

明 細 書

発明の名称：血管内皮機能改善用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、血管内皮機能改善用組成物等に関する。

背景技術

[0002] 血管内皮細胞は、血管の内表面を構成する細胞である。血管内皮細胞は、一酸化窒素（以下、NOと記載することもある）等の生理活性物質を産生する機能を有し、血管の健康状態の維持に重要な役割を果たしている。血管内皮細胞の機能（血管内皮機能）が低下した状態が続くことは、動脈硬化の進展等につながる。血管内皮機能の低下は可逆的であることから、この血管内皮機能の低下を改善又は予防することは、動脈硬化の予防等に有効である。

[0003] セサミンは、ゴマに含まれる主要なリグナン化合物の一種である。非特許文献1には、セサミンが、ヒト臍帯静脈内皮細胞（以下、HUECと記載することもある）において一酸化窒素を誘導することが記載されている。

[0004] ドコサヘキサエン酸（以下、DHAと記載することもある）は、魚油等に含まれる高度不飽和脂肪酸の一種である。非特許文献2には、DHAが、HUECにおいてNO産生を増加させることが記載されている。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Lee, C. C. et al. J. Hypertens. 22, 2329-2338 (2004).

非特許文献2：Jung, S. B. et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 437, 114-119 (2013).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 血管内皮機能改善には、有効成分を継続的に摂取することが必要である。継

続摂取する場合の服用のしやすさ、安全性の観点から、少量でも血管内皮機能改善作用を発揮することができる組成物が求められている。

[0007] 本発明は、優れた血管内皮機能改善作用を有する血管内皮機能改善用組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、ドコサヘキサエン酸類化合物と、セサミン類化合物とを特定の比率で組み合わせて用いることで、優れた血管内皮機能改善効果を得ることができることを見出した。

[0009] 本発明は、これらに限定されるものではないが、以下の血管内皮機能改善用組成物を包含する。

〔１〕セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含有し、ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも１種の化合物であり、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量１００に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が２～１５０である、血管内皮機能改善用組成物。

〔２〕ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量１００に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が２～１１０である、上記〔１〕に記載の組成物。

〔３〕セサミン類化合物が、セサミン、エピセサミン及びこれらの代謝物からなる群より選択される少なくとも１種の化合物である、上記〔１〕又は〔２〕に記載の組成物。

〔４〕ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物が、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるジグリセリド、構成脂肪酸がドコサヘキサエン酸であるモノグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるリン脂質、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸である糖脂質及びドコサヘキサエン酸のアルコールエステルからなる群より選

択される少なくとも１種の化合物である、上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の組成物。

〔５〕経口用組成物である、上記〔１〕～〔４〕のいずれかに記載の組成物。

〔６〕飲食品である、上記〔１〕～〔５〕のいずれかに記載の組成物。

〔７〕「血管内皮機能を改善する」、「血管内皮機能の低下を予防する」、「血管の健康を保つ」、「血管のしなやかさを維持する」、「血管を拡張して血流を保つ」、「血行を促進する」、「血流を改善して体温を維持する」、「血流を改善して冷え性を予防又は改善する」、「血流を改善して肩こりを予防又は改善する」、「むくみを予防又は改善する」及び「血流を改善して肌状態を良くする」からなる群より選択される少なくとも１つの機能の表示を付した、上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の組成物。

〔８〕血管内皮機能を改善するための、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含む組成物の使用であって、上記ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも１種の化合物であり、上記組成物中、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量１００に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が２～１５０である、使用。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、優れた血管内皮機能改善作用を有する血管内皮機能改善用組成物を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図１は、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びセサミン代謝物（ＳＣ１）の重量比を変えて、ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＨＵＶＥＣ）における細胞内活性酸素種の量を調べた結果を示すグラフである（平均値±標準誤差、 $N = 6$ ）。

[図2]図２は、ＤＨＡ及びＳＣ１の組み合わせによる、ＨＵＶＥＣにおける N

〇産生への効果を示すグラフである（平均値±標準誤差、N=5、Dunnett's test、* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ ）。

発明を実施するための形態

[0012] 本発明の血管内皮機能改善用組成物は、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含有し、ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物であり、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150である。

本発明の血管内皮機能改善用組成物を、以下では、単に本発明の組成物ということもある。本発明の組成物は、通常、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を有効成分として含むものである。

