

明 細 書

発明の名称：

認知機能の改善用組成物および不安様症状の改善用組成物、ならびに脳萎縮の抑制用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、認知機能の改善用組成物および不安様症状の改善用組成物、ならびに脳萎縮の抑制用組成物に関する。

背景技術

[0002] 昨今の高齢者人口の急増に伴って認知症の患者数が急増し、2015年には65歳以上人口の8.4%に達したとの報告がある。

厚生労働省によると、認知症とは、「生後いったん正常に発達した種々の精神機能が慢性的に減退、消失することで、日常生活、社会生活を営めない状態」をいうとされる。

認知症には、アルツハイマー型認知症、前頭側頭型認知症（ピック病等）、レビー小体型認知症、脳血管性認知症等、種々の疾患に起因する認知症があるが、加齢が最大の危険因子となるものの、その原因が明らかでないことが多い。

しかしながら、どのタイプの認知症にも、記憶障害、見当識障害等の認知機能障害が中核的症状として見られ、また、行動異常、精神症状等の周辺症状が共通して見られ、前記症状の進行は、患者のみならず、その家族にも介護負担の増大等の深刻な影響を及ぼす。

[0003] 現在、認知症の治療薬としては、塩酸ドネペジル等のアセチルコリンエステラーゼ阻害薬、およびメマンチン等のNMDA（N-methyl-D-aspartate）受容体拮抗薬が認可されている。しかし、これらの認知症治療薬は、基本的にはアルツハイマー型認知症に対するものであり、また、対症療法薬であって、多少症状の進行を抑制することができるに過ぎない。

[0004] また、認知症の予防に関し、認知機能低下の防止や改善における食事や運

動の重要性が知られている。

食事については、ビタミンC、ビタミンE、 β -カロテン等の抗酸化物質や、 ω -3系長鎖不飽和脂肪酸の有効性が報告され、高齢者の軽い認知障害に対する、 ω -3系長鎖不飽和脂肪酸、メラトニンおよびトリプトファン摂取の効果が検討されている（非特許文献1）。さらに、リシンが健常者の認知機能を改善するという報告（特許文献1）、アルツハイマー型認知症や不安様症状に対するL-アルギニンやリシンの効果を示唆する報告（非特許文献2～5）、チロシンの作業記憶低下や認知機能低下に対する改善を示唆する報告（非特許文献6）も見られる。

運動については、運動による脳血流の増加が身体活動を向上させ、アルツハイマー病を予防し得るとの知見がある。

しかしながら、食事にて摂取される上記成分の中には、認知機能低下に対し十分な予防または改善効果を奏するとはいえないものも存在し、また、有効性について、今後の検証を要するものも多い。

さらにまた、認知機能低下の危険性の高まる中高齢者の中には、疾患等のために運動を実施することが困難であったり、身体機能の低下により、運動を継続することが困難であることも多い。

[0005] それゆえ、認知機能の低下に対し、有効な予防または改善効果を有し、かつ安全性が高く、継続した摂取が可能な成分が見出されているとはいいがたい。

[0006] また、高齢者において、無気力、無関心、不安、うつ等の不安様症状を呈する割合が高まり、かかる不安様症状が、認知症の危険因子として、認知症発症前に見られることが知られている。

さらには、上記不安様症状が認知症の周辺症状として見られることも知られている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：欧州特許第2367547号（A1）

非特許文献

- [0008] 非特許文献1 : Anglo Food Industry Hi-Tech 22 (4) 23-24 (2011)
非特許文献2 : The American Journal of Medicine 108 (5) 439 (2000 Apr 1)
非特許文献3 : Neuropsychiatric Disease and Treatment 6 707-710 (2010)
非特許文献4 : Biomedical Research 28 (2) 85-90 (2007)
非特許文献5 : The Journal of Nutrition 132 (12) 3744-3746 (2002)
非特許文献6 : Amino Acids 45 (5) 1035-1045 (2013)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0009] そこで、本発明は、認知機能低下に対し、有効な予防または改善効果を有し、かつ安全性が高く、継続した摂取または投与が可能な、認知機能の改善用組成物を提供することを目的とした。

また、本発明は、上記したような不安様症状の改善用組成物を提供することを目的とした。

課題を解決するための手段

- [0010] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物が、認知機能の改善作用および不安様症状の改善作用を有すること、さらに、前記組成物が、アルツハイマー型認知症等の神経変性疾患において特徴的に観察される脳の委縮を抑制する作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

- [0011] すなわち、本発明は以下に関する。

[1] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%

のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、認知機能の改善用組成物。

[2] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、[1]に記載の組成物。

[3] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、[1]または[2]に記載の組成物。

[4] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、[3]に記載の組成物。

[5] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、[3]または[4]に記載の組成物。

ロイシン 25モル%～45モル%、

フェニルアラニン 20モル%～40モル%、

リシン 10モル%～30モル%、

バリン 2モル%～7モル%、

イソロイシン 5モル%～15モル%、

ヒスチジン 2モル%～10モル%、および

トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

[6] 医薬品である、[1]～[5]のいずれかに記載の組成物。

[7] 食品である、[1]～[5]のいずれかに記載の組成物。

[8] 認知機能を改善する必要のある対象動物に、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%

～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を、当該対象動物の認知機能を改善するのに有効な量摂取させること、または投与することを含む、認知機能の改善方法。

[9] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[8]に記載の改善方法。

[10] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[8]または[9]に記載の改善方法。

[11] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[10]に記載の改善方法。

[12] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[10]または[11]に記載の改善方法。

ロイシン 25モル%～45モル%、

フェニルアラニン 20モル%～40モル%、

リシン 10モル%～30モル%、

バリン 2モル%～7モル%、

イソロイシン 5モル%～15モル%、

ヒスチジン 2モル%～10モル%、および

トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

[13] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒ

スチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、不安様症状の改善用組成物。

[14] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、[13]に記載の組成物。

[15] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、[13]または[14]に記載の組成物。

[16] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、[15]に記載の組成物。

[17] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、[15]または[16]に記載の組成物。

ロイシン 25モル%～45モル%、
フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
リシン 10モル%～30モル%、
バリン 2モル%～7モル%、
イソロイシン 5モル%～15モル%、
ヒスチジン 2モル%～10モル%、および
トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

[18] 医薬品である、[13]～[17]のいずれかに記載の組成物。

[19] 食品である、[13]～[17]のいずれかに記載の組成物。

[20] 不安様症状を改善する必要がある対象動物に、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファ

ンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を、当該対象動物の不安様症状を改善するのに有効な量摂取させること、または投与することを含む、不安様症状の改善方法。

〔21〕さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、〔20〕に記載の改善方法。

〔22〕さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、〔20〕または〔21〕に記載の改善方法。

〔23〕ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、〔22〕に記載の改善方法。

〔24〕下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、〔22〕または〔23〕に記載の改善方法。

ロイシン 25モル%～45モル%、

フェニルアラニン 20モル%～40モル%、

リシン 10モル%～30モル%、

バリン 2モル%～7モル%、

イソロイシン 5モル%～15モル%、

ヒスチジン 2モル%～10モル%、および

トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

〔25〕ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、脳萎縮の抑制用組成物。

〔26〕さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、〔25〕に記載の組成物。

〔27〕さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、〔25〕または〔26〕に記載の組成物。

〔28〕ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、〔27〕に記載の組成物。

〔29〕下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、〔27〕または〔28〕に記載の組成物。

ロイシン 25モル%～45モル%、
フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
リシン 10モル%～30モル%、
バリン 2モル%～7モル%、
イソロイシン 5モル%～15モル%、
ヒスチジン 2モル%～10モル%、および
トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

〔30〕医薬品である、〔25〕～〔29〕のいずれかに記載の組成物。

〔31〕食品である、〔25〕～〔29〕のいずれかに記載の組成物。

〔32〕脳萎縮を抑制する必要がある対象動物に、ロイシン、リシン、バリ

ン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を、当該対象動物の脳萎縮を抑制するのに有効な量摂取させること、または投与することを含む、脳萎縮の抑制方法。

[33] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[32]に記載の抑制方法。

[34] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[32]または[33]に記載の抑制方法。

[35] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[34]に記載の抑制方法。

[36] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する組成物を摂取させること、または投与することを含む、[34]または[35]に記載の抑制方法。

ロイシン 25モル%～45モル%、
フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
リシン 10モル%～30モル%、
バリン 2モル%～7モル%、
イソロイシン 5モル%～15モル%、
ヒスチジン 2モル%～10モル%、および

トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

発明の効果

[0012] 本発明により、認知機能低下を有効に予防または改善することのできる認知機能の改善用組成物を提供することができる。

また、本発明により、不安様症状の改善用組成物を提供することができる。本発明の不安様症状の改善用組成物は、認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状の改善に、特に有効である。

さらに、本発明により、脳萎縮の抑制用組成物を提供することができる。本発明の脳萎縮の抑制用組成物は、アルツハイマー型認知症等の神経変性疾患において観察される脳の萎縮や、加齢により出現、進行する生理的な脳の萎縮を抑制し、かかる脳萎縮に起因する認知機能の低下を改善することができる。

