

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015年2月19日(19.02.2015)



(10) 国際公開番号

WO 2015/022962 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/198 (2006.01) A61K 31/4172 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)
A61K 31/401 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2014/071301

(22) 国際出願日: 2014年8月12日(12.08.2014)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2013-168690 2013年8月14日(14.08.2013) JP

(71) 出願人: 株式会社明治(MEIJI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1368908 東京都江東区新砂1丁目2番10号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 山口 真(YAMAGUCHI Makoto); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 高井 祥子(TAKAI Shoko); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 上田 啓輔(UEDA Keisuke); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP).

部内 Kanagawa (JP). 津田 悠一(TSUDA Yuichi); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 岩澤 佳緒里(IWASAWA Kaori); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 横山 峰彦(YOKOYAMA Minehiko); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI Yusuke et al.); 〒1056232 東京都港区愛宕2丁目5番1号 愛宕グリーンヒルズMORIタワー32階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,

[続葉有]

(54) Title: LIPID METABOLISM ACCELERATOR

(54) 発明の名称: 脂質代謝促進剤

【図1】

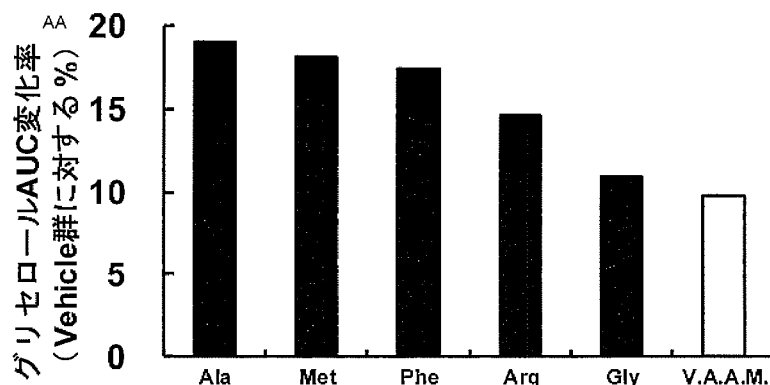


Fig. 1
AA Rate of change in glycerol AUC (% with respect to vehicle group)

(57) Abstract: A lipid metabolism accelerator containing an amino acid mixture comprising at least two amino acids selected from the group consisting of arginine, alanine and phenylalanine, wherein the two or more amino acids are contained in a molar ratio of at least 60 mol. in total in relation to 100 mol. of the total quantity of amino acids.

(57) 要約: アルギニン、アラニン、およびフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも2つのアミノ酸を含むアミノ酸混合物を含有し、かつ前記少なくとも2つのアミノ酸をそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して60モル以上のモル比で含む、脂質代謝促進剤。

WO 2015/022962 A1



MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラ
シア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッ
パ (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),

OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：脂質代謝促進剤

技術分野

[0001] 本発明は、アルギニン、アラニン、及び／又はフェニルアラニンを有効成分として高濃度に含有する脂質代謝促進剤に関する。

背景技術

[0002] 食生活やライフスタイルの欧米化に伴い、肥満人口は増加の一途をたどっている。厚生労働省「国民健康・栄養調査結果の概要（２０１０）」によると、日本人の肥満の割合は男性３０．４％、女性２１．１％となっている。さらに、推計２３００万人に達している肥満人口のうち約半分にあたる１１００万人が、高血糖や高脂血症、高血圧症、といったメタボリックシンドローム（生活習慣病）を合併しており、生活の質（ＱＯＬ）を大きく低下させている。これらの疾患の予防・改善には、食事量の制限を介した摂取カロリーのコントロールだけではなく、食品中の栄養素による生体調節機能と運動によるエネルギー消費が、近年大いに注目されている（非特許文献１）。

[0003] 近年、アミノ酸の機能性が注目されている。例えば、スズメバチ成虫のエネルギー源となる幼虫の分泌する唾液中のアミノ酸組成を再現したアミノ酸組成物である「Vespa Amino Acid Mixture (V. A. A. M.)」は、摂取後に運動すると、血中リパーゼ活性が上昇して、血中遊離脂肪酸が上昇することなどが知られている（特許文献１～３及び非特許文献２）。また、アラニン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン及びグルタミンを特定のモル比で含有するアミノ酸組成物については、無酸素運動下での体脂肪を運動エネルギー生産に利用するプロセスを促進することなどが知られている（特許文献４）。さらに、インスリン分泌機能を有するアミノ酸を含有する組成物が、運動等による体力の消耗時

におけるスタミナ回復や栄養補給に有用であることも知られている（特許文献5）。その他に、アルギニン、グルタミン、及び分岐鎖アミノ酸を一定量以上含有するアミノ酸組成物（特許文献6）や、アルギニン及びグルタミンを一定量以上含有する、乳幼児用体力増強剤及び運動能力向上剤（特許文献7）も知られている。

先行技術文献

特許文献

- [0004] 特許文献1：特開平4－112825号公報
特許文献2：特開平6－24977号公報
特許文献3：特開平5－127258号公報
特許文献4：特開2004－352696号公報
特許文献5：特開昭61－215323号公報
特許文献6：特開2005－27524号公報
特許文献7：特許第4526047号公報

非特許文献

- [0005] 非特許文献1：河田照雄ら編集、日本栄養・食料学会監修 「肥満と脂肪エネルギー代謝－メタボリックシンドロームへの戦略－」、建帛社、pp. 217－238（2008）
非特許文献2：Tsuchita H et al、Effects of a Vespa amino acid mixture identical to hornet larval saliva on the blood biochemical indices of running rats.、Nutr Res、17（6）、pp. 999－1012（1997）

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明の課題は、より効果的に脂質代謝を促進して体脂肪を効率的に減少

させることができる脂質代謝促進剤を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らは、脂肪の代謝を促進し、体脂肪を効率的に減少させるような素材について鋭意研究を行ったところ、食経験のある主要なアミノ酸である、アルギニン、フェニルアラニン、及びアラニンを高濃度に含有するアミノ酸混合物に高い脂質代謝促進作用及び抗肥満作用があることを見出し、本発明を完成させた。
- [0008] 具体的には、アドレナリンを投与した動物の血中グリセロール変化量をモニターしたところ、従来のアミノ酸組成物よりも、アルギニン、フェニルアラニン、及びアラニンの2つ以上の組合せを高濃度に含有する組成物が脂肪の分解を顕著に促進することを見出した。さらに、高脂肪食を給餌して運動負荷をかけた動物、及び運動負荷をかけたヒトにおいても、脂質代謝促進効果を確認することができた。
- [0009] すなわち、本発明は、以下の態様を包含する。
- [0010] [1] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも2つのアミノ酸を含むアミノ酸混合物を含有し、かつ前記少なくとも2つのアミノ酸をそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して60モル以上のモル比で含む、脂質代謝促進剤。
- [0011] [2] 前記アミノ酸混合物がアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを含有する、上記[1]に記載の脂質代謝促進剤。
- [0012] [3] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを、全アミノ酸量100モルに対し、アルギニン：アラニン：フェニルアラニン＝8～30モル：18～30モル：10～20モルのモル比で含有する、上記[1]又は[2]に記載の脂質代謝促進剤。
- [0013] [4] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの配合量が、(i) アルギニン：アラニン＝1.5：1～1：1.5、(ii) アラニン：フェニルアラニン＝4：1～1：4、及び(iii) アルギニン：フェニルアラニン＝1：1～1：4の少なくとも1つの重量比を満たす、上記[1]～[

3] のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0014] [5] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンをそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して100モルのモル比で含む、上記[1]～[4]のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0015] [6] 前記アミノ酸混合物が、グリシンをさらに含有し、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンをそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して85モル以上のモル比で含む、上記[1]～[4]のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0016] [7] 前記アミノ酸混合物が他のアミノ酸としてプロリン、リジン、チロシン、スレオニン、ロイシン、バリン、イソロイシン、グルタミン酸、トリプトファン、ヒスチジン、セリン、メチオニン、及びアスパラギン酸のみをさらに含有する、上記[1]～[4]及び[6]のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0017] [8] 前記アミノ酸混合物が、他のアミノ酸を、全アミノ酸量100モルに対して下記のモル比で含む、上記[7]に記載の脂質代謝促進剤。

プロリン 0.01～4モル

リジン 0.01～2モル

チロシン 0.01～2モル

スレオニン 0.01～2モル

ロイシン 0.01～2モル

バリン 0.01～2モル

イソロイシン 0.01～2モル

グルタミン酸 0.01～1モル

トリプトファン 0.01～1モル

ヒスチジン 0.01～1モル

セリン 0.01～1モル

メチオニン 0.01～0.2モル

アスパラギン酸 0.01～0.1モル

[0018] [9] アドレナリン分泌亢進状態で作用させるための、上記 [1] ～ [8] のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0019] [1 0] アドレナリン分泌亢進状態が、運動、ストレス、寒冷暴露、入浴、又は多食による刺激を受けた状態である、上記 [9] に記載の脂質代謝促進剤。

[0020] [1 1] 血中グリセロール濃度上昇、体重増加抑制、血中遊離脂肪酸濃度上昇、血中グルカゴン濃度上昇、血中コルチゾール濃度低減、血中総ケトン体濃度上昇、血中3-ヒドロキシ酪酸濃度上昇、及び褐色脂肪組織中のUCP-1発現量増加からなる群から選択される少なくとも1つを伴う脂質代謝促進用の、上記 [1] ～ [1 0] のいずれかに記載の脂質代謝促進剤。

[0021] 本発明はさらに、以下の態様も包含する。

[0022] [a] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを有効成分として含有し、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのモル数の合計が、アミノ酸全てのモル数の合計100モルに対して60モル以上である、脂質代謝促進剤、

[b] アルギニンを8～30モル、アラニンを18～30モル、フェニルアラニンを10～20モル、のモル比で含有する、前記[a]に記載の脂質代謝促進剤、

[c] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのモル数の合計が、アミノ酸全てのモル数の合計100モルに対して100モルある、前記[a]又は[b]に記載の脂質代謝促進剤、

[d] アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンを有効成分として含有し、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンのモル数の合計が、アミノ酸全てのモル数の合計100モルに対して85モル以上である、脂質代謝促進剤、

[e] アルギニンを8～30モル、アラニンを18～30モル、フェニルアラニンを10～20モル、グリシンを20～27モル、のモル比で含有する、前記[d]に記載の脂質代謝促進剤、

[f] アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンのモル数の合計が、アミノ酸全てのモル数の合計 100 モルに対して 100 モルある、前記[d]又は[e]に記載の脂質代謝促進剤、

[g] さらに、他のアミノ酸としてプロリン、リジン、チロシン、スレオニン、ロイシン、バリン、イソロイシン、グルタミン酸、トリプトファン、ヒスチジン、セリン、メチオニン、及びアスパラギン酸のみを含有する、前記[a]又は[d]に記載の脂質代謝促進剤、

[h] さらに、他のアミノ酸として下記のアミノ酸のみを、下記のモル比で含有する、前記[b]又は[e]に記載の脂質代謝促進剤、

プロリンを 0.01～4 モル

リジンを 0.01～2 モル

チロシンを 0.01～2 モル

スレオニンを 0.01～2 モル

ロイシンを 0.01～2 モル

バリンを 0.01～2 モル

イソロイシンを 0.01～2 モル

グルタミン酸を 0.01～1 モル

トリプトファンを 0.01～1 モル

ヒスチジンを 0.01～1 モル

セリンを 0.01～1 モル

メチオニンを 0.01～0.2 モル

アスパラギン酸を 0.01～0.1 モル

[i] アドレナリンの分泌が亢進する状態で摂取することを特徴とする、前記[a]～[h]のいずれか 1 つに記載の脂質代謝促進剤、

[j] アドレナリンの分泌が亢進する状態が、運動、ストレス、寒冷暴露、入浴、又は多食による刺激を受ける状態である、前記[i]に記載の脂質代謝促進剤、

[k] 褐色脂肪組織中の UCP-1 の発現量を増加することを特徴とする、

前記[a]～[j]のいずれか 1 つに記載の脂質代謝促進剤、

[l] 脂肪から脂肪酸への分解を促進することを特徴とする、前記[a]～[j]のいずれか 1 つに記載の脂質代謝促進剤、

[m] 脂肪酸から熱への変換を促進することを特徴とする、前記[a]～[j]のいずれか 1 つに記載の脂質代謝促進剤、

[n] 脂肪酸からエネルギーへの変換を促進することを特徴とする、前記[a]～[j]のいずれか 1 つに記載の脂質代謝促進剤。

発明の効果

[0023] 本発明の脂質代謝促進剤は、脂質代謝を促進する効果があり、とりわけアドレナリン分泌亢進状態で効率よく脂質代謝促進効果を示すことができる。

[0024] 本明細書は本願の優先権主張の基礎となる日本国特許出願特願2013-168690号の開示内容を包含する。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]実施例 1 で得られた血中グリセロール濃度の変化率（グリセロール AUC 変化率； G l y c e r o l AUC c h a n g e （ % o f V e h i c l e g r o u p ））を示す。

[図2]実施例 2 で得られた血中グリセロール濃度の変化量（ Δ グリセロール）の推移を示す。#： $p < 0.05$ （vs. V e h i c l e 群、F i s h e r の P L S D 検定）。

[図3]実施例 3 で得られた血中グリセロール濃度の変化量（ Δ グリセロール）の推移を示す。平均値±標準誤差を表す。*： $p < 0.05$ （vs. V e h i c l e 群、F i s h e r の P L S D 検定）。

[図4]実施例 4 で測定した体重の推移（図 4 A）及び試験期間中の摂餌量／体重（図 4 B）を示す。平均値±標準誤差を表す。Normal 群：3 日目（d a y 3）～4 2 日目（d a y 4 2）で体重に有意差あり。製造例 3 群：3 日目（d a y 3）～3 9 日目（d a y 3 9）で体重に有意差あり。（vs. H i g h - f a t 群、 $p < 0.05$ 、F i s h e r の P L S D 検定）。

[図5]実施例 4 で測定した腎周囲の脂肪重量を示す。平均値±標準誤差を表す

。* : $p < 0.05$ (vs. High-fat 群、Fisher の PLS D 検定)。

[図6]実施例4で測定した褐色脂肪組織中のUCP-1発現量を示す。平均値±標準誤差を表す。* : $p < 0.05$ (vs. High-fat 群、Fisher の PLS D 検定)。

[図7]実施例5で得られた経時的な呼吸交換比の測定結果(図7A)及び呼吸交換比の変化量(Δ 呼吸交換比)の結果(図7B)を示す。平均値±標準誤差を表す。# : $p < 0.05$ (vs. プラセボ群、1標本t検定)。

[図8]実施例5で得られた、血中グリセロール濃度(図8A)及び血中遊離脂肪酸濃度(図8B)の経時的な測定結果を示す。平均値±標準誤差を表す。

[図9]実施例5で得られた、血中コルチゾール濃度(図9A)、血中グルカゴン濃度(図9B)、血中インスリン濃度(図9C)、及び血糖(図9D)の経時的な測定結果を示す。平均値±標準誤差を表す。# : $p < 0.05$ 、## : $p < 0.01$ (vs. プラセボ群、1標本t検定)。

[図10]実施例5で得られた、血中総ケトン体濃度(図10A)、血中3-ヒドロキシ酪酸濃度(図10B)、及び血中アセト酢酸濃度(図10C)の経時的な測定結果を示す。平均値±標準誤差を表す。# : $p < 0.05$ (vs. プラセボ群、1標本t検定)。

[図11]実施例5で得られた、血中成長ホルモン濃度(図11A)、血中アドレナリン濃度(図11B)、及び血中ノルアドレナリン濃度(図11C)の経時的な測定結果を示す。平均値±標準誤差を表す。

[図12]実施例9で得られた、血中グルカゴン濃度の測定結果を示す。* : $p < 0.05$ (vs. High-fat 群、Fisher の PLS D 検定)。

[図13]実施例9で得られた、肝臓中のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性の測定結果を示す。* : $p < 0.05$ (vs. High-fat 群、Fisher の PLS D 検定)。

[図14]実施例9で得られた、肝臓中のアシルCoAオキシダーゼ活性の測定

結果を示す。* : $p < 0.05$ (vs. High-fat群、FisherのPLSD検定)。

[図15]実施例12で得られた、血中グリセロール濃度の変化量 (Δ グリセロール) を示す。

[図16]実施例13で得られた、血中グリセロールAUC ($\text{min} \cdot \text{mg/L}$) の測定結果を示す。* : $p < 0.05$ (vs. コントロール群、FisherのPLSD検定)。

[図17]実施例14で得られた、血中グリセロールAUC ($\text{min} \cdot \text{mg/L}$) の測定結果を示す。

発明を実施するための形態

[0026] 以下、本発明を詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい実施態様に限定されず、本発明の効果を発揮する範囲内で自由に変更できるものである。

[0027] 本発明は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも2つのアミノ酸を含むアミノ酸混合物を含有し、かつ前記少なくとも2つのアミノ酸をそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して60モル以上のモル比で含む、脂質代謝促進剤に関する。本発明は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも2つのアミノ酸に加えて、アミノ酸混合物の成分としてグリシンをさらに含有する脂質代謝促進剤にも関する。本発明の脂質代謝促進剤は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニン、又はアルギニン、アラニン、フェニルアラニン及びグリシンを、有効成分として含有する。

[0028] 本発明の有効成分であるアルギニン (Arginine) は、非必須アミノ酸の1つであり、それには、D体とL体とが存在する。L-アルギニンのCas No. は、74-79-3であり、その別名は、(S)-2-アミノ-5-グアニジノペンタン酸、(S)-2-アミノ-5-(アミジノアミノ) 吉草酸、L-(+)-アルギニン、アルギUである。アルギニンの略号として、Arg、Rを用いる場合もある。アルギニンは、水や蟻酸に溶けや

すく、希塩酸に溶け、エタノールにはほとんど溶けない（第十六改正日本薬局方）。アルギニンは、肉類等の多種のタンパク質などの様々な素材や食品に含まれていることが知られている。アルギニンは、尿素回路の中間体として生合成されるが、速やかに分解されるため子供では必須アミノ酸とされている。アルギニンは、成長ホルモンの分泌促進、免疫機能の向上に関与することが知られている。

[0029] 本発明の有効成分であるアラニン（Alanine）は、非必須アミノ酸の1つであり、それには、D体とL体とが存在する。L-アラニンのC a s No. は、56-41-7であり、その別名は、（S）-2-アミノプロピオン酸、（2S）-2-アミノプロパン酸、 α -アラニン、L-（+）-アラニンである。アラニンの略号として、Ala、Aを用いる場合もある。アラニンは、水や蟻酸に溶けやすく、エタノールには、ほとんど溶けない（第十六改正日本薬局方）。アラニンは、多種のタンパク質などの様々な素材や食品に含まれていることが知られている。アラニンは、タンパク質の構成アミノ酸の一種であり、結合組織の材料であることが知られている。

[0030] 本発明の有効成分であるフェニルアラニン（Phenylalanine）は、必須アミノ酸の1つであり、それには、D体とL体とが存在する。L-フェニルアラニンのC a s No. は、63-91-2であり、その別名は、（S）- α -アミノベンゼンプロパン酸、（2S）-2-アミノ-3-フェニルプロパン酸、（S）-3-フェニル-2-アミノプロピオン酸、L- β -フェニルアラニン、L-（-）-フェニルアラニンである。フェニルアラニンの略号として、Phe、Fを用いる場合もある。フェニルアラニンは、蟻酸に溶けやすく、水にやや溶けにくく、希塩酸に溶け、エタノールにはほとんど溶けない（第十六改正日本薬局方）。フェニルアラニンは、多種のタンパク質などの様々な素材や食品に含まれていることが知られている。