[0013] 本発明において、セサミン類化合物とは、セサミン及びその類縁体を含む化合物の総称である。セサミンは、ゴマに含まれる主要なリグナン化合物の一種である。セサミン類縁体としては、エピセサミンの他、例えば特開平4-9331号公報に記載されたジオキサビシクロ〔3.3.0〕オクタン誘導体が挙げられる。本発明においては、セサミン類化合物として、化合物1種を単独で用いてもよく、2種以上の化合物を用いてもよい。セサミン類化合物の具体例としては、セサミン、エピセサミン、セサミノール、エピセサミノール、セサモール、セサモリン、これらの代謝物等を例示することができる。これらの立体異性体又はラセミ体を単独で、または混合して使用することができる。

セサミン類化合物として使用できる代謝物として、例えば、特開2009-143884号に記載の化合物が挙げられる。セサミンの代謝物として、SC1（（7 α ，7' α ，8 α ，8' α ）-3'，4'-methylenedioxy-7，9':7'，9-diepoxylignane-3，4-diol）、SC2（（7 α ，7' α ，8 α ，8' α ）-7，9':7'，9-diepoxylignane-3，3'，4，4'-tetrao

1) が好ましい。代謝物として、セサミンの代謝物が好ましく、SC1 がより好ましい。

[0014] 本発明においては、セサミン類化合物として、セサミン、エピセサミン及びこれらの代謝物からなる群より選択される少なくとも1種の化合物が好ましい。セサミン又はエピセサミンの代謝物として、SC1 及びSC2 が好ましく、SC1 がより好ましい。一態様において、セサミン類化合物として、セサミン、エピセサミン及びSC1 からなる群より選択される少なくとも1種の化合物が更に好ましい。

[0015] 本発明で使用するセサミン類化合物は、その形態や製造方法等によって、何ら制限されるものではない。例えば、セサミンの場合は、ゴマ油から公知の方法（例えば、特開平4-9331号公報に記載された方法）によって抽出したセサミン（セサミン抽出物又は精製物という）を用いることができる。また、市販のゴマ油（液状）をそのまま用いることもできる。しかしながら、ゴマ油を用いた場合には、ゴマ油特有の風味が官能的に好ましくないと評価されることもあることから、ゴマ油から抽出された無味無臭であるセサミン抽出物（又はセサミン精製物）を用いることが好ましい。また、ゴマ油を用いた場合、セサミン含有量が低いため、好ましい量のセサミンを配合しようとすると、処方される組成物の単位投与当りの体積が大きくなり過ぎるため、摂取に不都合を生じることがある。特に、経口摂取用に製剤化した場合は、製剤（錠剤、カプセルなど）が大きくなり過ぎて摂取に支障が生じる。したがって、摂取量が少なくてよいという観点からもゴマ油からのセサミン抽出物（又はセサミン精製物）を用いることが好ましい。合成によりセサミン類を得ることもできる。その方法としては、例えば、セサミン、エピセサミンについては、Ber o z aらの方法（J. Am. Chem. Soc., 78, 1242（1956））で合成することができる。セサミン類化合物は、例えば、特開2009-143884号公報に記載の方法で製造することもできる。

[0016] 本発明においては、ドコサヘキサエン酸類化合物として、ドコサヘキサエン

酸（遊離のドコサヘキサエン酸）、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を用いる。

ドコサヘキサエン酸類化合物として、化合物1種を単独で用いてもよく、2種以上の化合物を用いてもよい。ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物は、加水分解によりドコサヘキサエン酸を分離する。

[0017] ドコサヘキサエン酸又はドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物の塩としては、例えばカルシウム塩、ナトリウム塩等が挙げられる。

ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物として、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるジグリセリド、構成脂肪酸がドコサヘキサエン酸であるモノグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるリン脂質、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸である糖脂質及びドコサヘキサエン酸のアルコールエステルからなる群より選択される少なくとも1種の化合物が好ましい。

中でも、ドコサヘキサエン酸類化合物としては、ドコサヘキサエン酸、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるジグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるリン脂質がより好ましく、ドコサヘキサエン酸、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリド、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるジグリセリドが更に好ましく、ドコサヘキサエン酸、構成脂肪酸の一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリドが特に好ましい。

[0018] 本発明で用いるドコサヘキサエン酸類化合物は、その形態や製造方法等によって、何ら制限されるものではなく、化学合成品を使用してもよく、天然物に由来するものや遺伝子組み換え生物（大腸菌、酵母、植物等）に由来するものを使用してもよい。天然物に由来するものとして、ドコサヘキサエン酸類化合物を豊富に含む魚介類、藻類、菌類（コルウェリア（*Colwellia*）属細菌、ラビリンチュラ類等）、植物（ゼニゴケ等）に由来するもの