特に、本発明の認知機能の改善用組成物および不安様症状の改善用組成物、ならびに脳萎縮の抑制用組成物は、安全性が高く、継続した摂取または投与に適する。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図1は、試験例1の受動回避試験において、記憶時間および完全記憶個体率に対する本発明の実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「N.S.」は、危険率(p)=5%にて有意差のないことを示す。

[図2]図2は、試験例2の受動回避試験(再現性試験)において、記憶時間および完全記憶個体率に対する本発明の実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「n.s.」は、危険率(p)=5%にて有意差のないことを示す。

[図3]図3は、試験例3の高架式十字迷路試験において、不安・焦燥症状の指標である開放アーム進入回数、および多動の指標である総移動距離に対する本発明の実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「N.S.」は、危険率(p)=5%にて有意差のないことを示す。

[図4]図4は、試験例4の高架式十字迷路試験(再現性試験)において、不安・焦燥症状の指標である開放アーム進入回数に対する本発明の実施例1の組

成物の効果を示す図である。

[図5]図5は、試験例5において、脳内神経伝達物質濃度に及ぼす本発明の実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「n.s.」は、危険率(p) = 5%にて有意差のないことを示す。

[図6]図6は、試験例6において、脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子の発現に及ぼす実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「n.s.」は危険率(p) = 0.05にて有意差のないことを示す。

[図7]図7は、試験例7において、大脳皮質の体積に及ぼす実施例1の組成物の効果を示す図である。図中、「n.s.」は危険率(p) = 0.05にて有意差のないことを示し、「*」は $p < 0.05$ にて有意差があることを示し、「**」は $p < 0.01$ にて有意差があることを示す。

[図8]図8は、試験例8において、実施例2の組成物の摂取が、TMT-B試験の完遂に要する時間に及ぼす効果を示す図である。図中、エラーバーは95%信頼区間を示す。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明の認知機能の改善用組成物（以下、本明細書において、「本発明の組成物」とも称する）は、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファン（以下、本明細書において「7種のアミノ酸」とも称する）の総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上、すなわち、7種のアミノ酸の総含有量に対して25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンのいずれか、または双方を含有する。

[0015] ここで、本明細書において「認知機能」とは、記憶、判断、計算、理解、学習、思考、言語、遂行、注意、見当識、実行、遅延再生等の脳の高次の機能をいい、「認知機能の改善」とは、かかる認知機能の低下を防止し、または改善することをいう。

本発明の組成物により改善され得る認知機能の低下には、アルツハイマー

型認知症、前頭側頭葉変性症（ピック病等）、レビー小体病、脳血管障害等、種々の疾患や病変に起因する認知症による認知機能の低下の他、加齢による認知機能低下や、健常者において観察される認知機能低下、たとえば記憶力の低下、集中力の低下、思考力の低下等が含まれる。

[0016] 「ロイシン」および「フェニルアラニン」としては、L体、D体およびDL体のいずれを用いてもよいが、L体およびDL体が好ましく用いられ、L体がより好ましく用いられる。

[0017] また、「ロイシン」および「フェニルアラニン」としては、遊離体のみならず、塩の形態でも用いることができる。本明細書における「ロイシン」および「フェニルアラニン」という語は、それぞれ塩をも包含する概念である。塩の形態としては、薬理学上許容される塩であれば特に制限されず、酸付加塩や塩基との塩等を挙げることができる。

具体的には、無機塩基、有機塩基、無機酸、有機酸との塩およびアミノ酸との塩等が挙げられる。

[0018] 無機塩基との塩としては、たとえば、リチウム、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属との塩、マグネシウム、カルシウム等のアルカリ土類金属との塩、アンモニウム塩等が挙げられる。

有機塩基との塩としては、たとえばモノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等のアルカノールアミンとの塩、モルホリン、ピペリジン等の複素環式アミンとの塩等が挙げられる。

無機酸との塩としては、たとえば、ハロゲン化水素酸（塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸等）、硫酸、硝酸、リン酸等との塩等が挙げられる。

有機酸との塩としては、たとえば、ギ酸、酢酸、プロパン酸等のモノカルボン酸との塩；シュウ酸、マロン酸、リンゴ酸、コハク酸等の飽和ジカルボン酸との塩；マレイン酸、フマル酸等の不飽和ジカルボン酸との塩；クエン酸等のトリカルボン酸との塩； α -ケトグルタル酸等のケト酸との塩等が挙げられる。

アミノ酸との塩としては、グリシン、アラニン等の脂肪族アミノ酸との塩

；チロシン等の芳香族アミノ酸との塩；アルギニン等の塩基性アミノ酸との塩；アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性アミノ酸との塩；ピログルタミン酸等のラクタムを形成したアミノ酸との塩等が挙げられる。

[0019] 上記した塩は、それぞれ水和物（含水塩）であってもよく、かかる水和物としては、たとえば１水和物～６水和物等が挙げられる。

[0020] 本発明においては、「ロイシン」および「フェニルアラニン」として、それぞれ上記した遊離体および塩の形態の１種を単独で用いてもよく、２種以上を組み合わせて用いてもよい。

本発明の目的には、「ロイシン」および「フェニルアラニン」のそれぞれについて、遊離体および塩酸塩等が好ましい。

[0021] なお、本発明の組成物において、７種のアミノ酸の総含有量に対するロイシンの含有量は、２５モル％～４５モル％であり、３０モル％～４０モル％であることが好ましく、３５モル％～４０モル％であることがより好ましい。

また、フェニルアラニンの含有量は、２０モル％～４０モル％であり、２０モル％～３５モル％であることが好ましく、２５モル％～３０モル％であることがより好ましい。

[0022] 認知機能の改善効果の観点からは、本発明の組成物には、２５モル％～４５モル％のロイシンと、２０モル％～４０モル％のフェニルアラニンとを含有させることが好ましい。

[0023] 本発明の組成物においては、７種のアミノ酸の総含有量に対して２５モル％～４５モル％のロイシン、および２０モル％～４０モル％のフェニルアラニンからなる群より選択される１種以上に加えて、７種のアミノ酸の総含有量に対して１０モル％～３０モル％のリシンを含有させることができる。

[0024] 「リシン」としては、上記ロイシン等と同様に、Ｌ体、Ｄ体およびＤＬ体のいずれを用いてもよいが、Ｌ体およびＤＬ体が好ましく用いられ、Ｌ体がより好ましく用いられる。

また、「リシン」は、遊離体のみならず、塩の形態でも用いることができ

、塩をも包含する概念である。塩の形態としては、上記した無機塩基、有機塩基、無機酸、有機酸との塩およびアミノ酸との塩等が挙げられる。

本発明の目的には、「リシン」としては、遊離体および塩酸塩等が好ましい。

[0025] なお、本発明の組成物において、7種のアミノ酸の総含有量に対するリシンの含有量は、10モル%～30モル%であり、15モル%～25モル%であることが好ましく、15モル%～20モル%であることがより好ましい。

[0026] 認知機能の改善効果の観点からは、本発明の組成物には、7種のアミノ酸の総含有量に対して25モル%～45モル%のロイシン、20モル%～40モル%のフェニルアラニン、および10モル%～30モル%のリシンを含有させることがより好ましい。

[0027] 本発明の組成物には、上記モル組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上、または、上記モル組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上ならびにリシンに加えて、さらにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有させることができる。

[0028] 「バリン」、「イソロイシン」、「ヒスチジン」および「トリプトファン」としては、上記ロイシン等と同様に、L体、D体およびDL体のいずれを用いてもよいが、L体およびDL体が好ましく用いられ、L体がより好ましく用いられる。

また、「バリン」、「イソロイシン」、「ヒスチジン」および「トリプトファン」は、それぞれ遊離体のみならず、塩の形態でも用いることができ、それぞれ塩をも包含する概念である。塩の形態としては、上記した無機塩基、有機塩基、無機酸、有機酸との塩およびアミノ酸との塩等が挙げられる。

本発明の目的には、「バリン」、「イソロイシン」、「ヒスチジン」および「トリプトファン」としては、それぞれ遊離体および塩酸塩等が好ましい。

[0029] また、本発明の組成物において、バリンは、7種のアミノ酸の総含有量に

対し2モル%～7モル%含有されることが好ましく、4モル%～6モル%含有されることがより好ましい。

イソロイシンは、7種のアミノ酸の総含有量に対し、5モル%～15モル%含有されることが好ましく、7モル%～13モル%含有されることがより好ましい。

ヒスチジンは、7種のアミノ酸の総含有量に対し、2モル%～10モル%含有されることが好ましく、2.5モル%～8モル%含有されることがより好ましい。

トリプトファンは、7種のアミノ酸の総含有量に対し、0.1モル%～2モル%含有されることが好ましく、0.3モル%～1モル%含有されることがより好ましい。

[0030] 認知機能の改善効果の観点からは、本発明の組成物には、7種のアミノ酸の総含有量に対して25モル%～45モル%のロイシン、20モル%～40モル%のフェニルアラニンおよび10モル%～30モル%のリシン、ならびに2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンを含有させることがさらに好ましい。