[0031] グリシン（Glycine）は、非必須アミノ酸の1つである。グリシンのC a s No. は、56-40-6であり、その別名は、2-アミノ酢酸、 α -アミノ酢酸、グリコリキシル、グリココールである。グリシンの略号

として、G l y、Gを用いる場合もある。グリシンは、水や蟻酸に溶けやすく、エタノールには、ほとんど溶けない（第十六改正日本薬局方）。グリシンは、コラーゲン、ゼラチン、魚貝類などの様々な素材や食品に含まれていることが知られている。グリシンは、糖原性を持ち、ヘモグロビン、肝臓中の酵素などの構成成分であることや、中枢神経における神経伝達物質であることが知られている。

[0032] 本発明において、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシン又は他のアミノ酸は、フリーベースや水和物であってもよく、また、有機酸（酢酸、酒石酸、脂肪酸など）、有機塩基、無機酸（塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、過塩素酸など）、無機塩基（カリウム、ナトリウム、亜鉛など）と塩を形成していても構わない。そして、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシンは、D体とL体のいずれを用いてもよい。

[0033] 本発明において、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシン又は他のアミノ酸は、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシン又は他のアミノ酸を多く含む素材や食品などから、搾汁、濃縮、精製、結晶化又は各種の溶媒で抽出するなどして得ることができる。各種の溶媒として、水や通常に用いられる溶媒、例えば、アルコール類、炭化水素類、有機酸、有機塩基、無機酸、無機塩基、超臨界流体等を単独で、あるいは複数を組み合わせ用いることが可能である。また、微生物で生産したものを用いることも可能である。そして、化学的に合成されたものを用いることも可能である。本発明において、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン、グリシン又は他のアミノ酸は、それらの複数の由来のものを組み合わせて用いてもよい。

[0034] 本発明の脂質代謝促進剤は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも2つのアミノ酸の組合せ、例えばアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを有効成分として含有する。本発明の脂質代謝促進剤は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのモル数の合計が、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）100

モルに対して60モル以上、70モル以上、80モル以上、90モル以上、又は100モルのモル比となる量で、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも2つのアミノ酸を含有することができる。一実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤において、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの合計量は、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）100モルに対して95モル以下、90モル以下、80モル以下、又は75モル以下のモル比となる量であってもよい。なお「アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのモル数の合計が、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）100モルに対して100モルのモル比」とは、その脂質代謝促進剤に含まれるアミノ酸がアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのみであること、すなわちその脂質代謝促進剤に含まれるアミノ酸混合物がアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなることを意味するが、本明細書中の他の類似の記載も同様に理解される。このような脂質代謝促進剤の組成例として、表2及び表3に示す構成の脂質代謝促進剤（製造例1、製造例2、製造例3）を挙げることができるが、この例に限定されない。

[0035] また、本発明の脂質代謝促進剤に含まれるアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのそれぞれの配合量に相当するモル比はいずれの値であってもよい。あえて挙げるなら、本発明の脂質代謝促進剤には、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、アルギニンを8～30モル、アラニンを18～30モル、フェニルアラニンを10～20モル、のモル比で含有せしめることができる。より好ましい一実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤は、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、アルギニンを25～30モル、アラニンを25～30モル、フェニルアラニンを10～15モル、のモル比で含有してもよい。あるいは、好ましい別の実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤は、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、アルギニンを8～50モル、アラニンを18～50モル、フェニルアラニンを10～70モル、のモル比で含有してもよい。例えば、本発明の脂質代謝促進剤

が、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを含み、かつそれらの合計量が本発明の脂質代謝促進剤に含まれる全アミノ酸量100モルに対して100モルのモル比に相当する場合（すなわち、含有アミノ酸がアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのみからなる場合）、本発明の脂質代謝促進剤に、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、アルギニンを8～50モル、アラニンを18～50モル、フェニルアラニンを10～70モル、のモル比で含有せしめることができる。本発明の脂質代謝促進剤はまた、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、アルギニンを8～30モル、アラニンを20～35モル、フェニルアラニンを10～55モル、のモル比で含有してもよい。

[0036] 本発明の脂質代謝促進剤中のアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの配合量は、以下に限定するものではないが、（i）アルギニン：アラニン＝3：1～1：3、より好ましくは1.5：1～1：1.5、例えば1：1、（ii）アラニン：フェニルアラニン＝7：1～1：7、より好ましくは4：1～1：4、例えば1：3及び（iii）アルギニン：フェニルアラニン＝7：1～1：7、より好ましくは1：1～1：4、例えば1：3、のうち少なくとも1つの重量比を満たすことが好ましい。本発明の脂質代謝促進剤は、フェニルアラニンを相対的に多く含んでいてもよい。一実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤中のアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの配合量は、以下に限定するものではないが、アルギニン：アラニン：フェニルアラニン＝1：1：1～1：1：10、より好ましくは1：1：1～1：1：6、例えば1：1：1～1：1：3となる重量比を満たすものでもよい。別の実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤中のアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの配合量は、以下に限定するものではないが、アルギニン：アラニン：フェニルアラニン＝2～4：1～2：1～2、例えば2～3：1～1.5：1となる重量比を満たすものでもよい。

[0037] 本発明の脂質代謝促進剤は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも2つのアミノ酸に加えてさらにグリ

シンを有効成分として含有することもでき、例えばアルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンを有効成分として含有することもできる。本発明の脂質代謝促進剤は、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンのモル数の合計が、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）１００モルに対して８５モル以上、９０モル以上、９５モル以上、又は１００モルのモル比となる量でアルギニン、アラニン、フェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも２つのアミノ酸及びグリシンを含有することができる。一実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤において、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン及びグリシンの合計量は、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）１００モルに対して９９モル以下、９５モル以下、９２モル以下、又は９０モル以下のモル比となる量であってもよい。

[0038] また、本発明の脂質代謝促進剤に含まれるアルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンのそれぞれの配合量に相当するモル比はいずれの値であってもよい。あえて挙げるなら、本発明の脂質代謝促進剤には、それに含まれる全アミノ酸量１００モルに対し、アルギニンを８～３０モル、アラニンを１８～３０モル、フェニルアラニンを１０～２０モル、グリシンを２０～２７モル、のモル比で含有せしめることができる。本発明の脂質代謝促進剤は、例えば、それに含まれる全アミノ酸量１００モルに対し、アルギニンを２５～３０モル、アラニンを２５～３０モル、フェニルアラニンを１０～１５モル、グリシンを２２～２７モル、のモル比で含有してもよい。

[0039] 本発明の脂質代謝促進剤の組成例として、表３に示す構成の脂質代謝促進剤（製造例３）を挙げることができるが、この例に限定されない。アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンは、味や臭いが飲食や経口摂取に適しているため、これらを高濃度に含有する本発明の脂質代謝促進剤は風味に優れる。よって、本発明の脂質代謝促進剤には、これを添加した飲食品や医薬品の風味を損なわない利点がある。

[0040] さらに、本発明の脂質代謝促進剤は、さらに他のアミノ酸を含有してもよ

い。他のアミノ酸は、生体のタンパク質を通常構成する20種のアミノ酸であってもよい。他のアミノ酸は、天然型アミノ酸であっても非天然型アミノ酸であってもよい。好ましい実施形態では、本発明の脂質代謝促進剤は、さらに他のアミノ酸としてプロリン、リジン、チロシン、スレオニン、ロイシン、バリン、イソロイシン、グルタミン酸、トリプトファン、ヒスチジン、セリン、メチオニン、及びアスパラギン酸のみを含有していてもよい。他のアミノ酸は、本発明の脂質代謝促進剤の脂質代謝促進効果を阻害しないものを優先的に使用することもできる。

[0041] また、本発明の脂質代謝促進剤に含まれる他のアミノ酸のそれぞれの配合量に相当するモル比はいずれの値であってもよい。あえて挙げるなら、本発明の脂質代謝促進剤には、それに含まれる全アミノ酸量100モルに対し、プロリンを0.01～4モル、リジンを0.01～2モル、チロシンを0.01～2モル、スレオニンを0.01～2モル、ロイシンを0.01～2モル、バリンを0.01～2モル、イソロイシンを0.01～2モル、グルタミン酸を0.01～1モル、トリプトファンを0.01～1モル、ヒスチジンを0.01～1モル、セリンを0.01～1モル、メチオニンを0.01～0.2モル、アスパラギン酸を0.01～0.1モル、のモル比で含有せしめることができる。

[0042] 本発明の脂質代謝促進剤のより好ましい例では、アルギニンを25～30モル、アラニンを25～30モル、フェニルアラニンを10～15モル、グリシンを22～27モル、プロリンを0.1～4モル、リジンを0.1～2モル、チロシンを0.1～2モル、スレオニンを0.1～2モル、ロイシンを0.1～2モル、バリンを0.1～2モル、イソロイシンを0.1～2モル、グルタミン酸を0.1～1モル、トリプトファンを0.1～1モル、ヒスチジンを0.1～1モル、セリンを0.1～1モル、メチオニンを0.01～0.2モル、アスパラギン酸を0.01～0.1モル、のモル比で含有せしめることができる。本発明の脂質代謝促進剤のさらに好ましい例では、アルギニンを27～30モル、アラニンを25～28モル、フェニルアラニ

ンを10～13モル、グリシンを23～26モル、プロリンを2～3モル、リジンを0.6～1.6モル、チロシンを0.1～1.1モル、スレオニンを0.5～1.5モル、ロイシンを0.3～1.3モル、バリンを0.3～1.3モル、イソロイシンを0.1～2.1モル、グルタミン酸を0.1～1モル、トリプトファンを0.1～0.5モル、ヒスチジンを0.1～0.6モル、セリンを0.1～0.6モル、メチオニンを0.01～0.15モル、アスパラギン酸を0.01～0.05モル、のモル比で含有せしめてもよい。

[0043] 本発明でいう「脂肪」は、中性脂肪を指す。中性脂肪の異化は、中性脂肪のグリセロールと脂肪酸への分解と脂肪酸の燃焼（ β 酸化）に分けられる。脂肪の分解メカニズムは、一般に、以下のように概説できる。

[0044] （１）運動負荷、入浴、寒冷刺激などによってアドレナリンの分泌が亢進する。

[0045] （２）アドレナリンが脂肪細胞膜上の β レセプターに結合すると、細胞膜内に存在するアデニル酸シクラーゼが活性化されて、ATPからサイクリックAMP（cAMP）が合成される。

[0046] （３）細胞内cAMP濃度が上昇した結果、cAMP依存性のプロテインキナーゼAが活性化され、このプロテインキナーゼAにより脂肪細胞の中で、ホルモン感受性リパーゼがリン酸化されて活性化する。

[0047] （４）ホルモン感受性リパーゼが、トリアシルグリセロールを遊離脂肪酸とモノアシルグリセロールに変換する。

[0048] （５）モノアシルグリセロールリパーゼが、モノアシルグリセロールをグリセロールと遊離脂肪酸に変換する。

[0049] 生成された脂肪酸の燃焼（ β 酸化）は、一般に以下のように概説される。

[0050] （１）脂肪酸は、肝臓に運ばれ、ミトコンドリア外膜の細胞質側に存在する酵素アシルCoAシンテターゼにより触媒され活性化し、脂肪酸アシルCoAとなる。

[0051] （２）生成した脂肪酸アシルCoAはミトコンドリア内膜に運搬される。

- [0052] (3) ミトコンドリア内膜はアシルC○Aを直接透過しない為、カルニチンと一時的に結合し、脂肪酸アシルカルニチンを生成する。脂肪酸アシルカルニチンはアシルカルニチン／カルニチントランスポーターを介する促進拡散によりミトコンドリア内膜を通過し、マトリックス内に移行する。そして酵素カルニチンアシルトランスフェラーゼⅠの触媒により、カルニチンからミトコンドリア内に存在する補酵素Aに転移されることで、脂肪酸アシルC○Aが再生する。
- [0053] (4) ミトコンドリア内に入った脂肪酸アシルC○Aはマトリックス内の酵素によって酸化を受ける。 β 酸化反応は4段階の反応の繰り返しからなり、一順する毎に脂肪酸アシル鎖のカルボキシ末端から2炭素がアセチルC○Aとして分離していく。デヒドロゲナーゼによる α 位と β 位の不飽和化、ヒドラターゼによる β 位のOH付加が起こり、デヒドロゲナーゼにより β 位がケト基に、チオラーゼによってC○Aが β 位に結合し、 α 位と β 位が切断され短炭素鎖脂肪酸アシルーC○AとアセチルC○Aを生じる。
- [0054] (5) アセチルC○Aの一部はアセトアセチルC○Aになり、3-ヒドロキシ3-メチルグルタリルC○A (HMG-C○A) を経てアセト酢酸が生成される。アセト酢酸は脱炭酸によってアセトンへ、あるいは還元されて β ヒドロキシ酪酸へと変換される。
- [0055] (6) 肝臓で生成されたアセト酢酸・ β ヒドロキシ酪酸は肝臓以外の組織（中枢神経系、心筋、骨格筋、腎、副腎など）の細胞に運ばれミトコンドリアのTCA回路と電子伝達系でATP産生に使われる。
- [0056] さらに、脂肪酸は、褐色脂肪細胞内で分解を受け、UCP-1 (Uncoupling protein 1、ミトコンドリア脱共役タンパク質) の働きを受けて熱に変換される。より具体的には、ノルアドレナリンが褐色脂肪上の $\beta 3$ 受容体に結合すると、サーモゲニンとも呼ばれるUCP-1が開き、膜電位（ミトコンドリアのプロトンの濃度勾配）が解消され、ATP合成は行われない一方、脂肪酸などの基質の酸化が著しく亢進して、熱産生が起こる。すなわち、脂肪酸の β 酸化が促進され、熱エネルギーが放出される

。また、遊離脂肪酸は、体内でグルコース由来のエネルギーの代謝が不足すると、主として肝臓のミトコンドリア内でケトン体（アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸、アセトン）に変換され、エネルギー源として代謝されるようになる。

[0057] 後述の実験例（実施例2、実施例3及び実施例10）では、アドレナリンを投与して人為的にアドレナリン分泌が亢進した状態にした動物を用い、血中グリセロール変化量をモニターすることにより、従来のアミノ酸組成物と比較して、アルギニン、フェニルアラニン、アラニン及びグリシンを高濃度に含有する本発明の脂質代謝促進剤や、アルギニン、フェニルアラニン、及びアラニンのうちの2つ以上を組み合わせた本発明の脂質代謝促進剤が脂質代謝を促進することがわかった。

[0058] さらに、高脂肪食を給餌した動物やヒトを使用し、実際に運動負荷を与えてアドレナリン分泌が亢進した状態で、本発明の脂質代謝促進剤の脂質代謝促進効果を確認することができた（実施例4、実施例5）。

[0059] つまり、本発明の脂質代謝促進剤は、特にアドレナリンの分泌が継続的に亢進した状態において、より効率的に脂肪を代謝せしめることができる。本発明の脂質代謝促進剤は、被験体においてアドレナリン分泌亢進状態で作用させるために好適に用いることができる。アドレナリン分泌亢進状態は、特に限定されないが、運動、ストレス、寒冷暴露、入浴、又は多食等による刺激を受けた状態であることが好ましい。本発明の脂質代謝促進剤を被験体にアドレナリン分泌亢進状態で作用させるためには、本発明の脂質代謝促進剤を、アドレナリン分泌亢進状態となっている被験体に投与するか、又はアドレナリン分泌亢進状態となることが予想される被験体（例えば、運動前の被験体）に投与すればよい。

[0060] 実施例4に示すように、本発明の脂質代謝促進剤を投与した動物では、褐色脂肪組織中のUCP-1の発現量が増加した。このことから、本発明の脂質代謝促進剤は、脂肪の分解を高めると共に、脂肪酸から熱への変換効率を高めることがわかった。

[0061] また、実施例5に示すように、本発明の脂質代謝促進剤を投与したヒトにおいて、運動時のケトン体生成やグルカゴンの分泌が高まった。グルカゴンには、グリコーゲンの利用を促進すると共に、ケトン体の産生を促進する働きがある。このことから、本発明の脂質代謝促進剤は、グルコース由来のエネルギーの代謝が不足したときに脂肪酸からエネルギーへ変換する効率を高めることもわかった。ケトン体濃度の経時的推移に注目すると、運動負荷（ $t i m e 30 \sim t i m e 90$ ）の後に、ケトン体の生成が大きく高まっている。このことから、運動中に亢進した脂肪酸からエネルギーへの変換が、運動終了後も引き続き高い状態を維持していることがわかった。

[0062] さらに、本発明の脂質代謝促進剤を投与したヒトにおいて、有酸素運動時の呼吸交換比の変化量が低下した。呼吸交換比はエネルギー代謝の指標の1つであり、この値が低下することは、エネルギー代謝における脂質の貢献が高まったことを示す。このことから、本発明の脂質代謝促進剤が、脂肪酸からエネルギーへ変換する効率を高めることがわかった（実施例5）。

[0063] コルチゾールは糖質コルチコイドの一種であり、ストレスを受けると副腎皮質からの分泌が亢進されるホルモンである。コルチゾールの上昇は、グリコーゲンやタンパク質から糖への分解を促進する働きがあることから、その上昇は脂質代謝を亢進する。しかし、コルチゾールの高い分泌状態が続くと、筋グリコーゲンや肝グリコーゲンを早期に消耗し、運動パフォーマンスが低下する。さらに、免疫機能の低下や筋肉・臓器の萎縮といった体への悪影響を伴う。よって、運動時において、コルチゾールのレベルは早期に定常値に戻ることが好ましい。本発明の脂質代謝促進剤を摂取したヒト（アクティブ群）において、血中のコルチゾールは摂取直後（ $t i m e 0$ ）から上昇したが、摂取15分後（ $t i m e 15$ ）から速やかに下降し、その速度はプラセボ群より速やかであった。このことから、本発明の脂質代謝促進剤を摂取することによって、同じ運動負荷を与えても、より体に負担をかけずに運動を行なえることが明らかになった（実施例5）。

[0064] その一方で、本発明の脂質代謝促進剤を投与したヒトにおいて、血中のイ

ンスリン濃度や血糖に変化を認めなかった。よって、本発明の脂質代謝促進剤は、インスリンの分泌や血糖に影響を与えずに脂質代謝を促進することがわかった（実施例5）。インスリンの分泌が亢進した状態で運動を行うと、運動時中に低血糖を生じることがある。本発明の脂質代謝促進剤は、インスリンの分泌に影響を及ぼさないで、運動時に低血糖を来すことなく、脂質由来のエネルギーを効率的に産生することができる。

[0065] また、本発明の脂質代謝促進剤は、成長ホルモン、アドレナリン及びノルアドレナリンの分泌にも影響を与えずに、脂質代謝促進効果を奏することもわかった（実施例5）。

[0066] これらの結果から、本発明の脂質代謝促進剤は、脂肪から脂肪酸への分解、脂肪酸から熱への変換、及び脂肪酸からエネルギーへの変換のいずれの過程も促進することがわかった。

