

明 細 書

発明の名称：

ペプチド又はその塩、これを含む組成物及び認知機能の低下抑制又は改善用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、ペプチド又はその塩、及びこれを含む組成物に関する。また、本発明は、認知機能の低下抑制又は改善用組成物等に関する。

背景技術

[0002] 記憶機能等の認知機能の改善は、世代に関係なく求められるものである。また近年、日本のように人口構成における高齢者比率が高い国では、加齢に伴う認知機能の低下が問題となっており、飲食品等として日常的に摂取することで認知機能の低下を抑制又は認知機能を改善することができる成分の探索が行われている。例えば、特許文献1には、C y c l o (G l y - P r o) を含有する、対象の認知機能の低下抑制及び／又は改善剤が記載されている。

[0003] アミロイド β (A β) は、脳内で産生されるタンパク質の一種である。脳内のアミロイド β 濃度と認知機能の間には強い正の相関があることが報告されている（非特許文献1）。アミロイド β が凝集してオリゴマー化又は線維化すると、神経細胞毒性を示す。凝集したアミロイド β は脳から排出されずに蓄積し、アルツハイマー病発症の引き金になると考えられている。従って、アミロイド β の産生又は蓄積を抑制することは、認知機能の低下抑制又は改善に役立つ。

[0004] アミロイド β は、アミロイド前駆体タンパク質 (A P P) が、 β -セクレターゼ1 (B A C E 1) 及び γ -セクレターゼによって2段階で切断されることにより生成する。B A C E 1の活性及び発現は、軽度認知障害 (M C I) 及びアルツハイマー病患者の脳内で上昇することが報告されている（非特許文献2）。また、B A C E 1の阻害は、アミロイド β の蓄積の初期段階にお

いて、アミロイド β の蓄積を抑制することが報告されている（非特許文献3）。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2020-196686号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Naslund et al., JAMA 2000, 283 (12), 1571-1577.

非特許文献2：Cheng et al., Am. J. Pathol. 2014; 184 (1): 141-147.

非特許文献3：Peters et al., Acta Neuropathol. 2018; 135 (5): 695-710.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、認知機能の低下抑制又は改善に有用なペプチド又はその塩を提供することを目的とする。また、本発明は、認知機能の低下抑制又は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、上記課題に鑑み鋭意研究した結果、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有するペプチドを見出した。アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有するペプチド又はその塩は、認知機能の低下抑制又は改善のために有用である。

[0009] すなわち、本発明は、これに限定されるものではないが、以下のペプチド又はその塩、組成物等に関する。

[1] L Y E G Y（配列番号7）、G G R Y Y（配列番号1）、A H D G G R Y Y（配列番号2）、A E Y Y（配列番号3）、A E Y Y R A（配列番号4）、G V T H N V P（配列番号5）、G V T H N V P I Y E G Y（配列番号6）

号6)、ISGW(配列番号8)、IKGY(配列番号9)、pEAPPH(配列番号10)、LTEAP(配列番号11)、DLTVTN(配列番号12)、pEISAN(配列番号13)、ILPVP(配列番号14)、TERGYS(配列番号15)及びIGME(配列番号16)からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む、組成物。

〔2〕認知機能の低下抑制又は改善のために使用される、上記〔1〕に記載の組成物。

〔3〕LYEGY(配列番号7)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、ILPVP(配列番号14)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、さらに、FLPM(配列番号21)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、FQPSF(配列番号22)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、Cyclo(Trp-Pro)又はその塩を含む、上記〔1〕又は〔2〕に記載の組成物。

〔4〕さらに、VIQY(配列番号17)、IWHHT(配列番号18)、IVGRPR(配列番号19)、VV及びAYからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む、上記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の組成物。

〔5〕LYEGY(配列番号7)、GGRY(配列番号1)、AHDGGRY(配列番号2)、AEYY(配列番号3)、AEYYRA(配列番号4)、GVTHNVP(配列番号5)、GVTHNVPILYEGY(配列番号6)、ISGW(配列番号8)、IKGY(配列番号9)、pEAPPH(配列番号10)、LTEAP(配列番号11)、DLTVTN(配列番号12)、pEISAN(配列番号13)、ILPVP(配列番号14)、TERGYS(配列番号15)、IGME(配列番号16)、VIQY(配列番号17)、IWHHT(配列番号18)、IVGRPR(配列番号19)、VV及びAYからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む、認知機能の低下抑制又は改善用組成物。

〔６〕 アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、上記〔５〕に記載の組成物。

〔７〕 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、上記〔５〕又は〔６〕に記載の組成物。

〔８〕 L Y E G Y（配列番号７）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、I L P V P A（配列番号１４）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、さらに、F L P M（配列番号２１）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、F Q P S F（配列番号２２）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o（T r p - P r o）又はその塩を含む、上記〔５〕～〔７〕のいずれかに記載の組成物。

〔９〕 G V T H N V P I Y E G Y（配列番号６）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、ネプリライシンを活性化することによりアミロイド β の蓄積を抑制する、上記〔５〕～〔８〕のいずれかに記載の組成物。

〔１０〕 I G M E（配列番号１６）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、ミクログリア細胞の貪食作用を促進することによりアミロイド β の蓄積を抑制する、上記〔５〕～〔９〕のいずれかに記載の組成物。

〔１１〕 上記組成物が、経口用組成物である、上記〔１〕～〔１０〕のいずれかに記載の組成物。

〔１２〕 上記組成物が、飲食品又は経口医薬品である、上記〔１〕～〔１１〕のいずれかに記載の組成物。

〔１３〕 上記組成物が、「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持

又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」及び「論理的思考力を維持又は改善する」からなる群より選択される少なくとも1の機能の表示を付されたものである、上記〔1〕～〔12〕のいずれかに記載の組成物。

〔14〕LYEGY（配列番号7）、GGYY（配列番号1）、AHDGGYY（配列番号2）、AEYY（配列番号3）、AEYYRA（配列番号4）、GVTHNVP（配列番号5）、GVTHNVP IYEGY（配列番号6）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPP H（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I S A N（配列番号13）、ILPVP A（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）及びIGME（配列番号16）からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、認知機能の低下抑制又は改善に有用なペプチド又はその塩を提供することができる。また、本発明によれば、認知機能の低下抑制又は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、ペプチドP16で処理したミクログリア（SIM-A9細胞）の貪食活性の評価結果を示すグラフである。

[図2]図2は、ペプチドP6で処理したミクログリアにおけるネプリライシン（NEP）の酵素活性の評価結果を示すグラフである。

[図3]図3Aは、ペプチド混合物で処理したH4神経膠腫細胞（H4-hAPP細胞）の培養上清中のアミロイド β_{1-38} （A β 38）の濃度を示すグラフである。図3Bは、ペプチド混合物で処理したH4-hAPP細胞の培養上清中のアミロイド β_{1-42} （A β 42）の濃度を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0012] 本発明のペプチド又はその塩は、GGYY（配列番号1）、AHDGGR

YY（配列番号2）、AEYY（配列番号3）、AEYYRA（配列番号4）、GVTHNVP（配列番号5）、GVTHNVP I Y E G Y（配列番号6）、LYEGY（配列番号7）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPP H（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I S A N（配列番号13）、ILPVP A（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）及びIGME（配列番号16）からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩である。

[0013] 本明細書において、ペプチドのアミノ酸配列は、特に断らない場合は、以下の通り、慣用的な1文字表記で示される。

A：アラニン残基、R：アルギニン残基、N：アスパラギン残基、D：アスパラギン酸残基、C：システイン残基、Q：グルタミン残基、E：グルタミン酸残基、G：グリシン残基、H：ヒスチジン残基、I：イソロイシン残基、L：ロイシン残基、K：リシン残基、M：メチオニン残基、F：フェニルアラニン残基、P：プロリン残基、S：セリン残基、T：トレオニン残基、W：トリプトファン残基、Y：チロシン残基、V：バリン残基