[0031] 本発明において、遊離体および塩の形態の上記各アミノ酸は、天然に存在する動植物等から抽出し精製したもの、あるいは、化学合成法、発酵法、酵素法又は遺伝子組換え法等によって得られるもののいずれを使用してもよいが、各社より提供されている市販の製品を利用してもよい。

[0032] 本発明の組成物は、上記アミノ酸の他に、さらに糖質、脂質、タンパク質、上記アミノ酸以外の必須アミノ酸（メチオニン、スレオニン）、非必須アミノ酸、ビタミン、ミネラル等の他の栄養成分を含有することができる。

[0033] 本発明の組成物は、7種のアミノ酸の総含有量に対し25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上に、必要に応じて、10モル%～30モル%のリシン、あるいはさらにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプト

ファンからなる群より選択される 1 種以上、他の栄養成分、薬学的に許容される添加剤等を加えて、製剤の分野で周知の製剤化手段、たとえば第十七改正日本薬局方製剤総則〔3〕製剤各条に記載された方法等により、溶液、懸濁液、乳濁液等の液状；ゲル、クリーム等の半固形状；粉末、顆粒、錠剤、カプセル等の固形状等、種々の形態とすることができる。

[0034] 上記薬学的に許容される添加剤は、本発明の組成物の形態に応じて適宜選択することができ、たとえば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、被覆剤、基剤、溶剤、溶解補助剤、可溶化剤、乳化剤、分散剤、懸濁化剤、安定化剤、粘稠剤、無痛化剤、等張化剤、pH調整剤、抗酸化剤、防腐剤、保存剤、矯味剤、甘味剤、香料、着色剤等が挙げられる。

[0035] 具体的には、賦形剤としては、たとえば、炭酸マグネシウム、糖類（グルコース、ラクトース、コーンスターチ等）、糖アルコール（ソルビトール、マンニトール等）等が挙げられる。

結合剤としては、たとえば、ゼラチン、アルファー化デンプン、部分アルファー化デンプン、セルロースおよびその誘導体（結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等）等が挙げられる。

崩壊剤としては、たとえば、クロスポビドン、ポビドン、結晶セルロース等が挙げられる。

滑沢剤としては、たとえば、タルク、ステアリン酸マグネシウム等が挙げられる。

被覆剤としては、たとえば、メタクリル酸・メタクリル酸メチル共重合体、メタクリル酸・アクリル酸エチル共重合体、メタクリル酸メチル・メタクリル酸ブチル・メタクリル酸ジメチルアミノエチル共重合体、アクリル酸エチル・メタクリル酸メチル・メタクリル酸塩化トリメチルアンモニウムエチル共重合体等が挙げられる。

[0036] 基剤としては、たとえば、動植物性油脂（オリブ油、カカオ脂、牛脂、ゴマ油、硬化油、ヒマシ油等）、ロウ（カルナウバロウ、ミツロウ等）、ポリエチレングリコール等が挙げられる。

溶剤としては、たとえば、精製水、注射用水、一価アルコール（エタノール等）、多価アルコール（グリセリン等）等が挙げられる。

溶解補助剤としては、たとえば、プロピレングリコール、中鎖脂肪酸トリグリセリド等が挙げられる。

[0037] 可溶化剤、乳化剤、分散剤および懸濁化剤としては、たとえば、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（ポリソルベート20、ポリソルベート80等）、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ショ糖脂肪酸エステル等の界面活性剤等が挙げられる。

[0038] 安定化剤としては、たとえば、アジピン酸、 β -シクロデキストリン、エチレンジアミン、エデト酸ナトリウム等が挙げられる。

粘稠剤としては、たとえば、水溶性高分子（ポリアクリル酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー等）、多糖類（アルギン酸ナトリウム、キサンタンガム、トラガント等）等が挙げられる。

無痛化剤としては、たとえば、アミノ安息香酸エチル、クロロブタノール、プロピレングリコール、ベンジルアルコール等が挙げられる。

等張化剤としては、たとえば、塩化カリウム、塩化ナトリウム、ソルビトール、生理食塩水等が挙げられる。

pH調整剤としては、たとえば、塩酸、硫酸、酢酸、クエン酸、乳酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等が挙げられる。

[0039] 抗酸化剤としては、たとえば、ジブチルヒドロキシトルエン（BHT）、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）、 d - α -トコフェロール、エリスルビン酸等が挙げられる。

防腐剤および保存剤としては、たとえば、パラベン（メチルパラベン等）、ベンジルアルコール、デヒドロ酢酸ナトリウム、ソルビン酸等が挙げられる。

[0040] 矯味剤としては、たとえば、アスコルビン酸、エリスリトール、L-グルタミン酸ナトリウム等が挙げられる。

甘味剤としては、たとえば、アスパルテーム、カンゾウエキス、サッカリン等が挙げられる。

香料としては、たとえば、l-メントール、d-カンフル、バニリン等が挙げられる。

着色剤としては、たとえば、タール色素（食用赤色2号、食用青色1号、食用黄色4号等）、無機顔料（三酸化鉄、黄酸化鉄、黒酸化鉄等）、天然色素（ウコン抽出液、 β -カロテン、銅クロロフィリンナトリウム等）等が挙げられる。

[0041] 本発明においては、上記添加剤は、1種または2種以上を用いることができる。

[0042] 「ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上」、「ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上ならびにリシン」、「ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上」、または「ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上」の本発明の組成物における含有量は、組成物の全量に対し、通常30重量%～100重量%であり、好ましくは50重量%～100重量%である。

なお、「ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上」等の上記含有量は、いずれかのアミノ酸が塩の形態で含有される場合には、当該アミノ酸の含有量を遊離体に換算した含有量として、算出される。

[0043] 本発明の組成物は、認知機能の改善作用に加えて、不安様症状に対する改善作用を有し、かかる不安様症状の改善用組成物としても提供され得る。

[0044] ここで、「不安様症状」とは、無気力、無関心、抑制性症状（不安、うつ等）、不穏状態、不安による睡眠障害、興奮性症状（焦燥、注意欠陥、多動

、異常行動等)等の症状をいう。

「不安様症状の改善」とは、上記した不安様症状の発現を防止し、または該症状を軽減することをいう。

本発明の組成物は、上記した認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状、すなわち、認知症を発症する前に出現し、認知症の危険因子として知られている不安様症状や、認知症の周辺症状として観察される不安様症状に対して有効である。

[0045] また、本発明の組成物は、脳の萎縮を抑制する作用を有し、脳萎縮の抑制用組成物としても提供され得る。

[0046] ここで、「脳萎縮」とは、アルツハイマー型認知症、前頭側頭型認知症等の神経変性疾患の患者において特徴的に観察される脳の萎縮や、加齢に伴って観察される生理的な脳萎縮をいう。

「脳萎縮の抑制」とは、上記した神経変性疾患により進行する脳の萎縮や、加齢に伴って観察される生理的な脳萎縮を抑制することをいう。

本発明の組成物は、上記した神経変性疾患において、神経細胞の脱落により生じる脳萎縮を抑制することができ、かかる脳萎縮に起因する認知機能の低下を改善することができる。また、加齢に伴って出現、進行する生理的な脳萎縮をも抑制することができ、かかる生理的な脳萎縮に起因する認知機能の低下、たとえば、健常者において加齢に伴って観察される記憶力の低下、集中力の低下、思考力の低下等を改善することができる。

[0047] 本発明の組成物の1日あたりの摂取量または投与量は、適用される対象（以下本明細書において、「適用対象」ともいう）の性別、年齢、適用対象に観察される認知機能低下や脳内の病変等の状態または不安様症状の状況およびそれらの程度、ならびに本発明の組成物の形態、投与方法等により適宜決定されるが、適用対象がヒト成人である場合、ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上（すなわちロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方）の総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方ならびにリシンの総量

(遊離体に換算した量の総量)、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される１種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）、または、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される１種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）にして、通常０．５ｇ～２２ｇ、好ましくは１ｇ～２０ｇ、より好ましくは２．５ｇ～１６ｇ、さらに好ましくは３ｇ～１６ｇ、より一層好ましくは５ｇ～１６ｇである。

上記の量は、１回で摂取させまたは投与してもよく、１日数回（２～４回）に分けて摂取させまたは投与してもよい。

[0048] なお、認知機能の改善効果を向上させるべく、適用対象の血中濃度を有効に上昇させるという観点からは、本組成物の１回あたりの摂取量または投与量は、適用対象がヒト成人である場合、ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される１種以上（すなわちロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方）の総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方ならびにリシンの総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される１種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）、または、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される１種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）にして、通常０．３ｇ～１０ｇ、好ましくは０．５ｇ～１０ｇ、より好ましくは１ｇ～８ｇ、さらに好ましくは２ｇ～６ｇ、より一層好ましくは２．５ｇ～６ｇである。

[0049] また、本発明の組成物の摂取期間または投与期間も、適用対象の状態または症状等に応じて適宜設定される。認知機能の低下が、加齢や種々の疾患、

脳の委縮等の脳内の病変等に伴って生じ、慢性的に進行すること、あるいは、不安様症状が認知機能の低下に伴い、もしくは認知機能の低下と前後して現れ、長期間持続することを考慮すると、認知機能または不安様症状を改善するためには、長期間にわたり継続して摂取させまたは投与することが好ましい。

