# 明　細　書

## 発明の名称 ： 低アルブミン血症改善用組成物

## 技術分野

[0001] 本発明は、低アルブミン血症改善用組成物に関し、詳細には輸液製剤、経口製剤、飲食品等の形態に好適に使用される低アルブミン血症改善用組成物に関する。

## 背景技術

[0002] 肝疾患等を原因とする低アルブミン血症の改善等を目的として、従来、分岐鎖アミノ酸を含有するアミノ酸製剤が広く使用されている。このような分岐鎖アミノ酸を含有する低アルブミン血症改善用のアミノ酸製剤には、有効性の指標としてのアルブミン産生促進効果と、安全性の指標としての副作用の低減とが要求されている。この分岐鎖アミノ酸としては、バリン、ロイシン及びイソロイシンの３種類が挙げられ、これらバリン、ロイシン及びイソロイシン全てを有効成分として含有するアミノ酸製剤の一例として、例えばリーバクト（登録商標）が広く使用されている。

[0003] このような３種類全ての分岐鎖アミノ酸を含有する従来のアミノ酸製剤は、肝疾患患者における低アルブミン血症改善作用に関して、臨床現場の要求を満足させるに至っておらず、上述の有効性の観点から、低アルブミン血症を一層改善する新たな医薬品や食品が待望されている。

[0004] また、上記３種類全ての分岐鎖アミノ酸を含有する従来のアミノ酸製剤は、嘔気、腹部膨満感、下痢、便秘、腹部不快感、腹痛、嘔吐、食欲不振、胸やけ等の副作用を招来するおそれがある。これらの副作用は生体内におけるタンパク量負荷が大きいことに起因することから、タンパク量が多い従来のアミノ酸製剤はコンプライアンスが低下するおそれがある。つまり、上述の安全性の観点からも、副作用が少なく、コンプライアンスが良好な低アルブミン血症改善用の医薬品や食品も待望されている。

[0005] そこで、上述の有効性及び安全性の観点から、上記アミノ酸製剤における

バリン、ロイシン、イソロイシン等の有効成分同士の相加、相乗作用や拮抗作用等の相互作用を考慮した技術が提案されている。例えば特許第３７１２５３９号公報には、Ｌ－バリンのみを有効成分として含有し、肝機能低下に伴う低アルブミン血症を改善又は治療するための組成物が開示されている。かかる組成物は、Ｌ－バリン以外のアミノ酸を有効成分として全く含有しないことを特徴とし、副作用が少なく、肝疾患等を改善等できるとされている。

[0006] しかしながら、上記従来のアミノ酸製剤や特許第３７１２５３９号公報に開示の組成物は、アミノ酸製剤に期待される有効性、特にアルブミン産生促進効果を十分に発揮できるものではない。つまり、高いアルブミン産生促進効果を発揮しつつ、副作用を低減させた安全性の高いアミノ酸製剤等は、未だ提供されていないと言える。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0007] 特許文献1：特許第３７１２５３９号公報

## 発明の概要

## 発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、これらの不都合に鑑みてなされたものであり、高いアルブミン産生促進効果を発揮すると共に、副作用を低減させた安全性の高い低アルブミン血症改善用組成物の提供を目的とする。

## 課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、分岐鎖アミノ酸であるバリン、ロイシン及びイソロイシンのうちバリンが、ヒト肝細胞において、ロイシン及びイソロイシンのアルブミン産生促進作用に対する拮抗作用（阻害作用）を有すると推察され、その結果、バリンを除外し、ロイシン及び／又はイソロイシンを有効成分とする組成物がヒト肝細胞レベルで格段に高いアルブミン産生促進効果を有するという知見を得た。

[0010] その結果、上記課題を解決するためになされた発明は、

分岐鎖アミノ酸を有効成分として含有する低アルブミン血症改善用組成物であって、

有効成分として、ロイシン及び／又はイソロイシンを含有し、バリンを含有しないことを特徴とする。

[0011] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、バリンを実質的に含有しないため、他の有効成分であるロイシン及び／又はイソロイシンのアルブミン産生促進作用に対するバリンによる拮抗作用が排除され、その結果、バリン以外の有効成分が生体内において高いアルブミン産生促進作用を効果的に発揮することができる。また、当該低アルブミン血症改善用組成物は、有効成分としてバリンを実質的に含有しないことから、バリンの分だけタンパク量負荷を低減でき、その結果、副作用を低減し、安全性を向上することができる。特に、有効成分量のバリンを含有しない当該低アルブミン血症改善用組成物は、耐糖能異常状態である肝疾患患者への実質上の糖分負荷を大きく低減でき、血糖管理上も有用である。

[0012] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、分岐鎖アミノ酸として、ロイシン及びイソロイシンを含有するとよい。このように、当該低アルブミン血症改善用組成物が分岐鎖アミノ酸としてロイシン及びイソロイシンの双方を含有することで、ロイシン及びイソロイシンがそれぞれ有するアルブミンの産生促進作用を相加的に発揮することができる。

[0013] このように分岐鎖アミノ酸としてロイシン及びイソロイシンを含有する場合、イソロイシンに対するロイシンの質量比としては０．１以上１０以下が好ましい。このように、イソロイシンに対するロイシンの質量比を上記範囲とすることで、上述のアルブミン産生促進作用の相加的向上作用を効果的に発揮することができる。

[0014] また当該低アルブミン血症改善用組成物は、分岐鎖アミノ酸として、ロイシン又はイソロイシンのみを含有してもよい。このように、ロイシン又はイソロイシンのみをそれぞれ単独で含有することで、生体内におけるタンパク

量負荷をより一層低減でき、例えば肝疾患の患者の容態に応じて有効性と安全性とのバランスを図ることができる。

[0015] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、輸液製剤の形態で好適に用いられる。このように、当該低アルブミン血症改善用組成物を輸液製剤の形態とすることで、血管内を通じて当該低アルブミン血症改善用組成物を迅速かつ効果的に投与することができる。