本明細書において、pEは、ピログルタミン酸残基を表す。ピログルタミン酸（pyro-Glu）は、グルタミン酸の γ カルボキシル基と α アミノ基が分子内脱水縮合した環状アミノ酸である。

[0014] 本明細書において、ペプチドのアミノ酸配列は、ペプチド表記の慣例に従って、左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。ペプチドは、特に断らない限り、直鎖状である。アミノ酸に光学異性体があり得る場合は、特に断らない限り、L体のアミノ酸を示す。

[0015] 本発明において、ペプチドの塩としては、薬理学的に許容される塩又は飲食品に許容される塩であれば特に限定されず、酸性塩及び塩基性塩のいずれであってよい。酸性塩として、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩等の有機酸塩等が挙

げられる。塩基性塩として、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩等が挙げられる。

[0016] 本発明において、ペプチド又はその塩の由来及び製造方法は特に制限されない。本発明のペプチド又はその塩は、公知の方法に従って製造することができる。ペプチドは、例えば、公知のペプチド合成方法によって製造することができる。化学合成によって本発明のペプチドを得る場合は、固相法又は液相法のいずれの方法でも合成することができる。合成によって得られたペプチドは、逆相高速液体クロマトグラフィー、イオン交換樹脂、ハイポールスポリマー樹脂を用いたクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等を用いた通常の精製方法で精製することができる。

本発明のペプチドは、微生物を用いて生合成することもできる。微生物を用いて生合成する場合は、ペプチドをコードする遺伝子を導入した発現ベクターを作製して、該発現ベクターを宿主微生物に導入して形質転換体を得る。形質転換体を培養し、培養物からペプチドを精製することができる。宿主微生物は特に限定されず、例えば、大腸菌、酵母等を使用することができる。培養物からの分離精製は、通常の精製方法で行うことができる。本発明のペプチドは、当該ペプチドのアミノ酸配列を含むタンパク質を、例えば、酵素的に又は化学的に加水分解することによって製造することもできる。ペプチドの塩は、当該分野で公知の任意の方法により、当業者によって容易に調製され得る。

本発明のペプチド又はその塩以外のペプチド又はその塩についても、公知のペプチド合成方法、上記の微生物を用いて生合成する方法等によって製造することができる。

[0017] 本発明のペプチド又はその塩は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有する。本発明のペプチド又はその塩は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。脳内のアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することで、認知機能の低下を抑制又は認知機

能を改善することができる。本発明のペプチド又はその塩は、例えば、認知機能の低下抑制又は改善のために使用することができる。

[0018] アミロイド β は、アミロイド β タンパク質、アミロイド β ペプチド又は β アミロイドと呼ばれることもあるペプチドである。アミロイド β は、通常、40個前後のアミノ酸からなるペプチドであり、アミロイド β_{1-42} 、アミロイド β_{1-40} 、アミロイド β_{1-38} 等が挙げられる。非会合状態のアミロイド β は、アミロイド β モノマーと呼ばれることもある。アミロイド β は、2個以上で凝集体を形成していてもよい。アミロイド β は、例えば、アミロイド β が2個以上（例えば2～50個）凝集した可溶性凝集体（アミロイド β オリゴマー）を形成していてもよい。アミロイド β オリゴマーとして、アミロイド β_{1-42} オリゴマー、アミロイド β_{1-40} オリゴマー、アミロイド β_{1-38} オリゴマー等が挙げられる。本発明におけるアミロイド β には、非会合状態のアミロイド β 、オリゴマー等の凝集体を形成しているアミロイド β が含まれる。

[0019] 配列番号1～5、7～15に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、 β -セクレターゼ阻害作用を有する。これらのペプチド又はその塩は、 β -セクレターゼを阻害するために使用することができる。 β -セクレターゼは、アミロイド β 産生の律速酵素であり、その切断が総アミロイド β 産生量を規定している。このため、 β -セクレターゼを阻害することによって、アミロイド β の産生を抑制することができ、アミロイド β の蓄積を抑制することができる。配列番号1～5及び7～15のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、例えば、 β -セクレターゼを阻害することにより、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。

[0020] 配列番号6（GVTHNVP I Y E G Y）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、ネプリライシン（NEP）を活性化する作用を有する。配列番号6に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、ネプリライシンの活性化のため使用することができる。本明細書中、ネプリライシンの活性

化は、ネプリライシンの酵素活性の上昇、ネプリライシンのタンパク質レベルの増加を含む。ネプリライシンは、脳内のアミロイド β の分解に関与する主要酵素である。ネプリライシンは、アミロイド β モノマーだけでなく、アミロイド β オリゴマーも分解することができる。脳内のネプリライシンを活性化することによって、アミロイド β の蓄積を抑制することができる。配列番号6に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、例えば、ネプリライシンを活性化することにより、アミロイド β の蓄積を抑制するために使用することができる。

[0021] 配列番号16 (IGME) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、ミクログリア細胞の貪食作用を促進する作用を有する。配列番号16に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、ミクログリア細胞の貪食作用促進のために使用することができる。ミクログリア細胞は、脳内に存在する中枢神経系の細胞である。ミクログリア細胞は、脳内の環境の維持のために重要な役割を果たしており、その作用の一つに、アミロイド β 等の細胞外タンパク質、損傷を受けた細胞等の脳内老廃物の貪食がある。ミクログリア細胞の貪食作用を促進することで、アミロイド β の除去が促進される。このため、ミクログリア細胞の貪食作用の促進は、アミロイド β の蓄積抑制に有効である。配列番号16に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、例えば、ミクログリア細胞の貪食作用を促進することによりアミロイド β の蓄積を抑制するために使用することができる。

[0022] 本発明のペプチド又はその塩は、単独で、又は、該ペプチド又はその塩以外の成分を配合して組成物の形態で、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、化粧料、飼料等として使用することができる。飲食品は、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、病者用食品、これらの原料等であってよい。

[0023] 本発明のペプチド又はその塩を含む組成物も本発明の1つである。

本発明の組成物は、GG RYY (配列番号1)、AHDGG RYY (配列番号2)、AEYY (配列番号3)、AEYYRA (配列番号4)、GVTH

NVP（配列番号5）、GVTHNVP I YEGY（配列番号6）、LYEGY（配列番号7）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPPH（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I SAN（配列番号13）、ILPVPA（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）及びIGME（配列番号16）からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む。

上記組成物は、上記のペプチド又はその塩の1種を含んでいてもよく、2種以上を含んでいてもよい。一態様において、上記組成物は、上記のペプチド又はその塩を2種以上含むことが好ましい。

配列番号1～16に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、上記のようにアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有する。上記ペプチド又はその塩を少なくとも1種含む組成物は、例えば、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のために使用することができる。上記組成物は、脳内におけるアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のために好ましく使用することができる。

[0024] 組成物中の本発明のペプチド又はその塩の含有量は特に限定されず、例えば、当該ペプチド又はその塩の総含有量を0.001～50重量%とすることができる。ペプチド又はその塩は、例えば、液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS/MS）により公知の方法で定量することが可能である。ペプチド又はその塩の総含有量は、ペプチド又はその塩を2種以上含む場合は、それらの合計量である。

LC-MS/MSの測定には、以下の測定条件を使用することができる。

装置としては、例えば、Agilent 1290 binary LC coupled with AB Sciex 5600+ Triple TOF systemを使用することができる。

LCカラム：CORTECS T3 Column, 120Å, 1.6 μ m, 2.1mm×100mm (Waters Corporation)

サンプル注入量：5 μ L

カラム温度：40℃

(LCクロマトグラフ条件)