[0050] 本発明の組成物は、単位包装形態とすることができる。本明細書において「単位包装形態」とは、特定量（たとえば、1回あたりの摂取量または投与量等）を1単位とし、該1単位または2単位以上が一つの容器に充填され、または包装体に包装される等して収容された形態をいい、たとえば、1回あたりの摂取量または投与量を1単位とする単位包装形態は、「1回あたりの摂取量または投与量単位の包装形態」と称する。単位包装形態に用いられる容器または包装体は、本発明の組成物の形態等に応じて適宜選択し得るが、たとえば、紙製の容器または袋体、プラスチック製の容器または袋体、パウチ、アルミ缶、スチール缶、ガラス瓶、ペットボトル、PTP（press through pack）包装シート等が挙げられる。

[0051] 本発明の組成物の適用対象としては、哺乳動物（たとえば、ヒト、サル、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、ロバ、ブタ、ヒツジ等）や、鳥類（たとえば、アヒル、ニワトリ、ガチョウ、七面鳥等）等が挙げられる。

本発明の組成物をヒト以外の適用対象動物（以下、単に「対象動物」ともいう）に適用する場合、本発明の組成物の摂取量または投与量は、対象動物の種類、性別、体重等に応じて適宜設定すればよい。

[0052] 本発明の組成物は、認知機能の改善作用を有し、学習力・記憶力の低下、学習・記憶障害をはじめ認知機能の低下による種々の症状または障害の予防または改善に有効である。

また、本発明の組成物は、不安様症状の改善作用を有し、不安、焦燥等の不安様症状の発現の予防または前記症状の軽減に有効である。

特に、認知機能の低下に伴い、もしくは認知機能の低下と前後して現れる

不安様症状の発現の予防または前記症状の軽減に有効である。

さらにまた、本発明の組成物は、脳の萎縮を抑制する作用を有し、アルツハイマー型認知症等の神経変性疾患において観察される脳萎縮や、加齢に伴い出現、進行する脳萎縮等を抑制し、これらに起因する認知機能の低下の改善に有効である。

特に、本発明の組成物は、食品中に含有され、食経験も豊富なアミノ酸を有効成分とするため、安全性が高く、継続した摂取または投与に適するため、加齢等に伴い、慢性的に進行する認知機能低下の予防または改善、長期間持続する不安様症状の改善、あるいは脳萎縮の出現、進行の抑制に適する。

[0053] 従って、本発明の組成物は、認知機能低下による症状または障害を呈する者や、認知機能の改善の求められる高齢者や中・壮年者等に対し、好適に摂取させまたは投与され得る。

また、本発明の組成物は、上記した不安様症状を呈する者や、上記不安様症状を発現するおそれのある高齢者や中・壮年者等に、好適に摂取させまたは投与され得る。

さらにまた、本発明の組成物は、アルツハイマー型認知症等、脳萎縮の出現、進行が観察される神経変性疾患の患者や、脳萎縮が出現し、進行する可能性の高い高齢者等に、好適に摂取させまたは投与され得る。

[0054] 本発明の組成物は、そのまま、またはさらに上記した薬学的に許容される添加剤を加えて、医薬品（以下、本明細書において「本発明の医薬品」とも称する）として提供することができる。

本発明の医薬品は、錠剤、被覆錠剤、チュアブル錠、丸剤、（マイクロ）カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、エリキシル剤、リモナーゼ剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤、経口ゼリー剤等の経口製剤、溶液状、懸濁液状、乳液状等の注射剤、用時溶解または懸濁して用いる固形状の注射剤、輸液剤、持続性注射剤等の注射用製剤、経管液剤等の剤形とすることができる。

[0055] 本発明の医薬品には、本発明の特徴を損なわない範囲で、抗認知症薬を含有させることができる。

かかる抗認知症薬としては、塩酸ドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン等のアセチルコリンエステラーゼ阻害薬；メマンチン等のNMDA受容体拮抗薬等が挙げられ、通常の用法、用量に従って用いることができる。

[0056] 本発明の医薬品は、認知機能低下による症状や障害を呈する患者や前記症状や障害を呈するおそれのある患者、認知機能低下の認められる高齢者や中・壮年者等に好適に投与され得る。

また、本発明の医薬品は、認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状を呈する患者や、前記不安様症状を呈する高齢者や中・壮年者等に好適に投与され得る。

さらにまた、本発明の医薬品は、アルツハイマー型認知症等、脳萎縮の出現、進行が観察される神経変性疾患の患者や、前記神経変性疾患に罹患するおそれのある高齢者や中・壮年者、脳萎縮が出現し、進行する可能性の高い高齢者等に、好適に摂取させまたは投与され得る。

本発明の医薬品は、上記適用対象に対し、1日あたりに、ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上（すなわちロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方）の総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方ならびにリシンの総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）、または、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）が、上記した1日あたりの投与量となるように、投与される。

[0057] さらに、本発明の組成物は、各種食品に添加して摂取させることができる。本発明の組成物が添加される食品は特に制限されず、一般的に食事やデザートに供される形態の食品であれば如何なるものでもよい。

たとえば、本発明の組成物を清涼飲料水等の飲料に添加し、所望により適

当な風味を加えて、ドリンク剤とすることができる。

より具体的には、本発明の組成物は、たとえば、果汁飲料、スポーツ飲料等の清涼飲料水；牛乳、ヨーグルト等の乳製品；ゼリー、チョコレート、キャンディ、ビスケット等の菓子等に添加することができる。

[0058] 本発明の組成物は、1日あたりに摂取される量の上記各種食品に対し、ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上（すなわちロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方）の総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方ならびにリシンの総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）、または、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）が、上記した1日あたりの摂取量となるように添加されることが好ましい。

[0059] また、本発明の組成物は、そのまま、または必要に応じて一般的な食品添加物を加えて、通常の商品製造技術により、食品（以下、本明細書において「本発明の食品」とも称する）として提供することができる。

本発明の食品は、溶液状、懸濁液状、乳状等の液状；ゲル状、クリーム状等の半固形状；粉末状、顆粒状、シート状、カプセル状、タブレット状等の固形状等、種々の形態とすることができる。

さらに、本発明の食品は、本発明の組成物を各種食品原材料に加え、必要に応じて一般的な食品添加物を加えて、清涼飲料水（果汁飲料、スポーツ飲料、コーヒー飲料、茶系飲料等）、乳製品（乳酸菌飲料、発酵乳、バター、チーズ、ヨーグルト、加工乳、脱脂乳等）、畜肉製品（ハム、ソーセージ、ハンバーグ等）、魚肉練り製品（蒲鉾、竹輪、さつま揚げ等）、卵製品（だし巻き卵、卵豆腐等）、菓子（クッキー、ゼリー、チューイングガム、キャ

ンディ、スナック菓子、冷菓等)、パン、麺類、漬物、干物、佃煮、スープ、調味料等、種々の形態の食品とすることができ、瓶詰め食品、缶詰食品、レトルトパウチ食品であってもよい。

[0060] 上記食品添加物としては、製造用剤(かんすい、結着剤等)、増粘安定剤(キサンタンガム、カルボキシメチルセルロースナトリウム等)、ゲル化剤(ゼラチン、寒天、カラギーナン等)、ガムベース(酢酸ビニル樹脂、ジェルトン、チクル等)、乳化剤(グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、サポニン、レシチン等)、保存料(安息香酸、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、 ϵ -ポリリシン等)、酸化防止剤(アスコルビン酸、エリソルビン酸、カテキン等)、光沢剤(セラック、パラフィンワックス、ミツロウ等)、防かび剤(チアベンダゾール、フルジオキソニル等)、膨張剤(炭酸水素ナトリウム、グルコノ δ -ラクトン、ミョウバン等)、甘味料(アスパルテーム、アセスルファムカリウム、カンゾウ抽出物等)、苦味料(カフェイン、ナリンジン、ニガヨモギ抽出物等)、酸味料(クエン酸、酒石酸、乳酸等)、調味料(Ｌ-グルタミン酸ナトリウム、5'-イノシン酸二ナトリウム等)、着色料(アナトー色素、ウコン色素、クチナシ色素等)、香料(アセト酢酸エチル、アニスアルデヒド等の合成香料、オレンジ、ラベンダー等の天然香料)等が挙げられる。

本発明において、上記食品添加物は、1種または2種以上を用いることができる。

[0061] 本発明の食品は、認知機能低下の見られる高齢者や中・壮年者等、認知機能低下のおそれのある高齢者や中・壮年者等、さらには、認知機能低下の防止を目的として、幅広い対象者に好適に摂取させ得る。

また、本発明の食品は、認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状を呈する高齢者や中・壮年者等、前記不安様症状を発現するおそれのある高齢者や中・壮年者等、さらには、前記不安様症状の発現の予防を目的として、幅広い対象者に摂取させることができる。

さらにまた、本発明の食品は、アルツハイマー型認知症等、脳萎縮の出現

、進行が観察される神経変性疾患の患者や、前記神経変性疾患に罹患するおそれのある高齢者や中・壮年者、脳萎縮が出現し、進行する可能性の高い高齢者等に対し、脳萎縮の出現や進行の抑制を目的として、幅広く摂取させることができる。