[0016] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、経口製剤の形態でも好適に用いられる。このように、当該低アルブミン血症改善用組成物を経口製剤の形態とすることで、当該低アルブミン血症改善用組成物を、生体に対する侵襲を伴うことなく容易かつ簡便に投与することができる。

[0017] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、飲食品の形態でも用いることができる。このように、当該低アルブミン血症改善用組成物を飲食品の形態とすることで、当該低アルブミン血症改善用組成物を上記経口製剤の場合と比較してより一層容易かつ簡便に投与でき、特にＱＯＬ（Ｑｕａｌｉｔｙ　Ｏｆ　Ｌｉｆｅ）の向上を図ることができる。

[0018] ここで、「分岐鎖アミノ酸」とは、ロイシン、イソロイシン及びバリンの３種類の必須アミノ酸であり、これらの塩、ペプチド又は誘導体の形態も含む概念である。「有効成分」とは、単独でアルブミン産生促進作用を奏する程度に含有する成分を意味する。

## 発明の効果

[0019] 以上説明したように、本発明の低アルブミン血症改善用組成物は、有効成分として分岐鎖アミノ酸を含有するが、この分岐鎖アミノ酸のうちバリンを実質的に含有しないため、製剤等として用いた場合に高いアルブミン産生促進効果を発揮すると共に、副作用の低減により安全性が高く、特に耐糖能異常状態である肝疾患患者への実質上の糖分負荷を大きく低減できることから、上記従来の課題を十分に解決することができる。

[0020] 具体的には、当該低アルブミン血症改善用組成物は、消化不良や栄養失調による栄養素の体外からの摂取の低下、手術後の低栄養状態、肝炎や肝硬変

などの肝疾患の場合のタンパク質生成の低下；ネフローゼ症候群、タンパク漏出性胃腸症、熱傷等において見られる生体内タンパク質の体外漏出；重篤な感染症、発熱、甲状腺機能亢進症、悪性腫瘍等の疾患時に見られる生体内タンパク質の異化亢進；多量の胸水や腹水の貯留時、全身浮腫、熱傷の発症などに起因する低アルブミン血症を予防又は改善することができる。さらに、当該低アルブミン血症改善用組成物は、上記低アルブミン状態に起因するこむらがえり、肺水腫、腹水、浮腫等の症状の発症を予防又は改善することができる。

## 図面の簡単な説明

[0021] [図1]実験１の結果を示すグラフである。

## 発明を実施するための形態

[0022] 以下、本発明の実施の形態を詳細する。

[0023] （低アルブミン血症改善用組成物）

当該低アルブミン血症改善用組成物は、分岐鎖アミノ酸を有効成分として含有するものであり、有効成分として、ロイシン及び／又はイソロイシンを含有し、バリンを含有しない。

[0024] このように、当該低アルブミン血症改善用組成物は、有効成分としてバリンを実質的に含有しないことから、メカニズムの詳細は不明であるが、下記（Ａ）及び（Ｂ）の作用効果を有すると考えられる。

[0025] （Ａ）バリンは、ロイシン等の他の有効成分の阻害要因であり、生体内において、ロイシン等の有効成分が発揮するアルブミン産生促進作用に対する拮抗作用を有していると推定される。従って、当該低アルブミン血症改善用組成物は、有効成分として実質的にバリンを含有しないことで、ロイシン及び／又はイソロイシンのアルブミン産生促進作用に対するバリンによる拮抗作用を完全に排除することができ、その結果、バリン以外のロイシン等の有効成分が生体内において高いアルブミン産生促進作用を効果的に発揮できると考えられる。

[0026] （Ｂ）当該低アルブミン血症改善用組成物がバリンを実質的に含有しないこ

とで、特に製剤として用いた場合、バリンの分だけタンパク量負荷が低減できるため、３種全ての分岐鎖アミノ酸を含有する従来のアミノ酸製剤を生体内に投与した場合の消化器系症状や腎臓系症状等の副作用を低減し、安全性を向上することができる。特にバリンは、３種類の分岐鎖アミノ酸の中でも服用により血糖値を高める唯一の糖原性アミノ酸である。かかる糖原性アミノ酸であるバリンが配合された従来のアミノ酸製剤を肝疾患患者が服用すると、肝疾患患者は食後の血糖値をさらに上昇させるという副作用を招来するおそれがある。一方、当該低アルブミン血症改善用組成物は、有効成分として実質的にバリンを含有しないことで、耐糖能異常状態である肝疾患患者への実質上の糖分負荷を大きく低減でき、血糖管理上も有用である。

[0027] 上記分岐鎖アミノ酸の異性体としては、特に限定されず、例えばＬ体、Ｄ体、ＤＬ体等が挙げられる。これらの中でも、生体内におけるアルブミン蛋白の合成に親和性を示すＬ体の分岐鎖アミノ酸異性体を使用することが好ましい。

[0028] 上記分岐鎖アミノ酸の形態としては、特に限定されず、例えば遊離形態の純粋結晶状アミノ酸、その塩、ペプチド又は誘導体の形態が挙げられる。この分岐鎖アミノ酸の塩の形態としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩、塩酸塩、酢酸塩などの薬理学的に許容される塩の形態が挙げられる。また、分岐鎖アミノ酸のペプチドの形態としては、分岐鎖アミノ酸をジペプチド、トリペプチド等としてペプチド化したものが挙げられる。このように、上記分岐鎖アミノ酸をペプチド化することで、これらのペプチドは生体内のペプチダーゼの作用により遊離アミノ酸に加水分解されて有効に利用され得る。さらに、分岐鎖アミノ酸の誘導体として、Ｎ－アセチル－ＤＬ－ロイシン、ＤＬ－ノルロイシン、Ｎ－アセチル－ＤＬ－イソロイシン、４－ヒドロキシ－Ｌ－イソロイシン、β－メチルノルロイシンなどが挙げられる。これらの誘導体は生体内のアシラーゼなどの作用により遊離アミノ酸となり有効に利用され得る。

