

明 細 書

発明の名称：聴覚障害の処置および／または予防のための組成物
技術分野

[0001] 本特許出願は、日本国特許出願第2023-104149号について優先権を主張するものであり、ここに参照することによって、その全体が本明細書中へ組み込まれるものとする。

本開示は、聴覚障害を処置および／または予防するための組成物、または、聴覚機能を維持および／または改善するための組成物に関するものである。

背景技術

[0002] 世界保健機関（WHO）は、音楽鑑賞などの目的で強大音に曝露されることにより、10億人を超える若年者が騒音性難聴のリスクにさらされていると報告している。加齢性難聴は認知症の大きなリスク因子であると考えられており、難聴対策は認知症対策としても重要である。騒音性および加齢性難聴は、騒音や老化によって内耳の有毛細胞が少しずつ障害を受けて生じると考えられている。有毛細胞の再生は困難なため、難聴の治療は難しく、日々の生活における予防が求められている。耳鳴は、音刺激がないにも拘わらず音を知覚する感覚異常であり、耳鳴とその関連症状による心理的負担は大きい。耳鳴の誘引因子の1つとして難聴があると考えられている。

[0003] アスパラガスは、多くの国で生産および消費される野菜であり、種々の生理活性を有することが見出されている。例えば、アスパラガス茎抽出物が、各種の疲労（肉体的疲労、精神的ストレスによる疲労等）に対する予防および回復効果、脳機能改善効果を有すること、アスパラガス擬葉抽出物が自律神経調整効果を有することが知られている。特許文献1には、アスパラガス熱水加熱処理物由来のヒドロキシメチルフルフラール誘導体が優れたHSP誘導活性、抗ストレス効果及び自律神経調節効果を有することが記載されている。しかしながら、聴覚障害または聴覚機能に対するアスパラガス抽出物

の効果は知られていない。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2013/094676号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本開示は、聴覚障害の処置および／または予防方法、または、聴覚機能の維持および／または改善方法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

[0006] 本発明者らは、アスパラガス抽出物が難聴および耳鳴の改善に有効であることを見出した。

従って、ある態様では、本開示は、アスパラガス抽出物を含む、聴覚障害を処置および／または予防するための組成物を提供する。

別の態様では、本開示は、アスパラガス抽出物を含む、聴覚機能を維持および／または改善するための組成物を提供する。

発明の効果

[0007] 本開示により、聴覚障害を処置および／または予防するための、または、聴覚機能を維持および／または改善するための新たな手段が提供される。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]コントロール飼料またはアスパラガス抽出物を含有する被験飼料を与えたマウス加齢性難聴モデルに、32kHzの音刺激を与えてABR検査をした結果を示す。

[図2]アスパラガス抽出物の摂取が健常者の耳鳴に与える影響を調べた臨床試験における、アスパラガス抽出物群およびプラセボ群のTHI合計得点を示す。

発明を実施するための形態

[0009] 特に具体的な定めのない限り、本明細書で使用される用語は、有機化学、

医学、薬学、分子生物学、微生物学等の分野における当業者に一般に理解されるとおりの意味を有する。以下にいくつかの本明細書で使用される用語についての定義を記載するが、これらの定義は、本明細書において、一般的な理解に優先する。