[0062] 従って、本発明の食品は、認知機能の改善用もしくは不安様症状の改善用、または脳萎縮の抑制用の特定保健用食品、栄養機能食品、機能性表示食品等の保健機能食品、病者用食品、高齢者用食品等の特別用途食品、健康補助食品等としても提供され得る。

[0063] 本発明の食品は、上記適用対象に、1日あたりに、ロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上（すなわちロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方）の総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方ならびにリシンの総量（遊離体に換算した量の総量）、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）、または、ロイシンおよびフェニルアラニンのいずれかまたは双方、リシン、ならびにバリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上の総量（遊離体に換算した量の総量）が、上記した1日あたりの摂取量となるように摂取させることが好ましい。

[0064] さらに本発明は、認知機能を改善する必要がある対象動物の認知機能の改善方法（以下、本明細書において「本発明の方法」ともいう）をも提供する。

[0065] 本発明の方法は、認知機能を改善する必要がある対象動物に、7種のアミノ酸の総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシンおよび20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を、当該対象動物の認知機能を改善するのに有効な量摂取させること、または投与することを含む。

本発明の方法においては、上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンの双方を含有する組成物を摂取させること、または投与することが好ましく、上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上に加えて、さらに7種のアミノ酸の総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する組成物を摂取させること、または投与することがより好ましく、上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンならびにリシンを含有する組成物を摂取させること、または投与することがさらに好ましい。

また、本発明の方法において、上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上、または上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上およびリシンに加えて、さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物を摂取させること、または投与することが好ましい。

認知機能の改善効果の観点からは、本発明の方法において、上記組成比のロイシン、フェニルアラニンおよびリシンと、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上とを含有する組成物を摂取させること、または投与することがより好ましく、上記組成比のロイシン、フェニルアラニンおよびリシンと、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンとを含有する組成物を摂取させること、または投与することが特に好ましい。

[0066] 本発明の方法において、対象動物に摂取させまたは投与する組成物におけるバリンの含有量は、7種のアミノ酸の総含有量に対し2モル%～7モル%とすることが好ましく、4モル%～6モル%とすることがより好ましい。

対象動物に摂取させまたは投与する組成物におけるイソロイシンの含有量は、7種のアミノ酸の総含有量に対し、5モル%～15モル%とすることが好ましく、7モル%～13モル%とすることがより好ましい。

対象動物に摂取させまたは投与する組成物におけるヒスチジンの含有量は

、7種のアミノ酸の総含有量に対し、2モル%～10モル%とすることが好ましく、2.5モル%～8モル%とすることがより好ましい。

対象動物に摂取させまたは投与する組成物におけるトリプトファンの含有量は、7種のアミノ酸の総含有量に対し、0.1モル%～2モル%とすることが好ましく、0.3モル%～1モル%とすることがより好ましい。

[0067] 本発明の方法における対象動物としては、哺乳動物（たとえば、ヒト、サル、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、ロバ、ブタ、ヒツジ等）や、鳥類（たとえば、アヒル、ニワトリ、ガチョウ、七面鳥等）等が挙げられる。

[0068] 本発明の方法は、学習力・記憶力の低下、学習・記憶障害等、認知機能の低下により生じる種々の症状や障害の予防または改善に有効である。

また、本発明の方法は、不安様症状の改善、すなわち、不安、焦燥等の不安様症状の発現の予防または前記不安様症状の軽減に有効であり、認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状の発現の予防または前記不安様症状の軽減に特に有効である。

さらにまた、本発明の方法は、アルツハイマー型認知症等の神経変性疾患において観察される脳萎縮や、加齢に伴い出現し、進行する脳萎縮等の抑制に有効であり、それゆえ、これらに起因する認知機能の低下の改善に有効である。

特に、本発明の方法は、食品中に含有され、食経験も豊富なアミノ酸を有効成分とするため、安全性が高く、継続して適用することができる。

[0069] ヒトの場合、本発明の方法は、認知機能低下による症状や障害を呈する患者や、認知機能低下のおそれのある高齢者や中・壮年者等、認知機能の低下の防止の求められる高齢者や中・壮年者等に対し、好適に適用される。

また、本発明の方法は、不安様症状を呈する高齢者や中・壮年者等、不安様症状を発現するおそれのある高齢者や中・壮年者等に対し好適に適用され、認知機能低下に伴い、もしくは認知機能低下と前後して現れる不安様症状を呈する高齢者や中・壮年者等、前記不安様症状を発現するおそれのある高

齢者や中・壮年者等に対し、特に好適に適用される。

さらにまた、本発明の方法は、アルツハイマー型認知症等、脳萎縮を呈することが知られている神経変性疾患の患者や、前記神経変性疾患に罹患するおそれのある高齢者や中・壮年者、脳萎縮を呈するおそれのある高齢者等に、好適に適用される。

[0070] 本発明の方法における上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物等の有効量は、対象動物の種類、年齢、性別、認知機能低下や脳内の病変等、または不安様症状の状況または程度等に応じて適宜決定されるが、本発明の組成物において、ヒトおよびヒト以外の対象動物について、上記した摂取量または投与量と同様の量を、上記した回数および期間にて摂取させまたは投与することができる。

[0071] さらに、本発明の方法における上記組成比のロイシンおよびフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する組成物等の摂取または投与方法としては、経口摂取または経口投与、経腸経管投与、輸液による投与等が挙げられるが、医療機関にて医師の指導監督下に行う必要がなく、簡便に摂取させることができることから、経口摂取または経口投与が好ましい。

実施例

[0072] 以下に本発明について、実施例によりさらに詳細に説明する。

[0073] [実施例1] 認知機能の改善用組成物

表1に示す組成となるように、各成分の所定量を秤量の後、混合して、実施例1の認知機能の改善用組成物（以下、「実施例1の組成物」という）を調製した。また、同様に、表1に示す組成の組成物を調製し、比較例1とした。

[0074]

[表1]

成 分	アミノ酸の総含有量に対する 組成比 (モル%)	
	実施例 1	比較例 1
L-ロイシン	36.10	20.32
L-リシン塩酸塩	18.42	20.54
L-バリン	5.02	4.06
L-イソロイシン	9.96	3.63
L-フェニルアラニン	26.09	17.72
L-ヒスチジン塩酸塩	3.89	33.13
L-トリプトファン	0.52	0.60
全量	100	100

[0075] [試験例 1] 学習・記憶機能に対する作用の検討

C 5 7 B 1 / 6 j 高齢マウス (5 8 週齢 ~ 6 1 週齢、雄性) (日本チャールス・リバー株式会社より購入) を用いて、実施例 1 および比較例 1 の各組成物の学習・記憶機能に対する作用について検討した。

C 5 7 B 1 / 6 j 高齢マウスは、表 2 に示す通り 4 群に分けた ($n = 12$ / 群)。通常タンパク質飼料 (カゼインを 20 重量%含有) を自由に摂取させた群には、溶媒のみを投与した (N P D + V e h.)。その他の 3 群には、低タンパク質飼料 (カゼインを 5 重量%含有) を自由に摂取させ、それぞれを溶媒のみを投与する群 (L P D + V e h.)、実施例 1 の組成物を投与する群 (L P D + E 1)、比較例 1 の組成物を投与する群 (L P D + C 1) とした。L P D + E 1 および L P D + C 1 には、1 g / k g 体重の実施例 1 の組成物 (E 1) および比較例 1 の組成物 (C 1) を、それぞれ 0.5 重量%メチルセルロース水溶液に溶解し、1 日 2 回 (朝夕)、2 ヶ月間連続して (週 5 日連続投与後 2 日休止のサイクル)、それぞれ強制経口投与した。N P D + V e h. および L P D + V e h. には、0.5 重量%メチルセルロース水溶液 (V e h i c l e) を、同様に投与した。

[0076]

[表2]

群	飼料	投与物
NPD+Veh.	カゼイン20重量%含有飼料	溶媒(0.5%重量メチルセルロース水溶液)
LPD+Veh.	カゼイン5重量%含有飼料	溶媒(0.5%重量メチルセルロース水溶液)
LPD+Q1	カゼイン5重量%含有飼料	比較例1の組成物を含有する試料
LPD+E1	カゼイン5重量%含有飼料	実施例1の組成物を含有する試料

[0077] 表2に示す各群のマウスについて、溶媒または実施例1および比較例1の各組成物を1ヶ月投与後および2ヶ月投与後に、受動回避試験(passive avoidance test)を下記の通り実施した。

(i) 暗室に電気刺激装置の設けられた明暗室から成る装置を用い、まずマウスを明室に入れ、マウスが暗室に入った際に、進入と同時に扉を閉め、電気刺激(1mA, 1秒間)を与えた。なお、マウスの尻尾の付け根が暗室へ入った時点を暗室への進入と定義した。

(ii) (i)を1度試行しその24時間後に、マウスを明室に入れ、マウスが暗室に進入するまでの時間(transfer latency time)を測定した。また、明室に最大評価時間である480秒間留まった個体の割合、すなわち、1回の電気刺激により、暗室は怖いと記憶した個体の割合(achievement by 1st ES)を求めた。