[0029] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、分岐鎖アミノ酸として、ロイシン

及びイソロイシンを共に含有するとよい。このように、分岐鎖アミノ酸としてロイシン及びイソロイシン双方を含有することで、当該低アルブミン血症改善用組成物は、特に製剤として用いた場合に、ロイシン及びイソロイシンが互いのアルブミン産生作用に対する拮抗作用を奏することなく、生体内におけるアルブミンの産生促進効果を相加効果的に向上することができる。

[0030] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、分岐鎖アミノ酸として、ロイシン又はイソロイシンのみを単独で含有してもよい。このようにロイシン又はイソロイシンを単独で含有することで、当該低アルブミン血症改善用組成物は、特に製剤として用いた場合、生体内におけるタンパク量負荷をより一層低減させ、副作用を効果的に低減させることができる。

[0031] 従って、当該低アルブミン血症改善用組成物は、例えば肝疾患患者への投与において有効性を重視するのであれば、上述したアルブミン産生促進効果の相加効果的な向上を意図し、ロイシン及びイソロイシンを共に含有するとよい。一方、肝疾患患者への投与において安全性を重視するのであれば、当該低アルブミン血症改善用組成物は、上述したタンパク量負荷の低減による副作用の効果的な低減を意図し、ロイシン又はイソロイシンのみを単独で含有するとよい。つまり、当該低アルブミン血症改善用組成物は、肝疾患の患者の容態に応じて有効性と安全性とのバランスを図ることができる。

[0032] 上記イソロイシンに対するロイシンの質量比としては０．１以上１０以下が好ましく、０．５以上３．０以下がより好ましい。このように、イソロイシンに対するロイシンの質量比を上記範囲とすることで、当該低アルブミン血症改善用組成物は、上述したアルブミン産生促進作用の相加的な向上効果を確実に発揮することができる。

[0033] （任意成分等）

当該低アルブミン血症改善用組成物は、本発明の効果を損なわない範囲で必要に応じ、上記分岐鎖アミノ酸以外に添加剤を含有することができる。この添加剤としては、薬学的又は食品衛生学的に許容できるアミノ酸、安定化剤、防腐剤、可溶化剤、ｐＨ調整剤、増粘剤、酸化防止剤、着色料、香料、

人工甘味料等が挙げられる。これらの添加剤の配合量は、上記分岐鎖アミノ酸の配合量に従って適宜設定することができる。

[0034] （製剤の形態）

当該低アルブミン血症改善用組成物は、製剤の形態で好適に使用される。かかる製剤の形態としては、特に限定されず、例えば輸液製剤、経口製剤、経皮吸収型製剤、坐剤、貼付剤、軟膏剤、ハップ剤、ローション剤等の形態が挙げられる。

[0035] 特に、当該低アルブミン血症改善用組成物は、輸液製剤の形態で好適に用いられる。このように当該低アルブミン血症改善用組成物を輸液製剤の形態とすることで、当該低アルブミン血症改善用組成物を、血管内を通じて迅速かつ効果的に投与することができ、生体内におけるアルブミン産生促進効果を最も高く発揮させることができる。

[0036] 上記輸液製剤の種類としては、例えば注射剤、点滴剤等が挙げられる。このように、当該低アルブミン血症改善用組成物を注射剤又は点滴剤の形態で使用する場合、これらは殺菌され、かつ血液と等張であるとよい。また、当該低アルブミン血症改善用組成物を注射剤又は点滴剤として調製するに際し、希釈剤として、例えば水、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用することができ、さらに体液と等張な溶液への調整に充分な量の食塩、ブドウ糖又はグリセリンを含有させてもよい。なお、上記輸液製剤は、凍結保存することができ、また凍結乾燥等により水分を除去して保存することもできる。このような凍結乾燥により保存された上記輸液製剤は、使用時に注射用蒸留水、滅菌水等を加え、再度溶解して使用することができる。

[0037] 当該低アルブミン血症改善用組成物は、経口製剤の形態でも好適に用いられる。このように当該低アルブミン血症改善用組成物を経口製剤の形態とすることで、当該低アルブミン血症改善用組成物を、生体に対する侵襲を伴う

ことなく、容易かつ簡便に投与でき、生体内におけるアルブミン産生促進効果を十分に発揮させることができる。

[0038] 上記経口製剤の種類としては、特に限定されず、例えば錠剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤、チュワブル剤、シロップ剤等が挙げられる。この錠剤として使用する場合、低アルブミン血症改善分野で公知の各種担体が使用される。この担体としては、例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤；水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドン等の結合剤；乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤；白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤；第４級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤；グリセリン、デンプン等の保湿剤；デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤；精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等が挙げられる。また、かかる錠剤は、必要に応じ、通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠とすることができる。

[0039] また、丸剤として使用する場合、低アルブミン血症改善分野で公知の各種担体が使用される。この担体としては、例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤；アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤；ラミナラン、カンテン等が挙げられる。

[0040] 上記経口製剤には、さらに添加剤を含有することができる。かかる添加剤としては、例えば界面活性剤、吸収促進剤、充填剤、増量剤、付湿剤、防腐

剤、安定剤、乳化剤、可溶化剤、浸透圧を調節する塩などが挙げられ、経口製剤の投与単位形態に応じて適宜選択し使用することができる。

[0041] （飲食品の形態）

当該低アルブミン血症改善用組成物は、飲食品の形態としても好適に使用される。このように当該低アルブミン血症改善用組成物を飲食品の形態として用いることで、上記経口製剤の場合と比較してより一層容易かつ簡便に投与でき、生体内におけるアルブミン産生促進効果を十分に発揮させることができる。さらに、当該低アルブミン血症改善用組成物を飲食品の形態とすることで、日常生活の中で特に容易かつ簡便に摂取できることから、ＱＯＬ（Ｑｕａｌｉｔｙ　Ｏｆ　Ｌｉｆｅ）の向上を図ることができる。

[0042] 上記飲食品としては、特に限定されず、例えばサプリメント、栄養機能食品、特定保健用食品、病者用食品等が挙げられる。また、上記飲食品の形態としては、例えば粉末、顆粒、ドリンク剤等の飲料、カプセル、チュアブル剤等を含む錠剤、可食性フィルム等が挙げられる。なお、これらの飲食品の製造方法としては、本発明の効果を損なわなければ特に限定されず、各用途で当業者が使用されている方法を使用することができる。