[0067] したがって本発明の脂質代謝促進剤は、脂肪の脂肪酸への分解、及び脂肪酸から熱への変換の両方を促進するために用いることができる。本発明の脂質代謝促進剤は、それらの脂質代謝の指標である、血中グリセロール濃度上昇、体重増加抑制、血中遊離脂肪酸濃度上昇、血中グルカゴン濃度上昇、血中コルチゾール濃度低減、血中総ケトン体濃度上昇、血中3-ヒドロキシ酪酸濃度上昇、及び褐色脂肪組織中のUCP-1発現量増加からなる群から選択される少なくとも1つ、好ましくは2つ以上、より好ましくはその全てを伴う脂質代謝促進用に用いることができる。本発明の脂質代謝促進剤はまた、さらなる指標として、肝臓中カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性上昇及び／又は肝臓中のアシルCoAオキシダーゼ活性上昇を伴う脂質代謝促進用にも用いることができる。これらの指標は、常法により測定することができ、例えば後述の実施例の記載を参照することができる。なおこれらの脂質代謝の指標の上昇、低減、又は増加等は、本発明の脂質代謝促進剤を投与又は摂取しない点以外は同様の条件のコントロール群（例えば、プラセボ群）と比較して判断すればよく、一定の傾向が示されればそれらの効果があるものと判断できるが、統計学的に有意な差が示されることがより好ま

しい。

[0068] 本発明の脂質代謝促進剤は、そのまま、あるいは、脂質代謝促進するための飲食品又は医薬品に添加するなど、いずれの態様で利用することもできる。

[0069] 本発明において、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの脂質代謝促進剤への配合量は、剤型、症状、体重、用途などによって異なるため、特に限定されないが、あえて挙げるなら、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの合計で0.2～100w/w%（重量／重量%）の配合量に設定することができ、好ましくは0.3～100w/w%の配合量、さらに好ましくは0.4～100w/w%の配合量に設定することができる。

[0070] 本発明はまた、本発明の脂質代謝促進剤を被験体に投与又は摂取させることを含む、被験体の脂質代謝を促進する方法も提供する。被験体としては、脂質代謝の促進が望まれる動物が好ましく、限定するものではないが、ヒト、家畜（ブタ、ウマなど）、愛玩動物（イヌ、ネコなど）、実験（試験）動物（マウス、ラットなどの齧歯動物やウサギなど）を含む哺乳動物が好ましい。好ましい被験体の例としては、脂質代謝異常若しくは肥満症の被験体、肥満の遺伝的素因、生活習慣的リスク若しくは環境リスクを有する被験体、体重低下若しくは体重維持が望まれる被験体、又は運動、ストレス等に起因するアドレナリン分泌亢進状態に置かれているか若しくは置かれる予定である被験体などが挙げられる。本発明の脂質代謝促進剤は、脂質代謝を効率よく促進する効果があるため、正常の人と比べて脂肪の分解が遅くかつ少ない傾向にある肥満気味の人であっても、脂肪を効率的に燃焼させるために用いることができる。

[0071] 本発明において、脂質代謝促進剤の一日当たりの摂取量（投与量）は、年齢、症状、体重、用途などによって異なるため、特に限定されないが、あえて挙げるなら、脂質代謝促進剤に含まれるアミノ酸の合計が固形分として0.3～30g、0.8～8g、1～5g、1.3～3.5g、1.5g又は3gとなる摂取量に設定することができる。

- [0072] 本発明において、アルギニン的一天当たりの摂取量は、0.06～12g（又は0.4～70ミリモル）、0.2～4g（又は1～21ミリモル）、0.4～2g（又は2～11ミリモル）、1.2g（7ミリモル）、1g（6ミリモル）、又は0.6g（4ミリモル）を例示することができる。
- [0073] 本発明において、アラニンの一天当たりの摂取量は、0.03～10g（又は0.3～112ミリモル）、0.09～3g（又は1～34ミリモル）、0.2～2g（又は2～17ミリモル）、1g（11ミリモル）、0.6g（6ミリモル）、又は0.3g（3ミリモル）を例示することができる。
- [0074] 本発明において、フェニルアラニンの一天当たりの摂取量は、0.02～10g（又は0.1～61ミリモル）、0.08～3g（又は0.5～18ミリモル）、0.2～2g（又は0.9～9ミリモル）、1g（6ミリモル）、0.5g（3ミリモル）、又は0.2g（1ミリモル）を例示することができる。
- [0075] 本発明において、グリシンの一天当たりの摂取量は、4g以下（又は59ミリモル以下）、1.3g以下（又は18ミリモル以下）、0.7g以下（又は9ミリモル以下）、0.02～4g（又は0.3～59ミリモル）、0.07～1g（又は1～18ミリモル）、0.1～0.7g（又は2～9ミリモル）、0.4g（6ミリモル）又は0.2g（3ミリモル）を例示することができる。
- [0076] 例えば、後述の表2に示す脂質代謝促進剤（製造例1）を2.7g摂取した場合、アミノ酸の合計2.7g（22ミリモル）のうち、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを、それぞれ1.2g（7.0ミリモル）、0.57g（6.4ミリモル）、及び0.47g（2.9ミリモル）の量で摂取したことになる。
- [0077] 例えば、表2に示す脂質代謝促進剤（製造例2）を3.0g摂取した場合、アミノ酸の合計3.0g（23ミリモル）のうち、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを、それぞれ1.0g（5.7ミリモル）、1.0g（11ミリモル）、及び1.0g（6.1ミリモル）の量で摂取したこと

になる。

[0078] 例えば、表3に示す脂質代謝促進剤（製造例3）を3g摂取した場合、アミノ酸の合計3g（24ミリモル）のうち、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンを、それぞれ1.2g（7.0ミリモル）、0.57g（6.4ミリモル）、0.47g（2.9ミリモル）、及び0.45g（5.9ミリモル）の量で摂取したことになる。

[0079] また、表3に示す脂質代謝促進剤（製造例3）を1.5g摂取した場合、アミノ酸の合計1.5g（24ミリモル）のうち、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンを、それぞれ0.61g（3.5ミリモル）、0.28g（3.2ミリモル）、0.24g（1.4ミリモル）、及び0.22g（3.0ミリモル）の量で摂取したことになる。

[0080] なお、本発明の脂質代謝促進剤は、従来公知の脂質代謝促進効果がある飲食品や医薬品の摂取と同時又は、それらの摂取の前後に併せて用いてもよい。

[0081] 本発明の脂質代謝促進剤の実際の形態は、例えば、錠剤（タブレット）、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、水剤、懸濁剤、ドリンク、飲食品などに添加する形態を挙げることができ、これを経口、経管、経静脈などにより摂取あるいは投与することができる。本発明の脂質代謝促進剤は、例えば、特定保健用食品などの特別用途食品、栄養機能食品、栄養補助食品やサプリメントに添加してそれを摂取することにより、又は医薬品に添加して投与することにより、脂質代謝を促進することが期待される。なお、特定保健用食品などの特別用途食品、栄養機能食品、栄養補助食品やサプリメントに添加した場合、消費者にとって、一般食品と明確に区別しながら、脂質代謝の促進を期待することができる。ここで飲食品は、家畜や愛玩動物等の非ヒト動物による摂取用であってもよい。本発明は、本発明の脂質代謝促進剤を含む食品や医薬品、例えば脂質代謝促進用の飲食品や医薬品も提供する。

[0082] 本発明の脂質代謝促進剤を用いて、本発明の脂質代謝促進剤及び製剤化のための補助剤のみからなる剤を製造することもできる。製剤化のための補助

剤として、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などを挙げることができる。なお、これらは飲食品あるいは医薬品の製剤技術の分野において通常で用いるものであればよい。また、これらに適当量のビタミン、ミネラル、有機酸、糖類、ペプチド類、前記に挙げられていないアミノ酸などを配合してもよい。他の構成成分は、本発明の脂質代謝促進剤の脂質代謝促進効果を阻害しないものを優先的に使用することができる。

[0083] 本発明の脂質代謝促進剤は、各種の食品（牛乳、清涼飲料、発酵乳、ヨーグルト、チーズ、パン、ビスケット、クラッカー、ピッツァクラスト、調製粉乳、流動食、病者用食品、栄養食品、冷凍食品、加工食品その他の市販食品など）に配合して、これを摂取してもよい。これらの食品の形態として、液状、ペースト状、ゲル状、固形状、粉末状などを問わない。

[0084] 本発明の脂質代謝促進剤を配合する食品は、水、タンパク質、糖質、脂質、ビタミン類、ミネラル類、有機酸、有機塩基、果汁、フレーバー類等を用いて製造することができる。タンパク質として、例えば、全脂粉乳、脱脂粉乳、部分脱脂粉乳、カゼイン、ホエイ粉、ホエイタンパク質、ホエイタンパク質濃縮物、ホエイタンパク質分離物、ホエイタンパク質加水分解物、 α -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼイン、 β -ラクトグロブリン、 α -ラクトアルブミン、ラクトフェリン、大豆タンパク質、鶏卵タンパク質、肉タンパク質等の動植物性タンパク質、これらの分解物、バター、乳清ミネラル、クリーム、ホエイ、非タンパク態窒素、シアル酸、リン脂質、乳糖等の各種の乳由来成分等が挙げられる。カゼインホスホペプチド等のペプチドやアミノ酸を含んでいてもよい。糖質として、例えば、糖類、加工澱粉（テキストリンのほか、可溶性澱粉、ブリティッシュスターチ、酸化澱粉、澱粉エステル、澱粉エーテル等）、食物繊維等が挙げられる。脂質として、例えば、ラード、魚油等に、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油等の動物性油脂、パーム油、サフラワー油、コーン油、ナタネ油、ヤシ油等に、これらの分別油、水素添加油、エステル交換油等の植物性油脂等が挙げられる。ビ

タミン類として、例えば、ビタミンA、カロチン類、ビタミンB群、ビタミンC、ビタミンD群、ビタミンE、ビタミンK群、ビタミンP、ビタミンQ、ナイアシン、ニコチン酸、パントテン酸、ビオチン、イノシトール、コリン、葉酸等が挙げられる。ミネラル類として、例えば、カルシウム、カリウム、マグネシウム、ナトリウム、銅、鉄、マンガン、亜鉛、セレン等が挙げられる。有機酸として、例えば、リンゴ酸、クエン酸、乳酸、酒石酸、エリソルビン酸等が挙げられる。これらの成分は、単独で、あるいは複数種類を組み合わせ用いることができ、合成品及び／又はこれらを多く含む食品を用いてもよい。これらの食品の形態として、液状、ペースト状、ゲル状、固形状、粉末状などを問わない。

[0085] 本発明の脂質代謝促進剤は、普段の生活や療養中ではもとより、アドレナリンの分泌が継続して亢進する状態の前や途中に摂取することで、効率的に脂質代謝を促進することができる。例えば、運動負荷、寒冷暴露、ストレス負荷が加えられた時、入浴の時、多食の者などにおいて、アドレナリンの分泌が継続して亢進することが知られている。従って、本発明の脂質代謝促進剤は、運動負荷、寒冷暴露、ストレス負荷などが加わる前、又は運動負荷、寒冷暴露、ストレス負荷などが加わると共に摂取してもよい。あるいは、本発明の脂質代謝促進剤は、入浴の前や途中に摂取してもよい。多食傾向のある者が本発明の脂質代謝促進剤を摂取してもよい。

[0086] 本発明は、脂質代謝促進剤を製造するための、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも2つのアミノ酸の組合せ、例えばアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの組合せの使用（使用方法）であって、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンのモル数の合計が、アミノ酸全てのモル数の合計100モルに対して60モル以上である使用、も提供する。

[0087] また、本発明は、アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群から選択される少なくとも2つのアミノ酸の組合せ、例えばアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを、アルギニン、アラニン、及びフェニル

アラニンのモル数の合計が、含有アミノ酸全てのモル数の合計（全アミノ酸量）１００モルに対して６０モル以上のモル比になるような量で含む組成物を摂取させることを特徴とする、脂質代謝の促進方法（医療行為を除く）、も提供する。

[0088] 以下、本発明に関して、実施例を挙げて説明するが、本発明は、これにより限定されるものではない。

実施例

[0089] （実施例１）

脂質代謝促進効果における、各種アミノ酸と従来のアミノ酸組成物（V. A. A. M. ）の比較

（１）材料及び方法

〔被検試料〕

・ V. A. A. M. ：表１に示す組成のアミノ酸混合物（V. A. A. M. ）を、１ｇ／１０ｍｌの濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。

[0090] ・ 各種アミノ酸：Ｌ－アラニン（A l a）、Ｌ－メチオニン（M e t）、Ｌ－フェニルアラニン（P h e）、Ｌ－アルギニン（A r g）、グリシン（G l y）を、それぞれ１ｇ／１０ｍｌの濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。

[表1]

	V.A.A.M.	
	(w/w%)	(mol/100mol)
L-アルギニン	4.96	3.56
L-アラニン	4.41	6.19
L-フェニルアラニン	5.12	3.88
グリシン	11.6	19.33
L-プロリン	16.79	18.24
L-リジン塩酸塩	12.75	8.73
L-チロシン	6.93	4.78
L-スレオニン	6.92	7.27
L-ロイシン	6.53	6.23
L-バリン	5.56	5.94
L-イソロイシン	4.79	4.57
L-グルタミン酸	3.81	3.24
L-トリプトファン	3.63	2.22
L-ヒスチジン	3.23	2.60
L-セリン	2.11	2.51
L-メチオニン	0.64	0.54
L-アスパラギン酸Na	0.22	0.18

[0091] [動物実験]

6週齢のWistar系雄性ラット（SLC社）を1週間予備飼育して試験に用いた。体重に基づいて群分けし（Vehicle群、V. A. A. M. 群、アラニン群、メチオニン群、フェニルアラニン群、アルギニン群、グリシン群の7群、各n=6）、18時間絶食した（ただし、水は自由摂取とした）。

[0092] 尾静脈より採血を行い（time-30）、直ちに被検試料（V. A. A. M. 群、アラニン群、メチオニン群、フェニルアラニン群、アルギニン群、グリシン群）又は注射用水（Vehicle群）を10ml/kg（被検試料の用量1g/kg）経口投与した。30分後、再度採血を行った（time 0）後、直ちにアドレナリン（（R）-（-）-Epinephrin

e、和光純薬工業）を腹腔内投与（ 0.2 mg/kg 、 4 ml/kg ）した。その後、アドレナリン投与の75分後まで、15分おきに経時的な採血（ $t_{\text{ime}}15$ 、30、45、60、75）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中のグリセロールを測定した。

[0093] [測定]

血中グリセロール：グリセロールアッセイキット（Glycerol Assay Kit; Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値から $t_{\text{ime}}-30$ の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。次いで、血中グリセロール濃度の変化量について、 $t_{\text{ime}}0\sim75$ の曲線下面積（AUC）を算出した。さらに、各アミノ酸群のAUCについて、Vehicle群のAUCに対する変化率（%）を算出した。

[0094] (2) 結果

図1に血中グリセロール濃度の変化率（グリセロールAUC変化率 [Glycerol AUC change]）を示す。アラニン群、メチオニン群、フェニルアラニン群、アルギニン群、グリシン群はいずれも、V. A. A. M. 群より高い値を示した。

[0095] このことから、アラニン、メチオニン、フェニルアラニン、アルギニン、グリシンは、従来のアミノ酸組成物よりも高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0096] しかし、各種アミノ酸の風味を確認したところ、メチオニンは、味や臭いが経口摂取に適しないことがわかった。

[0097] (実施例2)

脂質代謝促進効果における、本発明の脂質代謝促進剤（製造例1）と単独のアミノ酸の比較

(1) 材料及び方法

[被検試料]

・「製造例1」：表2に示す組成のアミノ酸混合物（製造例1）を、2.7 g / 10 ml の濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。10 ml 中に、L-アルギニン1.2 g、L-アラニン0.57 g 及びL-フェニルアラニン0.47 g が含まれる。

[0098] ・アルギニン：L-アルギニンを1.2 g / 10 ml の濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。

[0099] ・アラニン：L-アラニンを0.57 g / 10 ml の濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。

[0100] ・フェニルアラニン：L-フェニルアラニンを0.47 g / 10 ml の濃度で注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製した。

[表2]

	製造例1		製造例2	
	(w/w%)	(mol/100mol)	(w/w%)	(mol/100mol)
L-アルギニン	54.0	43.2	33.3	24.9
L-アラニン	25.1	39.3	33.3	48.8
L-フェニルアラニン	20.8	17.6	33.3	26.3

[0101] [動物実験]

6週齢のWistar系雄性ラット（SLC社）を1週間予備飼育して試験に用いた。体重に基づいて群分けし（Vehicle群、「製造例1」群、アルギニン群、アラニン群、フェニルアラニン群の5群、各n=6）、18時間絶食した（ただし、水は自由摂取とした）。

[0102] 尾静脈より採血を行い（time-30）、直ちに被検試料（V. A. A. M. 群、「製造例1」群、アルギニン群、アラニン群、フェニルアラニン群）又は注射用水（Vehicle群）を5 ml / kg 経口投与した。30分後、再度採血を行った（time 0）後、直ちにアドレナリン（（R）-（-）-エピネフリン、和光純薬工業）を腹腔内投与（0.2 mg / kg、8 ml / kg）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的な採血（time 15、30、45、60、75、90）を行っ

た。採取した血液より血漿を得て、血中のグリセロールを測定した。

[0103] [測定]

血中グリセロール：グリセロール蛍光アッセイキット（Glycerol Fluorometric Assay Kit；Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値から $time - 30$ の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。

[0104] [統計学的処理方法]

測定値は、平均値±標準誤差で示した。データは統計ソフト Stat View 5.0-J を使用して、F 検定による等分散の検定後、Fisher の PLSD によって検定した。有意水準は 5% とした。

[0105] (2) 結果

図 2 に血中グリセロール濃度の変化量 (Δ グリセロール) を示す。「製造例 1」群は、Vehicle 群よりも、血中グリセロール濃度の変化量が高水準で推移した。アドレナリン投与後 15 分、30 分、45 分、60 分、及び 75 分 ($time 15$ 、30、45、60、75) において、「製造例 1」群は Vehicle 群と比較して有意に高い ($p < 0.05$) な血中グリセロール濃度の変化量を示した。フェニルアラニン群はアドレナリン投与後 30 分 ($time 30$) のみ、Vehicle 群よりも血中グリセロール濃度の変化量が有意に高くなった。他の群は Vehicle 群と有意な差を認めなかった。

[0106] このことから、アラニン、フェニルアラニン、アルギニンは、3 種を併用して摂取した方が、単独で摂取するよりも高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0107] (実施例 3)

脂質代謝促進効果における、本発明の脂質代謝促進剤（製造例 3）と従来のアミノ酸組成物（V. A. A. M.）の比較

(1) 材料及び方法

[被検試料]

・ V. A. A. M. : 表 1 に示す組成のアミノ酸混合物 (V. A. A. M.) を、3 g / 10 m l の濃度で注射用水 (大塚製薬) に懸濁して調製した。

[0108] ・ 「製造例 3」 : 表 3 に示す組成のアミノ酸混合物 (製造例 3) を、3 g / 10 m l の濃度で注射用水 (大塚製薬) に懸濁して調製した。

[表3]