[0078] 溶媒または実施例1もしくは比較例1の組成物を1ヶ月投与した後に受動回避試験を行い、各群のマウスについて、暗室に進入するまでの時間(transfer latency time)(記憶時間)を測定した結果を、それぞれ12匹のマウスについての平均値+平均値の標準誤差にて、図1に示した。

また、1回の電気刺激により、暗室は怖いと記憶した個体の割合(achievement by 1st ES)(完全記憶個体率)を、図1に併せて示した。図中の数値は、各群において、1回目の試行の24時間後に、明室に300秒間留まったマウスの数を示す。

なお、1回目の試行の24時間後に測定した、暗室への進入に要した時間(transfer latency time)については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(NPD+Veh.)との間に一元配置分散分析およびダ

ネットの多重比較検定を実施した。また、1回の電気刺激により、暗室は怖いと記憶した個体の割合 (achievement by 1st ES) (完全記憶個体率) については、NPD+Veh. との間にカイ二乗検定を実施した。

[0079] 図1に示されるように、1回目の試行の24時間後に、暗室に進入するまでに要した時間 (transfer latency time)、すなわち記憶時間は、低タンパク質飼料により飼育し、溶媒のみを投与した群 (LPD+Veh.) では、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (NPD+Veh.) に比べて大幅に減少した ($p < 0.05$)。

そして、低タンパク質飼料に加えて、本発明の実施例1の組成物を経口投与した群 (LPD+E1) では、NPD+Veh. との間に有意な差が見られない程度にまで、記憶時間が回復することが認められた。

一方、低タンパク質飼料に加えて、比較例1の組成物を経口投与した群 (LPD+C1) では、記憶時間の回復は見られなかった。

また、1回の電気刺激により、暗室は怖いと記憶した個体の割合 (achievement by 1st ES)、すなわち完全記憶個体率についても、LPD+Veh. ではNPD+Veh. に比べて減少し、LPD+E1でNPD+Veh. と同程度にまで回復することが認められた。LPD+C1では、かかる回復は見られなかった。

[0080] [試験例2] 学習・記憶機能に対する作用の検討 (再現性試験)

C57BL/6j成熟マウス (19週齢、雄性) (日本チャールス・リバー株式会社より購入) を用いて、実施例1の組成物の学習・記憶機能に対する作用についてさらに検討した。

C57BL/6j成熟マウスを表3に示す4群 ($n = 12$ /群) に分け、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (NPD+Veh.)、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (LPD+Veh.)、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日1回 (1 g/kg 体重/回) 投与した群 (LPD+E1×1)、および低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日2回 (1 g/kg 体重/回) 投与した群 (LP

D + E 1 × 2) について、溶媒または実施例 1 の組成物を 1 ヶ月から 1. 5 ヶ月投与した後に、試験例 1 の場合と同様に受動回避試験を実施し、1 回目の試行の 24 時間後に暗室に進入するまでに要する時間 (transfer latency time) (記憶時間)、および 1 回の電気刺激により、暗室は怖いと記憶した個体の割合 (achievement by 1st ES) (完全記憶個体率) を求めた。1 ヶ月投与後に行った受動回避試験における記憶時間および完全記憶個体率について、それぞれ 12 匹のマウスについての平均値 + 平均値の標準誤差にて、図 2 に示した。記憶時間については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (NPD + Veh.) との間で一元配置分散分析およびダネットの多重比較検定を実施した。また、完全記憶個体率については、NPD + Veh. との間でカイ二乗検定を実施した。

[0081] [表3]

群	飼 料	投 与 物
NPD+Veh.	カゼイン20重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)
LPD+Veh.	カゼイン5重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)
LPD+E1 × 1	カゼイン5重量%含有飼料	実施例1の組成物を含有する試料、1日1回投与
LPD+E1 × 2	カゼイン5重量%含有飼料	実施例1の組成物を含有する試料、1日2回投与

[0082] 図 2 に示されるように、成熟マウスにおいても、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (LPD + Veh.) では、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (NPD + Veh.) に比べて、記憶時間および完全記憶個体率の有意な ($p < 0.05$ および $p < 0.1$) 低下を認めた。低タンパク質飼料で飼育し、実施例 1 の組成物を投与した群 (LPD + E1 × 1 および LPD + E1 × 2) では、低タンパク質飼料で飼育することにより低下した記憶時間および完全記憶個体率の双方が、通常タンパク質飼料で飼育した場合と有意な差が見られない程度に回復したことが認められた。

また、本発明の実施例 1 の組成物を含有する試料は、1 日 1 回の投与でも、1 日 2 回投与した場合と同程度の効果が認められた。

[0083] 上記試験例 1、2 の結果から、本発明の実施例 1 の組成物は、低タンパク質食の摂取により引き起こされる学習・記憶機能の低下を抑制し、改善する

ことが示唆された。

[0084] [試験例3] 不安・焦燥および多動症状に対する作用の検討

本発明の実施例1の組成物および比較例1の組成物の不安・焦燥および多動症状に対する作用について、C57BL/6j高齡マウス（58週齡～61週齡、雄性）（日本チャールス・リバー株式会社より購入）を用い、高架式十字迷路試験により評価した。

C57BL/6j高齡マウスを表2に示す通り群分けし（ $n=12$ /群）、各群について、実施例1および比較例1の各組成物または溶媒を1ヶ月投与後および2ヶ月投与後に、下記の通り、高架式十字迷路試験を実施した。

すなわち、各群のマウスを、それぞれ高架式十字迷路のニュートラルゾーンに置き、マウスの行動を8分間観察した。マウスが壁のない走路（開放アーム）に進入した回数と、走路内における移動距離を、ビデオトラッキング行動解析ソフトSmart3.0（Panlab社）を用いて解析し、開放アーム進入回数（開放アーム滞在率）および総移動距離を算出した。開放アーム滞在率は不安・焦燥症状の指標となり、総移動距離は多動症状の指標となる。2ヶ月投与後の開放アーム滞在率および1ヶ月投与後の総移動距離を、平均値＋平均値の標準誤差にて図3に示した。なお、開放アーム進入回数については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群（NPD+Veh.）と他の各群との間で一元配置分散分析およびダネットの多重比較検定を実施した。総移動距離については、NPD+Veh.と低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群（LPD+Veh.）との間、ならびにLPD+Veh.と低タンパク質飼料で飼育し、本発明の実施例1の組成物を投与した群（LPD+E1）、および低タンパク質飼料で飼育し、比較例1の組成物を投与した群（LPD+C1）のそれぞれとの間で、一元配置分散分析およびダネットの多重比較検定を実施した。

[0085] 図3に示されるように、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群（LPD+Veh.）では、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群（NPD+Veh.）に比べて、開放アーム進入回数、総移動距離

がともに有意に ($p < 0.05$) 上昇した。

一方、低タンパク質飼料で飼育し、本発明の実施例1の組成物を投与した群 (LPD+E1) では、開放アーム進入回数は、NPD+Veh. と有意差の見られない程度の上昇にとどまり、総移動距離は、LPD+Veh. に比べて有意に ($p < 0.05$) 低下した。

なお、低タンパク質飼料で飼育し、比較例1の組成物を投与した群 (LPD+C1) についても、LPD+E1と同様の結果が得られた。

[0086] [試験例4] 不安・焦燥および多動症状に対する作用の検討 (再現性試験)

C57BL/6j 成熟マウス (19週齢、雄性) (日本チャールス・リバー株式会社より購入) を用いて、実施例1の組成物の焦燥・不安および多動症状に対する作用について、高架式十字迷路試験により評価した。

C57BL/6j 成熟マウスを表3に示す通り群分けし ($n = 12$ /群)、実施例1の組成物および溶媒をそれぞれ1ヶ月~1.5ヶ月投与した後に、各群のマウスをそれぞれ高架式十字迷路のニュートラルゾーンに置き、8分間行動を観察して、試験例3の場合と同様に開放アーム進入回数および総移動距離を求め、1ヶ月投与後の開放アーム進入回数の評価結果について、平均値+平均値の標準誤差にて、図4に示した。

なお、総移動距離については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (NPD+Veh.) についても、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群 (LPD+Veh.) と同程度の増加が認められ、実施例1の組成物の効果を評価することができなかった。

図4に示す結果については、NPD+Veh. とLPD+Veh. との間、ならびに、LPD+Veh. と、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日1回 (1g/kg体重/回) 投与した群 (LPD+E1×1)、および低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日2回 (1g/kg体重/回) 投与した群 (LPD+E1×2) との間で、一元配置分散分析およびダネットの多重比較検定を実施した。

[0087] 図4に示されるように、不安・焦燥の指標となる開放アーム進入回数は、 $LPD+Veh.$ では、 $NPD+Veh.$ に比べて有意に($p<0.05$)上昇した。

一方、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日1回投与した群($LPD+E1\times1$)では、開放アーム進入回数の減少が認められ、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を1日2回投与した群($LPD+E1\times2$)では、開放アーム進入回数は有意に($p<0.05$)減少した。すなわち、実施例1の組成物の投与による開放アーム進入回数の減少は、実施例1の組成物の用量に依存することが示された。