[0043] 上記飲食品のうち顆粒状食品の場合、かかる粒度としては、２０μｍ以上２０００μｍ以下が好ましく、１００μｍ以上１５００μｍ以下程度がより好ましく、５００μｍ以上１０００μｍ以下程度が特に好ましい。かかる顆粒状食品は、顆粒状態で水、お茶、ジュース等の飲料と共に摂取することができ、また飲料に溶かして摂取することもできる。

[0044] なお、本発明の低アルブミン血症改善用組成物は上記実施形態に限定されるものではない。例えば本発明の低アルブミン血症改善用組成物の形態が経口製剤又は飲食品である場合、必要に応じて糊料（増粘剤、ゲル化剤）を添加し、ゲル状又はゼリー状に調製することもできる。このように、本発明の低アルブミン血症改善用組成物をゲル状又はゼリー状に調整することで、経口投与が容易となり、胃腸内における吸収も良好になる。この糊料の種類としては、特に限定されず、例えば寒天、ゼラチン、カラギーナン、アラビア

ガム、グァーガム、ローカストビーンガム、タラガム、ジェランガム、カードラン、キサンタンガム、プルラン、ペクチン、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、その他糊料として通常使用し得る多糖類等が挙げられ、これらを１種単独又は２種以上を併用して使用することができる。なお、かかる糊料の配合割合としては、ゲル状又はゼリー状に調製した低アルブミン血症改善用組成物１００質量部に対して５質量部以下の割合が好ましい。

## 実施例

[0045] 以下、実施例に基づき本発明を詳述するが、この実施例の記載に基づいて本発明が限定的に解釈されるものではない。

[0046] ＜ヒト培養肝細胞のアルブミンｍＲＮＡ発現及びアルブミン分泌量への影響＞

この試験はヒト初代培養肝細胞系において、各被験液で培養することによるアルブミンｍＲＮＡの発現能の変化と分泌されるアルブミン量の変化を調べたものであり、以下の通り実施した。

[0047] ＜測定項目＞

（１）アルブミンｍＲＮＡ及びｈｙｐｏｘａｎｔｈｉｎｅ ｐｈｏｓｐｈｏｒｉｂｏｓｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ １（以下「ＨＰＲＴ１」と略す）ｍＲＮＡ

アルブミンｍＲＮＡ及びＨＰＲＴ１ｍＲＮＡを測定した。アルブミンとＨＰＲＴ１の塩基配列は、以下の通りＧｅｎＢａｎｋに登録されており、それらの各塩基配列は登録された配列に従うものである。

アルブミン；ＧｅｎＢａｎｋ ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｕｍｂｅｒ ＸＭ ０３１３２２

ＨＰＲＴ１；ＧｅｎＢａｎｋ ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｕｍｂｅｒ ＮＭ ０００１９４

[0048] なお、ＨＰＲＴ１は対照としてのハウスキーピング遺伝子として同一試験で測定した。アルブミンの測定に用いた各プライマーとプローブの配列は、

Ｎｉｓｈｉｍｕｒａ，Ｍ．，Ｙｏｓｈｉｔｓｕｇｕ，Ｈ．，Ｙｏｋｏｉ，Ｔ．，Ｔａｔｅｎｏ，Ｃ．，Ｋａｔａｏｋａ，Ｍ．，Ｈｏｒｉｅ，Ｔ．，Ｙｏｓｈｉｚａｔｏ，Ｋ．ａｎｄ Ｎａｉｔｏ，Ｓ．：Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ｏｆ ｍＲＮＡ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ ｄｒｕｇ－ｍｅｔａｂｏｌｉｚｉｎｇ ｅｎｚｙｍｅｓ ａｎｄ ｔｒａｎｓｐｏｒｔｅｒｓ ｉｎ ｃｈｉｍｅｒｉｃ ｍｏｕｓｅ ｗｉｔｈ ｈｕｍａｎｉｚｅｄ ｌｉｖｅｒ．Ｘｅｎｏｂｉｏｔｉｃａ，３５：８７７－８９０（２００５）に公開されている。また、ＨＰＲＴ１の測定に用いた各プライマーとプローブの配列はＮｉｓｈｉｍｕｒａ，Ｍ．，Ｎａｉｔｏ，Ｓ．ａｎｄ Ｙｏｋｏｉ，Ｔ．：Ｔｉｓｓｕｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｍＲＮＡ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｐｒｏｆｉｌｅｓｏｆ ｈｕｍａｎ ｎｕｃｌｅａｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｓｕｂｆａｍｉｌｉｅｓ．Ｄｒｕｇ Ｍｅｔａｂ．Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔ．，１９：１３５－１４９（２００４）において公開されている。

[0049] （２）培地中のアルブミン濃度

培地中のアルブミン濃度は、Ｈｕｍａｎ Ａｌｂｕｍｉｎ ＥＩＡ Ｋｉｔ（タカラバイオ株式会社製）により測定した。

[0050] ＜供試験用物質＞

以下の物質を利用した。

イソロイシン（Ｉｌｅ）：ＭＷ１３１．１７

ロイシン（Ｌｅｕ）：ＭＷ１３１．１７

バリン（Ｖａｌ）：ＭＷ１１７．１５

[0051] ＜供試肝細胞＞

肝細胞としては、ヒト正常肝細胞（Ｈｕｍａｎ Ｎｏｒｍａｌ Ｈｅｐａｔｏｃｙｔｅｓ，Ｌｏｔ．１００、ＬＭＰ、ＯＮＱ及びＶＵＡ，Ｉｎ Ｖｉｔｒｏ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．社製）を利用した。

