

明 細 書

発明の名称：肺炎球菌感染予防剤

技術分野

[0001] 本発明は、肺炎球菌感染予防剤、すなわち肺炎球菌の感染を予防し、その感染時の重篤化を防止や抑制する組成物を提供する。

背景技術

[0002] 肺炎レンサ球菌の*Streptococcus pneumoniae*は、肺炎球菌とも呼ばれ、それに感染すると、肺炎などの呼吸器の感染症や全身性の感染症を引き起こす。特に、高齢者や乳幼児などでは、肺炎球菌の感染によって致死に至るケースが多い。なお、肺炎球菌の感染時には、ペニシリン系の抗生物質が投与される。また、肺炎球菌の感染予防時には、ワクチンが投与されるのが一般的である。

[0003] しかしながら、抗生物質の投与では、耐性菌の出現により、十分な治療効果が望めない場合がある。また、ワクチンの投与では、副作用の可能性があり、高額な費用が掛かるという欠点も存在する。従って、肺炎球菌の感染を予防し、肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する安全かつ安価な手段が望まれる。

[0004] 一方、近年、プロバイオティクスの活用の観点から微生物が有する生理的活性に着目された研究が数多く行われている。これらの中でも、ヨーグルトやチーズなどの製造に使用される乳酸菌は多様な生理的活性作用を有することから、その利用価値は高いと考えられている。例えば、ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) O L L 1 0 7 3 R - 1 は、酸性多糖を細胞外へ産生することで知られており、自己免疫疾患の予防効果（特許文献１）や皮膚改善作用（特許文献２）を有する。また、当該乳酸菌が産生する多糖は、NK細胞活性化作用（特許文献３）、抗ウイルス作用（特許文献４）を有し、肌のはりやキメの改善、抗がん治療やウイルス感染の予防や治療への貢献が期待

される。

- [0005] また、当該乳酸菌以外の乳酸菌も種々の生理活性を有することが報告されており、例えば、*Lactobacillus pentosus* strain b 2 4 0 の死菌体が、肺炎球菌性の肺炎において有意に肺内生菌数を減少させることも報告されている。（非特許文献 1）。しかしながら、この B 2 4 0 株以外の乳酸菌が肺炎球菌の感染を予防し、その感染時の重篤化の防止に寄与するとの報告は見当たらない。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開 2 0 0 0－2 4 7 8 9 5 号公報
特許文献2：特開 2 0 0 7－0 3 9 4 2 3 号公報
特許文献3：特開 2 0 0 5－1 9 4 2 5 9 号公報
特許文献4：国際公開 WO 2 0 1 1／6 5 3 0 0 号パンフレット

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：A. Tanaka et al., The Society for Applied Microbiology, 2011, 35-43

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 本発明は、上記の背景技術に鑑みてなされたものであって、常日頃から摂取することで、肺炎球菌の感染やその感染時の重篤化を防止や抑制する食品組成物又は医薬組成物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0009] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) O L L 1 0 7 3 R－1 の発酵物を含むことを特徴とする。

発明の効果

- [0010] 本発明に係る予防剤を摂取することで、肺炎球菌の感染が予防され、その

感染時の重篤化が防止や抑制される。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、感染後の生存率の比較を示す図である。

[図2]図2は、感染後の肺内生菌数の比較を示す図である。

[図3]図3は、上気道に定着した生菌数の比較を示す図である。

発明を実施するための形態

[0012] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) OLL1073R-1 (FERM BP-10741:以下では「ブルガリア菌R-1株」と称する。)の発酵物を有効成分とする。ブルガリア菌R-1株は公知であり、IPOD 独立行政法人 製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター(IPOD, NITE) (〒305-8566 日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6) に受託番号IPOD FERM BP-10741 (寄託日: 1999年2月22日) で原寄託されている。

[0013] 発酵物は、ブルガリア菌R-1株を用いて、種々の基材を発酵(培養)させて得られたものである。本発明では、生菌や死菌を除いた発酵物でも、生菌や死菌を含む(生菌や死菌を除かない)発酵物でも、何れも用いられ得るが、プロバイオティクスの観点からは、生菌を含む発酵物が好ましく用いられる。

