107%) | 62 \pm 31 (63%) |
| IL-5 (ng/ml) | - | 1.6 \pm 0.41 | - | 1.3 \pm 0.32 (81%) |
| IL-10 (ng/ml) | 0.66 \pm 0.12 | 2.2 \pm 0.39 | 0.83 \pm 0.27 (126%) | 2.7 \pm 0.32 (123%) |

20

(表中、「-」は測定していないことを示す。)

【 0 0 3 8 】

表 9 に示す結果から、ラクトスクロースは、O V A により感作したマウスの脾細胞における I F N - 、I L - 2、I L - 4 及び I L - 5 の産生を抑制したことから、T h 1 及び T h 2 の両方を抑制する作用を有していることが示唆された。一方、他のサイトカインの産生は抑制傾向にあるにもかかわらず、I L - 10 量のみがやや増加した。この結果は、ラクトスクロースは、全身性免疫を抑制傾向に誘導すること、及び、この免疫抑制は制御性 T 細胞が関与していることを示している。以上から、ラクトスクロースは、全身性免疫においては、過度の免疫反応を抑制する作用を有しており、各種アレルギー症及び自己免疫疾患の予防又は治療に有利に利用できる。

30

40

【 0 0 3 9 】

< 実験 7 : O V A による I g E 誘導抑制 >

アレルギー患者へのラクトスクロースの適用を考慮し、既に O V A により感作され、O V A アレルギー状態になっているマウスを作製し、これにラクトスクロースを摂取させる実験系において、O V A に暴露させた際の抗 O V A - I g E 抗体の産生抑制効果を調べた。すなわち、6 週齢雌性 B A L B / c マウス (1 群 5 匹) を、実験 1 で用いた標準精製飼料 (A I N - 9 3 G) で 1 週間予備飼育した後、実験 4 と同様に 20 μ g の O V A と 4 . 5 m g のアラムを腹腔内投与し、上記標準精製飼料を与えて 2 週間飼育した後、1 回目と同様にして O V A とアラムの 2 回目の投与をした。2 週間後、実験 1 で使用した 2 % (w / w) 又は 5 % (w / w) ラクトスクロースが配合された試験飼料を 6 週間与え、I g E

50

抗体量を測定し、OVAアレルギー状態になっていることを確認した後、1回目と2回目と同様にしてOVAとアラムを投与した。試験飼料で2週間飼育した後、血液を採取し、実験4と同様の方法で抗OVA-IgE、抗OVA-IgG1及び抗OVA-IgG2aの濃度を測定した。結果を表10に示す。

【0040】

【表10】

| | 対照 | 2%(w/w)ラクトスクロース | 5%(w/w)ラクトスクロース |
|---------------------------------------|-----------|---------------------|--------------------|
| 抗OVA-IgE (U/ml) | 2020±655 | 1450±561 (72%) | 1250±264 (62%) |
| 抗OVA-IgG1 (×10 ⁴ U/ml) | 611±129 | 678±176 (111%) | 365±35.1 (60%) |
| 抗OVA-IgG2a (×10 ⁴ U/ml) | 10.3±2.83 | 12.4±5.02 (120%) | 5.77±1.93 (56%) |

10

20

【0041】

表10の結果から明らかとなり、3回目のOVA感作により、抗OVA-IgE抗体の血清レベルは、約100U/mlから約2000U/mlに急激に増加した。一方、ラクトスクロース投与群は、62%乃至72%に抑制され、ラクトスクロースはアレルギー症状を緩和する作用を有していると考えられた。また、抗OVA-IgG1及び抗OVA-IgG2aについては、5%(w/w)ラクトスクロース投与群において約半分に抑制されており、免疫応答が抑制されていることが示唆された。この結果は、ラクトスクロースをあるアレルゲンに対してアレルギー状態にあるアレルギー症患者に投与すると、当該アレルゲンに再度暴露された際のIgE抗体の産生を抑制し、アレルギー症状を緩和する作用を有することを示している。