	製造例3	
	(w/w%)	(mol/100mol)
L-アルギニン	40.7	28.81
L-アラニン	18.9	26.20
L-フェニルアラニン	15.7	11.72
グリシン	14.9	24.46
L-プロリン	2.24	2.40
L-リジン塩酸塩	1.70	1.15
L-チロシン	0.92	0.63
L-スレオニン	0.92	0.96
L-ロイシン	0.87	0.82
L-バリン	0.74	0.78
L-イソロイシン	0.64	0.60
L-グルタミン酸	0.51	0.43
L-トリプトファン	0.48	0.29
L-ヒスチジン	0.43	0.34
L-セリン	0.28	0.33
L-メチオニン	0.09	0.07
L-アスパラギン酸Na	0.03	0.02

[0109] [動物実験]

6 週齢の W i s t a r 系雄性ラット (S L C 社) を 1 週間予備飼育して試験に用いた。体重に基づいて群分けし (V e h i c l e 群、V. A. A. M. 群、「製造例 3」群の 3 群、各 n = 7)、18 時間絶食した (ただし、水は自由摂取とした)。

[0110] 尾静脈より採血を行い (t i m e - 30)、直ちに被検試料 (V. A. A

、M. 群、「製造例3」群）又は注射用水（V e h i c l e 群）を5 m l / k g 経口投与した（表4）。30分後、再度採血を行った（t i m e 0）後、直ちにアドレナリン（（R）－（－）－エピネフリン、和光純薬工業）を腹腔内投与（0.2 m g / k g、8 m l / k g）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的な採血（t i m e 15、30、45、60、75、90）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中のグリセロールを測定した。

[表4]

群名	被検試料	用量	n
Vehicle			7
V.A.A.M.	V.A.A.M.	3 g/kg	7
「製造例3」	製造例3	3 g/kg	7

[0111] [測定]

血中グリセロール：G l y c e r o l A s s a y K i t （C a y m a n C h e m i c a l C a m p a n y）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値から t i m e - 30 の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。

[0112] [統計学的処理方法]

測定値は、平均値±標準誤差で示した。データは統計ソフト S t a t V i e w 5.0-J を使用して、F 検定による等分散の検定後、F i s h e r の P L S D によって検定した。有意水準は5%とした。

[0113] (2) 結果

図3に血中グリセロール濃度の変化量を示す。「製造例3」群は、V. A. A. M. 群よりも、血中グリセロール濃度の変化量が高水準で推移した。アドレナリン投与後30分（t i m e 30）及び45分（t i m e 45）に

において、「製造例3」群はVehicle群と比較して有意に高い ($p < 0.05$) な血中グリセロール濃度の変化量を示した。

[0114] 以上の結果から、アラニン、フェニルアラニン、及びアルギニンを高度に含有する本発明の脂質代謝促進剤は、従来のアミノ酸組成物よりも高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0115] (実施例4)

高脂肪食を給餌して運動負荷をかけた動物における、本発明の脂質代謝促進剤(製造例3)の脂質代謝促進効果

(1) 材料及び方法

[被検試料及び餌]

・ 0.1%CMC溶液: カルボキシメチルセルロース(和光純薬)を0.1w/v%の濃度で注射用蒸留水に溶解して調製した。

[0116] ・ V. A. A. M. : 表1に示す組成のアミノ酸混合物(V. A. A. M.)を、1g/10mlの濃度で0.1%CMC溶液に懸濁して調製した。

[0117] ・ V. A. A. M. + CoQ10 + L-Carnitine : 表1に示す組成のアミノ酸混合物(V. A. A. M.)を1g/10ml、コエンザイムQ10(CoQ10、太陽化学)をCoQ10として10mg/10ml、L-カルニチン(三栄源エフ・エフ・アイ)を68mg/10mlの濃度になるように、0.1%CMC溶液に懸濁して調製した。

[0118] ・ 「製造例3」 : 表3に示す組成のアミノ酸混合物(製造例3)を、1g/10mlの濃度で0.1%CMC溶液に懸濁して調製した。

[0119] ・ AIN-93M(オリエンタル酵母工業) : 組成を表5に示す。米国国立栄養研究所(AIN)から1993年(AIN-93)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である。

[0120] ・ HFD-60(オリエンタル酵母工業) : 組成を表5に示す。脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料である。

[表5]

	AIN-93M (g/kg)	HFD-60 (g/kg)
カゼイン	140	260
牛脂	0	330
大豆油	40	20
β コーンスターチ	465.692	0
α コーンスターチ	155	160
スクロース	100	55
食物繊維	50	66.1
AIN-93M ミネラル混合	35	35
AIN-93M ビタミン混合	10	10
L-シスチン	1.8	3.6
重酒石酸コリン	2.5	2.5
第3 ブチルヒドロキノン	0.008	0
マルトデキストリン	0	60
炭酸カルシウム	0	1.8

[0121] [動物実験]

3週齢のC57BL/6J系雄性マウス（クレア社）を1週間予備飼育及び1週間のトレッドミルへの馴化をした後に試験に用いた。体重に基づいて群分けし（day 0）（Normal群（n=9）、High-fat群（n=10）、H+V. A. A. M. 群（n=9）、H+V. A. A. M. + CoQ10+L-Carnitine群（n=10）、H+「製造例3」群（n=10）の5群）、以降、群分けから42日後の試験最終日（day 42）までAIN-93M（Normal群）又はHFD-60（High-fat群、H+V. A. A. M. 群、H+V. A. A. M. + CoQ10+L-Carnitine群、H+「製造例3」群）を自由摂取させた（ただし、水は自由摂取とした）。

[0122] [被験試料の投与]

被検試料（H+V. A. A. M. 群、H+V. A. A. M. +C o Q 1 0 +L -C a r n i t i n e 群、H+「製造例3」群）又は0. 1 % C M C 溶液（N o r m a l 群、H i g h - f a t 群）を、試験最終日を除く42日間毎日（d a y 0 ~ d a y 4 1）、ゾンデを用いて強制経口投与した。被検試料又は0. 1 % C M C 溶液は1週間に1度調製して使用し、表6に示す用量（投与容量10mL／kg）で投与した。

[表6]

群名	餌	被検試料	用量	n
Normal	AIN-93M			9
High-fat	HFD-60			10
H+V.A.A.M.	HFD-60	V.A.A.M.	1 g/kg	9
H+V.A.A.M. +CoQ10 +L-Carnitine	HFD-60	V.A.A.M. +CoQ10 +L-Carnitine	1 g/kg 10mg/kg 68mg/kg	10
H+「製造例3」	HFD-60	製造例3	1 g/kg	10

[0123] [トレッドミルによる運動負荷]

群分け～試験最終日（d a y 0 ~ d a y 4 2）の期間中、1週間に3回の頻度で、トレッドミルによる運動負荷（15m／分～20m／分、40分間）を行った。

[0124] [体重測定]

群分け～試験最終日（d a y 0 ~ d a y 4 2）の期間中、3日に1回の頻度で、体重測定を行った。

[0125] [組織採取]

試験最終日（d a y 4 2）に解剖して腎周囲脂肪組織及び褐色脂肪組織の重量を測定し、褐色脂肪組織中のUCP-1発現量を測定した。

[0126] [測定]

褐色脂肪組織中のUCP-1発現量：Mouse mitochondr

ial brown fat uncoupling protein 1 (UCP1) ELISA Kit (CUSABIO) を用い、付属の手順書に従って、褐色脂肪組織中のUCP-1 発現量を測定した。

[0127] [統計学的処理方法]

測定値は、平均値±標準誤差で示した。データは統計ソフトStat View 5.0-Jを使用して、F検定による等分散の検定後、FisherのPLSDによって検定した。有意水準は5%とした。

[0128] (2) 結果

図4に、体重測定及び試験期間中の摂餌量／体重の結果を示す。High-fat群において、Normal群と比較して投与3日目(day3)より有意に体重増加が見られた。「製造例3」群では、High-fat群と比較して投与3～42日目(day3～day42)にかけて有意な体重抑制効果が見られた。一方で、V.A.A.M.群及びV.A.A.M.+CoQ10+L-Carnitine群はHigh-fat群と比較して体重に差異を認めなかった。試験期間中の摂餌量／体重は、AIN-93Mを給餌した群よりもHFD-60を給餌した各群の方が低い値を示したが、HFD-60を給餌した各群の間に差異は認められなかった。

[0129] 図5に、腎周囲の脂肪重量を示す。High-fat群ではNormal群と比較して有意に重量が増加した。製造例3群はHigh-fat群と比較して有意に脂肪組織重量の増加を抑制した。一方で、V.A.A.M.群及びV.A.A.M.+CoQ10+L-Carnitine群はHigh-fat群と比較して脂肪組織重量に差異を認めなかった。

[0130] 図6に、褐色脂肪組織中のUCP-1発現量を示す。High-fat群ではNormal群と比較してUCP-1発現量に変化を認めなかった。製造例3群はHigh-fat群と比較して有意にUCP-1発現量が増加した。一方で、V.A.A.M.群及びV.A.A.M.+CoQ10+L-Carnitine群はHigh-fat群と比較してUCP-1発現量に差異を認めなかった。

[0131] 以上の結果から、本発明の脂質代謝促進剤について運動負荷時の脂質代謝促進効果を確認することができた。

[0132] (実施例 5)

脂質代謝促進効果における、本発明の脂質代謝促進剤の効果確認

(1) 材料及び方法

[試験食品]

内容物の有無を外観上識別不能なカプセル（日本薬局方セルロースホワイトカプセル（植物性）00号）を用い、下記2種類の試験食品を調製した。

[0133] ・プラセボ：内容物を含まないカプセル。

[0134] ・アクティブ：表3に記載の製造例3を3g封入したカプセル。

[0135] [被験者]

被験者の選別をするために、20歳以上の男性に対し、事前の血液生化学検査、血液学的検査及び自転車運動を実施した（V S O）。自転車運動では、運動開始から疲労困憊するまでに要する時間及び最大酸素摂取量（ VO_2max ）の測定を行なった。さらに事前アンケートで生活習慣の確認を行い、これらの結果に基づいて、健康でかつ運動開始から疲労困憊するまでに要する時間と VO_2max に偏りのないことを条件に、被験者の選抜を行なった。

[0136] 今回の試験では、下記(1)～(4)の判定基準を2つ以上満たしたときに、被験者が疲労困憊したと判断した。さらに、疲労困憊であると判断された直前に得られた最大の酸素摂取量を VO_2max とした。

[0137] (1) 酸素摂取量（ VO_2 ）の増加でプラトーの現象が出現した。

[0138] (2) 呼吸交換比（ VCO_2/VO_2 ）が1.1以上に達した。

[0139] (3) 心拍数（HR）が、20歳で予想されている最高心拍数（ HRmax ）である200に達した。

[0140] (4) Borg scale 日本語版（小野寺ら、全身持久性運動における主観的強度と客観的強度の対応性：Rating of perceived exertionの観点から、体育学研究、21（4）、p. 191－203（1976））を用いた主観的運動強度（RPE）が19（非常にき

つい (very very hard)) 以上となった。

[0141] 自転車運動は、自転車エルゴメータを使用し、回転数60回転/分の条件で、運動開始0～1分後は100W、それ以降は1分経過毎25Wずつ運動強度を上げ、疲労困憊となるまで運動を行った（多段階漸増運動負荷試験）。

[0142] こうして選抜された20.5±0.2歳（平均値±標準誤差）、の被験者男性12名にて、二重盲験クロスオーバー比較試験を行った。

[0143] [試験スケジュール]

V S 0から14日の間隔をあけて1回目の試験（V S 1）を実施した。V S 1では2種類の試験食品のうち一方を摂取し、自転車運動、採血、呼気ガスの採取・分析、及び心拍数の測定を行なった。さらに、V S 1から7日の間隔をあけて2回目の試験（V S 2）を行った。V S 2ではV S 1とは異なる試験食品を摂取し、自転車運動、採血、呼気ガスの採取・分析、及び心拍数の測定を行なった。

[0144] なお、試験開始日（V S 0）以降、検査終了時（V S 2）まで、日常範囲を大きく逸脱する過度な運動、摂食や過食の制限するよう指導した。さらに、本試験に影響を及ぼす可能性があるサプリメント、健康食品、医薬品（一般用医薬品を含む）の使用、及び喫煙は禁止した。さらに、試験（V S 0、V S 1、V S 2）前日は禁酒し、食事は22時までに終え、深夜0時までに就寝するように指導し、当日は、自転車運動を開始する2時間前までに食事を終え、それ以降は検査が終了するまで飲食を禁止した（飲水は可）。また、検査当日は同じ時刻に起床し、試験の実施はできる限り同じ時間帯で行うように指導した。

[0145] [試験V S 1 及び試験V S 2の実施]

・試験食品の摂取：前記の試験食品を、水又は白湯を用いて嚙まずに飲み込んで摂取させた。

[0146] ・自転車運動：自転車エルゴメータを使用して、試験食品摂取30分後～試験食品摂取90分後（time 30～90）の60分間、回転数60回転／

分の条件で、V S Oで測定した $V O_2 \text{max}$ の50%の運動強度にて継続的に実施した。

[0147] ・採血：試験食品摂取前及び試験食品摂取の15、30、45、60、75、90、120、150分後（time 0、15、30、45、60、75、90、120、150）に実施した。

[0148] ・呼気ガスの採取・分析：ブレス・バイ・ブレス法を用い、試験食品摂取直後～試験食品摂取150分後（time 0～time 150）までの150分間、継続的に実施した。

[0149] ・心拍数の測定：試験食品摂取直後～試験食品摂取150分後（time 0～time 150）の150分間、継続的に実施した。

[0150] [測定]

・呼吸交換比：採取した呼気を呼吸毎にガス分析装置で測定し、呼気中の O_2 及び CO_2 の濃度、呼気の流量を測定した。この測定値に基づいて、酸素摂取量（ $V O_2$ ）（ml／体重kg／min）、二酸化炭素産生量（ $V C O_2$ （ml／体重kg／min））及び呼吸交換比（ $V C O_2 / V O_2$ ）を算出した。さらに、各時点の呼吸交換比からtime 0の呼吸交換比の各群平均値を差し引いて、呼吸交換比の変化量（ $\Delta V C O_2 / V O_2$ ）を求めた。

[0151] ・血中グリセロール：酵素法を用い、付属の手順書に従って、血清中のグリセロールを測定した。

[0152] ・血中遊離脂肪酸：酵素－UV法を用いて、血清中の遊離脂肪酸濃度を測定した。

[0153] ・血中コルチゾール：CLEIA（Chemiluminescent Enzyme Immunoassay）法を用いて、血漿中のコルチゾール濃度を測定した。

[0154] ・血中グルカゴン：RIA2抗体（Double-antibody Radioimmunoassay）法を用いて、血漿中のグルカゴン濃度を測定した。

[0155] ・血中インスリン：CLIA（Chemiluminescent Imm

uno assay) 法を用いて、血清中のインスリン濃度を測定した。

[0156] ・血糖：酵素法を用いて、血糖値を測定した。

[0157] ・血中総ケトン体：酵素法を用いて、血清中の総ケトン濃度（3-ヒドロキシ酪酸及びアセト酢酸の合計）を測定した。

[0158] ・血中3-ヒドロキシ酪酸：酵素法を用いて、血清中の3-ヒドロキシ酪酸濃度を測定した。

[0159] ・血中アセト酢酸：酵素法を用いて、血清中のアセト酢酸濃度を測定した。

[0160] ・血中成長ホルモン：CLEIA法を用いて、血清中の成長ホルモン濃度を測定した。

[0161] ・血中アドレナリン：HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 法を用いて、血漿中のアドレナリン濃度を測定した。

[0162] ・血中ノルアドレナリン：HPLC法を用いて、血漿中のノルアドレナリン濃度を測定した。

[0163] [統計学的処理方法]

試験で得た各測定値、算出値又は換算値は1標本t検定で評価した。

[0164] (2) 結果

図7に、経時的な呼吸交換比の変化量 ($\Delta VCO_2 / VO_2$) の結果を示す。 $\Delta VCO_2 / VO_2$ は、運動開始から運動終了後までアクティブ群の方が低い値で推移し、運動時ではtime 85、90 (分) でプラセボ群に比べて有意な低下が認められた。運動終了時ではtime 95、100 (分) に両群とも一旦上昇するが、その後time 135 (分) まで急激に低下した。特にtime 125～135 (分) の間では、有意な差は見られなかったものの、アクティブ群の方が低い平均値を示した。

[0165] 図8に、経時的な血中グリセロールの濃度及び遊離脂肪酸の濃度を測定した結果を示す。血中グリセロールの濃度は、運動時のtime 45及び90 (分) において、有意な差は見られなかったものの、アクティブ群の方が高い平均値を示した。

- [0166] 血中遊離脂肪酸は、運動開始時（*time* 30（分））から試験終了時（*time* 150（分））までアクティブ群の方が高い平均値を示し、運動時の *time* 90（分）において最も高い平均値を示した。
- [0167] 図9に、経時的な血中のコルチゾール、グルカゴン、インスリンの濃度、及び血糖を測定した結果を示す。
- [0168] コルチゾールは、運動前の *time* 0～15（分）まで上昇したが、その後減少した。*time* 15～75（分）において、アクティブ群の値の方が低く、*time* 45（分）で有意な差が認められた。
- [0169] グルカゴンは、*time* 30（分）の運動開始後から値が上昇し、運動時の *time* 75（分）ではアクティブ群は有意に高い値を示した。また、運動後の *time* 120（分）においても、アクティブ群は有意に高い値を示した。
- [0170] インスリン及び血糖は、アクティブ群とプラセボ群の間に差を認めなかった。
- [0171] 図10に、経時的な血中の総ケトン体、3-ヒドロキシ酪酸、及びアセト酢酸の濃度を測定した結果を示す。総ケトン体及び3-ヒドロキシ酪酸は、運動時の *time* 45（分）（運動開始から15分後）までアクティブ群、プラセボ群共に一旦低下するが、その後上昇を始め、*time* 45～150（分）まではアクティブ群の方が上昇量は大きく、*time* 120（分）で平均値が最大となった。*time* 60（分）の測定値に有意な差が認められた。経時的推移に注目すると、運動負荷の後（*time* 120及び*time* 150）に、アクティブ群のケトン体の生成が大きく高まっている傾向がみられた。
- [0172] アセト酢酸は、両群に有意な差を認めなかったものの、総ケトン体と同様の推移を示した。
- [0173] 図11に、血中の成長ホルモン、アドレナリン及びノルアドレナリンの濃度を測定した結果を示す。成長ホルモンは、試験開始時（*time* 0）から、アクティブ群とプラセボ群共に上昇し、ほぼ同様の推移を示した。アクテ

ィブ群とプラセボ群の間に有意な差は認められなかった。アドレナリン及びノルアドレナリンは、運動開始（time 30）と共に値は上昇し、運動終了（time 90）と共に値は低下した。いずれもアクティブ群とプラセボ群の間に有意な差は認められなかった。

[0174] 以上の結果から、本発明の脂質代謝促進剤について運動負荷時の脂質代謝促進効果をヒトで確認することができた。さらに、本発明の脂質代謝促進剤は、インスリン、成長ホルモン、アドレナリン及びノルアドレナリンの分泌に影響を与えずに、脂質代謝促進効果を奏することもわかった。