- [0010] 本明細書では、数値が「約」の用語を伴う場合、その値の±10%の範囲を含むことを意図する。例えば、「約20」は、「18～22」を含むものとする。数値の範囲は、両端点の間のすべての数値および両端点の数値を含む。範囲に関する「約」は、その範囲の両端点に適用される。従って、例えば、「約20～30」は、「18～33」を含むものとする。
- [0011] 本開示のアスパラガス抽出物は、アスパラガスを熱水抽出処理し、残渣を除去した液体に含まれるアスパラガス由来成分の混合物である。アスパラガス抽出物の原料は、好ましくは、アスパラガス (*Asparagus officinalis*) の茎部（アスパラガス茎）であり、若い茎および葉を含む。アスパラガス茎は、食用アスパラガスの収穫、運搬または販売の効率化などの都合で廃棄される切り下部分を用いてもよい。また、アスパラガス抽出物の原料は、例えば、生のアスパラガスであってもよく、アスパラガスを乾燥させたものであってもよく、アスパラガスを乾燥させ粉末化したものであってもよい。アスパラガスの例には、グリーンアスパラガス、ホワイトアスパラガス、ムラサキアスパラガスが含まれ、好ましくはグリーンアスパラガスである。アスパラガスの産地は特に限定されない。
- [0012] 本開示のアスパラガス抽出物の製造方法は、アスパラガスを熱水抽出処理する工程を含む。「熱水抽出処理する」とは、原料を熱水中で加熱することにより、原料に含まれる成分を水中に抽出することを意味する。アスパラガスを熱水抽出処理する工程は、例えば、アスパラガスに1～50倍量の水を加え、20～180分間、熱水中で加熱することにより行われる。この際の温度は、例えば、50～300℃が好ましい。大気圧下で熱水抽出処理を行う場合には、例えば、90℃以上の温度が好ましい。なお、加圧下で熱水抽出処理を行ってもよく、例えば、0.1～0.2 MPaの圧力（オートクレ

ープを用いる場合には、例えば、0.12 MPa) が好ましい。

[0013] 本開示のアスパラガス抽出物の製造方法は、熱水抽出処理する工程の効率を高める目的で、下記に例示される付加的な工程をさらに含んでもよい。

[0014] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理前における、アスパラガスを細断する工程が挙げられ得る。アスパラガスを、例えば、0.1～10 cm 程度の大きさに細断することができる。細断においては、例えば、ナイフ、カッター等を用いて手作業で行ってもよいし、細断機、ミル等の機械を用いてもよい。

[0015] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理前における、アスパラガスを圧搾する工程が挙げられ得る。アスパラガスを、例えば、圧搾機を用いて圧搾することができる。

[0016] 付加的な工程として、例えば、植物組織を崩壊させる等の目的のために、熱水抽出処理する工程の前または後に、酵素処理する工程が挙げられる。酵素処理することで、熱水抽出処理する工程の効率をより高めることができる。例えば、アスパラガス中の繊維質、ペクチン等を効率的に分解させる目的で、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、ペクチナーゼ、アミラーゼ、プルラーゼ等の酵素、またはこれらの酵素の2もしくは3以上の組み合わせが好適に用いられる。酵素処理する工程においては、用いる酵素に対して最も適する添加量、温度及び反応時間が選択され得る。セルラーゼを用いる場合、例えば、0.1～5% (w/w) のセルラーゼ添加量にて、30～60℃の温度で、1～72時間、酵素処理を行うことができる。ペクチナーゼを用いる場合、例えば、0.1～10% (w/w) のペクチナーゼ添加量にて、30～60℃の温度で、1～72時間、酵素処理を行うことができる。酵素処理する工程は、熱水抽出処理する工程の前に行ってもよいし、熱水抽出処理する工程の後に行ってもよい。熱水抽出処理する工程の後にセルラーゼおよび／またはペクチナーゼにより酵素処理することが好ましい。

[0017] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理後における、残渣を機械的に粉砕する工程が挙げられる。粉砕においては、例えば、ミル、ミキサー等の

機械を用いてもよい。

[0018] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理後における、遠心分離または濾過する工程が挙げられる。これらの工程をさらに含むことで、効率的に残渣を除去して加熱処理液を得ることができる。遠心分離は、例えば、回転数 3,000～7,000 rpm、4～50℃で行われ得る。濾過においては、例えば、市販の濾紙、濾布等が用いられ得る。

[0019] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理後における、得られた加熱処理液を減圧下で濃縮する工程が挙げられる。濃縮は、例えば、エバポレータ一等を用いて行うことができる。

[0020] 付加的な工程として、例えば、熱水抽出処理後における、加熱処理液を噴霧乾燥または凍結乾燥させる工程が挙げられる。噴霧乾燥は、例えば、排風温度 70～90℃、チャンバー温度 80～100℃で行われ得る。噴霧乾燥または凍結乾燥に先立ち、加熱処理液に賦形剤を加えてもよい。賦形剤の例には、デンプン、デンプン分解物、デキストリン、マルトデキストリン、マルトオリゴ糖、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、白糖が含まれる。噴霧乾燥または凍結乾燥に続いて、生成物を篩過してもよい。