[0088] 試験例3の結果より、本発明の実施例1の組成物は、不安・焦燥症状および多動を抑制することが示唆され、試験例4の結果より、本発明の実施例1の組成物は、不安・焦燥症状を用量依存的に抑制することが示唆された。

[0089] [試験例5] 脳内神経伝達物質濃度に及ぼす効果の検討

試験例1および試験例3において、受動回避試験および高架式十字迷路試験による各評価を行った後、各群のマウスを解剖し、前頭前皮質内における神経伝達物質(ドーパミン、ノルエピネフリン、グルタミン酸)濃度を高速液体クロマトグラフ(HPLC)法および液体クロマトグラフィー質量分析(LC/MS)法を用いて測定した。ドーパミンおよびグルタミン酸の各濃度の測定結果については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群($NPD+Veh.$)と、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群($LPD+Veh.$)との間、ならびに、 $LPD+Veh.$ と、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を投与した群($LPD+E1$)、および低タンパク質飼料で飼育し、比較例1の組成物を投与した群($LPD+C1$)の各群との間で、また、ノルエピネフリン濃度の測定結果については、 $NPD+Veh.$ と $LPD+Veh.$ との間、ならびに、 $NPD+Veh.$ と $LPD+E1$ および $LPD+C1$ の各群との間で、一元配置分散分析およびテューキー(Tukey)の多重比較検定を実施した。結果は、平均値+平均値の標準誤差にて、図5に示した。

[0090] 図5に示されるように、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(LPD+Veh.)では、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(NPD+Veh.)に比べて、脳内のドーパミン、ノルエピネフリンおよびグルタミン酸の各濃度が低下したことが認められた(それぞれ $p < 0.05$ で有意、 $p < 0.01$ で有意、 $p = 0.21$ で有意傾向)。

一方、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を投与した群(LPD+E1)では、LPD+Veh.群に比べて、脳内ドーパミン濃度およびグルタミン酸濃度の有意な上昇が認められ(それぞれ $p < 0.001$ および $p < 0.05$ で有意)、脳内ノルエピネフリン濃度については、NPD+Veh.群と有意差のない程度に上昇したことが認められた。

[0091] 試験例5において、低タンパク質飼料で飼育した群で低下したドーパミン、ノルエピネフリンおよびグルタミン酸は、いずれも認知症患者にて減少することが知られた脳内神経伝達物質である。

試験例5の結果より、本発明の組成物が、脳内神経伝達物質の減少を改善し、認知機能を改善する可能性が示唆された。

[0092] [試験例6] 脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子発現に及ぼす影響の検討

脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor、BDNF)は神経栄養因子ファミリーに属するタンパク質の1つであり、脳・神経系において、神経細胞の生存や神経ネットワークの形成、さらには記憶の固定化などの高次脳機能の発現といった多岐にわたる機能を有する。また、認知症を含む様々な神経変性疾患や精神疾患において、BDNF発現量の減少が認められており、BDNFの発現を誘導する薬物、あるいはそれを含む組成物には、神経変性疾患や精神疾患により低下した脳機能を改善する作用が期待される。

そこで、上記した本発明の実施例1の組成物について、BDNF遺伝子の発現に及ぼす影響を検討した。

上記試験例1および試験例3において、受動回避試験および高架式十字迷

路試験による各評価を行った後、各群のマウスを解剖して大脳皮質組織を得、当該大脳皮質組織におけるBDNF遺伝子の発現量を、RT-qPCR法により、mRNA発現量の変化を測定することで検討した。

試験例1および試験例3における各評価終了後に、表4に示す各群のマウス(n=6/群)より取得した大脳皮質組織から、RNA抽出キット(「RNeasy Mini Kit」(キアゲン社))を用いてRNAを抽出し、逆転写反应用プレミックス試薬(「Prime Script (商標) RT Master Mix」(タカラバイオ株式会社))を用いて逆転写反応を行った。得られたDNA産物について、リアルタイムPCR用キット(「SYBR (登録商標) Select Master Mix」(アプライドバイオシステムズ社))を用いてBDNF mRNA発現量の変化を解析した。

測定結果については、通常タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(NPD+Veh.)と、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(LPD+Veh.)、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を投与した群(LPD+E1)との間でBDNF発現量を比較して、NPD+Veh.に対する比を求め、各群それぞれ6匹のマウスの平均値+平均値の標準誤差にて、図6に示した。統計解析は3群間の比較について行い、一元配置分散分析およびダネットの多重比較検定を実施した。

[0093] [表4]

群	飼料	投与物
NPD+Veh.	カゼイン20重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)(1日2回)
LPD+Veh.	カゼイン5重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)(1日2回)
LPD+E1	カゼイン5重量%含有飼料	実施例1の組成物の0.5重量%メチルセルロース水溶液による溶液(1g/Kg体重/回、1日2回)

[0094] 図6に示されるように、低タンパク質飼料で飼育し、実施例1の組成物を投与した群(LPD+E1)では、低タンパク質飼料で飼育し、溶媒のみを投与した群(LPD+Veh.)に比べて、BDNF遺伝子の発現量が有意に($p<0.05$)高値であった。

[0095] 試験例6の上記結果より、本発明の実施例1の組成物が、BDNF遺伝子発現を誘導し、低下した認知機能を改善し得る可能性が示唆された。

[0096] [試験例 7] アルツハイマー型認知症モデルマウスの脳萎縮に及ぼす影響の検討

アルツハイマー型認知症をはじめ、多くの神経変性疾患の患者では、神経細胞やグリア細胞において、線維化したタウタンパク質の凝集体が観察される。r T g 4 5 1 0 系統のトランスジェニックマウスは、かかるタウタンパク質を神経細胞にて特異的に発現するように形質転換されたマウスであり、加齢に伴い脳萎縮を呈することが知られており、アルツハイマー型認知症のモデルマウスとして用いられる。

そこで、r T g 4 5 1 0 マウスおよびそのリッターメイトコントロールマウスを用いて、実施例 1 の組成物が脳萎縮に対して及ぼす影響について検討した。

3 カ月齢の雄性 r T g 4 5 1 0 マウスおよびリッターメイトコントロールマウスは、表 5 に示す通り 3 群に分け (n = 3 ~ 4 / 群)、通常タンパク質飼料 (カゼインを 2 0 重量%含有) を自由に摂食させて飼育した。r T g 4 5 1 0 マウスの一方の群には、実施例 1 の組成物を 0. 5 重量%メチルセルロース水溶液に溶解して、1 日 2 回 (1 g / k g 体重 / 回) 強制経口投与し (r T g 4 5 1 0 + E 1)、r T g 4 5 1 0 マウスの一方の群およびリッターメイトコントロールマウスの群には、溶媒 (0. 5 重量%メチルセルロース水溶液) のみを投与した (r T g 4 5 1 0 + V e h. および C t r l + V e h.)。

試験開始時および、溶媒または実施例 1 の組成物を 3. 5 カ月間投与した後に、小動物用 7. 0 テスラ M R I (B r u k e r 社) を用いて各マウスの脳内の磁気共鳴画像データを取得し、画像解析ソフト「P m o d 3. 7」(ピーモッドテクノロジーズ社 (P m o d T e c h n o l o g i e s L t d .)) を使用して、大脳皮質の体積を算出した。各群について、溶媒または実施例 1 の組成物を 3. 5 カ月間投与した後の大脳皮質体積値の、試験開始時 (3 カ月齢) の大脳皮質体積値に対する変化量を求め、それぞれ 3 ~ 4 匹のマウスの平均値 ± 平均値の標準誤差にて、図 7 に示した。統計解析は、3

群間の比較について、一元配置分散分析およびテューキーの多重比較検定を実施して行った。

[0097] [表5]

群	飼料	投与物
Ctrl+Veh.	カゼイン20%重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)(1日2回)
rTg4510+Veh.	カゼイン20%重量%含有飼料	溶媒(0.5重量%メチルセルロース水溶液)(1日2回)
rTg4510+E1	カゼイン20%重量%含有飼料	実施例1の組成物の0.5重量%メチルセルロース水溶液による溶液(1g/Kg体重/回、1日2回)

[0098] 図7に示されるように、rTg4510マウスに溶媒のみを投与した群(rTg4510+Veh.)では、リッターメイトコントロールマウスに溶媒のみを投与した群(Ctrl+Veh.)に比べて、大脳皮質体積値が有意に($p < 0.01$)低下することが認められた。

一方、rTg4510マウスに実施例1の組成物を投与した群(rTg4510+E1)では、rTg4510マウスに溶媒のみを投与した群(rTg4510+Veh.)に比べて、大脳皮質体積値の低下が有意に($p < 0.05$)改善され、リッターメイトコントロールマウスに溶媒のみを投与した群(Ctrl+Veh.)と比較して、大脳皮質体積値に有意差は認められなかった。

[0099] 試験例7の上記結果より、本発明の実施例1の組成物が、アルツハイマー型認知症患者等において観察される脳萎縮を抑制し得ることが示唆された。

[0100] [実施例2] 認知機能の改善用組成物

表6に示す組成となるように、各成分の所定量を秤量の後、混合して、実施例2の認知機能の改善用組成物(以下、「実施例2の組成物」という)を調製した。

[0101]