[0175] （実施例 6）

本発明の脂質代謝促進剤を配合した飲料の製造

表 3 に示す製造例 3 を 1.5 w/v %、甘味料 1.0 w/v %、酸味料 0.9 w/v %、及び増粘剤 0.2 w/v % の濃度で配合し、常法に従って飲料を製造した。飲料 200

ml を摂取すると、製造例 3 を 3 g 摂取することができる。

[0176] （実施例 7）

本発明の脂質代謝促進剤を配合したタブレットの製造

表 3 に示す製造例 3 を 50 w/w %、賦形剤、結合剤、崩壊剤、及び滑沢剤を合わせて 50 w/w % 配合し、常法に従ってタブレットを製造した。

[0177] （実施例 8）

本発明の脂質代謝促進剤を配合したサプリメントの製造

Ｌ－アルギニン 1 g（5.7 ミリモル）、Ｌ－アラニン 1 g（11 ミリモル）、Ｌ－フェニルアラニン 1 g（6.1 ミリモル）の割合で混合し、これに賦形剤を添加して、カプセルに充填した。

[0178] （実施例 9）

脂質代謝指標の測定

（１）材料及び方法

[被検試料]

被検試料は、表 3 に示す組成のアミノ酸混合物（製造例 3）、及び表 1 に

示す組成のアミノ酸混合物（V. A. A. M.）を、それぞれ蒸留水に懸濁することにより調製した。

[0179] [動物実験]

3週齢の雄マウスC57BL/6J（日本クレア社）を5日間予備飼育し、さらに2日間トレッドミルへの馴化を行った後、実験に用いた。馴化期間終了後、体重を測定し各群の平均体重が同様となるように群分け（Normal群、High-fat群、H+V. A. A. M. 群、及びH+製造例3群）を行った。水は自由摂取とした。

[0180] 試験系の概略及び群構成を以下の表7に示す。高脂肪食摂取下では脂質代謝が低下することに基づき、Normal群以外の3群には高脂肪飼料HFD-60を摂取させた。

[表7]

群名	餌	被検試料	用量	n
Normal	AIN-93M	蒸留水	—	16
High-fat	HFD-60	蒸留水	—	18
H+V. A. A. M.	HFD-60	V. A. A. M.	1.0 g/kg	18
H+製造例3	HFD-60	「製造例3」	1.0 g/kg	18

*HはHigh-fat（高脂肪食）を表す。

[0181] 被検試料は、馴化期間終了後より最終日を除く4日間毎日、ゾンデを用いてマウスに強制経口投与した。4日間の投与期間中は2日に一回の割合でトレッドミルにて強制的に運動（強制走行）を行わせた。トレッドミルによる運動負荷は15 m／分の速度で40分間とした。トレッドミルによる運動負荷の30分前に被検試料を投与した。投与開始後4日目から5日目にかけて18時間絶食させた。

[0182] 投与開始後5日目に解剖を行った。解剖日当日、投与時からの継時的変化を調べるため、各群を3つのグループに分けた。具体的には、投与前に解剖する群（投与前（0））、投与30分後に解剖する群（運動前（30））、投与30分後から60分間のトレッドミル運動後に解剖する群（運動後（9

0)) に分けて解剖日当日の被検試料の投与及び運動負荷を実施し、採血と解剖を行った。採取した肝臓は、重量を測定した後、直ちに液体窒素で凍結し、 β 酸化関連酵素の測定を行うまで -80°C にて凍結保存した。

[0183] [測定]

得られた血液について、血清中のグルカゴン濃度（血中グルカゴン濃度）を、グルカゴン比色定量ELISAキット Mercodia Glucagon ELISA Kit (Mercodia) を用いて付属の手順書に従って測定した。

[0184] また、肝臓の β 酸化関連酵素活性（カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性、アシルCoAオキシダーゼ活性）は、以下の手順で測定を行った。まず、肝臓をホモジナイズし、遠心分離して上清を分取することにより、肝臓総ホモジネート画分を得た。この画分について、Marlwellらの方法を一部変更して用いることにより、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性を測定した。具体的には、最終濃度 0.04 mM パルミトイルCoA、 0.25 mM DTNB（イールマン試薬）、 1.25 mM EDTA及び 0.1% Triton-X100を含む 58 mM トリス塩酸緩衝液（ $\text{pH } 8.0$ ）に得られた肝臓総ホモジネート画分を添加し、 30°C 、 412 nm での吸光度測定により5分間反応を追跡し、その後、L-カルニチン（終濃度 1.25 mM ）を添加し、CoAの生成を5分間追跡し（総量 $200\text{ }\mu\text{L}$ ）、それによりカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性を測定した。

[0185] また、肝臓総ホモジネート画分について、Hashimotoらの方法を一部改変して用いることにより、アシルCoAオキシダーゼ活性を測定した。具体的には、最終濃度 0.1 mM パルミトイルCoA、 10.6 mM フェノール、 0.82 mM 4-アミノアンチピリン、 $10\text{ }\mu\text{M}$ FAD、 4 U ペルオキシダーゼ（ホースラディッシュ）及び 0.2 mg ウシアルブミンを含む 50 mM リン酸カリウム緩衝液（ $\text{pH } 7.4$ ）に得られた肝臓総ホモジネート画分を添加し、 30°C 、 500 nm で11分間、吸光度を追

跡した（総量200 μ L）。

[0186] さらに、得られた肝臓総ホモジネート画分中のタンパク質量を、BCA法を用いて測定した。測定にはT a K a R a B C A P r o t e i n A s s a y K i t T 9 3 0 0 Aを用い、付属の手順書に従って測定した。

[0187] [統計学的処理方法]

各種測定値は、平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。データは統計ソフトS t a t V i e w 5 . 0 - Jを使用し、各群の分散の等質性をF検定にて確認後、多群の検定をF i s h e rのP L S Dによって行った。有意水準は両側5%とした。

[0188] (2) 結果

図12に、血中グルカゴン濃度の測定結果を示す。H+製造例3群は、H i g h - f a t群と比較して運動前（投与後30分）において血中グルカゴン濃度の有意な上昇を示した。すなわち本発明の脂質代謝促進剤は、脂肪分解促進作用を有するグルカゴンの分泌を運動前に亢進させることにより、運動時の脂質代謝を効率的に促進できることが示された。

[0189] 図13に、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性の測定結果を示す。H+製造例3群は、H i g h - f a t群と比較して投与前及び運動前（投与後30分）においてカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ活性の有意な上昇を示した。

[0190] 図14に、アシルC o Aオキシダーゼ活性の測定結果を示す。H+製造例3群は、H i g h - f a t群と比較して投与前においてアシルC o Aオキシダーゼ活性の有意な上昇を示した。

[0191] 肝臓 β 酸化関連酵素であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼやアシルC o Aオキシダーゼは、脂質代謝の律速段階となる酵素として知られていることから、本発明の脂質代謝促進剤が、これら β 酸化関連酵素活性の増強によっても脂質代謝を促進できることが示された。

[0192] 以上の結果から、アラニン、フェニルアラニン、及びアルギニンを高度に含有する本発明の脂質代謝促進剤が、高い脂質代謝促進効果を示すことが示

された。

[0193] (実施例 10)

脂質代謝指標の測定

(1) 材料及び方法

[被検試料]

被検試料として、(i) アラニン (アラニン : アルギニン = 10 : 0)、
(ii) アラニンとアルギニンの 7.5 : 2.5 混合物、(iii) アラニンとアルギニンの 5 : 5 混合物、(iv) アラニンとアルギニンの 2.5 : 7.5 混合物、(v) アルギニン (アラニン : アルギニン = 0 : 10) を、それぞれ注射用水 (大塚製薬) に懸濁して調製したものを使用した。

[0194] [動物実験]

6 週齢の W i s t a r 系雄性ラット (S L C 社) を予備飼育後、試験に用いた。試験前日の朝、ラットの体重を測定し、平均体重が同様となるように群分けした。試験系の概略及び群構成を以下の表 8 に示す。

[表8]

群名	被検試料	用量	n
コントロール	注射用水	-	6
Ala:Arg=10:0	アラニン	1 g/kg	6
Ala:Arg=7.5:2.5	アラニンとアルギニンの 3 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Arg=5:5	アラニンとアルギニンの 1 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Arg=2.5:7.5	アラニンとアルギニンの 1 : 3 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Arg=0:10	アルギニン	1 g/kg	6

[0195] 試験前日の夕方より 18 時間の絶食を行った。ただし水は自由摂取とした。

[0196] 試験当日、尾静脈より採血を行い (投与 30 分前 ; t i m e - 30)、直ちに被検試料をラット体重に対し 1 g / k g の用量で経口投与 (5 m l / k g) した。採血の 30 分後、再度採血を行った (t i m e 0) 後、直ちにア

ドレナリン（（R）－（－）－エピネフリン、和光純薬工業社）を0.2 mg/kgの用量で腹腔内投与（8 ml/kg）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的に採血（time 15、30、45、60、75、90）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中グリセロールを測定した。

[0197] [測定]

グリセロールアッセイキット（Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値からtime 0の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。

[0198] (2) 結果

アラニン（Ala）：アルギニン（Arg）＝2.5：7.5群、5：5群、7.5：2.5群、10：0群は、コントロール群よりも、血中グリセロール濃度の変化量が高水準で推移した。また、アラニンとアルギニンは、1：1で混合すると最も高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0199] (実施例 11)

脂質代謝指標の測定

(1) 材料及び方法

[被検試料]

被検試料として、(i) アラニン（アラニン：フェニルアラニン＝10：0）、(ii) アラニンとフェニルアラニンの7.5：2.5混合物、(iii) アラニンとフェニルアラニンの5：5混合物、(iv) アラニンとフェニルアラニンの2.5：7.5混合物、(v) フェニルアラニン（アラニン：フェニルアラニン＝0：10）を、それぞれ注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製したものを使用した。

[0200] [動物実験]

6週齢のWistar系雄性ラット（SLC社）を予備飼育後、試験に用いた。試験前日の朝、ラットの体重を測定し、平均体重が同様となるように

群分けした。試験系の概略及び群構成を以下の表 9 に示す。

[表9]

群名	被検試料	用量	n
コントロール	注射用水	—	6
Ala:Phe=10:0	アラニン	1 g/kg	6
Ala:Phe=7.5:2.5	アラニンとフェニルアラニンの 3 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Phe=5:5	アラニンとフェニルアラニンの 1 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Phe=2.5:7.5	アラニンとフェニルアラニンの 1 : 3 重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Phe=0:10	フェニルアラニン	1 g/kg	6

[0201] 試験前日の夕方より 18 時間の絶食を行った。ただし水は自由摂取とした。

[0202] 試験当日、尾静脈より採血を行い (time - 30)、直ちに被検試料をラット体重に対し 1 g/kg の用量で経口投与 (5 ml/kg) した。採血の 30 分後、再度採血を行った (time 0) 後、直ちにアドレナリン ((R) - (-) - エピネフリン、和光純薬工業社) を 0.2 mg/kg の用量で腹腔内投与 (8 ml/kg) した。その後、アドレナリン投与の 90 分後まで、15 分おきに経時的に採血 (time 15、30、45、60、75、90) を行った。採取した血液より血漿を得て、血中グリセロール濃度を測定した。

[0203] [測定]

グリセロールアッセイキット (Cayman Chemical Company) を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値から time 0 の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。

[0204] (2) 結果

アラニン (Ala) : フェニルアラニン (Phe) = 2.5 : 7.5 群、5 : 5 群、7.5 : 2.5 群、10 : 0 群は、control 群よりも、血

中グリセロール濃度の変化量が高水準で推移した。また、アラニンとフェニルアラニンは、1 : 3 で混合すると最も高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0205] (実施例 1 2)

脂質代謝指標の測定

(1) 材料及び方法

[被検試料]

被検試料として、(i) アルギニン (アルギニン : フェニルアラニン = 10 : 0)、(ii) アルギニンとフェニルアラニンの 7.5 : 2.5 混合物、(iii) アルギニンとフェニルアラニンの 5 : 5 混合物、(iv) アルギニンとフェニルアラニンの 2.5 : 7.5 混合物、(v) フェニルアラニン (アルギニン : フェニルアラニン = 0 : 10) を、それぞれ注射用水 (大塚製薬) に懸濁して調製したものを使用した。

[0206] [動物実験]

6 週齢の W i s t a r 系雄性ラット (S L C 社) を予備飼育後、試験に用いた。試験前日の朝、ラットの体重を測定し、平均体重が同様となるように群分けした。試験系の概略及び群構成を以下の表 10 に示す。

[表10]

群名	被検試料	用量	n
コントロール	注射用水	—	6
Arg:Phe=10:0	アルギニン	1 g/kg	6
Arg:Phe=7.5:2.5	アルギニンとフェニルアラニンの 3 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Arg:Phe=5:5	アルギニンとフェニルアラニンの 1 : 1 重量比混合物	1 g/kg	6
Arg:Phe=2.5:7.5	アルギニンとフェニルアラニンの 1 : 3 重量比混合物	1 g/kg	6
Arg:Phe=0:10	フェニルアラニン	1 g/kg	6

[0207] 試験前日の夕方より 18 時間の絶食を行った。ただし水は自由摂取とした。

。

[0208] 試験当日、尾静脈より採血を行い（time - 30）、直ちに被検試料をラット体重に対し1 g / kgの用量で経口投与（5 ml / kg）した。採血の30分後、再度採血を行った（time 0）後、直ちにアドレナリン（（R）-（-）-エピネフリン、和光純薬工業社）を0.2 mg / kgの用量で腹腔内投与（8 ml / kg）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的に採血（time 15、30、45、60、75、90）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中グリセロール濃度を測定した。

[0209] [測定]

グリセロールアッセイキット（Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値からtime 0の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。

[0210] (2) 結果

図15に血中グリセロール濃度の変化量（Δグリセロール）を示す。アルギニン（Arg）：フェニルアラニン（Phe）= 2.5 : 7.5群と5 : 5群は、コントロール群よりも、血中グリセロール濃度の変化量が高水準で推移した。また、アルギニンとフェニルアラニンは、1 : 3で混合すると最も高い脂質代謝促進効果を示すことがわかった。

[0211] (実施例13)

脂質代謝指標の測定

(1) 材料及び方法

[被検試料]

被検試料として、実施例10～12の中でそれぞれ高い脂肪分解能を示した、(i) アラニンとアルギニンの1 : 1重量比混合物、(ii) アラニンとフェニルアラニンの1 : 3重量比混合物、(iii) アルギニンとフェニルアラニンの1 : 3重量比混合物、(iv) 表3に示す組成のアミノ酸混合物（製造例3）を、それぞれ注射用水（大塚製薬）に懸濁して調製したもの

を使用した。

[0212] [動物実験]

6週齢のWistar系雄性ラット（SLC社）を予備飼育後、試験に用いた。試験前日の朝、ラットの体重を測定し、平均体重が同様となるように群分けした。試験系の概略及び群構成を以下の表11に示す。

[表11]

群名	被検試料	用量	n
コントロール	注射用水	—	6
Ala:Arg=1:1	アラニンとアルギニンの1:1重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Phe=1:3	アラニンとフェニルアラニンの1:3重量比混合物	1 g/kg	6
Arg:Phe=1:3	アルギニンとフェニルアラニンの1:3重量比混合物	1 g/kg	6
製造例3	製造例3	1 g/kg	6

[0213] 試験前日の夕方より18時間の絶食を行った。ただし水は自由摂取とした。

[0214] 試験当日、尾静脈より採血を行い（time-30）、直ちに被検試料をラット体重に対し1g/kgの用量で経口投与（5ml/kg）した。採血の30分後、再度採血を行った（time0）後、直ちにアドレナリン（（R）-（-）-エピネフリン、和光純薬工業社）を0.2mg/kgの用量で腹腔内投与（8ml/kg）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的に採血（time15、30、45、60、75、90）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中グリセロールを測定した。

[0215] [測定]

グリセロールアッセイキット（Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値からtime0の測定値を差し引いた値に基づいて、time0～time90の血中グリセロールAUC（血中濃度×時

間曲線下面積)を算出した。

[0216] [統計学的処理方法]

測定値は、平均値±標準誤差で示した。データは統計ソフトStat View 5.0-Jを使用して、F検定による等分散の検定後、FisherのPLSDによって検定した。有意水準は5%とした。

[0217] (2) 結果

図16に算出された血中グリセロールAUC (min・mg/L)を示す。Ala:Arg=1:1群、Ala:Phe=1:3群、Arg:Phe=1:3群、及び製造例3群の全てにおいて、コントロール群と比較して、血中グリセロールAUCが高かった。

[0218] (実施例14)

脂質代謝指標の測定

(1) 材料及び方法

[被検試料]

被検試料として、実施例13で最も高い脂肪分解能を示した(i)アラニンとアルギニンの1:1重量比混合物、実施例10~12の結果を踏まえて配合比を定めた(ii)アラニンとアルギニンとフェニルアラニンの1:1:3重量比混合物、(iii)アラニンとアルギニンとフェニルアラニンの1:1:6重量比混合物を、それぞれ注射用水(大塚製薬)に懸濁して調製したものを使用した。

[0219] [動物実験]

6週齢のWistar系雄性ラット(SLC社)を予備飼育後、試験に用いた。試験前日の朝、ラットの体重を測定し、平均体重が同様となるように群分けした。試験系の概略及び群構成を以下の表12に示す。

[表12]

群名	被検試料	用量	n
コントロール	注射用水	—	6
Ala:Arg=1:1	アラニンとアルギニンの1:1重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Arg:Phe=1:1:3	アラニンとアルギニンとフェニルアラニンの1:1:3重量比混合物	1 g/kg	6
Ala:Arg:Phe=1:1:6	アラニンとアルギニンとフェニルアラニンの1:1:6重量比混合物	1 g/kg	6

[0220] 試験前日の夕方より18時間の絶食を行った。ただし水は自由摂取とした。

[0221] 試験当日、尾静脈より採血を行い（time-30）、直ちに被検試料をラット体重に対し1g/kgの用量で経口投与（5ml/kg）した。採血の30分後、再度採血を行った（time 0）後、直ちにアドレナリン（（R）-（-）-エピネフリン、和光純薬工業社）を0.2mg/kgの用量で腹腔内投与（8ml/kg）した。その後、アドレナリン投与の90分後まで、15分おきに経時的に採血（time 15、30、45、60、75、90）を行った。採取した血液より血漿を得て、血中グリセロールを測定した。

[0222] [測定]

グリセロールアッセイキット（Cayman Chemical Company）を用い、付属の手順書に従って、血漿中のグリセロールを測定した。各測定時における測定値からtime 0の測定値を差し引いた値を算出し、これを血中グリセロール濃度の変化量とした。各測定時における測定値からtime 0の測定値を差し引いた値に基づいて、time 0～time 90の血中グリセロールAUC（血中濃度－時間曲線下面積）を算出した。

[0223] (2) 結果

図17に算出された血中グリセロールAUC（min・mg/L）を示す。アラニン（Ala）：アルギニン（Arg）=1:1群と、アラニン（Ala）：アルギニン（Arg）：フェニルアラニン（Phe）=1:1:3

群と 1 : 1 : 6 群は、コントロール群と比較して、血中グリセロール A U C が高かった。

- [0224] 以上の結果から、アラニン、フェニルアラニン、及びアルギニンのうちの 2 つ又は 3 つの組み合わせを含む本発明の脂質代謝促進剤は、高い脂質代謝促進効果を示すことがさらに示された。

産業上の利用可能性

- [0225] 本発明に係る脂質代謝促進剤によれば、効果的に脂肪消費を促進し、また同じ運動量においてもより高い体脂肪減少効果をもたらすことができ、そのような効果が期待できる脂質代謝促進剤やそれを用いた製品の開発が可能となる。
- [0226] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願の全体を参照により本明細書に取り入れるものとする。