[0052] ＜試薬＞

以下の試薬及び器機を利用した。

正常肝細胞専用培地キット：Ｃａｍｂｒｅｘ社（タカラバイオ株式会社）

Ｈａｎｋ’ｓ Ｂａｌａｎｃｅｄ Ｓａｌｔ ｓｏｌｕｔｉｏｎ Ｍｏｄｉｆｉｅｄ：シグマ社、５００ｍＬ

ＨＥＰＥＳ Ｂｕｆｆｅｒ（１Ｍ）：１００ｍＬ

Ｓｏｄｉｕｍ Ｐｙｒｖａｔｅ Ｓｏｌｕｔｉｏｎ（１００ｍＭ）：１００ｍＬ

Ａｃｒｏｄｉｓｃ Ｓｙｒｉｎｇｅ Ｆｉｌｔｅｒｓ：Ｐａｌｌ Ｃｏｒｐｒａｔｉｏｎ、製品番号４１８７、５０個入り

Ｒｎｅａｓｙ Ｍｉｎｉ Ｋｉｔ（５０）：キアゲン株式会社

ＱＩＡｓｈｒｅｄｄｅｒ（５０）：キアゲン株式会社

Ｙｅａｓｔ ｔＲＮＡ：ＧＩＢＣＯ ＢＲＬ

ＴａｑＭａｎ Ｏｎｅ－Ｓｔｅｐ ＲＴ－ＰＣＲ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ Ｒｅａｇｅｎｔｓ Ｋｉｔ：Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ

Ｆａｓｔ ９６－ＷｅｌｌＲｅａｃｔｉｏｎ Ｐｌａｔｅ（０．１ｍＬ）：Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ

Ｏｐｔｉｃａｌ Ａｄｈｅｓｉｖｅ Ｃｏｖｅｒｓ：Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ

２４ウエル平底プレート（コラーゲンタイプＩコート）：旭テクノグラス株式会社

１５ｍＬ Ｃｏｎｉｃａｌ Ｔｕｂｅ：Ｆａｌｃｏｎ

Ｔｒｙｐａｎ ｂｌｕｅ：Ｆｌｏｗ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ ＬＴＤ．、０．４％ ｓｏｌｕｔｉｏｎ ｉｎ ０．８５％ ｓａｌｉｎｅ

β－メルカプトエタノール：シグマ社

Ｈｕｍａｎ Ａｌｂｕｍｉｎ ＥＩＡ Ｋｉｔ：タカラバイオ株式会社

[0053] また、ｍＲＮＡの定量は、下記表１に示す各配列のプライマー対及びプローブ（開始コドンの位置は、登録された各塩基配列に従うものである）を用いて、ＲＴ－ＰＣＲ（Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｖｅ ｒｅｖｅｒｓｅ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ－ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｒｅ

ａｃｔｉｏｎ）により実施した。各プライマー及びプローブは、自動ＤＮＡ合成機を用いて作成した。

[0054] [表1]

| 種類 | | 塩基配列 | 開始コドンからの位置 |
|---|---|---|---|
| Albumin | forward primer | 配列番号：1 | 1281－1302 |
| | reverse primer | 配列番号：2 | 1383－1363 |
| | probe | 配列番号：3 | 1305－1334 |
| HPRT1 | forward primer | 配列番号：4 | 139－159 |
| | reverse primer | 配列番号：5 | 238－218 |
| | probe | 配列番号：6 | 174－199 |

[0055] ＜溶液の調製＞

（１）５０μｇ／ｍＬのＹｅａｓｔ　ｔＲＮＡ液の調製

Ｙｅａｓｔ　ｔＲＮＡは、ＲＮａｓｅフリーの水で希釈し、５０μｇ／ｍＬとした。

[0056] （２）各種被験物質を含む被験液の調製

（２－１）Ｂｕｆｆｅｒ　Ａ

Ｂｕｆｆｅｒ　Ａとして、Ｈａｎｋ’ｓ　Ｂａｌａｎｃｅｄ　Ｓａｌｔ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ　Ｍｏｄｉｆｉｅｄ：ＨＥＰＥＳ　Ｂｕｆｆｅｒ（１Ｍ）：Ｓｏｄｉｕｍ　Ｐｙｒｖａｔｅ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ（１００ｍＭ）を１００：１：２の比率で混合した。

（２－２）Ｂｕｆｆｅｒ　Ｂ

Ｂｕｆｆｅｒ　Ｂとして、Ｂｕｆｆｅｒ　Ａ：培地を９：１の比率で混合した。

（２－３）リーバクト組成の被験液

リーバクト組成の被験液として、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｖａｌの混合後の濃度がそれぞれ１３．８ｍＭ、２７．７ｍＭ、１８．５ｍＭ（リーバクト組成の

被験液の濃度として６０ｍＭ）となるように溶解した。なお、溶解の手順はＢｕｆｆｅｒ　Ａに溶解後、Ｂｕｆｆｅｒ　Ａの１／１０量の培地を添加した。

（２－４）Ｉｌｅ、Ｌｅｕ又はＶａｌ溶液

Ｉｌｅ、Ｌｅｕ又はＶａｌ溶液として、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ又はＶａｌの濃度が６０ｍＭとなるように溶解した。なお、溶解の手順はＢｕｆｆｅｒ　Ａに溶解後、Ｂｕｆｆｅｒ　Ａの１／１０量の培地を添加した。

（２－５）調整

（２－３）で調製したリーバクト組成の被験液及び（２－４）で調整したＩｌｅ、Ｌｅｕ又はＶａｌ溶液を、Ｂｕｆｆｅｒ　Ｂを用いて３倍希釈し、２０ｍＭの溶液とした。

[0057] ＜ヒト正常肝細胞の初代培養＞

Ｎｉｓｈｉｍｕｒａらの方法（Ｎｉｓｈｉｍｕｒａ，Ｍ．，Ｙｏｓｈｉｔｓｕｇｕ，Ｈ．，Ｎａｉｔｏ，Ｓ．ａｎｄ　Ｈｉｒａｏｋａ，Ｉ．：Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｇｅｎｅ　ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ　ｏｆ　ｄｒｕｇ－ｍｅｔａｂｏｌｉｚｉｎｇｅｎｚｙｍｅｓ　ａｎｄ　ｔｒａｎｓｐｏｒｔｅｒｓ　ｉｎ　ｐｒｉｍａｒｙ　ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　ｈｕｍａｎ　ｈｅｐａｔｏｃｙｔｅｓ　ｕｓｉｎｇ　ｈｉｇｈ－ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ　ｒｅｖｅｒｓｅ　ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　ＰＣＲ．Ｙａｋｕｇａｋｕ　Ｚａｓｓｈｉ，１２２：３３９－３６１（２００２））に従い、２４ｗｅｌｌのプレートに１×１０$^{5}$ｃｅｌｌｓ／４００μＬ／ｗｅｌｌずつ分注し、$CO_2$インキュベーターで培養し、３時間後に培地交換をした。その２１時間後（播種開始時点から２４時間後）に培地交換した。以後、２４時間毎に培地交換を行った。なお、交換する培地の液量は、４００μＬ／ｗｅｌｌとした。また、各被験液への交換は、４８時間後の培地交換時点で行った。