30

【0042】

<実験8：スギ・ヒノキ花粉症の臨床症状の抑制>

実験4乃至7において、ラクトスクロースの摂取によりアレルギーの発症に関与するIgEやサイトカイン類の産生が抑制されることが確認されたので、ラクトスクロース摂取によるスギ・ヒノキ花粉症の臨床症状に対する抑制効果を調べる試験を実施した。すなわち、過去2乃至3年間において、スギ花粉・ヒノキ花粉の飛散時期（各年の2乃至5月）に、鼻や眼などにアレルギー症状があったと自己判断したボランティアを被験者として募集した。応募のあったボランティアに対して、花粉症診断のガイドライン（鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会作成、『鼻アレルギー診療ガイドライン - 通年性鼻炎と花粉症 - 2005年度版』、株式会社ライフ・サイエンス発行、第20乃至24頁（2006年）参照）等を参考にして、過去2乃至3年間の鼻及び眼の臨床症状について問診を行い、その結果に基づいて、スギ・ヒノキ花粉症と考えられる40名を被験者として選定した。被験者の臨床症状をスコア化して群間で差がでないように2群に分け、無作為にラクトスクロース摂取群（ラクトスクロースとして3gを毎日摂取）と対照摂取群に割り付けた。被験物質として、予め、ラクトスクロース含有水飴（商品名『乳果オリゴ700』、固形分76%(w/w)）、株式会社林原商事販売、固形物換算で、ラクトスクロース71.5%(w/w)、スクロース13.7%(w/w)、ラクトース7.5%(w/w)、その他の糖7.3%(w/w)含有)を、アルミピローの容器にラクトスクロースが3gとなるように小分（ラクトスクロース含有水飴として約6g）して、ラクトスクロー

40

50

ス摂取群として割り付けた被験者に渡した。同様に、砂糖混合異性化液糖（商品名『コーンシュガー A-33』、三和澱粉工業株式会社販売、固形分約75%（w/w）、固形物換算で、スクロース33.5%（w/w）、グルコース33.7%（w/w）、フラクトース29.2%（w/w）含有）を、1容器当たりの固形分量がラクトスクロース含有水飴を小分けした場合と同一となるように小分（砂糖混合異性化液糖として約6g）して、対照摂取群として割り付けた被験者に渡した。スギ花粉が飛散しはじめる前の2007年1月16日に、被験物質の摂取を開始（0週）し、以後、毎日1回18週間、任意の時間に、小分けした容器1個分の被験物質を摂取させた。被験物質の摂取方法は任意とし、小分けした容器からそのまま摂取しても、他の飲食品と混合して摂取しても可とした。試験は二重盲検法により実施し、被験者に対しては、被験物質を摂取する以外に制限は行わず、抗アレルギー剤を含む薬物の使用も自由とした。被験物質の摂取によるアレルギー症状抑制の評価のために、被験物質摂取開始の1週間前（アンケートは被験物質摂取開始日（0週）に実施）から摂取終了の2週間後まで、21週間に渡り、毎週1回、その週における鼻及び眼の臨床症状、並びに、日常生活の支障度に関するアンケートを行った。ラクトスクロース摂取群と対照摂取群のそれぞれのアンケート結果を基に、その摂取による効果を、試験期間中に使用した薬物（抗アレルギー剤等）によるアレルギー症状抑制効果も勘案してスコア化し、鼻、眼及び日常生活の支障度の経時変化を、各々図1乃至3に示す。なお、インターネットに掲載された花粉の飛散情報等（例えば、環境省花粉情報サイト参照）から、本試験期間における試験実施地域（岡山県南部）でのスギ花粉の飛散開始日は2007年2月9日、飛散のピークは3月初旬、飛散の終了は3月末、ヒノキ花粉の飛散開始日は2007年3月27日、飛散の終了は4月末と判断したので、本試験における被験物質摂取は、スギ花粉飛散の約3週間前からとなった。また、アンケート結果のスコア化は、下記方法により行い、試験期間中の被験者の健康状態を合わせてモニターし、風邪などの花粉症以外の原因により、花粉症と類似の臨床症状や日常生活に支障が発生したと判断した期間中は、当該被験者を本試験のスコア集計から除外した。また、試験期間中に、試験地域以外の、花粉飛散量の大きく異なる複数の地域に滞在したラクトスクロース摂取群の被験者1名は、臨床症状や日常生活の支障度のスコアが滞在地の違いにより大きく変化したため、スコアの集計から除外した。