請求の範囲

- [請求項1] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも2つのアミノ酸を含むアミノ酸混合物を含有し、かつ前記少なくとも2つのアミノ酸をそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して60モル以上のモル比で含む、脂質代謝促進剤。
- [請求項2] 前記アミノ酸混合物がアルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを含有する、請求項1に記載の脂質代謝促進剤。
- [請求項3] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンを、全アミノ酸量100モルに対し、アルギニン：アラニン：フェニルアラニン＝8～30モル：18～30モル：10～20モルのモル比で含有する、請求項1又は2に記載の脂質代謝促進剤。
- [請求項4] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンの配合量が、(i) アルギニン：アラニン＝1.5：1～1：1.5、(ii) アラニン：フェニルアラニン＝4：1～1：4、及び(iii) アルギニン：フェニルアラニン＝1：1～1：4の少なくとも1つの重量比を満たす、請求項1～3のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。
- [請求項5] アルギニン、アラニン、及びフェニルアラニンをそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して100モルのモル比で含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。
- [請求項6] 前記アミノ酸混合物が、グリシンをさらに含有し、アルギニン、アラニン、フェニルアラニン、及びグリシンをそれらの合計量で全アミノ酸量100モルに対して85モル以上のモル比で含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。
- [請求項7] 前記アミノ酸混合物が他のアミノ酸としてプロリン、リジン、チロシン、スレオニン、ロイシン、バリン、イソロイシン、グルタミン酸、トリプトファン、ヒスチジン、セリン、メチオニン、及びアスパラギン酸のみをさらに含有する、請求項1～4及び6のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。

[請求項8] 前記アミノ酸混合物が、他のアミノ酸を、全アミノ酸量100モルに対して下記のモル比で含む、請求項7に記載の脂質代謝促進剤。

プロリン 0.01～4モル

リジン 0.01～2モル

チロシン 0.01～2モル

スレオニン 0.01～2モル

ロイシン 0.01～2モル

バリン 0.01～2モル

イソロイシン 0.01～2モル

グルタミン酸 0.01～1モル

トリプトファン 0.01～1モル

ヒスチジン 0.01～1モル

セリン 0.01～1モル

メチオニン 0.01～0.2モル

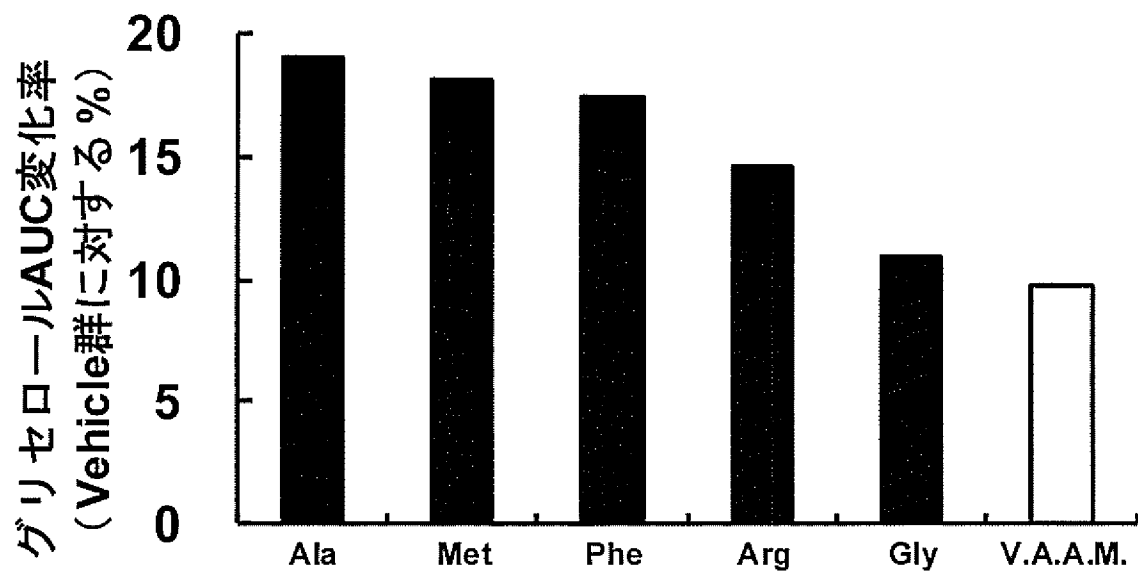
アスパラギン酸 0.01～0.1モル

[請求項9] アドレナリン分泌亢進状態で作用させるための、請求項1～8のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。

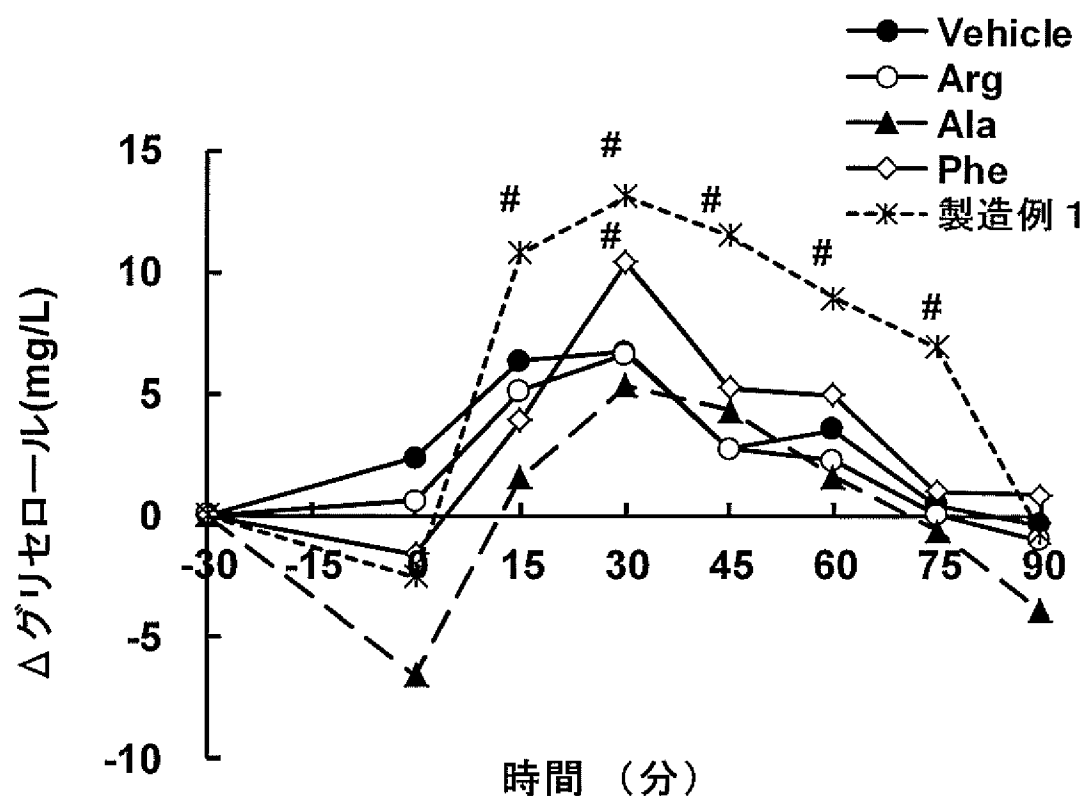
[請求項10] アドレナリン分泌亢進状態が、運動、ストレス、寒冷暴露、入浴、又は多食による刺激を受けた状態である、請求項9に記載の脂質代謝促進剤。

[請求項11] 血中グリセロール濃度上昇、体重増加抑制、血中遊離脂肪酸濃度上昇、血中グルカゴン濃度上昇、血中コルチゾール濃度低減、血中総ケトン体濃度上昇、血中3-ヒドロキシ酪酸濃度上昇、及び褐色脂肪組織中のUCP-1発現量増加からなる群から選択される少なくとも1つを伴う脂質代謝促進用の、請求項1～10のいずれか1項に記載の脂質代謝促進剤。

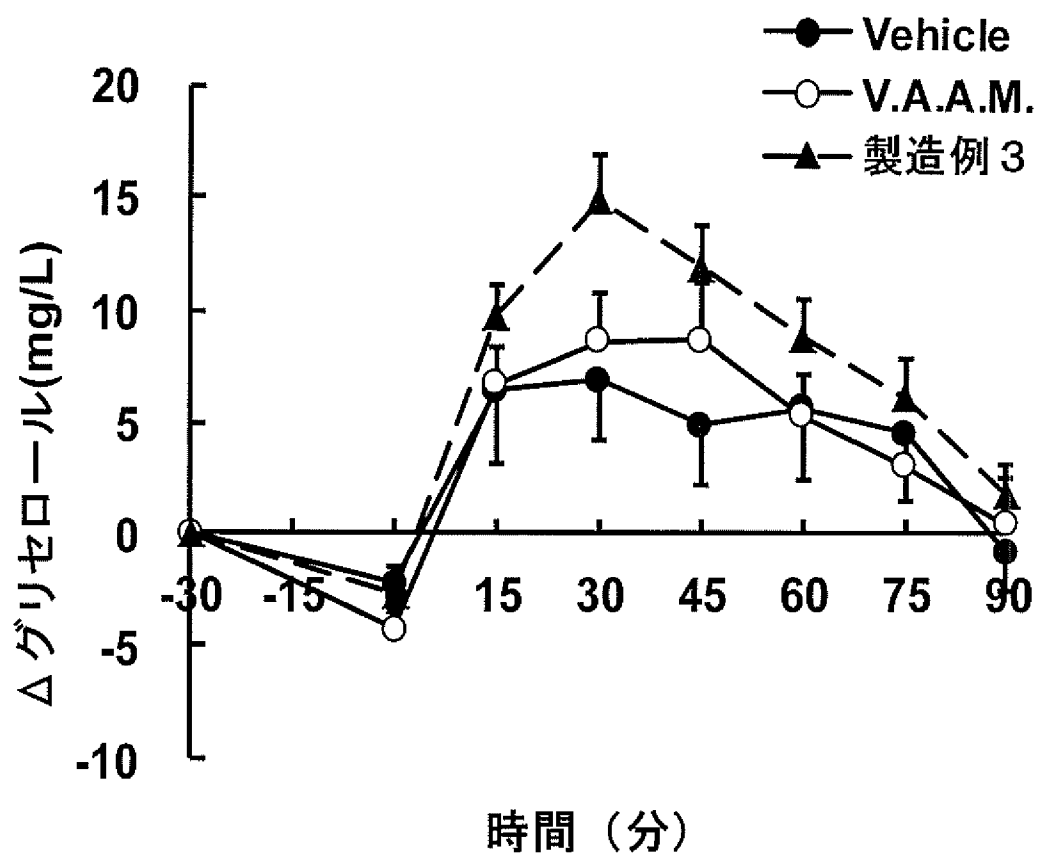
[図1]



[図2]

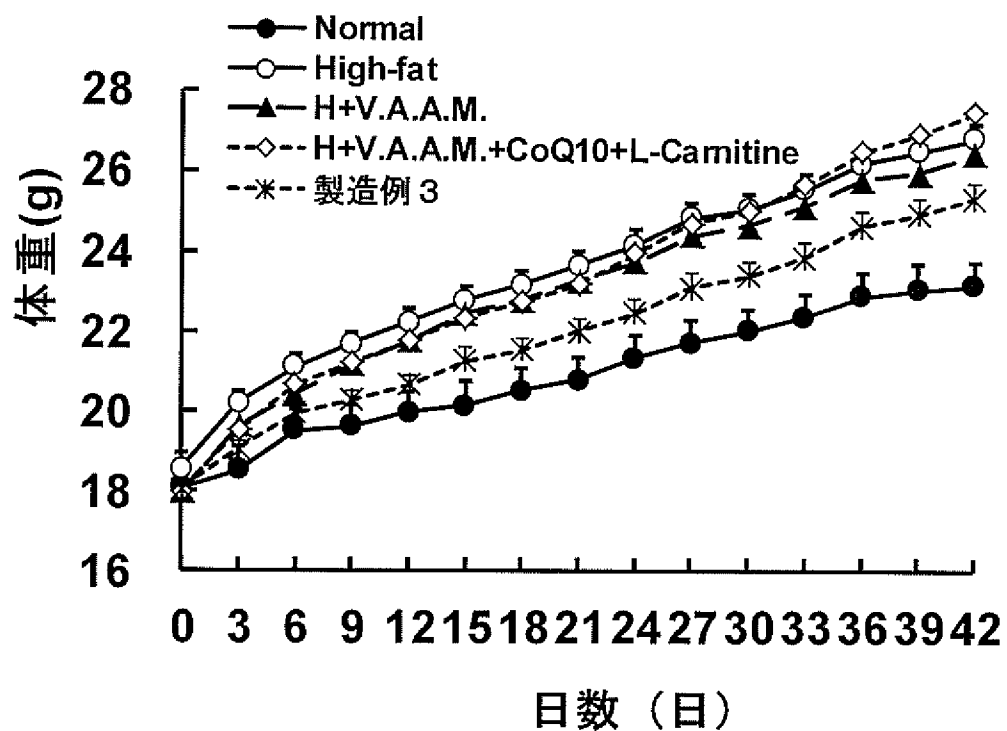


[図3]

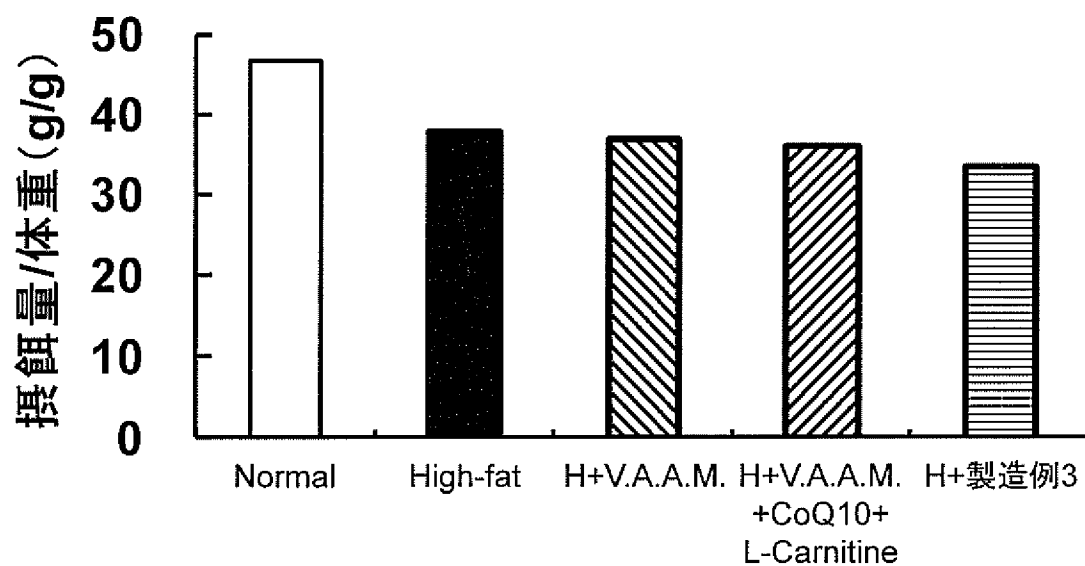


[図4]