[0014] 発酵に用いられる基材は、ブルガリア菌R-1株が生育又は増殖した結果として、発酵が起こり得る環境を形成できるものであればよい。当該基材は、例えば、ヒトや動物の乳や野菜・果物・豆、穀類などの食品素材であり、微生物の成育用又は増殖用の培地や原料乳でもあり得る。当該基材は、好ましくは、発酵後に食品として摂取できる食品素材であり、具体的には、生乳(未殺菌乳)、殺菌乳、全脂濃縮乳、全脂粉乳、脱脂粉乳、脱脂濃縮乳、ミルктanパク質濃縮物(MPC)、ホエイ、ホエイパウダー、脱塩ホエイ、脱塩ホエイパウダー、ホエイtanパク質濃縮物(WPC)、ホエイtanパク質分離物(WPI)、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン、カゼ

イン、ナトリウムカゼイネート、カルシウムカゼイネート、クリーム、バター、豆乳などを含んでいる培地や原料乳であり、これらの食品素材に、糖質（乳糖を含む）やミネラル、ビタミン、酵母エキスを含んでいる培地や原料乳であり得る。

[0015] また、発酵に際して、ブルガリア菌 R-1 株以外の乳酸菌及び／又はその他、納豆菌、酵母などのような種々の発酵菌を併用でき、具体的には、ヨーグルトの製造においてスターター菌として用いられるサーモフィルス菌 (*Streptococcus thermophilus*) や納豆の発酵に用いられる納豆菌などが使用され得る。併用されるサーモフィルス菌として、例えば、サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) O L S 3 0 5 9 株が例示される。サーモフィラス菌 O L S 3 0 5 9 株は、IPOD 独立行政法人 製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター (IPOD, NITE) (〒305-8566 日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番地 1 中央第 6) に受託番号 IPOD F E R M B P - 1 0 7 4 0 (寄託日: 1999 年 2 月 22 日) で原寄託されている。

[0016] 発酵（培養）方法や発酵（培養）条件は、当業者が適宜選択できる事項であって、実際に選択された基材に応じて適宜決定される。発酵（培養）条件や発酵（培養）条件は、ブルガリア菌 R-1 株が生育又は増殖できる条件や方法であれば、特に限定されない。発酵（培養）の温度は、例えば室温（20～30℃）～45℃、好ましくは 35～45℃、より好ましくは 40～45℃であり、発酵（培養）の時間は、例えば 1～72 時間、好ましくは 2～48 時間、より好ましくは 4～16 時間である。

[0017] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、発酵物を含み、当該発酵物にその他の素材や添加剤を配合して調製された組成物でも、発酵物そのものでもあり得る。このとき、発酵物は、例えば、乳（ヒト又は動物）を原料とする発酵乳であり、乳酸菌飲料であり、ナチュラルチーズであり得る。そして、発酵乳は、乳等省令で定義されるものを意味し、具体的には、生乳、牛乳、特別牛乳、生山羊乳、殺菌山羊乳、生めん羊乳、成分調整牛乳、低脂肪乳、無脂肪乳及び加工乳などの乳又はこれと同等以上の無脂乳固形物を含む乳などを

乳酸菌などで発酵させた後、固形状、糊状、又は液状にしたもの、あるいは、これらを凍結したものをいう。また、発酵物は、例えば、野菜を原料とするキムチであり、漬物であり、ピクルスでもあり得る。さらに微生物の成育用又は増殖用の培地を用いて得られた発酵物（培養液）や発酵物（培養液）から濃縮や遠心分離等により液体分を除いた多糖体を含む組成物でもあり得る。これらの中では、生菌を多く含む発酵乳が好ましい。