[0021] ある実施態様では、アスパラガス抽出物の製造方法は、以下の工程を含む。

- (1) アスパラガスを熱水抽出処理し、熱水抽出処理物を得る工程、
- (2) 熱水抽出処理物を酵素処理し、酵素処理物を得る工程、
- (3) 酵素処理物から残渣を除去し、酵素処理液を得る工程、
- (4) 酵素処理液を濃縮、噴霧乾燥および／または凍結乾燥し、アスパラガス抽出物を得る工程。

[0022] ある実施態様では、アスパラガス抽出物の製造方法は、以下の工程を含む。

- (1) アスパラガスを酵素処理し、酵素処理物を得る工程、
- (2) 酵素処理物を熱水抽出処理し、熱水抽出処理物を得る工程、
- (3) 熱水抽出処理物から残渣を除去し、加熱処理液を得る工程、

(4) 加熱処理液を濃縮、噴霧乾燥および／または凍結乾燥し、アスパラガス抽出物を得る工程。

[0023] アスパラガス抽出物の製造方法について、以下に例示する。

製法例1：アスパラガス茎を0.1～10cm程度に細断し、水を1～50倍量加える。50～100℃で、または121℃の加圧下で、20～180分間熱水抽出処理を行う。放冷後、0.1～5% (w/w) のセルラーゼを添加し、30～60℃で、1～72時間、酵素処理を行う。残渣を機械的に粉碎し、回転数3,000～7,000rpm、4～50℃で遠心分離を行うことで上清を得る。該上清を排風温度70～90℃、チャンバー温度80～100℃で噴霧乾燥する。

[0024] 製法例2：アスパラガス茎を0.1～10cm程度に細断し、水を1～50倍量加える。50～100℃で、または121℃の加圧下で、20～180分間熱水抽出処理を行う。放冷後、0.1～5% (w/w) のセルラーゼを添加し、30～60℃で、1～72時間、酵素処理を行う。0.1～10% (w/w) のペクチナーゼを添加し、30～60℃で、1～72時間、酵素処理を行う。熱処理にて酵素を失活させる。回転数3,000～7,000rpm、4～50℃で遠心分離を行うことで上清を得る。上清を濃縮し、賦形剤を添加し、加圧滅菌する。排風温度70～90℃、チャンバー温度80～100℃で噴霧乾燥するか、または、凍結乾燥する。

[0025] 製法例3：アスパラガス茎の乾燥物を粉末化し、水を1～50倍量加える。50～100℃で、または121℃の加圧下で、20～180分間熱水抽出処理を行う。放冷後、0.1～5% (w/w) のセルラーゼおよび0.1～10% (w/w) のペクチナーゼを添加し、30～60℃で、1～72時間、酵素処理を行う。熱処理にて酵素を失活させる。回転数3,000～7,000rpm、4～50℃で遠心分離を行うことで上清を得る。上清を濃縮し、賦形剤を添加し、加圧滅菌する。排風温度70～90℃、チャンバー温度80～100℃で噴霧乾燥するか、または、凍結乾燥する。

[0026] 典型的には、アスパラガス抽出物に含まれるアスパラギン酸は、10%以

下、5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下、0.5%以下、0.3%または0.25%以下である。

[0027] 後述の実施例で示される通り、本開示の組成物は、聴覚障害を処置および／または予防できる。本開示において、聴覚障害には、難聴および耳鳴が含まれる。ある実施態様では、聴覚障害は他の疾患、例えばメニエール病に伴うものではない。

[0028] 難聴は、最も一般的な感覚器障害の1つであり、聴力の低下を特徴とする。難聴は、加齢性難聴、騒音性難聴および薬剤性難聴を含み、特に加齢性難聴である。騒音性難聴の例には、音響性難聴および職業性難聴が含まれる。難聴は、純音聴力検査、語音聴力検査、単語認識スコア、ティンパノメトリー、アブミ骨筋反射などの検査により診断し得る。