を挙げることができる。中でも、ドコサヘキサエン酸類化合物は、魚介類由来であることが好ましい。

また、ドコサヘキサエン酸類化合物を含有する天然物等の原料から抽出及び／又は精製したドコサヘキサエン酸類化合物を使用してもよいし、当該原料をそのまま使用してドコサヘキサエン酸類化合物を組成物に含有させてもよい。ドコサヘキサエン酸類化合物を含む原料として、例えば、魚油、肉類、乳類から抽出される油脂等の食用油脂が挙げられる。ドコサヘキサエン酸類化合物を含む魚油として、ドコサヘキサエン酸類化合物（ドコサヘキサエン酸換算）の含有率が5重量%以上、好ましくは10重量%以上、より好ましくは50重量%以上となるように濃縮された魚油が好ましい。例えば、ドコサヘキサエン酸類化合物を含有する魚油から抽出及び／又は精製したドコサヘキサエン酸類化合物を使用してもよく、当該魚油をそのまま使用してもよい。

[0019] 本発明の組成物においては、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150である。

ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物を上記の重量比で使用すると、優れた血管内皮機能改善効果を得ることができる。本発明においては、ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物の重量比は、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が、2以上であり、好ましくは2.5以上、より好ましくは3以上、更に好ましくは3.1以上であり、また、150以下であり、好ましくは110以下、より好ましくは109以下、更に好ましくは108以下である。本発明の一態様においては、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が、2～110であることが好ましく、2.5～110であることがより好ましく、3～109が更に好ましく、3.1～108が特に好ましい。ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物の

重量の比率が上記の範囲であると、より優れた血管内皮機能改善効果を得ることができる。

[0020] 本発明において、セサミン類化合物の量は、セサミン類化合物として2種以上の化合物を使用する場合は、それらの合計量である。セサミン類化合物のセサミン換算の量又はこれに類する表現は、セサミン類化合物としてセサミンを使用する場合は、その量を意味する。セサミン類化合物として、セサミン以外の化合物を使用する場合は、当該化合物のモル数に、セサミンの分子量を乗じて得られる値を意味する。

[0021] 本発明において、ドコサヘキサエン酸類化合物の量は、ドコサヘキサエン酸類化合物として2種以上の化合物を使用する場合は、それらの合計量である。ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の量又はこれに類する表現は、ドコサヘキサエン酸類化合物としてドコサヘキサエン酸を使用する場合は、その量を意味する。ドコサヘキサエン酸類化合物が遊離のドコサヘキサエン酸ではない場合、遊離のドコサヘキサエン酸として換算する。ドコサヘキサエン酸類化合物が遊離のドコサヘキサエン酸ではない場合には、鹼化処理や酵素処理によりドコサヘキサエン酸を遊離させ、当該ドコサヘキサエン酸を測定することで、ドコサヘキサエン酸換算の量を求めることができる。

[0022] 血管内皮機能とは、血管内皮細胞の作用である。血管内皮細胞の作用は、血管の健康を維持するために重要な作用であり、血管内皮細胞による一酸化窒素（NO）産生作用を含む。一酸化窒素は、血管内皮由来弛緩因子の一つであり、生体内では一酸化窒素合成酵素（NOS）によって生成する。

本発明において、血管内皮機能改善又はこれに類する表現は、血管内皮機能の低下抑制、血管内皮機能の維持、低下した血管内皮機能の回復を含む。

[0023] 後記の実施例に示されるように、ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物を、ドコサヘキサエン酸類化合物の重量（ドコサヘキサエン酸換算）100に対して、セサミン類化合物の重量（セサミン換算）2～150で組み合わせて使用すると、これらを使用しない場合と比較して、血管内皮細

胞において、細胞内活性酸素種の量を効果的に低減させた。つまり、血管内皮細胞において、細胞内酸化ストレスを効果的に低減させた。

血管内皮細胞において細胞内活性酸素種の量が増加すると、NO産生量が低下する。血管内皮細胞において細胞内活性酸素種を低減することによって、NO産生を促進することができる。血管内皮細胞において細胞内活性酸素種を低減させることで、血管内皮機能を改善することができる。従って、ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物を上記の重量比で組み合わせて使用することで、効果的に血管内皮機能を改善することができる。

実施例に示されるように、ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物を、上記の重量比で組み合わせて使用すると、H U V E Cの相対NO産生量がコントロールに対して有意に増加した。一方、ドコサヘキサエン酸類化合物又はセサミン類化合物だけを添加して培養したH U V E Cにおいては、相対NO産生量は、コントロールに対して有意な増加は認められなかった。ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物を、上記の重量比で組み合わせて使用することで、優れた血管内皮機能改善効果が得られることは、これまで報告されていない。