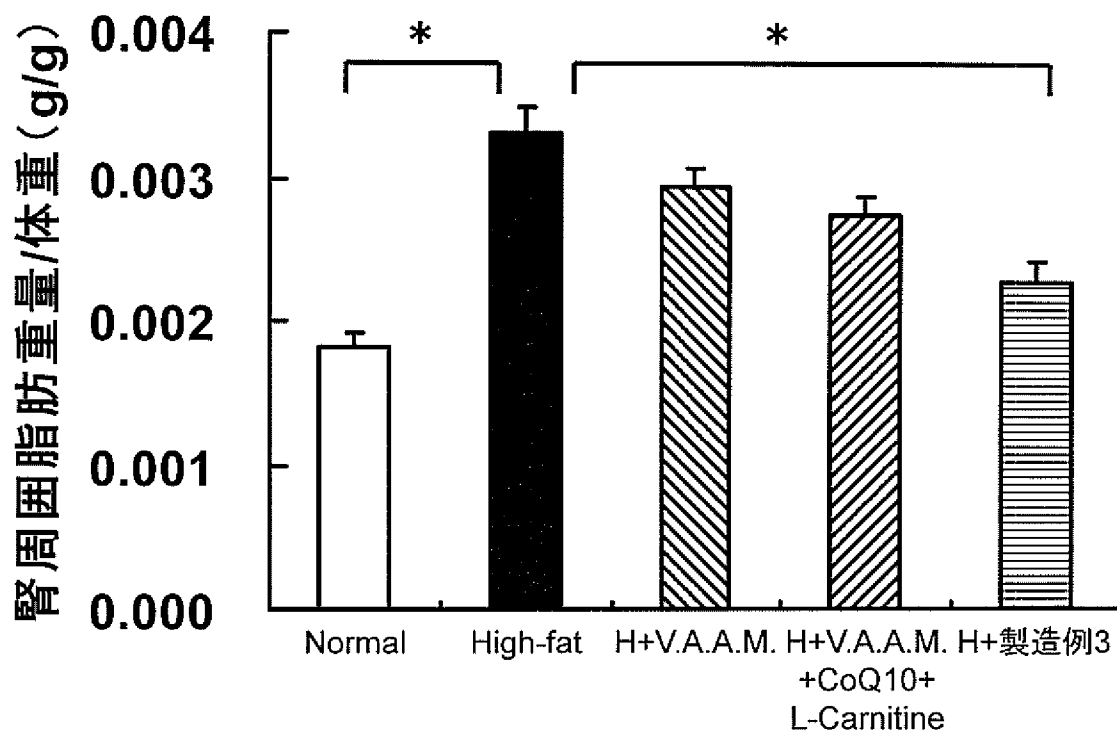
A



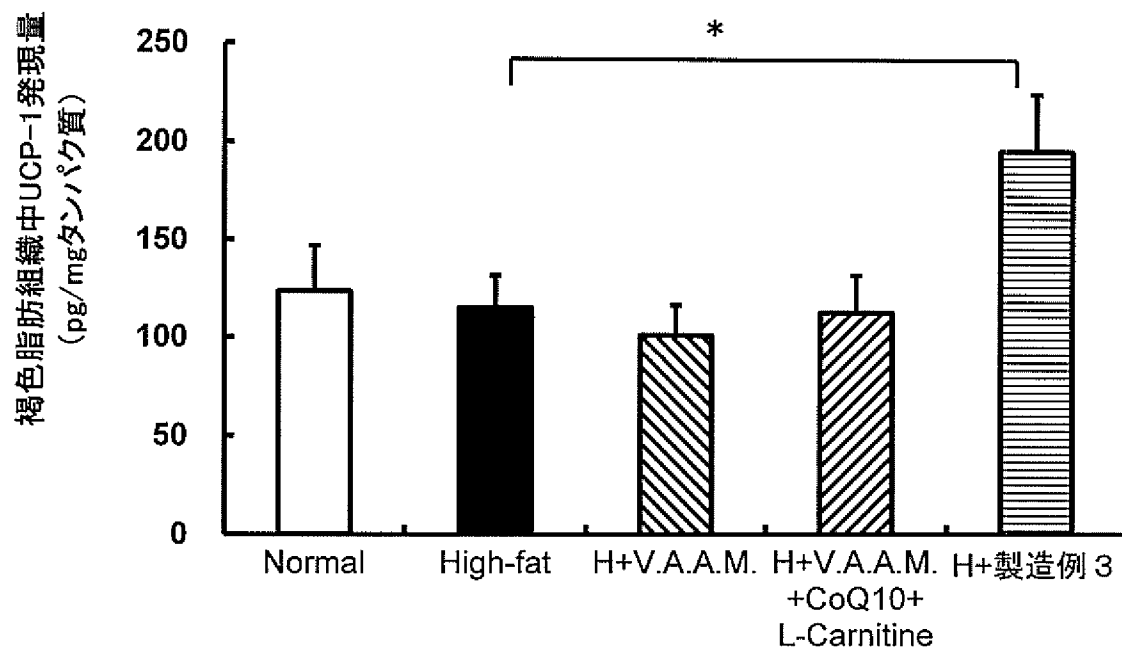
B



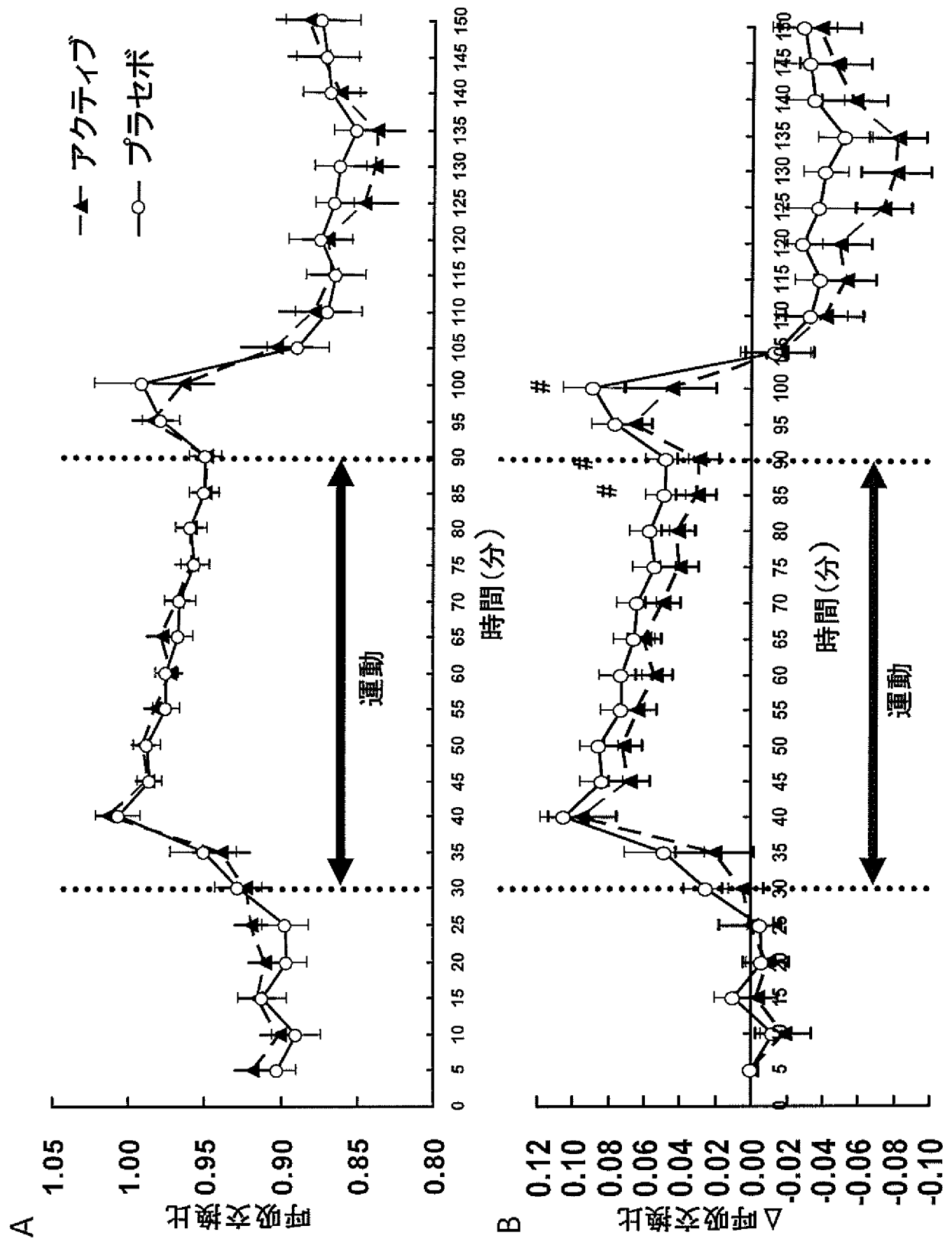
[図5]



[図6]

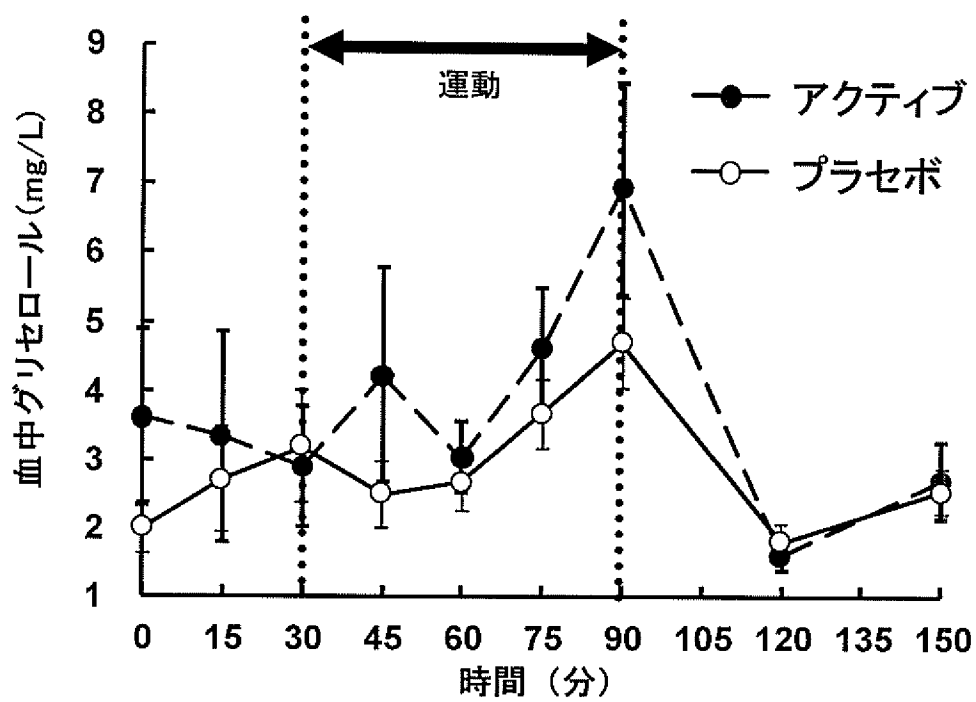


[図7]

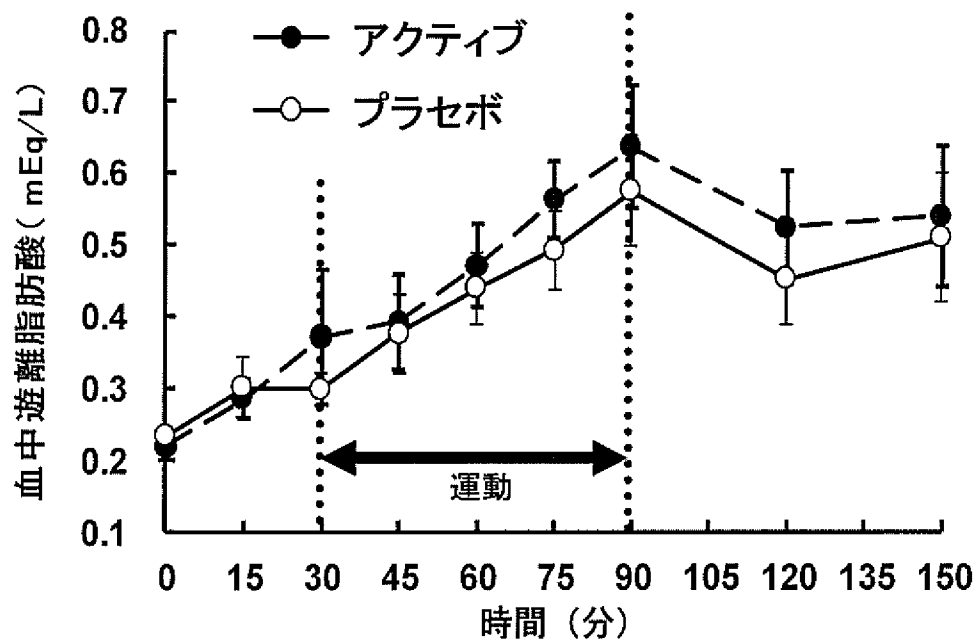


[図8]

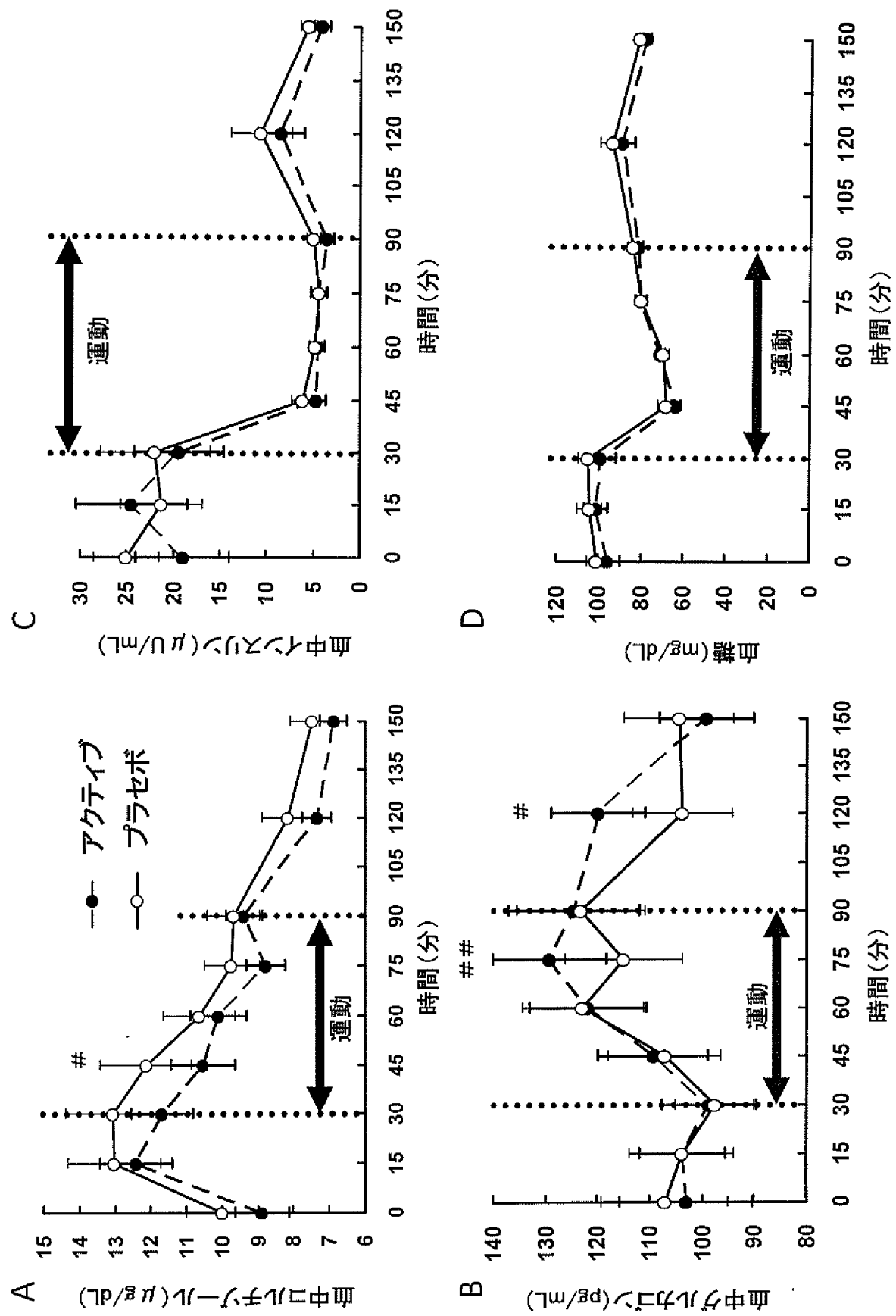
A



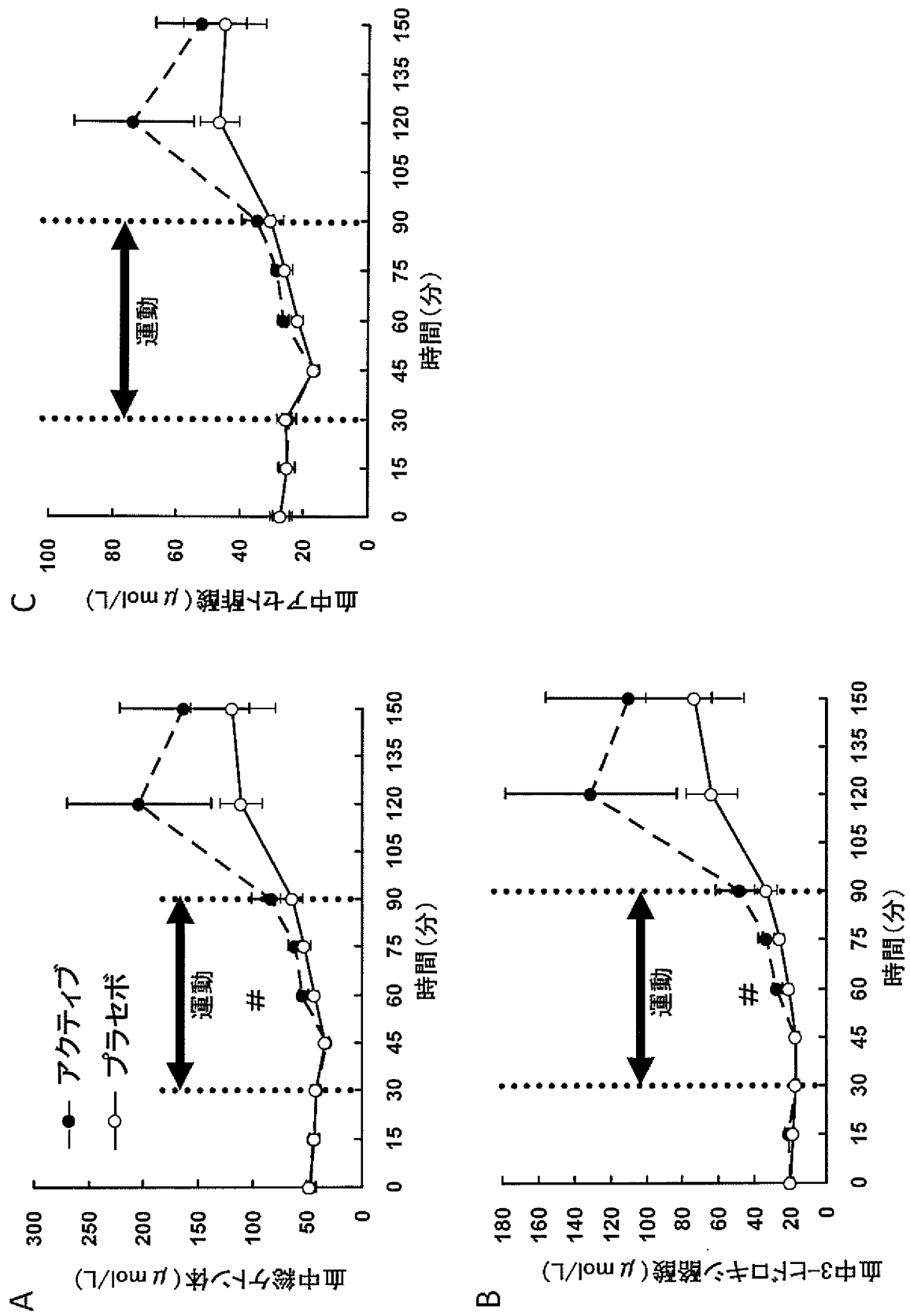
B



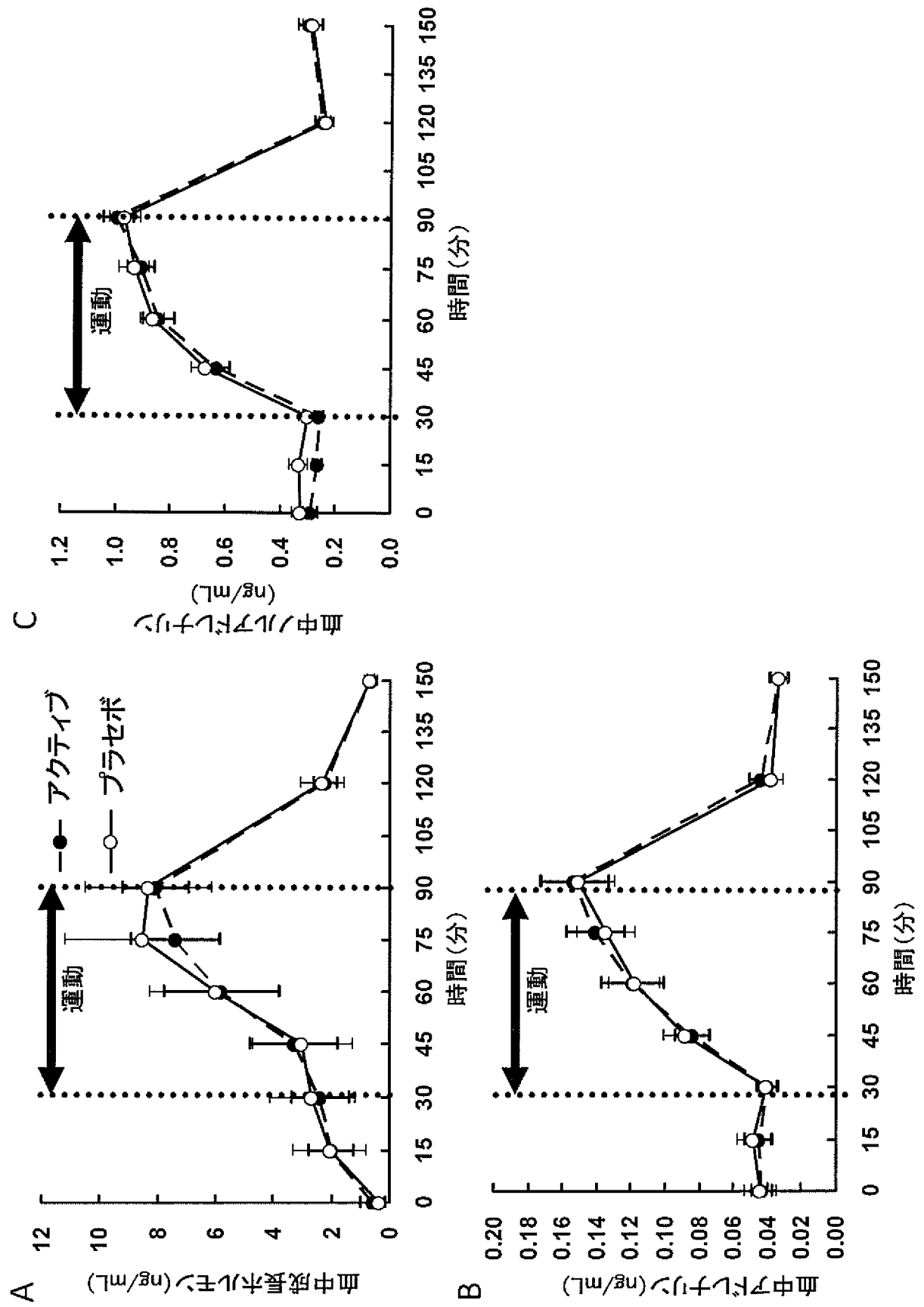
[図9]