[0029] 耳鳴は、音刺激がない状況での音の知覚である。耳鳴は、例えば、耳鳴苦痛度質問票（THI）により評価し得る。THIの質問は25項目からなり、被験者は各項目について「よくある（4点）」「たまにある（2点）」「ない（0点）」の中から回答を選択し、合計得点により耳鳴の苦痛度を判定する。THIの原版は英語であり、日本語を含む複数の言語に翻訳され、妥当性と信頼性が検証されている。THIスコアが高いほど耳鳴の苦痛度が高いとされ、18～36点で軽度、38～56点で中等度、58～100点で重度の苦痛度と判定される。ある実施態様では、耳鳴は、THIにおいて軽度または中等度と判定される耳鳴である。

[0030] 本明細書で使用されるとき、「処置する」または「処置」は、聴覚障害を有する対象において、聴覚障害の進行を遅延または停止させること、および／または、聴覚障害を軽減、緩和、改善または除去することを意味する。

[0031] 本開示において、「予防する」または「予防」は、対象において、特に、聴覚障害を発症する可能性があるが、未だ発症していない対象において、聴覚障害の発症を防止すること、または、聴覚障害を発症する可能性を低減することを意味する。聴覚障害を発症する可能性があるが、未だ発症していない対象には、聴覚障害のリスク因子を有する対象が含まれる。聴覚障害の

スク因子には、例えば、高齢（例えば、50歳以上、55歳以上、60歳以上、65歳以上、70歳以上または75歳以上）、騒音または大音量への暴露、気圧変化、ストレス、耳垢の蓄積、内耳の血流障害、ウイルス感染、薬剤（抗菌剤、抗がん剤、サリチル酸系薬剤など）、聴神経腫瘍、中耳炎（慢性中耳炎、滲出性中耳炎など）、頭部外傷、自己免疫疾患、遺伝が含まれる。

[0032] 聴覚障害の処置および／または予防の対象は、動物、一般には、哺乳動物、例えばヒト、非ヒト霊長動物（例えば、サル、テナガザル、チンパンジー、オランウータンまたはマカクザル）、コンパニオン動物（例えば、イヌまたはネコ）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジまたはブタ）または実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギまたはモルモット）であり、好ましくはヒトである。ヒト対象の年齢は限定されないが、例えば中高齢期、具体的には、50歳以上、55歳以上、60歳以上、65歳以上、70歳以上または75歳以上であり得る。ある実施態様では、対象はメニエール病に罹患していない。

[0033] 後述の実施例で示される通り、本開示の組成物は、聴覚機能を維持および／または改善できる。本開示において、聴覚機能の維持には、聴力の維持および低下抑制が含まれる。聴覚機能の改善には、聴力の改善、改善状態の維持および改善状態からの低下抑制が含まれる。聴力は、純音聴力検査により測定され得る。

[0034] 聴覚機能の維持および／または改善の対象は、動物、一般には、哺乳動物、例えばヒト、非ヒト霊長動物（例えば、サル、テナガザル、チンパンジー、オランウータンまたはマカクザル）、コンパニオン動物（例えば、イヌまたはネコ）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジまたはブタ）または実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギまたはモルモット）であり、好ましくはヒトである。ヒト対象の年齢は限定されないが、例えば中高齢期、具体的には、50歳以上、55歳以上、60歳以上、65歳以上、70歳以上または75歳以上であり得る。対象は、聴覚障害があってもなくてもよい。

。ある実施態様では、対象はメニエール病に罹患していない。

[0035] 本開示の組成物は、医薬組成物または医薬部外品組成物であり得る。アスパラガス抽出物を、常法により、例えば、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤、注射剤等の剤型に調製することができる。また、医薬品中に通常用いられる賦形剤、結合剤、滑沢剤、着色剤、崩壊剤、増粘剤、保存剤、安定化剤、pH調整剤等を添加することができる。医薬組成物または医薬部外品組成物の投与方法は特に限定されず、例えば、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、皮内投与または舌下投与であり、好ましくは経口投与である。