一態様において、本発明の組成物は、血管内皮細胞において細胞内活性酸素種を低減することによって、血管内皮機能を改善するために好適に使用することができる。

[0024] 一態様において、血管内皮機能の改善は、血管内皮細胞におけるNO産生の促進であってよい。一態様において、本発明の組成物は、血管内皮細胞における一酸化窒素産生促進のために使用することができる。血管内皮細胞においてNO産生量が増加すると、血管が拡張し、血流量を増加させる（血行を促進させる）ことができる。従って血管内皮細胞における一酸化窒素産生の促進により、血流が改善される。

[0025] 一態様において、本発明の組成物は、血管内皮機能改善作用により血管を拡張し、血流量を増加させるために使用することができる。また、血管内皮機能改善作用により血管の健康（機能的）を保ち、血管のしなやかさ、弾性等

を維持することができる。従って本発明の組成物は、例えば、血管のしなやかさ、弾性等を維持又は改善するために有用である。一態様において、本発明の組成物は、血管のしなやかさ及び／又は血管の弾性を維持又は改善するために使用することができる。

[0026] 本発明の血管内皮機能改善用組成物は、血管内皮機能改善により予防又は改善が期待できる状態又は疾患の予防又は改善のために使用することができる。このような状態又は疾患として、動脈硬化症、血流低下に起因する状態又は疾患が挙げられる。

本明細書で状態又は疾患の予防は、状態又は疾患の発症を防止すること、状態又は疾患の発症を遅延させること、状態又は疾患の発症率を低下させること、状態又は疾患の発症のリスクを軽減すること等を包含する。状態又は疾患の改善は、対象を状態又は疾患から回復させること、状態又は疾患の症状を好転させること、状態又は疾患の症状を軽減すること、状態又は疾患の進行を遅延させること、防止すること等を包含する。回復は、部分的に回復させることを含む。

[0027] セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物は、天然物や飲食品に含まれ、食経験がある化合物である。このため安全性の観点から、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物は、例えば毎日摂取することにも問題が少ないと考えられる。本発明によれば、安全性が高い物質を有効成分として含み、優れた血管内皮機能改善作用を有する組成物を提供することができる。

[0028] 本発明の血管内皮機能改善用組成物は、治療的用途（医療用途）又は非治療的用途（非医療用途）のいずれにも適用することができる。非治療的とは、医療行為、すなわち人間の手術、治療又は診断を含まない概念である。

本発明の血管内皮機能改善用組成物は、例えば、飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態とすることができる。本発明の組成物は、それ自体が血管内皮機能改善のために用いられる飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等であってもよく、これらに配合して使用される素材又は製剤等

であってもよい。

本発明の血管内皮機能改善用組成物は、一例として、剤の形態で提供することができるが、本形態に限定されるものではない。当該剤をそのまま組成物として、又は、当該剤を含む組成物として提供することもできる。一態様において、本発明の組成物は、血管内皮機能改善剤ということもできる。

[0029] 本発明の組成物は、経口用組成物、非経口用組成物のいずれであってもよい。一態様において、本発明の組成物は、好ましくは経口用組成物である。経口用組成物としては、飲食品、経口用の医薬品、医薬部外品、飼料が挙げられ、好ましくは飲食品又は経口用医薬品であり、より好ましくは飲食品である。

[0030] 本発明の組成物は、本発明の効果を損なわない限り、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物に加えて、任意の添加剤、任意の成分を含有することができる。これらの添加剤及び成分は、組成物の形態等に応じて選択することができ、一般的に飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等に使用可能なものが使用できる。本発明の組成物を、飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、その製造方法は特に限定されず、一般的な方法により製造することができる。

[0031] 例えば本発明の組成物を飲食品とする場合、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物に、飲食品に使用可能な成分（例えば、食品素材、必要に応じて使用される食品添加物等）を配合して、種々の飲食品とすることができる。飲食品は特に限定されず、例えば、一般的な飲食品、健康食品、健康飲料、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品、病者用飲食品等が挙げられる。上記健康食品、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品等は、例えば、細粒剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、チュアブル剤、ドライシロップ剤、シロップ剤、液剤、飲料、ドリンク剤、流動食等の各種製剤形態として使用することができる。

[0032] 本発明の組成物を化粧品とする場合、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物に、化粧品に使用可能な成分（例えば、化粧品に許容される担

体、添加剤等）を配合して種々の化粧料とすることができる。化粧料の製品形態は特に限定されず、例えば、化粧水、美容液、パック、乳液、クリーム、日焼け止め等のスキンケア化粧料等が挙げられる。