移動相：

A液：0.1%ギ酸を含む水

B液：0.1%ギ酸を含むアセトニトリル

グラジエント（B液濃度）：

0～1分：B液1%

1～8.5分：B液1%→40%

8.5～13分：B液40%→90%

13～15.5分：B液90%→100%

15.5～17.8分：B液100%

17.8～18分：B液100%→1%

18～20分：B液1%

[0025] 本発明の組成物は、さらに、V I Q Y（配列番号17）、I W H H T（配列番号18）、I V G R P R（配列番号19）、V V及びA Yからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。これらのペプチド又はその塩は、 β -セクレターゼ阻害作用を有する。従ってこれらのペプチド又はその塩は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有する。これらのペプチド又はその塩は、認知機能の低下抑制又は改善のために使用することができる。

[0026] 配列番号1～5、7～15、17～19、V V及びA Yのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、例えば、 β -セクレターゼ阻害用組成物として使用することができる。 β -セクレターゼは、好ましくは β -セクレターゼ1である。上記ペプチド又はその塩を含む組成物は、 β -セクレターゼを阻害することにより、アミロイド β の産生を抑制及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。一態様において、本発明の組成物は、 β -セクレターゼを阻害することにより、アミロイド β の産

生を抑制及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。

[0027] 配列番号6 (GVTHNVPIYEGY) に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、ネプリライシン活性化用組成物として使用することができる。配列番号6に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、例えば、ネプリライシンを活性化することにより、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。

[0028] 配列番号16 (IGME) に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、ミクログリア細胞の貪食作用促進用組成物として使用することができる。配列番号16に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、例えば、ミクログリア細胞の貪食作用を促進することにより、アミロイド β の蓄積を抑制するために使用することができる。

[0029] 一態様において、本発明の組成物は、LYEGY (配列番号7) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。一態様において、本発明の組成物は、LYEGY (配列番号7) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、ILPVPA (配列番号14) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましく、さらに、FLPM (配列番号21) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、FQPSF (配列番号22) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、Cyclo (Trp-Pro) 又はその塩を含むことがより好ましい。配列番号7のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号14のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号21のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号22のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、Cyclo (Trp-Pro) 又はその塩を含む組成物は、例えば、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制するために好ましく使用することができる。Cyclo (Trp-Pro) (シクロトリプトファニルプロリン) は、トリプトファン (Trp) 及びプロリン (Pro) が縮合結合した構造を有する環状ジペプチドである。本明細書において「環状ジペプチド」とは、アミノ酸を構成単位とすることを特徴とし、N末端側アミノ酸のアミノ基と

C末端側アミノ酸のカルボキシル基とが脱水縮合することにより生成したジケトピペラジン構造を有する化合物をいう。なお、本明細書において、環状ジペプチドのアミノ酸構成が同じであれば、それらの記載順序はいずれが先でも構わなく、C y c l o (T r p - P r o) と C y c l o (P r o - T r p) (シクロプロリルトリプトファン) とは同じ環状ジペプチドを表す。

[0030] 本発明の組成物において、上記ペプチド又はその塩以外の成分は、組成物の形態等に応じて適宜選択することができる。組成物中の配列番号1～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩の総含有量は特に限定されず、例えば、0.001～50重量%とすることができる。一態様において、組成物が飲料等の液体組成物の場合は、上記ペプチド又はその塩の総含有量は、0.01～200mg/mLが好ましく、0.05～100mg/mLがより好ましい。

[0031] 配列番号1～19、VV、及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、アミロイドβの産生及び／又は蓄積を抑制する作用を有することから、当該ペプチド又はその塩や、これを含む組成物は、例えば、認知機能低下の抑制又は認知機能の改善のために有用である。一態様において、本発明の組成物は、認知機能の低下抑制又は改善のために好ましく使用することができる。本発明の組成物は、例えば、上記ペプチド又はその塩の1種又は2種以上を有効成分として含むものであってよい。また、上記ペプチド若しくはその塩、又はこれを含む組成物は、アミロイドβの蓄積に関連する状態又は疾患、好ましくは、脳におけるアミロイドβの蓄積に関連す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、アミロイドβの蓄積を伴う又はアミロイドβの蓄積に起因する状態又は疾患が挙げられる。脳におけるアミロイドβの蓄積を伴う又はアミロイドβの蓄積に起因する状態又は疾患として、例えば、アルツハイマー病（アルツハイマー型認知症を含む）、軽度認知障害、加齢に伴う認知機能障害等が挙げられる。

本明細書において、状態又は疾患の予防は、発症を防止すること、発症を遅

延させること、発症率を低下させること、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軽減すること、状態又は疾患の症状を好転させること、状態又は疾患の進行を遅延させること、防止すること等を包含する。

[0032] 本発明は、認知機能の低下抑制又は改善用組成物も包含する。本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、GGRYY（配列番号1）、AHDGGRYY（配列番号2）、AEYY（配列番号3）、AEYYRA（配列番号4）、GVTHNVP（配列番号5）、GVTHNVP I YEGY（配列番号6）、LYEGY（配列番号7）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPPH（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I SAN（配列番号13）、ILPVPA（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）、IGME（配列番号16）、VIQY（配列番号17）、IWHHT（配列番号18）、IVGRPR（配列番号19）、VV、及びAYからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む。

本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、通常、上記ペプチド又はその塩を、有効成分として含むものである。認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、上記のペプチド又はその塩の1種を含んでもよく、2種以上を含んでもよい。一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、上記のペプチド又はその塩を2種以上含むことが好ましい。より高い認知機能の低下抑制又は改善効果を得ることができるためである。

[0033] 一態様において、本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することによって、認知機能の低下を抑制又は認知機能を改善するために使用することができる。

[0034] 一態様において、本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、配列番号1～5、7～15、17～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。上記のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む組成物は、 β -セクレターゼを

阻害することにより、アミロイド β の産生を抑制及び／又は蓄積を抑制することができる。一態様において、優れた β -セクレターゼ阻害作用を有することから、組成物は、V I Q Y（配列番号17）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。

[0035] 一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、配列番号17に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましく、当該組成物は、さらに、配列番号1～16、18～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことがより好ましい。

[0036] 一態様において、本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、配列番号6に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。上記ペプチド又はその塩を含む組成物は、ネプリライシンを活性化することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することができる。

[0037] 一態様において、本発明の認知機能改善用組成物は、配列番号16に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。上記ペプチド又はその塩を含む組成物は、ミクログリア細胞の貪食作用を促進することによりアミロイド β の蓄積を抑制することができる。

[0038] 本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、認知機能の低下に関連する疾患又は状態を予防又は改善するために使用することができる。認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、例えば、アルツハイマー病（アルツハイマー型認知症を含む）、軽度認知障害又は加齢に伴う認知機能障害を予防又は改善するために使用することができる。アルツハイマー病、軽度認知障害及び加齢に伴う認知機能障害では、認知機能が低下することが知られている。アルツハイマー病、軽度認知障害及び加齢に伴う認知機能障害における認知機能低下の症状として、例えば、記憶力低下、記憶障害（物忘れ）、失語（ものの名前が出にくくなる）、失行、失認（よく知っているはずの場所で道に迷う等）、見当識（場所、時間、人の名前など、自分が置かれた状況を正しく認識する能力）の低下、言語及び非言語学習能力の低下、聴覚及び視覚処理の低下、遂行機能低下、遂行機能障害（計画を立てて物事を行うことが

できなくなる)、集中力低下、注意力低下、判断力低下、空間認識力低下、認知柔軟性低下、情報処理速度低下等が挙げられる。本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、例えば、上記の認知機能低下の症状の予防又は改善のために使用することができる。

一態様において、本発明の組成物は、アルツハイマー病、軽度認知障害又は加齢に伴う認知機能障害に起因する認知機能の低下を抑制するために使用することができる。なお、本発明において認知機能の低下抑制は、認知機能の、更なる症状の低下(悪化)の抑制、すなわち認知機能の維持、認知機能の低下(悪化)を遅延させることを包含するものである。認知機能の改善は、一度低下(悪化)した認知機能を改善させることを包含するものである。また、「認知機能」は、記憶機能、学習能力、記憶の固定化、遂行機能、注意力(注意機能)、集中力等の脳の機能を意味する。認知機能障害は、上記認知機能の一部又は全部が機能を果たさないことを意味する。