[0036] また、本開示の組成物は、食品組成物であり得る。食品組成物は、一般的な加工食品の形態であり得、例えば、固形の食品、または、飲料、ドリンク剤、粉末飲料、スープなどの液体として飲食される食品とし得る。食品組成物は、例えば、ジュース、菓子、ゼリー、タブレット、ドレッシング、調味料等として飲食し得る。食品組成物は、アスパラガス抽出物を、常法により、例えば、顆粒状、粒状、錠剤、カプセル、ゲル状、クリーム状、ペースト状、懸濁液状、水溶液状、乳液状、粉末状等の飲食用に適した形態に加工することにより製造し得る。また、食品中に通常用いられる賦形剤、結合剤、滑沢剤、着色剤、崩壊剤、増粘剤、保存剤、安定化剤、pH調整剤等を添加してもよい。さらに、味質の改善のために、糖類、糖アルコール類、塩類、油脂類、アミノ酸類、有機酸類、グリセリン等を添加してもよい。既存の食品にアスパラガス抽出物を含有させてもよく、ベースとなる食品は特に限定されない。

[0037] また、このような食品を、保健機能食品またはダイエタリーサプリメントとして提供してもよい。保健機能食品には、例えば、特定保健用食品、栄養機能食品および機能性表示食品が含まれる。保健機能食品には、聴覚機能の維持および／または改善などの用途に用いるものであるという表示を付すことができる。表示は、製品に付随するパッケージ、容器、ラベル、タグ、添付書類などに直接的にしてもよく、広告宣伝活動を通じて間接的にしてもよ

い。ダイエタリーサプリメントには、例えば、栄養補助食品および健康補助食品が含まれる。

[0038] 組成物の投与量および投与方法、または、摂取量および摂取方法は、特に限定されない。対象の性別、年齢、体重、全身的な健康状態、病態等を勘案して設定することができる。例えば、本開示の組成物の投与量または摂取量は、1日当たり、アスパラガス抽出物約50mg～2000mg、約50mg～1350mg、約100mg～1000mg、約100mg～500mg、約100mg～300mg、約100mg～200mg、約110～190mg、約120～180mg、約130～170mg、約140～160mgまたは約145～155mgが投与または摂取される量とすることができ、例えば約150mgである。1日当たりの投与量または摂取量のアスパラガス抽出物が1個の組成物に含まれてもよく、1日に投与または摂取される複数の組成物に分散して含まれてもよい。

[0039] 本開示の組成物は、単回または複数回、投与または摂取し得る。複数回投与または摂取する場合、例えば、1日1回～数回、例えば、1日1回、2回または3回の頻度で、毎日または数日おきに、例えば、1日、2日、3日または7日おきに、投与または摂取し得る。投与または摂取の期間は制限されず、例えば、1週間以上、好ましくは4週間以上、より好ましくは8週間以上、続けて投与または摂取することができる。投与または摂取を中断する期間があってもよい。ある実施態様では、本開示の組成物を、少なくとも8週間にわたって投与または摂取する。ある実施態様では、本開示の組成物を毎日投与または摂取する。

[0040] 本開示の組成物は、単独で使用してもよく、または、1種またはそれ以上のさらなる成分と併用してもよい。成分を「併用する」ことは、全成分を含有する剤形の使用および各成分を別個に含有する剤形の組合せの使用のみならず、それらが同じ目的で使用される限り、各成分を同時に、または、いずれかの成分を遅延して投与または摂取することも意味する。2種またはそれ以上のさらなる成分を併用することも可能である。例えば、アスパラガス抽

出物に加えて、1種またはそれ以上のさらなる成分を含む組成物を使用し得る。併用に適する成分には、利尿剤、血管拡張剤、ビタミン剤、ステロイド剤、抗めまい剤、イチヨウ葉エキス、蜂の子エキス、漢方薬が含まれる。

[0041] アスパラガス抽出物の投与または摂取に加えて、薬物療法以外の医療行為、例えば、耳鳴再訓練療法、補聴器の使用、人工内耳手術などを実施することもできる。

[0042] ある態様では、聴覚障害の処置および／または予防を必要としている対象に、有効量のアスパラガス抽出物を投与することを含む、聴覚障害の処置および／または予防方法が提供される。