[0018] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、医薬品組成物であり、特定保健用食品、機能性食品、健康食品、健康補助食品、サプリメントなどの食品組成物、飼料、化粧品（口腔化粧品など）のような各種の組成物でもあり得る。このとき、これら組成物などの調製には、凍結乾燥や固液分離などの濃縮などの加工操作を加えた発酵物でも、このような加工操作を加えていない発酵物そのものでも、何れも用いられ得る。添加剤は、所望する形態や剤型に応じて、当業者によって選択され得るが、例えば、乳糖やコーンスターチなどの賦形剤であり、結合剤であり、崩壊剤であり、滑沢剤であり、矯臭剤であり、溶解補助剤であり、懸濁剤であり、コーティング剤などの医薬品または食品の製剤化（製品化）の際に用いられる既知の添加剤や水や油、乳、野菜・果汁・豆、穀物などの基剤であり、乳化剤であり、安定剤であり、増粘剤であり、ゲル化剤であり、甘味剤であり、酸味料であり、保存料であり、抗酸化剤であり、pH調整剤であり、着香料、着色剤であり得る。

[0019] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、その形態や剤型として、ヒト又はその他の動物が経口的又は非経口的に摂取できる形態や剤型である。その形態や剤型は、例えば、錠剤であり、顆粒剤であり、散剤であり、カプセル剤であり、液剤であり、注射剤であり、ゼリー剤であり、ジェル剤であり得る。食品組成物は、いわゆる食品も含み、食品は、例えば、即席麺、レトルト食品、缶詰、電子レンジ食品、即席スープ・みそ汁類、フリーズドライ食品などの即席食品類；清涼飲料、果汁飲料、野菜飲料、豆乳飲料、コーヒー飲料、茶飲料、粉末飲料、濃縮飲料、アルコール飲料などの飲料類；パン、パスタ、麺、ケーキミックス、パン粉などの小麦粉製品；飴、キャラメル、チュ

ーイングガム、チョコレート、クッキー、ビスケット、ケーキ、パイ、スナック、クラッカー、和菓子、デザート菓子などの菓子類；ソース、トマト加工調味料、風味調味料、調理ミックス、たれ類、ドレッシング類、つゆ類、カレー・シチューの素類などの調味料；加工油脂、バター、マーガリン、マヨネーズなどの油脂類、乳飲料、発酵乳（ヨーグルトなど）、乳酸菌飲料、固形乳、ナチュラルチーズ、プロセスチーズ類、アイスクリーム類、クリーム類などの乳製品、農産缶詰、ジャム・マーマレード類、シリアルなどの農産加工品；冷凍食品、流動食、経腸栄養剤であり得る。本発明の好ましい態様は、風味の観点から、プレーンヨーグルト、ハードヨーグルト、ソフトヨーグルト、ドリンクヨーグルトなどのヨーグルトである。

[0020] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、感染後の死亡率の減少などの感染時の重篤化を防止や抑制する効果を有する。また、本発明に係る肺炎球菌感染予防剤は、気管支や肺のような下気道だけでなく、喉や咽頭、鼻腔などの上気道における肺炎球菌の定着を抑制や感染を予防する効果を有する。従って、肺炎球菌の患者のみならず、非罹患者である健常者も摂取の対象となる。また、摂取の対象は、ヒトを含む哺乳動物、好ましくはヒトである。このとき、予防剤の1日あたりの摂取量は、年齢、性別、罹患者や健常者によって異なるが、当業者によって適宜定められ得る。その1日あたりの摂取量の下限は、ブルガリア菌R-1株として、 10^6 c f u以上であり、好ましくは 10^7 c f u以上であり、より好ましくは 10^8 c f u以上である。また、その1日あたりの菌体外多糖類として把握する場合、摂取量の下限は、菌体外多糖類として $100\mu\text{g}$ であり、好ましくは $500\mu\text{g}$ であり、より好ましくは 1mg である。また、1日あたりの摂取菌量や菌体外多糖類量を含むように、上記の各形態や剤型が調製され得る。このとき、各形態や剤型の1日あたりの摂取量が、 $5\sim1000\text{g}$ ($5\sim1000\text{ml}$) より好ましくは $50\sim500\text{g}$ ($50\sim500\text{ml}$)、さらに好ましくは $100\sim200\text{g}$ ($100\sim200\text{ml}$) となるように調製される。なお、ブルガリア菌R-1株の発酵物は、継続的に摂取されることが望ましく、好ましくは1週間以上、