[0033] 本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、例えば、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物に、薬理学的に許容される担体、必要に応じて添加される添加剤等を配合して、各種剤形の医薬品又は医薬部外品とすることができる。そのような担体、添加剤等は、医薬品又は医薬部外品に使用可能な、薬理学的に許容されるものであればよく、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、抗酸化剤、着色剤等の1又は2以上が挙げられる。医薬品又は医薬部外品の投与（摂取）形態としては、経口又は非経口（経皮、経粘膜、経腸、注射等）投与の形態が挙げられる。一態様において、本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、経口用の医薬品又は医薬部外品とすることが好ましい。経口投与のための剤形としては、液剤、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、糖衣錠、カプセル剤、懸濁液、乳剤、チュアブル剤等が挙げられる。医薬品は、非ヒト動物用医薬であってもよい。

[0034] 本発明の組成物を飼料とする場合には、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を飼料に配合すればよい。飼料には飼料添加剤も含まれる。飼料としては、例えば、牛、豚、鶏、羊、馬等に用いる家畜用飼料；ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料；犬、猫、小鳥等に用いるペットフードなどが挙げられる。

[0035] 本発明の組成物に含まれるセサミン類化合物の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。本発明の組成物中のセサミン類化合物の含有量は、セサミン換算で、例えば、0.01重量%以上が好ましく、0.1重量%以上がより好ましく、0.3重量%以上がさらに好ましく、また50重量%以下が好ましい。一態様において、セサミン類化合物の含有量は、セサミン換算で、組成物中に0.01～50重量%が好ましく、0.1～50重量%がより好ましく、0.3～50重量%がさらに好ましい。セサミン類化合物の含有量は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法

で測定することができる。セサミン類化合物の量は、セサミン類化合物を2種以上含有する場合は、これらの合計量である。

- [0036] 本発明の組成物に含まれるドコサヘキサエン酸類化合物の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。本発明の組成物中のドコサヘキサエン酸類化合物の含有量は、ドコサヘキサエン酸換算で、例えば、0.3重量%以上が好ましく、5重量%以上がより好ましく、10重量%以上がさらに好ましく、20重量%以上が特に好ましく、また、80重量%以下が好ましい。一態様において、ドコサヘキサエン酸類化合物の含有量は、ドコサヘキサエン酸換算で、組成物中に0.3～80重量%が好ましく、5～80重量%がより好ましく、10～80重量%がさらに好ましく、20～80重量%が特に好ましい。

ドコサヘキサエン酸の含有量は、ガスクロマトグラフィー（GC）法により測定することができる。

- [0037] 本発明の組成物は、その形態又は剤形に応じて自体公知の種々の方法で摂取又は投与することができる。一態様において、本発明の組成物は、経口で摂取（経口投与）されることが好ましい。

本発明の組成物の投与量（摂取量ということもできる）は特に限定されない。本発明の組成物の投与量は、血管内皮機能改善効果が得られるような量であればよく、投与形態、投与方法、対象の体重等に応じて適宜設定すればよい。

- [0038] 一態様において、本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、セサミン類化合物の投与量は、セサミン換算で、1日当たり、好ましくは0.1mg以上、より好ましくは1mg以上、さらに好ましくは3mg以上、また、好ましくは500mg以下である。一態様において、セサミン類化合物の投与量は、ヒト（成人）であれば、1日当たり、好ましくは0.1～500mg、より好ましくは1～500mg、さらに好ましくは3～500mgである。上記の投与量は、体重60kgあたり、1日あたりの投与量であってよい。

[0039] 本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、ドコサヘキサエン酸類化合物の投与量は、ドコサヘキサエン酸換算で、1日当たり、好ましくは3mg以上、より好ましくは50mg以上、さらに好ましくは100mg以上、特に好ましくは200mg以上、また、好ましくは800mg以下である。一態様において、ドコサヘキサエン酸類化合物の投与量（ドコサヘキサエン酸換算）は、ヒト（成人）であれば、1日当たり、好ましくは3～800mg、より好ましくは50～800mg、さらに好ましくは100～800mg、特に好ましくは200～800mgである。上記の投与量は、体重60kgあたり、1日あたりの投与量であってよい。

上記量のセサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類を、1日1回で、又は、数回（例えば2～3回）に分けて、摂取させる又は投与することが好ましい。一態様においては、上記量のセサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を、ヒトに経口で摂取させる又は投与することが好ましい。

一態様において、本発明の血管内皮機能改善用組成物は、ヒトに、体重60kgあたり、1日あたり上記量のセサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を摂取させる又は投与するために使用することができる。