[0058] ＜実験１＞

ヒト肝細胞を播種（１×１０$^{5}$　ｖｉａｂｌｅ　ｃｅｌｌｓ／０．４ｍＬ／

ｗｅｌｌ）した後、播種開始時点から３時間後及び２４時間後に培地交換を行った。なお、かかる播種時における生存率は９０．４％（Ｌｏｔ　１００）であった。次いで、播種開始から４８時間後に供試験用物質を添加し、この試験物質の添加開始から２４時間後にＴｏｔａｌ　ＲＮＡを抽出し（Ｒｎｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ使用）、リアルタイムＲＴ－ＰＣＲによりアルブミン及びＨＰＲＴ１のｍＲＮＡの定量を行った。なお、ＨＰＲＴ１は、ハウスキーピング遺伝子であり、内部標準として用いた。

[0059] ＜実験２＞

ヒト肝細胞を播種（１×１０$^5$　ｖｉａｂｌｅ　ｃｅｌｌｓ／０．４ｍＬ／ｗｅｌｌ）した後、播種開始時点から３時間後及び２４時間後に培地交換を行った。なお、かかる播種時における生存率は９３．６％（Ｌｏｔ　１００）、８４．２％（Ｌｏｔ　ＬＭＰ）、９０．０％（Ｌｏｔ　ＱＮＱ）、８４．３％（Ｌｏｔ　ＶＵＡ）であった。次いで、播種開始から４８時間後に供試験用物質を添加し、この試験物質の添加開始から２４時間後に培地を採取し、分泌されたアルブミン量を定量した。

[0060] ＜Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡの調製＞

培地を吸引後、ＱＩＡ　ｓｈｒｅｄｄｅｒ及びＲｎｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔを用いてＴｏｔａｌ　ＲＮＡを抽出した。以下に、このＫｉｔを用いた調製方法を記述する。培養開始後３、２４、４８及び７２時間時点において、２４　ｗｅｌｌのプレートの各ｗｅｌｌから培地を吸引除去した。ただし、培養開始０時間時点については１５ｍＬのＣｏｎｉｃａｌ　Ｔｕｂｅに２×１０$^5$ｃｅｌｌｓ／ｔｕｂｅとなるように肝細胞を分取し、遠心後、培地を吸引除去した。次に、β－メルカプトエタノールを含むＲＬＴ溶液（ＲＬＴ溶液：β－メルカプトエタノール＝１：１００）を４００μＬずつ添加し、ピペッティング後、ＱＩＡ　ｓｈｒｅｄｄｅｒ　ｃｏｌｕｍｎに全量を添加し、１５，０００ｒｐｍで２分間遠心した。溶出液３５０μＬを分取し、等量の７０％エタノール溶液を添加した。１０秒間の攪拌を３回行った後、Ｒｎｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　ｓｐｉｎ　ｃｏｌｕｍｎに全量を添加し、１２，

０００ｒｐｍで３０秒間遠心し、Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｔｕｂｅ内の溶出液を吸引除去した。７００μＬのＲＷ１溶液を添加し、１２，０００ｒｐｍで３０秒間遠心後、Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｔｕｂｅを取りかえた。５００μＬのＲＰＥ溶液を添加し、１２，０００ｒｐｍで３０秒間遠心後、Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｔｕｂｅ内の溶出液を吸引除去した。５００μＬのＲＰＥ溶液を添加し、１５，０００ｒｐｍで２分間遠心後、１．５ｍＬのＣｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｔｕｂｅに交換し、５０μＬのＲｎａｓｅ　ｆｒｅｅ　ｗａｔｅｒを添加し、１０，０００ｒｐｍで１分間遠心によりｔｏｔａｌ　ＲＮＡを溶出させた。溶出液は５０μｇ／ｍＬのＹｅａｓｔ　ｔＲＮＡ液を用いて５倍希釈して測定用Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡ溶液とした。なお、抽出操作は全て室温で行なった。また、５０μｇ／ｍＬのＹｅａｓｔ　ｔＲＮＡ液は、Ｙｅａｓｔ　ｔＲＮＡをＲＮａｓｅフリーの蒸留水で希釈して調製した。

[0061] ＜ｍＲＮＡの測定＞

Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　７５００　Ｆａｓｔ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を利用してハウスキーピング遺伝子（ＨＰＲＴ１）及びアルブミンのｍＲＮＡを、以下の通り定量した。

[0062] ＲＴ－ＰＣＲは、３００ｎＭ　Ｆｏｒｗａｒｄ　Ｐｒｉｍｅｒ、９００ｎＭ　Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｒｉｍｅｒ及び２００ｎＭ　ＴａｑＭａｎ　Ｐｒｏｂｅを含むＴａｑＭａｎ　Ｏｎｅ－Ｓｔｅｐ　ＲＴ－ＰＣＲ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ　Ｒｅａｇｅｎｔｓ　Ｋｉｔを用い、２０μＬ／ｔｕｂｅの系で行った。Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡ溶液は３μＬを使用した。ＲＴ－ＰＣＲの条件としては、４８℃で３０分間、その後９５℃で１０分間保温した後、９５℃で１５秒間、６０℃で１分間のサイクルを４０回行うことを条件とした。サイクルごとに蛍光強度を測定した。なお、反応容器はＦａｓｔ　９６－Ｗｅｌｌ　Ｒｅａｃｔｉｏｎ　Ｐｌａｔｅ　（０．１ｍＬ）を、カバーはＯｐｔｉｃａｌ　Ａｄｈｅｓｉｖｅ　Ｃｏｖｅｒｓを用いた。