より好ましくは2週間以上、さらに好ましくは3週間以上で摂取されることで、肺炎球菌の感染に伴う肺炎や上気道の感染を予防し、その感染時の重篤化を防止や抑制する。

[0021] 本発明に係る肺炎球菌感染予防剤には、肺炎球菌の感染を予防する旨や肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する旨の表示が好ましく付される。肺炎球菌の感染の予防、重篤化の防止や抑制の表示には、「肺炎球菌感染予防用」また「肺炎球菌感染時の重篤の抑制用」という文言のみに限られず、対象者に対して本願発明に係る感染予防剤の効果を認識させる種々の表示、例えば、日本国における薬事法や健康増進法に基づく特定保健用食品の制度など、各国の法制度に基づいて認められる表示が含まれる。特に保健の用途である表示やこれに類する表示が、典型的な例として列挙される。また、表示方法は、発酵物を包装した容器、説明書や添付文書、チラシや新聞などの広告物への記載に限られず、映像や音声による告知でもあり得る。

[0022] 本発明は、ブルガリア菌 R-1 株の発酵物を摂取する、または摂取させることを含む、肺炎球菌の感染を予防する方法、及び／又は、肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する方法を提供する。ここで、肺炎球菌の感染を予防する方法、及び／又は、肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する方法には、医者による医療行為及び非医療行為が含まれるが、好ましくは、非医療行為である。また、「摂取させる」ことには、直接的に対象者に摂取させることだけでなく、視覚的及び／又は聴覚的に特定の目的、効果、つまり当該発酵物が肺炎球菌の感染を予防し、及び／又は、肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制することを表示して、間接的に対象者に摂取させることを含む。間接的に摂取させることとして、例えば、製造業者が販売業者もしくは消費者に対し、又は販売業者が消費者に対し、肺炎球菌の感染を予防する旨や肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する旨の前記表示を伴って、対象者に摂取させることを提案、示唆、指示する行為が挙げられる。

[0023] 以下、実施例に基づいて本発明について説明するが、本発明は下記の実施例に限定されないのは言うまでもない。

実施例 1

[0024] 〔発酵物の調製〕

脱脂粉乳を主成分に調製した溶液（発酵乳M i x）に、ブルガリア菌 R - 1 株をスターター菌として加えて、これを 3 7 °C で 1 6 時間発酵させた。この発酵物（発酵乳）の菌体外多糖類量を測定し、マウスへの投与量を算出した。なお、菌体外多糖類量の測定方法では、トリクロロ酢酸にて、発酵物を除タンパクし、エタノール沈殿法にて、多糖体（菌体外多糖類）を沈殿させ精製した。そして、ゲルろ過モードの H P L C にて、この沈殿させた多糖体（菌体外多糖類）量を測定した。また、この発酵物（発酵乳）は、7 2 5 μ g / g の菌体外多糖体と、 1.7×10^9 C F U / g の乳酸菌を含んでいた。

[0025] 〔肺感染モデルの検証（1）〕

（マウスの肺への感染）

C57BL/6マウス（雌、8 終齢、n = 9 又は 1 0 匹）のうち、発酵乳投与群には、試験の全期間に亘って連日で、ブルガリア菌 R - 1 株の発酵物（菌体外多糖類量として 5 0 μ g / mouse）を経口投与（1 回 / 日、投与前の 2 1 日間及び投与後）した。なお、対照群には、脱脂粉乳を主成分に調製した溶液（発酵乳M i x）を経口投与した。これら経口投与の開始から 2 2 日目に、肺炎球菌（*Streptococcus pneumoniae*）D 3 9 株の懸濁液を 5 0 μ l で経鼻接種（ 1×10^8 C F U / mouse）した。そして、肺炎球菌の接種後に、生存率及び肺内生菌数を群間で比較した。

[0026] ここで、肺内生菌数は、次のようにして計測した。肺炎球菌の接種から 2 日後に、マウスを殺処分し、肺を摘出した。この得られた肺を無菌的に細分化し、生理食塩水（1 m l）で懸濁した。この肺の懸濁液を Shake Master NE 0（Bio Medical Science, Tokyo, Japan）で均質化（ホモジネート）した。この得られた肺のホモジネート液を血液寒天培地（ベクトンディッキンソン社）に塗布し、3 7 °C にて 2 0 時間で培養した。この培養後に、生育したコロニーを計数することで、肺内生菌数を計測した。