【0043】

<アンケート結果に基づく鼻及び眼の臨床症状のスコア化方法>

日本アレルギー学会提唱の方法（大久保公裕ら、『アレルギーの領域』、第5巻、第11号、第1491乃至1499頁（1998年）参照）に従い、鼻の臨床症状については表11に示す判定基準に基づきアンケート結果を解析し、表12に示す基準によりスコア化した。また、眼の臨床症状については、表13に示す判定基準に基づきアンケート結果を解析し、表14に示す基準によりスコア化した。

<試験期間中に使用した薬物のスコア化方法>

アンケート結果には、試験期間中に異なる薬物を使用している被験者のアレルギー症状が含まれているので、その薬物によるアレルギー症状の抑制効果を反映させて比較するために、個々の薬物を、日本アレルギー学会提唱の方法（Y. Ishida、『Biosci. Biotechnol. Biochem.』、第69巻、第9号、第1652乃至1660頁（2005年）及び鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会作成、『鼻アレルギー診療ガイドライン - 通年性鼻炎と花粉症 - 2005年度版』、株式会社ライフ・サイエンス発行、第24乃至27頁（2006年）参照）に従い、表15に示す基準によりスコア化した。

<薬物によるアレルギー症状抑制効果を勘案した臨床症状のスコア化方法>

薬物によるアレルギー症状抑制効果を勘案した臨床症状のスコア化は、鼻又は眼の臨床症状のスコアと薬物のスコアとを合計したスコアとした。

<日常生活の支障度のスコア化方法>

鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会作成、『鼻アレルギー診療ガイドライン - 通年性鼻炎と花粉症 - 2005年度版』、株式会社ライフ・サイエンス発行、第24乃至

10

20

30

40

50

至27頁(2006年)参照)に従い、仕事、勉学、家事、睡眠、外出などの日常生活を営む上での支障の程度を、表16に示す基準によりスコア化した。

【0044】

【表11】

| 程度 種類 | ++++ | +++ | ++ | + | - |
|--------------------|--------------|---------------------|--------------------|-------------|--------|
| くしゃみ (1日の発作回数) | 21回以上 | 11~20回 | 6~10回 | 1~5回 | 0 |
| 鼻汁 (1日に鼻をかんだ回数) | 21回以上 | 11~20回 | 6~10回 | 1~5回 | 0 |
| 鼻閉 | 1日中完全に詰まっている | 鼻閉が強く口呼吸が1日のうちかなりあり | 鼻閉が強く口呼吸が1日のうち時々あり | 口呼吸はないが鼻閉あり | 鼻詰まりなし |

10

【0045】

【表12】

| 程度および重症度 | | くしゃみ発作または鼻汁※ | | | | |
|----------|------|--------------|-----|----|----|----|
| | | ++++ | +++ | ++ | + | - |
| 鼻 閉 | ++++ | 4点 | 4点 | 4点 | 4点 | 4点 |
| | +++ | 4点 | 3点 | 3点 | 3点 | 3点 |
| | ++ | 4点 | 3点 | 2点 | 2点 | 2点 |
| | + | 4点 | 3点 | 2点 | 1点 | 1点 |
| | - | 4点 | 3点 | 2点 | 1点 | 0点 |

20

※くしゃみか鼻汁の強い方を採用する

【0046】

【表13】

| 程度 種類 | ++++ | +++ | ++ | + | - |
|----------|------------|-----------|----------|-------------|----|
| 眼のかゆみ | +++より頻度が高い | たびたび眼をこする | ときに眼をこする | 眼をこするほどではない | なし |
| なみだ | +++より頻度が高い | たびたび涙を拭く | ときに涙を拭く | 涙を拭くほどではない | なし |