[0063] ＜アルブミン分泌量の定量＞

培地中のアルブミン濃度はＨｕｍａｎ　Ａｌｂｕｍｉｎ　ＥＩＡ　Ｋｉｔ（タカラバイオ株式会社）により測定した。

[0064] ＜結果の計算方法および統計処理＞

（１）ｍＲＮＡの定量

ＨＰＲＴ１のｍＲＮＡを内在性コントロールとした。各ｍＲＮＡの定量値は、ΔＣｔ法（Ｎｉｓｈｉｍｕｒａ，Ｍ．，Ｙａｇｕｒｉ，Ｈ．，Ｙｏｓｈｉｔｓｕｇｕ，Ｈ．，Ｎａｉｔｏ，Ｓ．＆Ｓａｔｏｈ，Ｔ．，（２００３）Ｙａｋｕｇａｋｕ　Ｚａｓｓｈｉ，１２３，３６９－３７５）にて算出し、試験はｔｒｉｐｌｉｃａｔｅで行った。アルブミンｍＲＮＡの発現量は、ＨＰＲＴ１ｍＲＮＡの発現量を１とした時の比で表し、その平均値（ｍｅａｎ）±標準偏差（ＳＤ）を表２及び図１に示した。

[0065] ＜アルブミン分泌量の定量＞

結果はＬｏｔ別の値及び平均値（ｍｅａｎ）±標準偏差（ＳＤ）で表示した。

[0066] ＜結果及び考察＞

得られた結果を表２、表３及び図１に示す。

[0067]

[表2]

| 供試験用物質 | アルブミンmRNAの発現量 (mean ± SD) |
|---|---|
| 1/10 培地(Control) | 148 ± 30 |
| 20mM Ile | 174 ± 33 |
| 60mM Ile | 222 ± 27 |
| 20mM Leu | 215 ± 63 |
| 60mM Leu | 255 ± 53 |
| 20mM Val | 127 ± 17 |
| 60mM Val | 118 ± 10 |
| 20mM Ile + Leu (10mM + 10mM) | 184 ± 41 |
| 60mM Ile + Leu (30mM + 30mM) | 217 ± 11 |
| 20mM Ile + Val (10mM + 10mM) | 125 ± 28 |
| 60mM Ile + Val (30mM + 30mM) | 155 ± 30 |
| 20mM Leu + Val (10mM + 10mM) | 118 ± 2 |
| 60mM Leu + Val (30mM + 30mM) | 151 ± 20 |
| 20mM リーバクト組成 | 136 ± 9 |
| 60mM リーバクト組成 | 165 ± 25 |

[0068]

[表3]

1. 実験2におけるLot別のアルブミン分泌量の値

| | ng/well |
|---|---|
| Lot 100　60mM リーバクト組成 | 12.30 |
| Lot 100　Ile + Leu (30mM + 30mM) | 20.88 |
| Lot LMP　60mM リーバクト組成 | 2.06 |
| Lot LMP　Ile + Leu (30mM + 30mM) | 3.22 |
| Lot ONQ　60mM リーバクト組成 | 4.92 |
| Lot ONQ　Ile + Leu (30mM + 30mM) | 9.56 |
| Lot VUA　60mM リーバクト組成 | 7.44 |
| Lot VUA　Ile + Leu (30mM + 30mM) | 9.96 |

2. 実験2における全Lotのアルブミン分泌量の平均値

| | ng/well (mean ± SD) |
|---|---|
| 60mM リーバクト組成 | 6.68 ± 4.34 |
| Ile + Leu (30mM + 30mM) | 10.91 ± 7.33 |

[0069] 各表及び表２の結果を示す図１のグラフから次のことが判る。即ち、表２及び図１に示されるとおり、ヒトの肝細胞を用いて、アルブミンのｍＲＮＡ発現量の増加を指標に、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｖａｌ単体での効果、ＩｌｅとＬｅｕ、ＩｌｅとＶａｌ及びＬｅｕとＶａｌを組み合わせた場合に、相加、相乗効果があるのか、或いは拮抗しあうのかの検討を行った。Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｖａｌ単体、ＩｌｅとＬｅｕ、ＬｅｕとＶａｌ、ＩｌｅとＶａｌ、リーバクト組成（Ｉｌｅ：Ｌｅｕ：Ｖａｌ＝1：２：１．３５、２０ｍＭ、６０ｍＭ）での比較を行い、Ｉｌｅ、Ｌｅｕの単体とＩｌｅとＬｅｕの組み合わせにアルブミンｍＲＮＡの発現量の増加作用を確認し、ＩｌｅとＬｅｕの組み合わせのアルブミンｍＲＮＡの発現量に相加効果があることが分かった。また、Ｖａｌとの組み合わせではアルブミンｍＲＮＡの発現量の増加作用が打ち消されることが分かった。

[0070] また、実験２はヒトの肝細胞４ロットでの結果であり、実験１と同様、Ｖａｌを含むと分泌量は低下した（表３参照）。

[0071] 以上の通り、当該低アルブミン血症改善用組成物を利用すれば、アルブミン合成能を上昇させることに有効であることが分かる。

[0072] ＜低アルブミン血症マウスにおける血漿中アルブミン濃度上昇効果の検討＞

この試験は、低アルブミン血症を発症したマウスの血漿中アルブミン濃度に対する各試験物質の効果を調べたものであり、以下の通り実施した。

[0073] ＜実験３＞

ＢＡＬＢ／ｃ、雌性マウスを３日間絶食させ、低アルブミン血症を誘発させた後、各試験物質を７日間経口投与し血漿中アルブミン濃度を測定した。以下に、本実験の詳細を示す。