[0027] 生存率の比較を図 1 に、肺内生菌数の比較を図 2 に示した。対照群では、

経口投与の開始から4日後で、死亡するマウスが現れたのに対して、発酵乳投与群では、経口投与の開始から7日後でも、死亡するマウスが現れなかった。すなわち、対照群に比べて、発酵乳投与群では、死亡率が大幅に低下しており、肺炎球菌の感染に伴う肺炎の発症は抑制されていた。また、対照群に比べて、発酵乳投与群では、肺内生菌数の感染細胞数は有意に少なかった。

実施例 2

[0028] 〔肺感染モデルの検証（2）〕

（マウスの上気道への感染）

C57BL/6マウス（雌、8終齢、 $n = 9$ 匹又は10匹）のうち、発酵乳投与群には、試験の全期間に亘って連日で、ブルガリア菌R-1株の発酵物（菌体外多糖類量として $50 \mu\text{g}/\text{mouse}$ ）を経口投与（1回/日、投与前の21日間及び投与後）した。なお、対照群には、脱脂粉乳を主成分に調製した溶液（発酵乳Mix）を経口投与した。これら経口投与の開始から22日目に、肺炎球菌（*Streptococcus pneumoniae*）1121株の懸濁液を $50 \mu\text{l}$ で経鼻接種（ $1 \times 10^7 \text{ CFU}/\text{mouse}$ ）した。そして、肺炎球菌の接種後に、上気道内の定着菌数（上気道に定着した肺炎球菌数）を群間で比較した。

[0029] ここで、上気道内の定着菌数は、次のようにして計測した。肺炎球菌の接種から2日後に、マウスを殺処分し、上気道を摘出した。この得られた上気道について、肺内生菌数の計測と同様の方法で、肺炎球菌数を求めた。

[0030] 上気道内の定着菌数の比較を図3に示した。肺内菌数の結果と同様に、対照群に比べて、発酵物投与群では、上気道内の定着菌数は有意に少なかった。

[0031] 以上のことから、ブルガリア菌R-1株の発酵物は、肺炎球菌の感染の防止、特に上気道における感染の防止、並びに肺炎の重篤化の抑制を行っている」と結論付けられる。

実施例 3

[0032] 乳製品、砂糖、原料水を含む混合物に*Lactobacillus delbrueckii* ssp. bu

lgaricus 0LL1073R-1及び明治ブルガリアヨーグルトから抽出したStreptococcus thermophilus をスターターとして加えて、発酵させた。この発酵物（培養）に、液糖、砂糖、ペクチン及び原料水を加えて、ドリンクタイプのヨーグルトを製造した。これを専門パネラーが10人で摂取したところ、その風味は10人ともに良好であると評価された。

産業上の利用可能性

[0033] 本発明は、肺炎球菌感染の予防又は、その感染時の重篤化を防止や抑制する、新たな医薬品組成物又は食品組成物として利用され得る。

請求の範囲

- [請求項1] ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 の発酵物を有効成分として含む肺炎球菌感染予防剤。
- [請求項2] 少なくともラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 の生菌を含む請求項1に記載の肺炎球菌感染予防剤。
- [請求項3] 前記発酵物は、ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 とサーモフィルス菌 (Streptococcus thermophilus) による発酵物である請求項1又は2に記載の肺炎球菌感染予防剤。
- [請求項4] ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 の発酵物の医療行為又は非医療行為による摂取により、肺炎球菌の感染を予防、及び／又は、肺炎球菌の感染時の重篤化を防止や抑制する方法。
- [請求項5] 少なくともラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 の生菌を含む請求項4に記載の方法。
- [請求項6] 前記発酵物は、ラクトバチラス・デルブルッキー・サブスピーシス・ブルガリクス (Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus) O L L 1 0 7 3 R - 1 とサーモフィルス菌 (Streptococcus thermophilus) による発酵物である請求項4又は5に記載の方法。