ある態様では、聴覚障害を処置および／または予防するための、アスパラガス抽出物が提供される。

ある態様では、聴覚障害を処置および／または予防するための、アスパラガス抽出物の使用が提供される。

ある態様では、聴覚障害を処置および／または予防するための組成物の製造における、アスパラガス抽出物の使用が提供される。

[0043] ある態様では、聴覚機能の維持および／または改善を必要としている対象にアスパラガス抽出物を摂取させることを含む、聴覚機能の維持および／または改善方法が提供される。

ある態様では、聴覚機能を維持および／または改善するためのアスパラガス抽出物が提供される。

ある態様では、聴覚機能を維持および／または改善するためのアスパラガス抽出物の使用が提供される。

ある態様では、聴覚機能を維持および／または改善するための組成物の製造における、アスパラガス抽出物の使用が提供される。

[0044] 例えば、下記の実施態様が提供される。

[1] アスパラガス抽出物を含む、聴覚障害の処置および／または予防のための組成物。

[2] 聴覚障害が難聴または耳鳴である、第1項に記載の組成物。

〔３〕聴覚障害が加齢性難聴、騒音性難聴または耳鳴である、第１項に記載の組成物。

〔４〕聴覚障害が加齢性難聴である、第１項～第３項のいずれかに記載の組成物。

〔５〕聴覚障害が耳鳴である、第１項～第３項のいずれかに記載の組成物。

〔６〕耳鳴が耳鳴苦痛度質問票（ＴＨＩ）において軽度または中等度と分類される耳鳴である、第５項に記載の組成物。

〔７〕アスパラガス抽出物を含む、聴覚機能を維持および／または改善するための組成物。

〔８〕医薬組成物、医薬部外品組成物または食品組成物である、第１項～第７項のいずれかに記載の組成物。

〔９〕１日に５０ｍｇ～２０００ｍｇのアスパラガス抽出物が摂取される、第１項～第８項のいずれかに記載の組成物。

〔１０〕少なくとも８週間にわたって毎日摂取される、第１項～第９項のいずれかに記載の組成物。

〔１１〕アスパラガス抽出物が、アスパラガスを熱水抽出処理することを含む製法により製造されたものである、第１項～第１０項のいずれかに記載の組成物。

〔１２〕製法が、熱水抽出処理の産物を酵素処理することをさらに含む、第１１項に記載の組成物。

〔１３〕アスパラガス抽出物がアスパラガス茎抽出物である、第１項～第１２項のいずれかに記載の組成物。

実施例

〔００４５〕アスパラガス抽出物の製造

以下の方法で製造したアスパラガス抽出物を使用した：細断したグリーンアスパラガス茎（新鮮重１１００ｋｇ）に水１４３０Ｌを加え、熱水抽出処理する目的で、加圧滅菌（１２１℃、４５分）を行った。５５℃まで放冷後、セルラーゼ（スクラーゼＣ、三菱ケミカル株式会社）１６．５ｋｇを添加

して58℃で1時間酵素処理を行った。更に45℃まで放冷後、ペクチナーゼ（マセロチームA、ヤクルト薬品工業株式会社）11kgを添加し、48℃で24時間酵素処理を行った。その後、熱処理にて酵素を失活させ（100℃、20分）、遠心分離機により遠心分離した後、濃縮機により濃縮し、濃縮液320kgを回収した。この濃縮液に賦形剤（パインデックス、松谷化学工業株式会社）50kgを添加し、加圧滅菌（121℃、45分）した。その後、スプレードライによりアスパラガス抽出物125kgを得た。

[0046] マウス加齢性難聴モデルを用いた聴力改善効果の検討

10週齢オスC57BL/6Jマウス（SPF）（日本チャールス・リバー株式会社）を使用した（12匹/クール）。第1クールは5日間、第2クールは6日間、第3クールは7日間の予備飼育期間を設けた。この間に体重測定を3回、一般状態の観察を1日1回、ABR検査を1回行い、体重推移、聴性脳幹反応（ABR）検査及び一般状態に異常が認められない動物を群分けに使用した。