[0039] 認知機能の低下抑制又は改善用組成物に含まれる配列番号1~19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩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。

一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物中の上記ペプチド又はその塩の総含有量は、例えば、0.001重量%以上であってよく、0.01重量%以上が好ましく、また、50重量%以下であってよく、10重量%以下が好ましい。一態様において、上記ペプチド又はその塩の総含有量は、例えば、認知機能の低下抑制又は改善用組成物中に0.001~50重量%であってよく、0.01~10重量%が好ましい。一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物が飲料等の液体組成物の場合は、上記ペプチド又はその塩の総含有量は、組成物中に、0.01~200mg/mLが好ましく、0.1~100mg/mLがより好ましい。

[0040] 本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、経口で摂取(経口投与)されることが好ましい。認知機能の低下抑制又は改善用組成物の投与量(摂取量ということもできる)は特に限定されない。投与量は、認知機能の低下

抑制又は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。認知機能の低下抑制又は改善用組成物の投与量は、 β -セクレターゼ阻害効果、ミクログリアの貪食作用促進効果及びネプリライシン活性化効果からなる群より選択される少なくとも1の効果を得られるような量であることが好ましい。

[0041] 一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、上記ペプチド又はその塩の総投与量は、ペプチド換算で、1日あたり、好ましくは0.001mg以上、より好ましくは0.01mg以上、さらに好ましくは0.1mg以上、また、好ましくは5000mg以下、より好ましくは3000mg以下、さらに好ましくは2000mg以下である。一態様において、認知機能の低下抑制又は改善用組成物をヒト（成人）に摂取させる又は投与する場合、上記ペプチド又はその塩の総投与量は、ペプチド換算で、1日あたり、好ましくは0.001～5000mg、より好ましくは0.01～3000mg、さらに好ましくは0.1～2000mgである。上記組成物が上記ペプチド又はその塩を2種以上含む場合は、上記総投与量は、ペプチド又はその塩の合計投与量である。ペプチド換算の量とは、ペプチドの場合はその量を意味し、ペプチドが塩の形態の場合は、当該塩のモル数に、当該ペプチドの分子量を乗じて得られる値を意味する。

一態様において、例えば、配列番号1のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩の投与量は、ペプチド換算で、1日あたり、0.001～5000mgであってよく、0.01～3000mgが好ましい。

配列番号2～19、VV若しくはAYのアミノ酸配列からなるペプチド、又はそれぞれに対応する塩についても、投与量は、ペプチド換算で、1日あたり0.001～5000mgであってよく、0.01～3000mgが好ましい。

上記量を、1日1回以上、例えば、1日1回で又は数回（例えば2～3回）に分けて、摂取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

ペプチド又はその塩を、経口で摂取させる又は投与することが好ましい。ヒト（成人）の場合、1日当たり体重60kg当たり上記量のペプチド又はその塩を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、認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、ヒトに、1日当たり体重60kg当たり上記量のペプチド又はその塩を摂取させる又は投与するための経口用組成物であってよい。

[0042] 以下では、上記の本発明のペプチド又はその塩を含む組成物、及び認知機能の低下抑制又は改善用組成物をまとめて本発明の組成物等と記載する。

[0043] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号1に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号2～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号2～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1種であってもよく、2種以上であってもよい。一態様において、本発明の組成物等は、配列番号1又は2のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号3～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号3～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1種であってもよく、2種以上であってもよい。

[0044] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号3に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号1～2、4～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号1～2、4～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1種であってもよく、2種以上であってもよい。一態様において、本発明の組成物等は、配列番号3又は4のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号1～2、5～19、VV及びAYのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩

を含むことが好ましい。配列番号 1～2、5～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1 種であってもよく、2 種以上であってもよい。

[0045] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号 5 に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号 1～4、6～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号 1～4、6～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1 種であってもよく、2 種以上であってもよい。一態様において、本発明の組成物等は、配列番号 5 又は 6 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号 1～4、7～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号 1～4、7～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1 種であってもよく、2 種以上であってもよい。

[0046] 一態様において、本発明の組成物等は、FLPM（配列番号 21）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、FQPSF（配列番号 22）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、Cyclo（Trp-Pro）又はその塩からなる群より選択される少なくとも 1 種を含むことが好ましく、FLPM（配列番号 21）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、FQPSF（配列番号 22）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、Cyclo（Trp-Pro）又はその塩を含むことがより好ましい。

[0047] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号 7 に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むものであってよく、当該組成物等は、さらに、配列番号 1～6、8～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましい。配列番号 1～6、8～19、VV 及び AY のいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、

1種であってもよく、2種以上であってもよい。一態様において、本発明の組成物等は、L Y E G Y（配列番号7）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、I L P V P A（配列番号14）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましく、さらに、F L P M（配列番号21）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、F Q P S F（配列番号22）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o（T r p - P r o）又はその塩を含むことがより好ましい。

[0048] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号7に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号14に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号21に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号22に示すアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o（T r p - P r o）又はその塩を含むことが好ましく、さらに、配列番号1～6、8～13、15～19、V V及びA Yのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことがより好ましい。配列番号1～6、8～13、15～19、V V及びA Yのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩は、1種であってもよく、2種以上であってもよい。

[0049] 一態様において、本発明の組成物等は、配列番号1のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号2のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号3のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号4のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号5のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号6のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号7のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号8のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号9のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号10のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号11のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号12のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号13のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号14のアミノ酸配列か

らなるペプチド又はその塩、配列番号 15 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び配列番号 16 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことが好ましく、さらに、配列番号 17 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号 18 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号 19 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、VV のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及びAY のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含むことがより好ましい。本発明の組成物等は、さらに、配列番号 21 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号 22 のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o (T r p - P r o) 又はその塩を含むことがさらに好ましい。

[0050] 本発明の組成物等は、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。

本発明の組成物等は、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、認知機能の低下抑制又は改善用組成物は、認知機能の低下抑制又は改善剤ということもできる。 β -セクレターゼ阻害用組成物は、 β -セクレターゼ阻害剤ということもできる。ミクログリア細胞の貪食作用促進用組成物は、ミクログリア細胞の貪食作用促進剤ということもできる。アミロイド β の産生及び／又は蓄積抑制用組成物は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積抑制剤ということもできる。ネプリライシン活性化用組成物は、ネプリライシン活性化剤ということもできる。

[0051] 本発明の組成物等は、経口用又は非経口用のいずれであってもよい。本発明の組成物等は、好ましくは経口用組成物である。本発明の組成物等は、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態とすることができ、飲食品又は医薬品が好ましく、飲食品又は経口医薬品がより好ましい。本発明の組成物等は、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等に添加して使用することも

できる。本発明の組成物の形態は特に限定されず、固体状（例えば、粉末状、顆粒状、タブレット状等）、液状、ペースト状等のいずれであってもよい。

[0052] 本発明の組成物等は、上記のペプチド又はその塩を含み、更に飲食品又は医薬品等への添加物として許容されている各種の希釈剤、酸味料、抗酸化剤、安定剤、保存料、香料、乳化剤、色素類、調味料、pH調整剤、栄養強化剤等が添加されていてもよい。

[0053] 例えば、本発明の組成物等を飲食品とする場合、上記のペプチド又はその塩に、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、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品、病者用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、液剤、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、流動食等の各種製剤形態として使用することができる。