[0040] 本発明の組成物は、継続して摂取又は投与されるものであることが好ましい。セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を、継続的に摂取又は投与することによって、より高い血管内皮機能改善効果が得られることが期待される。一態様において、本発明の組成物は、好ましくは1週間以上、より好ましくは4週間以上、さらに好ましくは8週間以上、特に好ましくは12週間以上継続して摂取又は投与されることが好ましい。

[0041] 本発明の組成物を摂取させる又は投与する対象（投与対象ということもできる）は、特に限定されない。好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物であり、より好ましくはヒトである。

一態様において、投与対象として、血管内皮機能改善を必要とする又は希望する対象が挙げられる。血管内皮機能は、加齢とともに低下することが知られているため、このような対象として、例えば、中高年者等が挙げられる。

一態様において、本発明の組成物は、中高年者用の血管内皮機能改善用組成物として好適に使用される。中高年者は、高齢者を含む。中高年者は、例えば、40歳以上のヒトであってよい。一態様において、中高年者の中でも、対象として高齢者が好ましい。高齢者は、例えば、60歳以上又は65歳以上のヒトであってよい。投与対象は、健常者であってよい。本発明の組成物は、例えば、血管内皮機能改善により予防又は改善が期待できる状態又は疾患の予防等を目的として、健常者に対して使用することもできる。

[0042] 本発明の血管内皮機能改善用組成物には、例えば、血管機能の低下又は血管内皮機能の低下を改善又は予防する旨の機能の表示が付されていてもよい。本発明の血管内皮機能改善用組成物には、例えば、「血管内皮機能を改善する」、「血管内皮機能の低下を予防する」、「血管の健康を保つ」、「血管のしなやかさを維持する」、「血管を拡張して血流を保つ」、「血行を促進する」、「血流を改善して体温を維持する」、「血流を改善して冷え性を予防又は改善する」、「血流を改善して肩こりを予防又は改善する」、「むくみを予防又は改善する」及び「血流を改善して肌状態を良くする」からなる群より選択される少なくとも1つの機能の表示が付されていてもよい。本発明の一態様において、本発明の組成物は、上記の表示が付された飲食品であることが好ましい。また上記の表示は、上記の機能を得るために用いる旨の表示であってもよい。上記の表示は、組成物自体に付されてもよいし、組成物の容器又は包装に付されていてもよい。

[0043] 本発明は、以下の方法も包含する。

セサミン類化合物と、ドコサヘキサエン酸類化合物とを含有する組成物を対象に投与することを含み、上記ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物であり、上記組成物中、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150である、血管内皮機能を改善する方法。

上記方法は、治療的な方法であってもよく、非治療的な方法であってもよい。

上記組成物を対象に投与すると、血管内皮機能を改善することができる。

[0044] 本発明は、以下の使用も包含する。

血管内皮機能を改善するための、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含む組成物の使用であって、上記ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物であり、上記組成物中、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150である、使用。

上記の使用は、好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物、より好ましくはヒトにおける使用である。使用は、治療的な使用であってもよく、非治療的な使用であってもよい。

[0045] 上記の方法及び使用において、セサミン類化合物、ドコサヘキサエン酸類化合物及びこれらの好ましい態様は、上述した本発明の血管内皮機能改善用組成物と同じである。ドコサヘキサエン酸類化合物及びセサミン類化合物の重量比の好ましい態様も、上述した本発明の血管内皮機能改善用組成物と同じである。セサミン類化合物として、セサミン類化合物の1種を単独で使用してもよく、2種以上を使用してもよい。ドコサヘキサエン酸類化合物として、ドコサヘキサエン酸類化合物の1種を単独で使用してもよく、2種以上を使用してもよい。上記方法及び使用においては、1日に1回以上、例えば、1日1回～数回（例えば2～3回）、上記組成物を対象に投与する（摂取させる）ことが好ましい。一態様において、上記方法及び使用においては、上記組成物を、経口投与（摂取）することが好ましい。

[0046] 上記方法及び使用においては、所望の作用が得られる量（有効量ということもできる）のセサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を使用すればよい。セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物の好ましい投与

量や投与対象等は上述した本発明の組成物と同じである。一態様においては、動脈硬化症等の状態又は疾患の予防又は改善のために、上記組成物を使用することができる。一態様においては、加齢に伴う血管内皮機能の低下を予防又は改善するために、上記組成物を使用することができる。

[0047] 本発明は、血管内皮機能改善用組成物を製造するための、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物の使用も包含する。ドコサヘキサエン酸類化合物は、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物である。上記組成物中、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150となるように、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を使用することが好ましい。血管内皮機能改善用組成物及びその好ましい態様等は、上記と同じである。