[表6]

成 分	アミノ酸の総含有量 に対する 組成比 (モル%)
L-ロイシン	36.05
L-リシン塩酸塩	18.43
L-バリン	5.06
L-イソロイシン	9.97
L-フェニルアラニン	26.05
L-ヒスチジン塩酸塩	3.92
L-トリプトファン	0.52
全量	100

[0102] [試験例8] ヒトにおける認知機能に対する実施例2の組成物の効果の検討

下記の通り、ヒトによる臨床試験を実施して、ヒトにおける認知機能に対する実施例2の組成物の効果を検討した。

(1) 試験食品の調製

表7に示す通り、実施例2の組成物3.0gを含有する顆粒（アクティブ1）、および実施例2の組成物1.5gを含有する顆粒（アクティブ2）と、前記顆粒において、実施例2の組成物の代わりに、デキストリン、コーンスターチ、乳糖を含有し、アミノ酸やタンパク質等を含有しない顆粒（プラセボ1）を、常法に従って調製した。

[0103] [表7]

試験食品	総量(g)	成 分
アクティブ1	4.0	実施例2の組成物3.0g＋賦形剤1.0g
アクティブ2	4.0	実施例2の組成物1.5g＋賦形剤2.5g
プラセボ1	4.0	実施例2の組成物の代わりにデキストリン、コーンスターチおよび乳糖を含有。アミノ酸およびタンパク質を含有しない。

[0104] (2) 被験者

認知機能は健常である、すなわち、認知症等、病的な異常は認められないが、日本語版Mini Mental State Examination (MMSE-J) による認知機能検査で26点以上であり、かつ日本語版Montreal Cognitive Assessment (MoCA-J) による検査では30点未満であって、さらに物忘れの自覚を有する、または、物忘れを他人に指摘されたことがある55歳以上の男女105名（男性54名、女性51名、平均年齢=64.3±5.0歳）を被験者とした。

[0105] (3) 臨床試験

被験者をランダムに3群（アクティブ1を摂取する被験食品中用量群、アクティブ2を摂取する被験食品低用量群、プラセボ1を摂取する対照食品群）に分け、各試験食品摂取前に認知機能検査（Trail Making Test B (TMT-B)）を実施し、完遂に要する時間を測定し、ベースライン値とした。その後、表7に示す試験食品を二重盲検下にて1日2包、午前と午後にそれぞれ1包ずつ、空腹時に摂取させ、摂取12週間後に同様にTMT-Bを実施し、完遂に要する時間を測定した。

[0106] なお、上記臨床試験の各群の被験者において、表8に示されるように、性別、年齢、教育年数、認知機能に関連するWHO-5-J精神的健康状態の得点および老研式活動能力指標の各点数について、3群間で有意な差は見られなかった。

[0107]

[表8]

	中用量群 n=33	低用量群 n=35	対照群 n=35	p
性別:男性の割合(人)	16 (48.5)	18 (51.4)	18 (51.4)	n.s.
年齢(歳)	64.1 (5.9)	64.1 (5.0)	64.5 (4.2)	n.s.
教育年数(年)	14.6 (2.4)	15.1 (1.8)	14.7 (2.2)	n.s.
WHO-5精神的健康状態表における得点(点)	13.0 (4.0)	13.3 (3.9)	12.7 (3.0)	n.s.
老研式活動能力指標				
手段的ADLの得点(点)	5.0 (0.0)	5.0 (0.0)	5.0 (0.0)	n.s.
知的ADLの得点(点)	3.8 (0.5)	3.7 (0.6)	3.5 (0.7)	n.s.
社会的ADLの得点(点)	3.7 (0.5)	3.3 (1.0)	3.4 (0.9)	n.s.

* ; 表中のかっこ内の数値は、標準偏差値を示す。

[0108] (4) 結果

各群のTMT-Bの変化量、すなわち、12週間後の値からベースライン値を引いた値を算出し、図8に示した。

TMT-Bは、前頭葉機能障害を評価する試験として開発され、1から13の数字と、「あ」から「し」までの平仮名を、数字と平仮名を交互にかつ順番に結ぶ時間を測定する試験であり、特に注意機能、実行機能（柔軟性）等々を評価できる試験である。それゆえ、本試験の結果は、日常生活において、たとえば、てきぱきと作業をこなすことができるか否か等を評価した結果と解釈することができる。従って、TMT-Bの変化量が負の値になるほど、より注意機能、実行機能（柔軟性）等が改善されたことを意味する。

図8において、対照食品群（プラセボ1）におけるTMT-B変化量（秒）の平均値は-2.44、標準偏差は25.77、被験食品低用量群（アクティブ2）の平均値は-0.44、標準偏差は23.49、被験食品中用量群（アクティブ1）の平均値は-17.00、標準偏差は33.20であった。なお、プラセボ1とアクティブ1およびアクティブ2の各群との間で、対応のないt検定を実施した。

その結果、プラセボ1とアクティブ2間では有意な差は見られなかったが、プラセボ1とアクティブ1との間においては、有意な差（ $P = 0.049$ ）が見られた。

[0109] 試験例8の上記の結果から、認知機能のうち、TMT-Bの試験結果が指標となる注意機能、実行機能等において、被験食品中用量の摂取の介入効果があることが示された。

従って、本発明の組成物が、認知症等、病的な認知機能障害には至らないが、健常者において観察される認知機能低下、たとえば集中力の低下、思考力の低下、作動記憶（情報の保持と処理を並列的に遂行する機能）の低下等の改善において有効であることが示唆された。

産業上の利用可能性

[0110] 以上詳述したように、本発明により、認知機能の改善用組成物を提供することができる。

本発明の認知機能の改善用組成物は、認知機能を有効に改善し、認知機能の低下により生じる種々の症状または障害の予防または改善に有効である。

また、本発明の認知機能の改善用組成物は、不安様症状の改善用組成物としても機能し、認知機能の低下に伴い、もしくは認知機能の低下と前後して現れる不安様症状の発現の防止または軽減にも有効である。

さらにまた、本発明の認知機能の改善用組成物は、脳萎縮の抑制用組成物としても機能し、アルツハイマー型認知症等の神経変性疾患において観察される脳の萎縮や、加齢により出現、進行する生理的な脳の萎縮の抑制、および、かかる脳萎縮に起因する認知機能の低下の改善に有効である。

特に、本発明の認知機能の改善用組成物は、安全性が高く、継続した摂取または投与に適する。

[0111] 本願は、日本国で出願された特願2018-038950を基礎としており、その内容は本明細書にすべて包含されるものである。

請求の範囲

- [請求項1] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、認知機能の改善用組成物。
- [請求項2] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項1または2に記載の組成物。
- [請求項4] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項3に記載の組成物。
- [請求項5] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、請求項3または4に記載の組成物。
- ロイシン 25モル%～45モル%、
- フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
- リシン 10モル%～30モル%、
- バリン 2モル%～7モル%、
- イソロイシン 5モル%～15モル%、
- ヒスチジン 2モル%～10モル%、および
- トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

- [請求項6] 医薬品である、請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項7] 食品である、請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項8] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、不安様症状の改善用組成物。
- [請求項9] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、請求項8に記載の組成物。
- [請求項10] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項8または9に記載の組成物。
- [請求項11] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項10に記載の組成物。
- [請求項12] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、請求項10または11に記載の組成物。
- ロイシン 25モル%～45モル%、
フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
リシン 10モル%～30モル%、
バリン 2モル%～7モル%、
イソロイシン 5モル%～15モル%、
ヒスチジン 2モル%～10モル%、および

- トリプトファン 0.1モル%～2モル%。
- [請求項13] 医薬品である、請求項8～12のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項14] 食品である、請求項8～12のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項15] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、25モル%～45モル%のロイシン、および20モル%～40モル%のフェニルアラニンからなる群より選択される1種以上を含有する、脳萎縮の抑制用組成物。
- [請求項16] さらに、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、10モル%～30モル%のリシンを含有する、請求項15に記載の組成物。
- [請求項17] さらに、バリン、イソロイシン、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項15または16に記載の組成物。
- [請求項18] ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、2モル%～7モル%のバリン、5モル%～15モル%のイソロイシン、2モル%～10モル%のヒスチジンおよび0.1モル%～2モル%のトリプトファンからなる群より選択される1種以上を含有する、請求項17に記載の組成物。
- [請求項19] 下記アミノ酸を、ロイシン、リシン、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ヒスチジンおよびトリプトファンの総含有量に対して、下記含有量で含有する、請求項17または18に記載の組成物。
- ロイシン 25モル%～45モル%、
- フェニルアラニン 20モル%～40モル%、
- リシン 10モル%～30モル%、
- バリン 2モル%～7モル%、
- イソロイシン 5モル%～15モル%、

ヒスチジン 2モル%～10モル%、および
トリプトファン 0.1モル%～2モル%。

[請求項20] 医薬品である、請求項15～19のいずれか1項に記載の組成物。

[請求項21] 食品である、請求項15～19のいずれか1項に記載の組成物。