[0074] ＜試験物質の調製＞

Ｖａｌ（＋）：

０．２１４ｇに秤量したＬ－ロイシン、０．１０７ｇに秤量したＬ－イソロイシン及び０．１２９ｇに秤量したＬ－バリン（以上、ペプチド研究所）と注射用蒸留水（大塚製薬）の適量を１５ｍＬコニカルチューブ（日本ベクトン・ディッキンソン社）に入れ、混和した。完全に溶解させて１５ｍＬとした。

Ｖａｌ（－）：

０．２１４ｇに秤量したＬ－ロイシン及び０．１０７ｇに秤量したＬ－イソロイシン（以上、ペプチド研究所）と注射用蒸留水（大塚製薬）の適量を１５ｍＬコニカルチューブ（日本ベクトン・ディッキンソン社）に入れ、混和した。完全に溶解させて１５ｍＬとした。

[0075] ＜使用動物＞

本実験には、マウス、ＢＡＬＢ／ｃＣｒ　Ｓｌｃ、雌性、７週齢（入荷時体重１８ｇ～２０ｇ）（日本エスエルシー社）を用いた。

[0076] ＜投与方法＞

上記マウスに対して、下記の３群を設けた。下記バリン（＋）群及びＶａ

Ｉ（－）群に対しては、３日間の絶食後、上記調製した各試験物質を１０ｍＬ／ｋｇ／日の投与量で７日間連続して経口投与した。なお、ＶａｌⅠ（＋）群及びＶａｌⅠ（－）群に対しては、各試験物質の投与期間中は摂餌を行った。また、対照群に対しては、全試験期間中、摂餌のみを行った。

[0077] （ＶａｌⅠ（＋）群）

３日間の絶食後、ＶａｌⅠ（＋）を経口投与させる群、ｎ＝３

イソロイシン：０．０７１ｇ／ｋｇ／日、

ロイシン：０．１４３ｇ／ｋｇ／日、

バリン：０．０８６ｇ／ｋｇ／日

（ＶａｌⅠ（－）群）

３日間の絶食後、ＶａｌⅠ（－）を経口投与させる群、ｎ＝５

イソロイシン：０．０７１ｇ／ｋｇ／日、

ロイシン：０．１４３ｇ／ｋｇ／日

（対照群）

試験期間中摂餌させる群、ｎ＝５

[0078] ＜試料採取＞

上記マウスに対して、絶食開始３日目、試験物質投与開始１、３、７日目に、無麻酔下で眼底をヘパリン処理したテルモヘマトクリット毛細管（テルモ社）で傷つけ、約２０μＬ採血を行った。採血した血液は氷冷し、１２０００ｒｐｍ、１０分間の遠心分離により血漿を分離し、血漿中アルブミン測定に供した。

[0079] ＜血漿中アルブミンの測定方法＞

血漿中アルブミン濃度は、富士ドライケムスライドＡＬＢ－Ｐ（富士フイルムメディカル社）を用いて自動分析装置ＤＲＩ－ＣＨＥＭ７０００（富士フイルムメディカル社）にて測定した。試験物質投与後７日目までのマウス血漿中アルブミン濃度を表４に示した。

[0080] ＜解析方法＞

各測定項目の値について、各群の平均値（ｍｅａｎ）±標準偏差（Ｓ．Ｄ

．）を求めた。また、統計解析は、Ｖａｌ（＋）群及びＶａｌ（－）群間で、Ｓｔｕｄｅｎｔのｔ－検定及び経時型分散分析により行った。なお、検定の有意水準は両側５％とした。データ集計は、Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｅｘｃｅｌ　２００３（マイクロソフト社）で行った。統計解析ソフトは、ＥＸＳＡＳ　７．６（アームシステックス社）を使用した。

[0081] [表4]

| 試験群 | 血漿中アルブミン濃度(g／dL) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 絶食3日目 | 試験物質投与後 | | |
| | | 1日目 | 3日目 | 7日目 |
| Val(－)群 | 1. 65±0. 26 | 2. 62±0. 16 | 2. 91±0. 15 | 2. 98±0. 17 |
| Val(＋)群 | 1. 76±0. 40 | 2. 57±0. 26 | 2. 77±0. 08 | 2. 73±0. 06 |
| 対照群 | 2. 94±0. 10 | 2. 89±0. 31 | 2. 81±0. 12 | 2. 80±0. 27 |

[0082] ＜結果及び考察＞

表４に示す通り、本条件下で７日間、絶食後のマウスに試験物質を与えたところ、７日目では、Ｖａｌ（＋）群に比してＶａｌ（－）群のアルブミン上昇傾向（ｐ＝０．０５３１）を認めた。また、補足として経時型分散分析を行ったところ、群と時間で有意差を認め、Ｖａｌ（－）がＶａｌ（＋）に比して経時的に血漿中アルブミン濃度を上昇させる可能性が示唆された。本試験の結果より、Ｖａｌを除くこと（Ｖａｌ（－））で、現在臨床で使用されているリーバクト（登録商標）等のＢＣＡＡ製剤（Ｖａｌ（＋））を凌駕する血中アルブミン濃度上昇効果が期待できると考えられた。

## 産業上の利用可能性

[0083] 以上のように、本発明の低アルブミン血症改善用組成物は、例えば輸液製剤、経口製剤等の製剤や飲食品などの形態として好適に使用される。

# 請求の範囲

[請求項1] 分岐鎖アミノ酸を有効成分として含有する低アルブミン血症改善用組成物であって、

有効成分として、ロイシン及び／又はイソロイシンを含有し、バリンを含有しないことを特徴とする低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項2] 上記分岐鎖アミノ酸として、ロイシン及びイソロイシンを含有する請求項１に記載の低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項3] 上記イソロイシンに対するロイシンの質量比が０．１以上１０以下である請求項２に記載の低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項4] 上記分岐鎖アミノ酸として、ロイシン又はイソロイシンのみを含有する請求項１に記載の低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項5] 輸液製剤の形態である請求項１に記載の低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項6] 経口製剤の形態である請求項１に記載の低アルブミン血症改善用組成物。

[請求項7] 飲食品の形態である請求項１に記載の低アルブミン血症改善用組成物。