[0054] 本発明の組成物等を医薬品又は医薬部外品とする場合、上記のペプチド又はその塩に、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。本発明の組成物等を医薬品又は医薬部外品とする場合、経口用医薬品又は経口用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、例えば、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。非経口投与のための剤形としては、例えば、注射剤、点滴剤、軟膏剤、ローション剤、貼付剤、坐剤、経鼻剤、経肺剤（吸入剤）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。

- [0055] 本発明の組成物等を飼料とする場合には、上記のペプチド又はその塩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。
- [0056] 本発明の組成物等を、例えば、飲食品、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、上記のペプチド又はその塩を用いて、一般的な方法により製造することができる。
- [0057] 一態様において、本発明の組成物等は、液状組成物であることが好ましく、飲料であることがより好ましい。飲料は、例えば、機能性飲料であってよい。飲料の形態は特に限定されず、容器詰飲料であってよい。容器詰飲料の容器は特に限定されず、いずれの形態及び材質の容器を用いてもよく、例えば、アルミ缶、スチール缶等の金属製容器；ペットボトル等の樹脂製容器；紙パック等の紙容器；ガラス瓶等のガラス製容器；樽等の木製容器等の通常用いられる容器のいずれも用いることができる。このような容器に飲料を充填及び密閉することにより、容器詰飲料が得られる。
- [0058] 一態様においては、本発明の組成物等において、配列番号 1～19、VV 若しくはAYのアミノ酸配列からなるペプチド、又はそれぞれに対応する塩の含有量は、0.0001～20重量%であってよく、0.001～10重量%が好ましい。
- [0059] 本発明の組成物等が、FLPM（配列番号21）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、FQPSF（配列番号22）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及びCyclo（Trp-Pro）又はその塩を含む場合、当該ペプチド又はその塩の総含有量は、例えば、組成物中に0.0001～20重量%であってよく、0.001～10重量%が好ましい。一態様において、本発明の組成物等が、配列番号21のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む場合、その含有量は、例えば、0.0001～20重

量%であってよく、0.001～10重量%が好ましい。本発明の組成物等が、配列番号22のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む場合、その含有量は、例えば、0.0001～20重量%であってよく、0.001～10重量%が好ましい。本発明の組成物等が、C y c l o (T r p - P r o) 又はその塩を含む場合、その含有量は、例えば、0.0001～20重量%であってよく、0.001～10重量%が好ましい。一態様において、本発明の組成物等が飲料等の液体組成物であり、配列番号21のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号22のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o (T r p - P r o) 又はその塩を含む場合、当該ペプチド又はその塩の総含有量は、0.00005～20mg/mLが好ましく、0.0001～10mg/mLがより好ましい。本発明の組成物等が配列番号21のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、配列番号22のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o (T r p - P r o) 又はその塩を含む場合、これらのペプチド又はその塩の合計投与量は、ペプチド換算で、ヒト（成人）であれば、1日あたり、好ましくは0.0001～500mg、より好ましくは0.001～300mgである。

[0060] 本発明の組成物等は、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。上記ペプチド又はその塩を継続的に摂取させる又は投与することによって、より高い効果が得られることが期待される。一態様において、本発明の組成物等は、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週間以上継続して摂取又は投与されることが好ましい。

上記ペプチド又はその塩は、飲食品などとして摂取可能であり、安全性の観点から、例えば長期摂取することにも問題が少ないと考えられる。

[0061] 本発明の組成物等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、本発明における投与対象として、認知機能の低下抑制又は改善を必要とする又は希望する対象が挙げられ

る。また、本発明における投与対象として、認知機能の低下に関連する疾患又は状態の予防又は改善を必要とする又は希望する対象、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制を必要とする又は希望する対象、アミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善を必要とする又は希望する対象等が挙げられる。一態様において、本発明における投与対象として、中高年者が挙げられる。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。一態様において、本発明の組成物等の投与対象は、健常者であってよい。例えば、認知機能の低下抑制又は改善、脳内におけるアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制、脳内におけるアミロイド β の蓄積予防、アルツハイマー病、軽度認知障害又は加齢に伴う認知機能障害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。

[0062] 本発明の組成物等には、認知機能の低下抑制又は改善、又は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制により発揮される機能の表示が付されていてよい。このような表示は機能性表示ともいう。上記表示は、特に限定されない。このような表示として、例えば、「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」、「論理的思考力を維持又は改善する」、及び、これらと同視できる表示又は機能性表示が挙げられる。

本発明の一態様において、本発明の組成物等は、上記の表示が1又は2以上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上記組成物を用いる旨の表示であってもよい。当該表示は、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。

[0063] 本発明は、以下の下記の方法及び使用も包含する。

ペプチド又はその塩を投与する、認知機能の低下抑制又は改善方法であって、前記ペプチドが、GG RYY（配列番号1）、AHDGG RYY（配列番号2）、AEYY（配列番号3）、AEYYRA（配列番号4）、GVTHNVP（配列番号5）、GVTHNVP IYEGY（配列番号6）、LYEGY（配列番号7）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPPH（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I SAN（配列番号13）、ILPVPA（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）、IGME（配列番号16）、VIQY（配列番号17）、IWHHT（配列番号18）、IVGRPR（配列番号19）、VV、及びAYからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチドである、方法。

上記ペプチド又はその塩を投与する、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制方法。

認知機能の低下抑制又は改善のための、ペプチド又はその塩の使用であって、前記ペプチドが、GG RYY（配列番号1）、AHDGG RYY（配列番号2）、AEYY（配列番号3）、AEYYRA（配列番号4）、GVTHNVP（配列番号5）、GVTHNVP IYEGY（配列番号6）、LYEGY（配列番号7）、ISGW（配列番号8）、IKGY（配列番号9）、pEAPPH（配列番号10）、LTEAP（配列番号11）、DLTVTN（配列番号12）、pE I I SAN（配列番号13）、ILPVPA（配列番号14）、TERGYS（配列番号15）、IGME（配列番号16）、VIQY（配列番号17）、IWHHT（配列番号18）、IVGRPR（配列番号19）、VV、及びAYからなる群より選択されるいずれかのア

ミノ酸配列からなるペプチドである、使用。

アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のための、上記ペプチド又はその塩の使用。

上記方法及び使用において、上記ペプチド又はその塩は、1種を使用してもよく、2種以上を使用してもよい。

一態様において、上記方法及び使用においては、L Y E G Y（配列番号7）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、I L P V P A（配列番号14）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を使用することが好ましく、さらに、F L P M（配列番号21）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、F Q P S F（配列番号22）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o（T r p - P r o）又はその塩を使用することがより好ましい。

[0064] 配列番号1～5、7～15、17～19、V V及びA Yのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を投与する、 β -セクレターゼ阻害方法。

β -セクレターゼを阻害するための、配列番号1～5、7～15、17～19、V V及びA Yのいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩の使用。

[0065] G V T H N V P I Y E G Y（配列番号6）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を投与する、ネプリライシンの活性化方法。

G V T H N V P I Y E G Y（配列番号6）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩の、ネプリライシンを活性化するための使用。

[0066] I G M E（配列番号16）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を投与する、ミクログリア細胞の貪食作用促進方法。

ミクログリア細胞の貪食作用促進のための、I G M E（配列番号16）のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩の使用。