[0048] 本明細書において下限値と上限値によって表されている数値範囲、即ち「下限値～上限値」は、それら下限値及び上限値を含む。例えば、「1～2」により表される範囲は、1以上2以下を意味し、1及び2を含む。本明細書において、上限及び下限は、いずれの組み合わせによる範囲としてもよい。

実施例

[0049] 以下、本発明を実施例に基づいてより具体的に説明する。尚、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

[0050] <実施例1>

1-1. 試験方法

ドコサヘキサエン酸類化合物とセサミン類化合物の組み合わせが、血管機能に対する作用を有するか否かを検討するために、ヒト臍帯静脈内皮細胞（H U V E C）を用いて、その有用性を検討した。

ドコサヘキサエン酸類化合物には、ドコサヘキサエン酸（D H A）を使用した。

D H A（S i g m a - A l d r i c h）はジメチルスルホキシド（D M S O

)(Nacalai Tesque (株))に溶解したものを使用した。セサミンは生体内で代謝されるため、本実験ではセサミン摂取後のヒト血液中に検出される主要な代謝物であるSC1を使用した。SC1はDMSOに溶解したものを使用した。

[0051] HUVEC (LONZA (株))を96well plateに播種し、EGM-2 (LONZA (株))を用いて起眠し、CO₂インキュベーター (37℃、5%CO₂、ambient O₂、湿潤)で培養した。96well plateに播種した翌日、DMSO又は該当被験物質 (DHA及びSC1)を添加した培地 (EGM-2)に交換し、24時間CO₂インキュベーターで培養した。DMSOを添加した培地で培養した細胞を、コントロールとした。

[0052] 表1に、培地中の被験物質 (DHA及びSC1)の濃度、及び、DHA及びSC1の重量比を表1に示す。DHA及びSC1の重量比は、DHA重量を100とした場合の、SC1の重量比として示した。括弧内は、DHA重量を100とした場合の、SC1のセサミン (SE)換算の重量の比である。

[0053] [表1]

	濃度 (μ M)		重量比 (DHA=100とする)	
	DHA	SC1	DHA	SC1 (SE換算)
比率1	1	0.00096	100	0.1 (0.1035)
比率2	1	0.0096	100	1 (1.035)
比率3	1	0.0288	100	3 (3.105)
比率4	1	0.096	100	10 (10.35)
比率5	1	0.96	100	100 (103.5)
比率6	1	9.6	100	1000 (1035)

[0054] その後、CelliROX Deep Red (Thermo Fisher) 及びHoechst 33342 (Thermo Fisher)を添加した培地に交換し、CO₂インキュベーターで30分インキュベートした後、プレートリーダーを用いてCelliROX Deep Redの蛍光強度 (励起波長635nm、検出波長675nm) ならびにHoechst 33342の蛍光強度 (励起波長350nm、検出波長460nm)を測定した

。CellROX Deep Redの蛍光強度をHoechst 334の蛍光強度で補正し、相対蛍光強度を相対細胞内酸化ストレスレベルとした。相対蛍光強度が大きいほど、細胞内活性酸素種の量が多いことを意味する。

[0055] 1-2. 結果

結果を図1に示す。図1は、ドコサヘキサエン酸（DHA）及びセサミン代謝物（SC1）の重量比を変えて、ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUEC）における細胞内活性酸素種の量を調べた結果を示すグラフである（平均値±標準誤差、N=6）。図1に示す結果は、コントロール（DMSO）の細胞内活性酸素種の量を1とした場合の、相対値で示した。図1中の1～6は、表1の比率1～6をそれぞれ示す。

DHAとセサミン代謝物の組み合わせにより、比率3、比率4、比率5について、血管内皮細胞内の活性酸素種の量が低下した。一方、比率1、比率2、比率6については、細胞内活性酸素種の量の変化は確認されなかった。以上のことから、DHAとセサミン代謝物を比率3、比率4又は比率5の重量比で組み合わせることによって、血管内皮細胞における細胞内活性酸素種の量を効果的に低下させることが示された。

[0056] 上記の結果から、ドコサヘキサエン酸類化合物とセサミン類とを、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物をセサミン換算の重量2～150で組み合わせて使用すると、血管内皮細胞においてNO産生を効果的に高める可能性が考えられた。SC1は、セサミンの代謝物である。また、DHAを構成脂肪酸に含む化合物を摂取すると、当該化合物は体内で加水分解されてドコサヘキサエン酸が生成する。従って、セサミン等のSC1以外のセサミン類化合物及びDHA以外のドコサヘキサエン酸類化合物についても、上記の重量比で組み合わせて摂取することで、DHA及びSC1を用いた場合と同様の効果を得ることができる。