[0047] クールごとに予備飼育期間終了日のABR検査で16、24及び32kHzの音圧閾値の総和が最も高い2例（3例以上の場合は32kHzの音圧閾値の高い順に除外）を除外した後、無作為抽出法により、各群の体重の平均と分散がほぼ等しくなるように群分けした。

[0048] 動物入手日から群分けまで、飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を給餌器に入れ、自由に摂取させた。群分け以降は、コントロール飼料（第1群：CRF-1）、被験飼料（第2群：0.26%アスパラガス抽出物を含有するCRF-1）を給餌器に入れ、自由に摂取させた。アスパラガスは神経伝達物質として作用するアスパラギン酸を含むことが知られているが、CRF-1は1.93g/100gのアスパラギン酸を含有し、本発明のアスパラガス抽出物に含まれるアスパラギン酸は微量であるため、CRF-1に0.26%アスパラガス抽出物を添加してもアスパラギン酸量は殆ど変化しない。1週間に1回以上の頻度で給餌器内の飼料を新しい飼料に交換した。投与期間は12週間（85日間）であった。毎日午前中に1回、

一般状態を観察した。

[0049] 聴性脳幹反応（A B R）検査

A B R検査は、投与前（12週齢）、投与8及び12週（20及び24週齢）に行った。25 G注射針（テルモ株式会社）を取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒（テルモ株式会社）を用いて、混合麻酔薬〔ケタミン塩酸塩（75 mg / kg）とキシラジン塩酸塩（10 mg / kg）〕を背部に皮下投与（投与液量：2 mL / kg）した。麻酔後、関電極を検耳（右耳）の外耳付近、不関電極を頭頂部皮下、アース電極を頸背部皮下にそれぞれ装着した。電極からA B Rの電位を生体電位アンプ（モデル：ER-1、C ygnus Technology Inc.）に誘導し、データ収録・解析システム（PowerLab、Sampling soft : LabChart ver.8、ADInstruments）に記録した（記録条件：S a m p l i n g t i m e : 10 m s、S a m p l i n g r a t e : 40 k H z、B a n d p a s s f i l t e r : 1 - 3000 H z、加算回数500回）。音刺激は、Coupler type speaker（モデル：ES1s p c、バイオリサーチセンター株式会社）を右外耳道に挿入し、T D T音響システム（ZBus for system3、Tucker-Davis Technologies Inc.）より与えた（音圧範囲：10 - 90 d B、音の種類：16、24及び32 k H zのTone burst）。最初に90 d Bの音刺激を与えてA B Rを記録した。その後、音圧を適宜変更し、A B Rの波形が消失する最大音圧とA B Rの波形が検出される最小音圧を5 d B刻みで確認した。A B Rの波形が検出された最小音圧を音圧閾値（A B R t h r e s h o l d s ; d B S P L）とした。なお、90 d Bの音刺激でA B Rの波形が検出されない場合は、音圧閾値を95 d B S P Lとした。

[0050] 統計学的方法

群ごとの各時点における音圧閾値について平均値及び標準誤差を算出した。音圧閾値の有意差検定は、コントロール群のP r eと投与6週及び12週の間でWilcoxonの符号付順位和検定を行い、加齢性に難聴が生じていることを確認した。さらに、コントロール群と被験飼料群の間で時点ごとにWilcoxonの順位和検定を行った。有意水準は5%とした。有意差検定は、市販の統計プログラム（SASシステム、SAS Institute Japan株式会社）を用いて行った。

(** : $p < 0.01$)。

[0051] ABR検査の結果を図1に示す。32kHzの音刺激を与えた場合、コントロール群では加齢に伴い聴力が低下したが、被験飼料群では聴力の維持が認められた。この結果は、アスパラガス抽出物が加齢性難聴の予防および処置に有効であることを示唆する。

[0052] アスパラガス抽出物の摂取が健常者の耳鳴に与える影響

無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験により、アスパラガス抽出物の摂取が健常な成人男女の耳鳴に及ぼす影響について検討した。

[0053] 耳鳴の自覚症状があり、日本語版THI (Tinnitus Handicap Inventory; THI-J, Wakabayashi S, Oishi N, Shinden S, et al. Factor analysis and evaluation of each item of the tinnitus handicap inventory. Head Face Med. 2020;16(1):1-9) スコアが18点以上56点以下（軽度または中等度の耳鳴）である、20歳以上の健康な日本人男女を本試験に組入れた。