[0067] 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。

い。

- [0068] 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）、上記ペプチド又はその塩を対象に摂取させる又は投与することが好ましい。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。一態様において、上記ペプチド又はその塩は、認知機能の低下に関連する疾患又は状態を予防又は改善するために使用することができる。一態様において、上記ペプチド又はその塩は、アミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患を予防又は改善するために使用することができる。上記ペプチド又はその塩を投与する、アミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善方法も本発明に包含される。
- [0069] 上記方法及び使用においては、所望する効果が得られる量（有効量ということもできる）の上記ペプチド又はその塩を使用すればよい。上記有効量は、認知機能の低下抑制又は改善効果、 β -セクレターゼ阻害効果、ネプリライシン活性化効果又はミクログリア細胞の貪食作用促進効果が得られるような量であることが好ましい。上記ペプチド又はその塩の好ましい投与量、投与方法、投与対象等は上述した本発明の組成物等と同じである。上記ペプチド又はその塩は、そのまま摂取又は投与してもよく、これを含む組成物として摂取又は投与してもよい。例えば、本発明の組成物又は認知機能の低下抑制又は改善用組成物を摂取又は投与してもよい。
- [0070] 上記ペプチド又はその塩は、認知機能の低下抑制又は改善のために使用される飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の製造のために使用することができる。一態様において、本発明は、認知機能の低下抑制又は改善用組成物の製造における、上記ペプチド又はその塩の使用、も包含する。上記ペプチド又はその塩は、アミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患（好ましくは、脳におけるアミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患）の予防又は改善用組成物の製造のために使用することができる。
- [0071] 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。
なお、本明細書中に記載された学術文献及び特許文献の全ては、参照として本明細書に組み入れられる。

実施例

[0072] 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、これにより本発明の範囲を限定するものではない。

[0073] <ペプチド>

実施例1～2では、ペプチドP1～P21を使用した。表1にペプチドP1～P21のアミノ酸配列を示す。ペプチドP1～P21は、直鎖状ペプチドである。ペプチドP1～P21は、GenScript Biotech社で合成した。ペプチドのアミノ酸配列は、1文字表記で示した。pEは、ピログルタミン酸残基を示す。ペプチドを構成するアミノ酸は、全てL体である。

[0074] [表1]

ペプチド	アミノ酸配列	配列番号
P1	GGRYY	1
P2	AHDGGRYY	2
P3	AEYY	4
P4	AEYYRA	3
P5	GVTHNVP	5
P6	GVTHNVPIYEGY	6
P7	LYEGY	7
P8	ISGW	8
P9	IKGY	9
P10	pEAPPH	10
P11	LTEAP	11
P12	DLTVTN	12
P13	pEIISAN	13
P14	ILPVPA	14
P15	TERGYS	15
P16	IGME	16
P17	VIQY	17
P18	IWHHT	18
P19	IVGRPR	19
P20	VV	－
P21	AY	－

[0075] <実施例 1>

(材料及び方法)

A. 試薬

BACE1 Inhibitor Screening Kit (Fluorometric) は、Abcam社から入手した。他の試薬は、Sigma-Aldrich社から購入した。

[0076] B. BACE1 阻害アッセイ

表 1 に示すペプチド P1~P5、P7~P15 及び P17~P21 を、候補化合物として使用した。BACE1 Inhibitor Screening Kit (Fluorometric) を用いて、候補化合物の BACE1 阻害活性を評価した。

[0077] BACE1 阻害アッセイは、キットの製造元のプロトコルに従って実施した。候補化合物を、100 倍 (100×) の高ストック濃度でジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した後、アッセイバッファーで試験濃度の 2 倍 (2×) に希釈した。得られた候補化合物の希釈液を、下記の実験に使用した。

BACE1 enzyme assay mixture は、ストック酵素 (25×) をアッセイバッファーで希釈して調製した。得られた希釈酵素液 50 μ L に、候補化合物の希釈液 50 μ L を混合し、平底 96 ウェルブラックプレートのウェルに移し、reaction mixture を調製した。Tecan Spark (登録商標) マルチモードマイクロプレートリーダーを用いて、37℃で30分間、アッセイプレートの蛍光 ($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}=345/500$ nm) 読み出しをモニターした。各サンプルの相対阻害率 (%) は、製造元のプロトコルにしたがって、蛍光測定値から算出した。

[0078] (統計分析)

統計分析は、GraphPad Prism version 7.0 (San Diego, California, USA) を使用して行った。各ペプチドのベストフィット IC50 値 (以下、IC50 という) を、濃

度とそれぞれの相対阻害率を $\log$ (ペプチド) 対正規化阻害率の式にあてはめて求めた。

[0079] (結果)

ペプチド P1～P5、P7～P15 及び P17～P21 の各ペプチドは、BACE1 を阻害する作用を有した。ペプチド P1～P5、P7～P15 及び P17～P21 の IC50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) を、表 2 に示す。

[0080] [表2]

ペプチド	アミノ酸配列	IC50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
P1	GGRYY	141.6
P2	AHDGGRYY	401.7
P3	AEYY	672.0
P4	AEYYRA	257.7
P5	GVTHNVP	799.0
P7	LYEGY	89.2
P8	ISGW	93.4
P9	IKGY	94.3
P10	pEAPPH	124.9
P11	LTEAP	162.1
P12	DLTVTN	218.3
P13	pEIISAN	516.5
P14	ILPVPA	801.0
P15	TERGYS	702.5
P17	VIQY	39.3
P18	IWHHT	70.7
P19	IVGRPR	82.7
P20	VV	407.5
P21	AY	826.5

[0081] 表 3～5 に、様々な濃度でテストした各ペプチドの相対阻害%を示す。表 3～5 には、BACE1 阻害率の値の平均 (%) を示した ($N=2$)。各ペプチドの濃度及び相対阻害率の値 (%) を $\log$ (ペプチド) 対正規化阻害方程式に当てはめ、実験的な IC50 値を求めた (表 2)。

[0082]

[表3]

濃度 (mg/mL)	BACE1阻害 (%)					
4.5	98.2	89.5	90.3	94		105
1.5	93.6	76.4	70.3	84.3	71.9	75.5
0.5	78.2	54.6	43.4	67.3	30.2	57.4
0.166665	53.6	30.5	17	38.8		46.7
0.15					17.2	
0.0555555	27.3	17.5	0.0618	15.3		28.1
0.05					1.55	
0.015	10.6	3.3	1.51	11.6	5.39	12.5
0.005					11.6	
ペプチド	GGRYY	AHDGGRYY	AEYY	AEYYRA	GVTHNVP	LYEGY
	P1	P2	P3	P4	P5	P7

[0083] [表4]

濃度 (mg/mL)	BACE1阻害 (%)					
4.5				94.7	94.1	88.5
1.5	70.1	90.7	89.1	87.8	84.9	68.8
0.5	55.6	79.4	73.8	72.3	71.5	48.4
0.166665				55	44.7	28.1
0.15	39.4	63	54.1			
0.0555555				24.1	19.5	15.4
0.05	58.4	34.2	57			
0.015	33.7	18.1	29.7	9.54	0.975	7.3
0.005	33.3		22.6			
ペプチド	ISGW	IKGY	pEAPPH	LTEAP	DLTVTN	pEISAN
	P8	P9	P10	P11	P12	P13

[0084] [表5]

濃度 (mg/mL)	BACE1阻害 (%)						
4.5	93.5					99.1	90.6
1.5	66.9	70.2	90.8	80.3	87.7	88.7	63.6
0.5	27.7	30.6	80.9	56.8	78	50.1	36
0.166665	26.6					27.8	14.7
0.15		30.2	51.4	49.4	54.1		
0.0555555	0.893					8.34	7.01
0.05		28.3	46.9	40.2	33		
0.015	14.2	1.61	38.1	25.6	25.4	5.33	4.3
0.005		8.52	39.9	38.5	33.1		
ペプチド	ILPVPA	TERGYS	VIQY	IWHHT	IVGRPR	VV	AY
	P14	P15	P17	P18	P19	P20	P21

[0085] BACE1は、アミロイド前駆体タンパク質からアミロイドベータ ($A\beta$) ペプチドを生成する際に主要な役割を果たすアスパルチルプロテアーゼであ

る。A β ペプチド濃度と認知機能の間には強い正の相関があり（上記非特許文献1）、アルツハイマー病モデルにおけるBACE1活性の上昇の証拠（参考文献1）と相まって、BACE1阻害が認知機能低下を遅らせるための有望な戦略であることが示唆されている（参考文献2）。BACE1阻害アッセイの結果、ペプチドP1～P5、P7～P15及びP17～P21が39.3～826.5 μ g/mLのIC50値でBACE1を阻害できることが示された（表2）。

参考文献1：Fukumoto et al., Arch. Neurol. 2002, 59 (9), 1381–1389.