[0057] <実施例2>

2-1. 試験方法

実施例1と同様に、HUVECを培養した。96well plateに播種した翌日、被験物質又は陽性対照を添加した培地（EGM-2）で24時間CO₂インキュベーターで培養した。被験物質には、DHA及びSC1を使用した。なお、NO産生を高めることが知られているロバスタチン（富士フイルム和光純薬（株））を陽性対照として使用した。被験物質は、培地中にDHAが1 μ M、SC1が1 μ Mとなるように添加した（DHAの重量100に対して、SC1の重量が104.2（セサミン換算では107.9））。ロバスタチンは、培地中の濃度が10 μ Mとなるように添加した。DMSOを添加した培地で培養した細胞を、コントロールとした。また、被験物質（DHA及びSC1）の代わりに、DHAだけを添加した培地（DHA：1 μ M）、SC1だけを添加した培地（SC1：1 μ M）を準備し、上記と同様にHUVECを培養した。DHA、SC1及びロバスタチンは、DMSOに溶解させて培地に添加した。

[0058] その後、DAF-2（4,5-ジアミノフルオレセイン、五陵化薬（株））を終濃度10 μ Mとなるように添加した培地に交換し、CO₂インキュベーターで2時間インキュベートした後、培養上清を96well black plateに移し、プレートリーダーを用いて蛍光強度（ex. 485 nm, em. 515 nm）を測定した（N=5）。Backgroundとして無細胞の培地を用いて、同様の測定を実施した。Backgroundの平均値（N=5）を各サンプルの蛍光強度から差し引き、相対蛍光強度を相対NO産生量とした。

[0059] 2-2. 結果

結果を図2に示す。図2は、DHAとセサミン代謝物（SC1）の組み合わせによる、HUVECにおけるNO産生への効果を示すグラフである（平均値±標準誤差、N=5、Dunnett's test、*p<0.05、**p<0.01）。図2に示す結果は、コントロール（DMSO 0.1 v/v%）の相対NO産生量を1とした場合の、被験物質（又は陽性対照）

添加培地で培養した細胞の相対NO産生量の相対値で示した。DHAとセサミン代謝物の組み合わせにより、コントロールと比較して有意にNO産生量が増加した。一方、DHA又はSC1だけを添加して培養したHUECについては、相対NO産生量は、コントロールに対して有意な増加は認められなかった。ドコサヘキサエン酸類化合物とセサミン類化合物を組み合わせることによって、血管内皮細胞におけるNO産生が効果的に高められ、血管内皮機能が高められた。

請求の範囲

- [請求項1] セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含有し、
ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサ
エン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択
される少なくとも1種の化合物であり、
ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100
に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150であ
る、血管内皮機能改善用組成物。
- [請求項2] ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100
に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～110であ
る、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] セサミン類化合物が、セサミン、エピセサミン及びこれらの代謝物か
らなる群より選択される少なくとも1種の化合物である、請求項1又
は2に記載の組成物。
- [請求項4] ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物が、構成脂肪酸の一部
又は全部がドコサヘキサエン酸であるトリグリセリド、構成脂肪酸の
一部又は全部がドコサヘキサエン酸であるジグリセリド、構成脂肪酸
がドコサヘキサエン酸であるモノグリセリド、構成脂肪酸の一部又は
全部がドコサヘキサエン酸であるリン脂質、構成脂肪酸の一部又は全
部がドコサヘキサエン酸である糖脂質及びドコサヘキサエン酸のアル
コールエステルからなる群より選択される少なくとも1種の化合物で
ある、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項5] 経口用組成物である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項6] 飲食品である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項7] 「血管内皮機能を改善する」、「血管内皮機能の低下を予防する」、
「血管の健康を保つ」、「血管のしなやかさを維持する」、「血管を
拡張して血流を保つ」、「血行を促進する」、「血流を改善して体温
を維持する」、「血流を改善して冷え性を予防又は改善する」、「血

流を改善して肩こりを予防又は改善する」、「むくみを予防又は改善する」及び「血流を改善して肌状態を良くする」からなる群より選択される少なくとも1つの機能の表示を付した、請求項1又は2に記載の組成物。

[請求項8] 血管内皮機能を改善するための、セサミン類化合物及びドコサヘキサエン酸類化合物を含む組成物の使用であって、上記ドコサヘキサエン酸類化合物が、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸を構成脂肪酸に含む化合物及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物であり、上記組成物中、ドコサヘキサエン酸類化合物のドコサヘキサエン酸換算の重量100に対して、セサミン類化合物のセサミン換算の重量が2～150である、使用。