30

【0047】

【表14】

| 程度および重症度 | 眼のかゆみまたは涙※ | | | | |
|----------|------------|-----|----|----|----|
| | ++++ | +++ | ++ | + | - |
| | 4点 | 3点 | 2点 | 1点 | 0点 |

40

※眼のかゆみか涙の強い方を採用する

【0048】

【表 15】

| 種 類 | 点 数 |
|--------------------|-----|
| 第1、第2世代抗ヒスタミン薬 | 1点 |
| 化学物質遊離抑制薬 | 1点 |
| 局所血管収縮薬 | 1点 |
| 局所抗コリン薬 | 1点 |
| 局所ステロイド剤 | 2点 |
| 経口ステロイド薬・抗ヒスタミン薬合剤 | 3点 |
| 特異的免疫療法（維持量前） | 1点 |
| 特異的免疫療法（維持量後） | 3点 |

10

【0049】

【表 16】

| 程度 種類 | ++++ | +++ | ++ | + | - |
|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|-----|
| 日常生活の 支障度* | 全くできない | 手につかない ほど苦しい | +++と +との中間 | あまり差し支 えない | +未満 |
| 点数 | 4点 | 3点 | 2点 | 1点 | 0点 |

20

※仕事、勉強、家事、睡眠、外出などへの支障

【0050】

図 1 乃至 3 の結果が示すとおり、対照摂取群では、被験物質摂取開始 4 週から、経時的に鼻及び眼の臨床症状、並びに、日常生活の支障度のスコアが上昇し、鼻の臨床症状のスコアは被験物質摂取開始 8 週をピークに 11 週まで下降後、15 週までほぼ同じスコアで推移し、その後さらに降下した。眼の臨床症状のスコアは被験物質摂取開始 7 週をピークに下降した。また、日常生活の支障度のスコアは被験物質摂取開始 8 週をピークに 12 週まで下降後、15 週までほぼ同じスコアで推移し、その後さらに降下した。これに対して、ラクトスクロース摂取群では、これらのスコアが、何れも、被験物質摂取開始 5 週から経時的に上昇したものの、対照摂取群に較べて、臨床症状及び日常生活の支障の発生が 1 週間遅延した。鼻の臨床症状のスコアは、被験物質摂取開始 7 週をピーク 9 週まで下降後、17 週までほぼ同じスコアで推移し、その後さらに降下した。眼の臨床症状のスコアは、被験物質摂取開始 8 週をピークに下降した。また、日常生活の支障度のスコアは被験物質摂取開始 7 週をピークに 10 週まで下降後、17 週までほぼ同じスコアで推移し、その後さらに下降した。また、対照摂取群とラクトスクロース摂取群の各スコアの程度を比較すると、鼻の臨床症状のスコアは、被験物質摂取開始 3 週までは、ラクトスクロース摂取群と対照摂取群とで差はないものの、被験物質摂取開始 4 乃至 10 週は、ラクトスクロース摂取群の方が対照摂取群よりも低く推移し、その後は両群に差は認められなかった。眼の臨床症状及び日常生活の支障度のスコアは、ほぼ全試験期間を通して、ラクトスクロース摂取群の方が対照摂取群よりも低く推移した。

30

40

【0051】

この結果は、対照摂取群ではスギ花粉の飛散開始直後（被験物質摂取開始 4 週）から花粉症の症状が発現し、砂糖混合異性化液糖の摂取は、花粉症の症状に対する抑制効果のないことを示している。これに対して、ラクトスクロース摂取群（ラクトスクロース 3 g を毎日摂取）では、対照摂取群よりも、スギ花粉飛散開始後のアレルギー症状の発現時期が遅れると共に、スギ花粉の飛散終了とほぼ同時に始まったヒノキ花粉の飛散時期を含めて、発現した臨床症状や日常生活の支障度のスコアが低く維持されており、ラクトスクロースの経口摂取は、スギ・ヒノキ花粉などによる花粉症の臨床症状を緩和し、日常生活の支障を改善するために利用できることを示している。なお、試験の後半に、前半と較べて両