参考文献2：McDade et al., Nature Reviews Neurology 2021, 17 (11), 703–714.

[0086] <実施例2>

材料と方法

A. 試薬

Gibco Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham 1 : 1 (DMEM/F12)、ウシ胎児血清 (FBS)、ウマ血清 (HS)、ペニシリン/ストレプトマイシン (P/S)、ポリ-D-リジン (PDL) コート24-wellプレート、Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS)、Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS)、ピルビン酸ナトリウム、D-グルコース、BlockAid™ Blocking Solution、IBA1ポリクローナル抗体 (IBA1) 及びHoechst 33342, Trihydrochloride, Trihydrateは、Thermo Fisher Scientificから入手した。アミロイド β (1-42)、HiLyte™ Fluor 488 (A β ₁₋₄₂) 及び1% NH₄OH solutionはAnaspecから購入した。Triton (登録商標) X-100及びパラホルムアルデヒド (PFA

) は、Sigma Aldrich社から入手した。

[0087] B. $A\beta_{1-42}$ の調製

メーカー (Anaspec) の推奨に従って、 $A\beta_{1-42}$ ペプチド ($A\beta_{1-42}$ モノマー) の可溶性種を調製した。凍結乾燥した $A\beta_{1-42}$ ペプチドを 1 % NH_4OH 溶液に 2 mg/mL の濃度で溶解した。ペプチド溶液を DPBS でさらに希釈し、最終濃度 1 mg/mL のストック溶液にした。再構成されたペプチドをいくつかのフリーザーバイアルに分注し、 $-20^{\circ}C$ で保存した。

[0088] C. 細胞培養

SIM-A9 マウスミクログリア細胞 (ATCC CRL-3265) を、10 % FBS、5 % HS 及び 1 % P/S を添加した DMEM/F12 中で、5 % CO_2 を含む加湿ガスチャンバー内で $37^{\circ}C$ で培養した。

[0089] D. 貪食作用アッセイ

試験化合物として、表 1 に示すペプチド P16 (IGME、配列番号 16) を使用した。

SIM-A9 細胞 (2×10^5 cells/well) を PDL コート 24 ウェルプレートに DMEM/F12 培地中に播種し、 $8.8 \mu g/mL$ のペプチド P16 で 24 時間前処理した。前処理の後、細胞を DMEM/F12 で洗浄し、 $4.51 \mu g/mL$ の $A\beta_{1-42}$ とさらに 6 時間インキュベートした。インキュベーション期間の終わりに、 $A\beta_{1-42}$ 含有培地を除去し、細胞を DPBS で洗浄して、細胞外 $A\beta_{1-42}$ を除去した。次に、細胞を 4 % PFA で固定し、0.2 % Triton (登録商標) X-100 で透過処理し、BlockAid™ Blocking Solution で、室温で 1 時間ブロックした。IBA1 抗体を使用して細胞の形状を視覚化し、Hoechst 33342 を使用して核を染色した。分析のためにウェルごとに 5 セットの画像を取得し、細胞内に $A\beta_{1-42}$ を含む細胞を $A\beta_{1-42}$ /IBA1/核シグナルの共局在化によって決定した。貪食活性は、細胞内に $A\beta_{1-42}$ を含む細胞の数で評価した。数値は、コントロールグループ (ペプチド P16 で処理していない細胞) に対して正規化されたミクログリア細胞の平均数とし

て表した。

[0090] E. ネプリライシン (NEP) 活性アッセイ

試験化合物として、表1に示すペプチドP6 (GVTHNVPIYEGY、配列番号6) を使用した。

qf-A β (12-16) AAC (Cys側鎖に結合したメチルクマリンアミド(MCA)と、ペプチドのN末端に結合したクエンチャーとしての2,4-ジニトロフェノール(DNP)を有する配列VHHQKAAC (配列番号20)のペプチド)を合成した。合成したqf-A β (12-16) AACを、2mMストック溶液としてDMSOに溶解させた。SIM-A9細胞 (4×10^4 cells/well) を上記のようにPDLコート96-wellプレートにDMEM/F12培地中に播種し、2.2 μ g/mLのペプチドP6で24時間前処理した。次いで、培地を、4 μ M qf-A β (12-16) AACを含む200 μ L アッセイバッファー (5.5 mM D-グルコース、0.3 mM ピルビン酸ナトリウム、25 mM 重炭酸ナトリウム及び1.5 μ M 硫酸亜鉛を含むDPBS) に置き換え、細胞を1時間インキュベートした。NEP活性を測定するために、アッセイバッファーを150 μ L取り、TECAN Spark (登録商標) (TECAN社, USA) で励起波長328 nm、蛍光波長393 nmで蛍光測定した。

[0091] F. 統計分析

統計分析は、GraphPad Prism version 7.0 (San Diego, California, USA) を使用して行った。結果は全て、平均±標準偏差(SD)として示す。統計分析は、Student's t-testによって実施した。P値が $p < 0.05$ の場合、データを有意であるとみなした。

[0092] (結果)

A. SIM-A9細胞によるA β_{1-42} の貪食に対するペプチドの効果
ミクログリアは脳に常在する免疫細胞で、脳の微小環境の監視や細胞破片の除去などの様々な機能を担っている。ミクログリア細胞は、様々な形態のA

β を貪食することが知られており、このクリアランスのメカニズムを強化することは、アルツハイマー病（AD）治療の戦略として期待される。

図1に、ペプチドP16で処理したミクログリア（SIM-A9細胞）の貪食活性の評価結果を示す。縦軸は、細胞内に $A\beta_{1-42}$ を含むミクログリア細胞の数の相対値を示す。結果は、コントロールに対する相対値で示した。数値は平均値 $\pm$ SDを表す（ $n=3$ ）。*は、コントロールに対して $p<0.05$ で有意差があることを示す。ペプチドP16で前処理することにより、 $A\beta_{1-42}$ モノマーとインキュベートしたSIM-A9細胞の貪食活性を有意に促進できることがわかった（図1）。

[0093] B. NEP酵素活性に対するペプチドの効果

$A\beta$ はNEPのようなエンドペプチダーゼによっても分解される。 $A\beta$ 分解酵素の活性を高めることも、AD治療のために検討されているクリアランスメカニズムの一つである。

図2は、ペプチドP6で処理したミクログリアにおけるNEPの酵素活性の評価結果を示すグラフである。数値は平均値 $\pm$ SDを表す（ $n=3$ ）。結果は、コントロールに対する相対値で示した。**は、コントロールに対して $p<0.01$ の有意差を示す。ペプチドP6の処理により、NEPの酵素活性を有意に上昇させることができた（図2）。

[0094] <実施例3>

（材料と方法）

A. 試薬とペプチド

Gibco Opti-MEM™ 1 Reduced Serum Medium (Opti-MEM)、ウシ胎児血清 (FCS)、ペニシリン/ストレプトマイシン (P/S)、ハイグロマイシンB及びブラストサイジンS塩酸塩は、Thermo Fisher Scientific社から入手した。MSD (登録商標) 96-well MULTISPOT (登録商標) 6E10 Abeta Triplex Assay kit (アミロイド β 検出キット) はMeso Scale Discovery社から

購入した。N-[N-(3,5-ジフルオロフェナセチル-L-アラニル)]-S-フェニルグリシン-t-ブチルエステル(DAPT、 γ -セクレターゼ阻害剤)は、Calbiochem社から入手した。