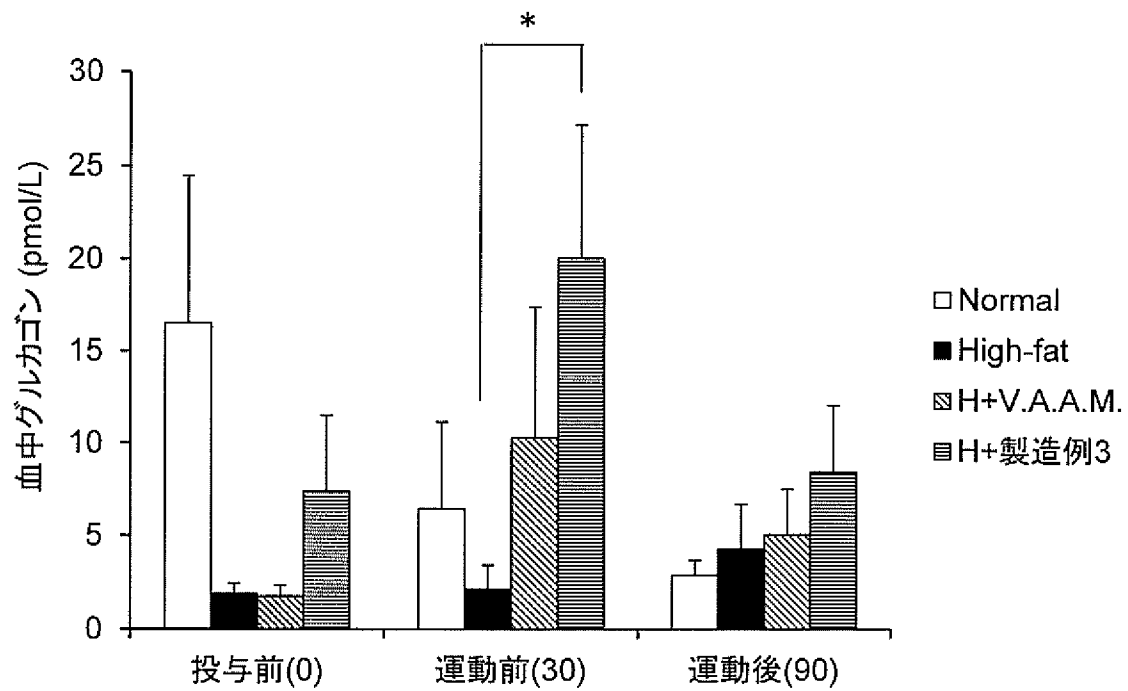
[図10]



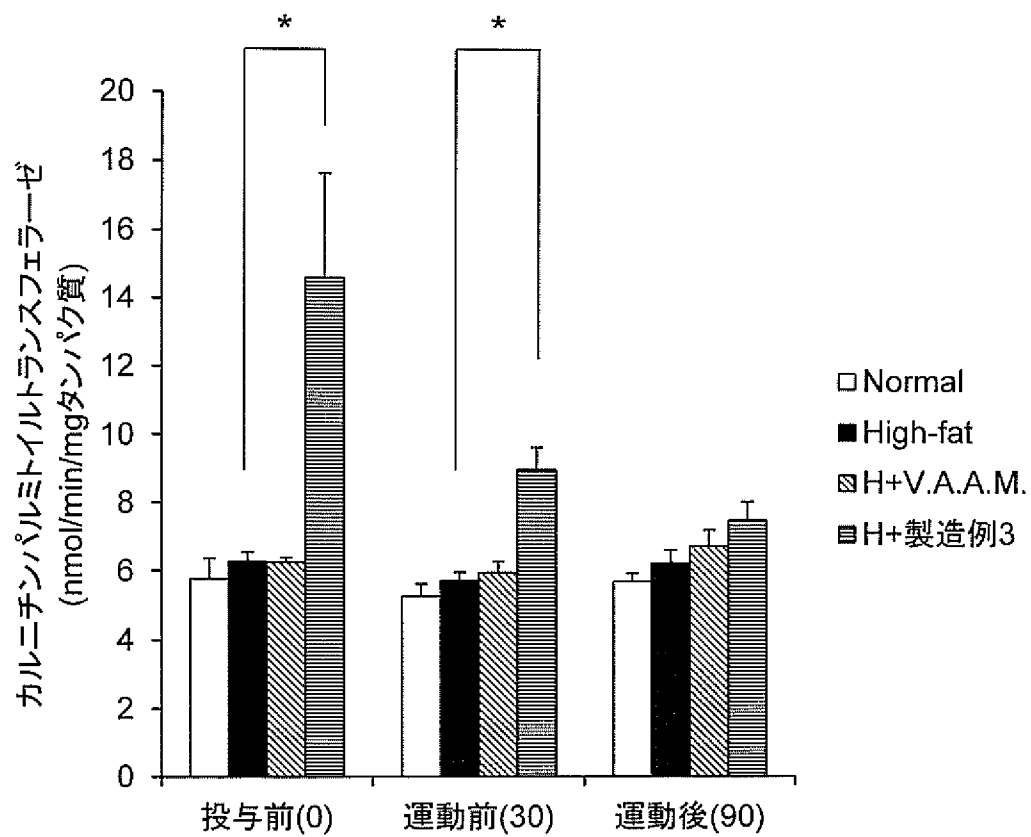
[図11]



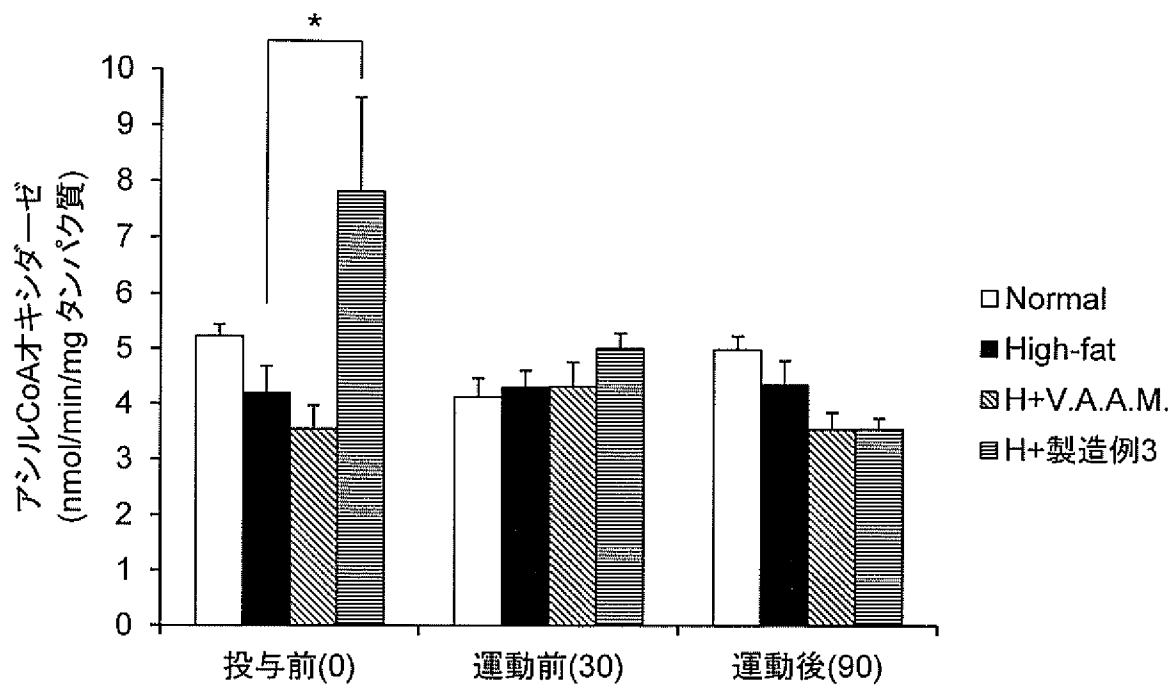
[図12]



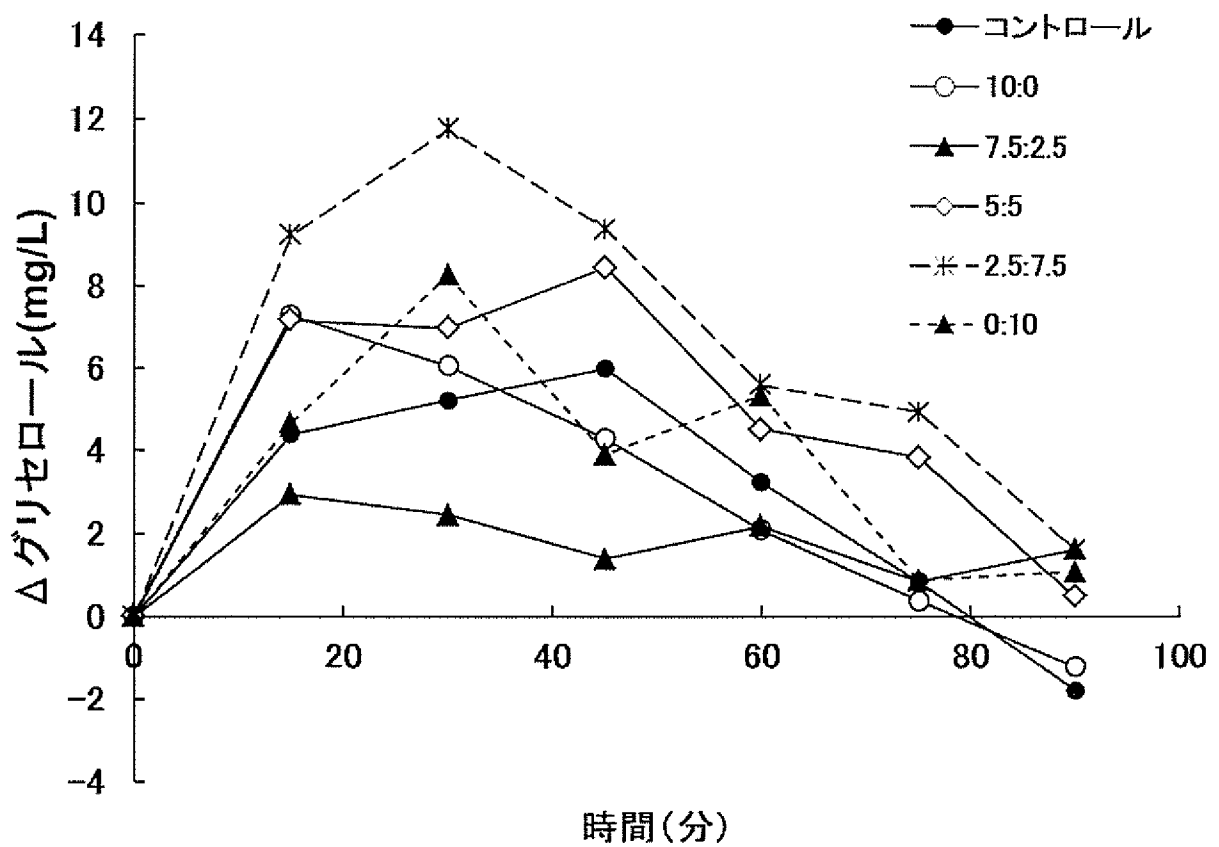
[図13]



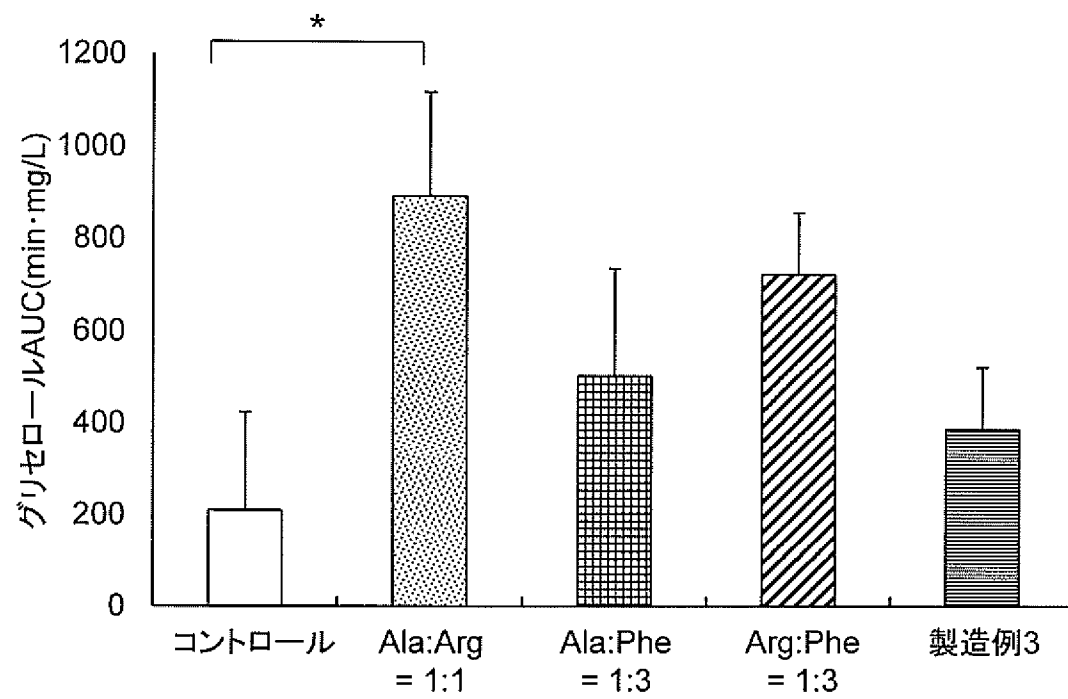
[図14]



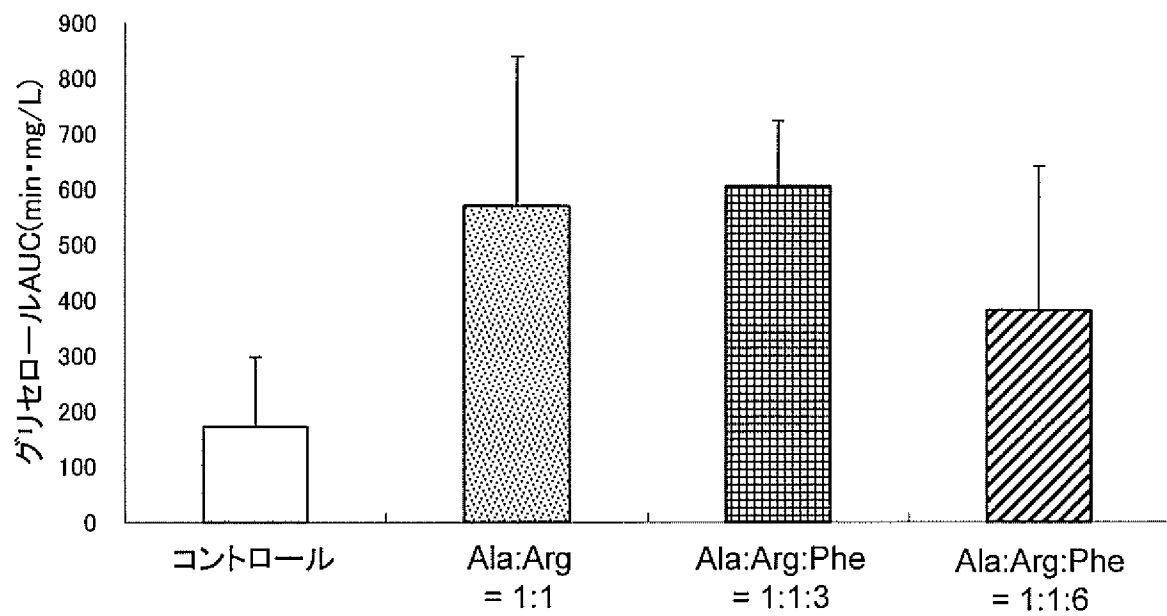
[図15]



[図16]



[図17]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/071301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/198(2006.01)i, A23L1/305(2006.01)i, A23L2/52(2006.01)i, A61K31/401(2006.01)i, A61K31/405(2006.01)i, A61K31/4172(2006.01)i, A61P3/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/198, A23L1/305, A23L2/52, A61K31/401, A61K31/405, A61K31/4172, A61P3/00, A61P3/04, A61P43/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN),
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2008/105368 A1 (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 04 September 2008 (04.09.2008), claim 3 & US 2010/0144815 A1 & EP 2116238 A1 & CA 2679300 A & CN 101626764 A & AU 2008220128 A & NZ 579189 A & HK 1134029 A & KR 10-2009-0125758 A	1-11
Y	JP 2004-352696 A (Riken, Japan), 16 December 2004 (16.12.2004), claim 10 & US 2006/0079565 A1 & US 2009/0117208 A1 & EP 1629840 A1 & WO 2004/105748 A1 & CA 2527435 A & CN 1829504 A & NZ 544158 A & AU 2004243164 A & TW 001314452 B	1-11

☒ 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
06 November, 2014 (06.11.14)

Date of mailing of the international search report
18 November, 2014 (18.11.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/071301

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2009-001507 A (SS Pharmaceutical Co., Ltd.), 08 January 2009 (08.01.2009), paragraphs [0005], [0007] (Family: none)	1-11
A	Jobgen W.et al., Dietary L-arginine supplementation reduces white fat gain and enhances skeletal muscle and brown fat masses in diet-induced obese rats, J.Nutr., 2009, Vol.139, p.230-237	1-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/198(2006.01)i, A23L1/305(2006.01)i, A23L2/52(2006.01)i, A61K31/401(2006.01)i, A61K31/405(2006.01)i, A61K31/4172(2006.01)i, A61P3/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/198, A23L1/305, A23L2/52, A61K31/401, A61K31/405, A61K31/4172, A61P3/00, A61P3/04, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/Biosis/WPIDS(STN),
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2008/105368 A1 (明治乳業株式会社) 2008.09.04, 請求項 3 & US 2010/0144815 A1 & EP 2116238 A1 & CA 2679300 A & CN 101626764 A & AU 2008220128 A & NZ 579189 A & HK 1134029 A & KR 10-2009-0125758 A	1 - 1 1
Y	JP 2004-352696 A (独立行政法人理化学研究所) 2004.12.16, 請求項 1 O & US 2006/0079565 A1 & US 2009/0117208 A1 & EP 1629840 A1 & WO 2004/105748 A1 & CA 2527435 A & CN 1829504 A & NZ 544158 A & AU 2004243164 A & TW 001314452 B	1 - 1 1

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 6 . 1 1 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 8 . 1 1 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

深草 亜子

4 U

9 5 4 8

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2009-001507 A (エスエス製薬株式会社) 2009.01.08, 【0005】 【0007】 (ファミリーなし)	1 - 1 1
A	Jobgen W. et al., Dietary L-arginine supplementation reduces white fat gain and enhances skeletal muscle and brown fat masses in diet-induced obese rats, J. Nutr., 2009, Vol.139, p.230-237	1 - 1 1