50

群の各スコアの差が減少乃至無くなっているのは、ヒノキ花粉の飛散量が減少し、鼻や目の臨床症状及び日常生活の支障が、前半に較べて全般的に低くなったためと考えられる。また、本試験における被験者の各スコアは、スギ花粉の飛散開始（被験物質摂取開始4週）、ピーク（被験物質摂取開始7週）、終了（被験物質摂取開始11週）、ヒノキ花粉の飛散開始（被験物質摂取開始11週）、及び、終了（被験物質摂取開始15週）時期と相関して推移しているため、スギ・ヒノキ花粉の飛散量と、アレルギー症状の程度や日常生活の支障度との関係を的確に反映していると判断した。

【0052】

以下、実施例で本発明の詳細を示すが、本発明は何ら実施例に限定されるものではない。

10

【実施例1】

【0053】

<甘味料>

ラクトスクロース含有糖質（商品名『LS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算でラクトスクロース約90%（w/w）含有）1質量部に、 α -グルコシルステビオシド（商品名『G-スイート』、東洋精糖株式会社販売）0.05質量部を均一に混合し、顆粒成形機にかけて、顆粒状甘味料を得た。本品は、低カロリー甘味料として、カロリー摂取を制限している肥満者、糖尿病患者などのための低カロリー飲食物などに対する甘味付けに好適であり、経口摂取により、免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品としても有用である。

20

【実施例2】

【0054】

<健康食品>

ガムベース2質量部を柔らかくなる程度に加熱融解し、これにマルトース粉末2質量部、ショ糖（砂糖）粉末4質量部及び実施例1で得た甘味料1質量部を加え、更に適量のハッカ香料と着色料とを混合した後、常法にしたがってロールにより練り合わせ、成形することによってチューインガムを得た。本品は、風味良好なチューインガムであり、経口摂取により免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品として有用である。

【実施例3】

【0055】

<経口流動健康食>

下記の成分を配合し、経口流動食を得た。

ラクトスクロース含有糖質（商品名『LS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算でラクトスクロース約90%（w/w）含有）

| | | |
|-------------|---------|----|
| | 2 質量部 | |
| 脱脂粉乳 | 4 3 質量部 | |
| 全粉乳 | 1 2 質量部 | |
| 水飴 | 4 1 質量部 | |
| グルコース | 3 質量部 | |
| ビタミンA | 適量 | 40 |
| ビタミンD | 適量 | |
| 塩酸チアミン | 適量 | |
| リボフラビン | 適量 | |
| 塩酸ピリドキシン | 適量 | |
| シアノコバラミン | 適量 | |
| 酒石酸水素コリン | 適量 | |
| ニコチン酸アミド | 適量 | |
| パントテン酸カルシウム | 適量 | |
| アスコルビン酸 | 適量 | |
| 酢酸トコフェロール | 適量 | 50 |

| | |
|------------|----|
| 硫酸鉄 | 適量 |
| リン酸水素カルシウム | 適量 |
| アラビアゴム | 適量 |

本品を適量の水に溶解し、経口摂取すれば、通常の食事の摂取ができない患者の栄養補給が可能で、免疫機能が調節され、患者の良好な回復が期待できる。

【実施例 4】

【0056】

<健康食品>

下記の成分を均一に混合した後、直径6mmの杵を装着した打錠機により打錠して、1錠が約200mgの錠剤を得た。本品は風味良好であり、摂取すれば免疫機能を調節するので、健康を維持、増進する健康食品として有用である。

ラクトスクロース含有糖質（商品名『乳果オリゴ550』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース55%（w/w）以上含有）

| | | |
|--|--------|----|
| | 40 質量部 | |
| 天然珊瑚粉末 | 20 質量部 | |
| 乳酸カルシウム | 10 質量部 | |
| 粉末ヨーグルト | 10 質量部 | |
| グアーガム | 12 質量部 | |
| L-アスコルビン酸2-グルコシド（商品名『AA2G』、株式会社林原商事販売） | 3 質量部 | 20 |