[0095] 実施例3で使用した試験ペプチドを以下に示す。試験ペプチドは全て、GenScript Biotech社で合成した。

LYEGY:LYEGY(配列番号7)のアミノ酸配列からなるペプチド
ILPVPA:ILPVPA(配列番号14)のアミノ酸配列からなるペプチド

FLPM:FLPM(配列番号21)のアミノ酸配列からなるペプチド
FQPSF:FQPSF(配列番号22)のアミノ酸配列からなるペプチド
Cyclo(Trp-Pro):トリプトファンとプロリンが縮合結合した構造を有する環状ジペプチド

上記ペプチドLYEGY、ILPVPA、FLPM及びFQPSFは、鎖状ペプチドである。

[0096] B. 細胞培養及び処理

ヒトH4神経膠腫細胞株に、スウェーデン二重変異K595N/M596Lを有するヒトアミロイド前駆体タンパク質アイソフォーム695(APP695)を含むpAG3ベクターを安定的にトランスフェクションして、H4-hAPP細胞を得た。pAG3ベクターは、融合されたCMVとニワトリ β -アクチンプロモーターの制御下に導入遺伝子を有するハイグロマイシンB耐性カセットを含む改変pcDNA3プラスミドである。

H4-hAPP細胞は、加湿インキュベーター中で、10%FCS、1%P/S、200 μ g/mLのハイグロマイシンB及び2.5 μ g/mLのブラストサイジンS塩酸塩を添加したOpti-MEM(細胞培養培地)中で培養した。細胞を、25,000細胞/ウェルの密度で96ウェルプレートに播種し、5%CO₂を含む加湿ガスチャンバー内で、37℃で一晩インキュベートした。

上記試験ペプチドを上記細胞培養培地で再構成して、5種のペプチドを含む

ペプチド混合物を調製した。ペプチド混合物中のペプチドの濃度を表6に示す。

[0097] [表6]

ペプチド	濃度 (mg/mL)
ILPVPA	0.00196
FLPM	0.001602
FQPSF	0.004196
LYEGY	0.014052
Cyclo (Trp-Pro)	0.001303

[0098] H4-hAPP細胞を上記ペプチド混合物、又は、陽性対照としてDAPTを添加した細胞培養培地（DAPT濃度：400nM）で処理した。ペプチド混合物処理及びDAPT処理を行わないH4-hAPP細胞を、コントロールとした。37℃で24時間処理した後、アミロイド β （A β ）分析のために細胞培養上清を収集した。2回の独立した実験を行った。

[0099] C. アミロイド β ELISAアッセイ

細胞培養上清を1：10に希釈し、6E10 Abeta Triplex Assay kitを用いてヒトアミロイド β_{1-38} （A β 38）、及びヒトアミロイド β_{1-42} （A β 42）を分析した。マルチプレックスアッセイは製造元の指示に従って実行され、プレートをSector Imager 2400（Meso Scale Discovery社）で読み取った。アミロイド β の濃度は、標準曲線を参照して計算した。マルチプレックスキットの感度は<5pg/mLであった。

[0100] D. 統計分析

GraphPad Prism version 5.0（San Diego, California, USA）を使用して統計分析を実施した。すべての結果は、平均±標準偏差（SD）として表した。統計分析は、分散分析（ANOVA）の後、事後ダネットの多重比較検定（post hoc Dunnett's multiple comparison test）により行った。p値がp<0.05の場合、データは有意であると見なした。

[0101] (結果)

図3 A及び図3 Bに結果を示す (** : $p < 0.01$ 、*** : $p < 0.001$ 、コントロールに対して)。図3 Aは、ペプチド混合物で処理したH4-hAPP細胞における培養上清中のアミロイド β_{1-38} ($A\beta_{38}$) の濃度を示すグラフである。図3 Bは、ペプチド混合物で処理したH4-hAPP細胞の培養上清中のアミロイド β_{1-42} ($A\beta_{42}$) の濃度を示すグラフである。結果は、平均値 $\pm$ SD (N=2) で示した。ペプチド混合物は、H4-hAPP細胞におけるアミロイド β_{1-38} 及びアミロイド β_{1-42} の産生を抑制した。

請求の範囲

- [請求項1] L Y E G Y (配列番号7)、
G G R Y Y (配列番号1)、
A H D G G R Y Y (配列番号2)、
A E Y Y (配列番号3)、
A E Y Y R A (配列番号4)、
G V T H N V P (配列番号5)、
G V T H N V P I Y E G Y (配列番号6)、
I S G W (配列番号8)、
I K G Y (配列番号9)、
p E A P P H (配列番号10)、
L T E A P (配列番号11)、
D L T V T N (配列番号12)、
p E I I S A N (配列番号13)、
I L P V P A (配列番号14)、
T E R G Y S (配列番号15) 及び
I G M E (配列番号16) からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む、組成物。
- [請求項2] 認知機能の低下抑制又は改善のために使用される、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] L Y E G Y (配列番号7) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、I L P V P A (配列番号14) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、さらに、F L P M (配列番号21) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、F Q P S F (配列番号22) のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o (T r p - P r o) 又はその塩を含む、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項4] さらに、V I Q Y (配列番号17)、I W H H T (配列番号18)、I V G R P R (配列番号19)、V V 及びA Y からなる群より選択さ

れるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含む、請求項1又は2に記載の組成物。

- [請求項5] L Y E G Y (配列番号7)、G G R Y Y (配列番号1)、A H D G G R Y Y (配列番号2)、A E Y Y (配列番号3)、A E Y Y R A (配列番号4)、G V T H N V P (配列番号5)、G V T H N V P I Y E G Y (配列番号6)、I S G W (配列番号8)、I K G Y (配列番号9)、p E A P P H (配列番号10)、L T E A P (配列番号11)、D L T V T N (配列番号12)、p E I I S A N (配列番号13)、I L P V P A (配列番号14)、T E R G Y S (配列番号15)、I G M E (配列番号16)、V I Q Y (配列番号17)、I W H H T (配列番号18)、I V G R P R (配列番号19)、V V及びA Yからなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩を含む、認知機能の低下抑制又は改善用組成物。
- [請求項6] アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、請求項5に記載の組成物。
- [請求項7] β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、請求項5又は6に記載の組成物。
- [請求項8] L Y E G Y (配列番号7)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、I L P V P A (配列番号14)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、さらに、F L P M (配列番号21)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、F Q P S F (配列番号22)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩、及び、C y c l o (T r p - P r o)又はその塩を含む、請求項5又は6に記載の組成物。
- [請求項9] G V T H N V P I Y E G Y (配列番号6)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、ネプリライシンを活性化することによりアミロイド β の蓄積を抑制する、請求項5又は6に記載の組成物。
- [請求項10] I G M E (配列番号16)のアミノ酸配列からなるペプチド又はその塩を含み、ミクログリア細胞の貪食作用を促進することによりアミロ

イド β の蓄積を抑制する、請求項5又は6に記載の組成物。

[請求項11] 前記組成物が、経口用組成物である、請求項1又は5に記載の組成物。

[請求項12] 前記組成物が、飲食品又は経口医薬品である、請求項1又は5に記載の組成物。

[請求項13] 前記組成物が、「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」及び「論理的思考力を維持又は改善する」からなる群より選択される少なくとも1の機能の表示を付されたものである、請求項1又は5に記載の組成物。

[請求項14] L Y E G Y (配列番号7)、G G R Y Y (配列番号1)、A H D G G R Y Y (配列番号2)、A E Y Y (配列番号3)、A E Y Y R A (配列番号4)、G V T H N V P (配列番号5)、G V T H N V P I Y E G Y (配列番号6)、I S G W (配列番号8)、I K G Y (配列番号9)、p E A P P H (配列番号10)、L T E A P (配列番号11)、D L T V T N (配列番号12)、p E I I S A N (配列番号13)、I L P V P A (配列番号14)、T E R G Y S (配列番号15)及びI G M E (配列番号16)からなる群より選択されるいずれかのアミノ酸配列からなるペプチド、又はその塩。