[0054] 被験食品群（アスパラガス抽出物食群）は、アスパラガス抽出物150mgを含む顆粒状食品1.84g、プラセボ群はアスパラガス抽出物をコーンスターチ、カラメル色素、デキストリンで置換した顆粒状食品1.84gを、8週間にわたり1日1回摂取した。なお、これらの食品は、上記以外に甘味料、酸味料、香料、酸化ケイ素を含む食品であった。

[0055] 試験食品摂取前、摂取開始の4週間後および8週間後に、THI-Jを実施し、合計得点により耳鳴の状態を評価した。結果を図2に示す。図2は、被験食品群およびプラセボ群における合計得点の平均値±SEMを示す。解析は一般線形混合モデル（固定値：群、時点、群と時点の交互作用、共変量：ベースライン値）で実施した(** : $p < 0.01$)。

[0056] 摂取8週間後検査におけるTHI-Jの合計得点の実測値は、被験食品群でプラセボ群よりも有意に低値を示した。THIは耳鳴による負担を検査するために世界中で用いられている質問紙であり、日本語翻訳版は妥当性と信頼性が検証されている(Wakabayashi S, et al., 2020, 前出)。THIスコアが高いほど耳鳴の苦痛度が高いとされ、18～36点で軽度、38～56

点で中等度、58～100点で重度と判断される。THIの合計得点では臨床的に改善したと判定する最小の変化は6点ないし7点であることが知られている（日本聴覚医学会、耳鳴診療ガイドライン 2019年版、金原出版、7-61頁；Zeman F, Koller M, Figueiredo R, et al. Tinnitus Handicap Inventory for Evaluating Treatment Effects. Otolaryngol Neck Surg. 2011;145(2):282-7）。摂取8週間後のTHI-Jの合計得点の実測値の群間差は-10.9点（95%CI [-17.7, -4.2]）であり、介入前後の変化量は被験食品群が-14.8±12.8点、プラセボ群が-3.9±10.5点、群間差が-10.9点（95%CI [-17.7, -4.2]）であった。介入前後のTHI-Jの合計得点の変化量が7点を超えた群は被験食品群のみであることに加え、摂取8週間後における群間差は7点を上回っていたことから、この群間有意差は臨床的に意義のある差である。この結果は、アスパラガス抽出物が耳鳴の予防および処置に有効であることを示唆する。

産業上の利用可能性

[0057] 本開示は、聴覚障害の処置および／または予防、または、聴覚機能の維持および／または改善に関するものであり、医療または食品の分野で利用され得る。

請求の範囲

- [請求項1] アスパラガス抽出物を含む、聴覚障害の処置および／または予防のための組成物。
- [請求項2] 聴覚障害が難聴または耳鳴である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] 聴覚障害が加齢性難聴、騒音性難聴または耳鳴である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項4] 聴覚障害が加齢性難聴である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項5] 聴覚障害が耳鳴である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項6] 耳鳴が耳鳴苦痛度質問票（THI）において軽度または中等度と分類される耳鳴である、請求項5に記載の組成物。
- [請求項7] アスパラガス抽出物を含む、聴覚機能を維持および／または改善するための組成物。
- [請求項8] 医薬組成物、医薬部外品組成物または食品組成物である、請求項1～7のいずれかに記載の組成物。
- [請求項9] 1日に50mg～2000mgのアスパラガス抽出物が摂取される、請求項1～8のいずれかに記載の組成物。
- [請求項10] 少なくとも8週間にわたって毎日摂取される、請求項1～9のいずれかに記載の組成物。
- [請求項11] アスパラガス抽出物が、アスパラガスを熱水抽出処理することを含む製法により製造されたものである、請求項1～10のいずれかに記載の組成物。
- [請求項12] 製法が、熱水抽出処理の産物を酵素処理することをさらに含む、請求項11に記載の組成物。
- [請求項13] アスパラガス抽出物がアスパラガス茎抽出物である、請求項1～12のいずれかに記載の組成物。