糖転移ヘスペリジン（商品名『Gヘスペリジン』、株式会社林原商事販売）

0.5 質量部

【実施例 5】

【0057】

<健康食品>

下記の材料を配合し、常法にしたがってチーズクラッカーを製造した。

| | | |
|---------|---------|----|
| 小麦粉 | 100 質量部 | |
| 油脂 | 9 質量部 | |
| 麦芽エキス | 1.3 質量部 | |
| 重曹 | 0.6 質量部 | 30 |
| チーズパウダー | 13 質量部 | |

ラクトスクロース含有糖質（商品名『乳果オリゴ700』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース約70%（w/w）含有）

| | |
|----------|---------|
| | 2 質量部 |
| 砂糖 | 2 質量部 |
| 食塩 | 1 質量部 |
| 炭酸アンモニウム | 0.6 質量部 |
| スパイス | 適量 |
| 水 | 33 質量部 |

本品は、風味良好であり、経口摂取すれば免疫機能を調節するので、健康を維持、増進する健康食品として有用である。

【実施例 6】

【0058】

<健康食品>

カカオペースト40質量部、カカオバター10質量部、砂糖20質量部、ラクトスクロース含有糖質（商品名『乳果オリゴ700』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース約70%（w/w）含有）30質量部を混合してレファイナーに通して粒度を下げた後、コンチェに入れて50で2日間練り上げた。この間に、レシチン0.5質量部を加え十分に混和分散させた。次いで、温度調節機で31に調節し、バターが固まる直前に型に流し込み、振動機でアワ抜きを行い、10の冷却トンネルを20分間くぐ

10

20

30

40

50

らせて固化させた。これを型抜きして包装しチョコレートを得た。本品は、吸湿性がなく、色、光沢共によく、内部組織も良好で、口内でなめらかに溶け、上品な甘味とまるやかな風味を有するチョコレートであり、経口摂取により免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品として有用である。

【実施例 7】

【0059】

<健康食品>

ヨーグルト100質量部、ラクトスクロース含有糖質（商品名『乳果オリゴ550』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース55%（w/w）以上含有）50質量部、トレハロース10質量部、ヨーグルトフレーバー0.25質量部及びレモンエッセンス0.1質量部に水を加えて全体を1,000質量部とする配合で、常法に従って、ヨーグルト飲料を製造した。本品は、風味が豊かで、かつ、腸内の菌叢を整える整腸機能に優れたヨーグルトであり、免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品として有用である。

10

【実施例 8】

【0060】

<健康食品>

ラクトスクロース含有糖質粉末（商品名『乳果オリゴLS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算でラクトスクロース約90%（w/w）含有）70質量部、エリスリトール10質量部、ローヤルゼリー抽出物（株式会社林原生物化学研究所販売、商品名「林原ローヤルゼリーX」）20質量部、コエンザイムQ₁₀10質量部、アスコルビン酸2-グルコシド（株式会社林原商事、商品名「アスコフレッシュ」）10質量部、ビタミンB₁1質量部、ビタミンB₂1質量部、ビタミンB₆1質量部、オレンジパウダー0.5質量部、レモンエッセンス0.1質量部を混合し、乾燥後、整粒して、2gずつ分包して健康食品を製造した。本品は、風味が豊かで、かつ、腸内の菌叢を整える整腸機能に優れ、且つ、免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品として有用である。また、本品は免疫調節作用があることを標榜して、免疫調節剤として販売することもできる。

20

【実施例 9】

【0061】

<健康食品>

ラクトスクロース含有糖質粉末（商品名『乳果オリゴLS-90P』、塩水港精糖株式会社販売、固形物換算でラクトスクロース90%（w/w）含有）50質量部、バラ花びら抽出物30質量部、ローヤルゼリー抽出物（株式会社林原生物化学研究所販売、商品名「林原ローヤルゼリーX」）3質量部、黄杞葉抽出物3質量部、甜茶抽出物3質量部、含水結晶、
-トレハロース（株式会社林原商事販売、商品名「トレハ」）7質量部、乳化剤（シヨ糖脂肪酸エステル）3質量部、粗製海水塩化マグネシウム1質量部を混合し、乾燥後、整粒して、2gずつ分包して健康食品を製造した。本品は、風味が豊かで、かつ、腸内の菌叢を整える整腸機能に優れ、且つ、免疫機能を調節できるので、健康を維持・増進する健康食品として有用である。また、本品は免疫調節作用があることを標榜して、免疫調節剤として販売することもできる。

30

40

【実施例 10】

【0062】

<産卵鶏用飼料>

下記成分の市販の産卵鶏用飼料に、ラクトスクロース含有糖質（商品名『乳果オリゴ550』、株式会社林原商事販売、固形物換算でラクトスクロース55%（w/w）以上含有）を、飼料中のラクトスクロース含量が0.5%（w/w）になるように混合して、ラクトスクロース含有鶏用飼料を製造した。

トウモロコシ

54.8質量部

大豆粕

12.6質量部

50

| | |
|-----------------------|---------|
| 菜種粕 | 3.2 質量部 |
| マイロ | 7.0 質量部 |
| 炭酸カルシウム | 8.5 質量部 |
| グルテンミール | 3.5 質量部 |
| グルテンフィード | 2.0 質量部 |
| 魚粕 | 2.5 質量部 |
| 動物性油脂、食塩、ビタミン、ミネラル類など | 5.9 質量部 |

本品は、ニワトリ用の飼料として有用であり、特に、高温、低温などの環境ストレスにより免疫力の低下したニワトリに対して腸管免疫を増強させるので、夏期、冬期を問わず、ウイルスや細菌等の感染症を予防し、ニワトリの健康を維持・増進することができる。したがって、ニワトリの体力消耗を防止し、産卵率の低下を防止することができる。

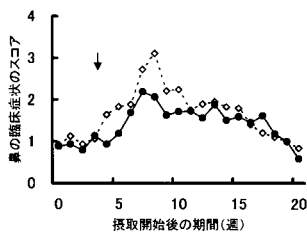
10

【産業上の利用可能性】

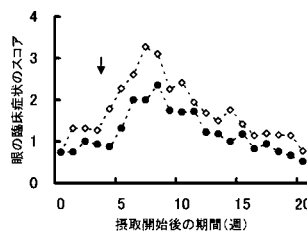
【0063】

叙述のとおり、本発明の免疫調節剤は、副作用がなく、日常的に経口摂取することによって、免疫機能を調節するので、食中毒などの感染症、アレルギー症、自己免疫疾患などを予防又は治療することができる。また、乳酸菌やビフィズス菌などの有用な腸内細菌を増加させ、腸内環境を改善するので、健康の維持、増進に適している。

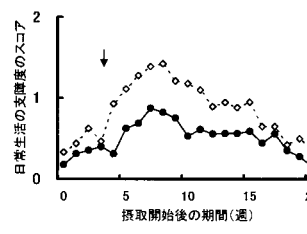
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

審査官 伊藤 幸司

- (56)参考文献 特開2001-064181(JP,A)
特開平11-124390(JP,A)
特開2006-149371(JP,A)
特開平06-038707(JP,A)
特開平04-281795(JP,A)
特開平03-290197(JP,A)
特開平03-027285(JP,A)
特開平10-265390(JP,A)
特開2006-006257(JP,A)
特開2003-334030(JP,A)
特開2005-211077(JP,A)
特開2002-325555(JP,A)
特開2003-040779(JP,A)
国際公開第2006/035979(WO,A1)
国際公開第2004/111067(WO,A1)
国際公開第2006/011301(WO,A1)
国際公開第2005/039597(WO,A1)
国際公開第2002/038146(WO,A1)
医学書院 医学大辞典, 2003年 3月 1日, 第791頁, 「好酸球」

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K
A23K
A23L
A61P
CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN)