

明 細 書

発明の名称：

セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩を含有する組成物

技術分野

[0001] 本発明は、セサミン類の１種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩を含有する組成物に関する。また、本発明は、細胞老化を抑制する方法等に関する。

背景技術

[0002] 細胞老化とは、遺伝子損傷等が原因で、細胞の増殖が不可逆的に停止した状態のことをいう。例えば、ヒト等の哺乳類の正常な体細胞には、分裂可能な回数に限界があり、ある一定の回数、細胞分裂を繰り返すと細胞分裂を不可逆的に停止する。

[0003] アポトーシスとは異なり、細胞老化を起こした細胞（老化細胞）は自ら死滅しない。このため加齢に伴い、老化細胞が組織及び器官に蓄積する（非特許文献１）。老化細胞は、細胞周期を停止しているだけでなく、その細胞としての機能も低下している。また、老化細胞は、当該細胞から分泌される生理活性因子によって周囲の正常細胞に障害を与え、臓器の機能低下等、個体レベルの老化の原因となるとされている。逆に、老化細胞の蓄積を抑制することで、寿命が延長することが報告されている（非特許文献２）。老化細胞が有するこのような性質から、細胞老化を抑制することへの関心が高まっている。

[0004] セサミン類は、ゴマに含まれる主要なリグナン化合物の一種であり、抗疲労作用などが報告されている（特許文献１）。エルゴチオネインは、キノコ等に含まれるアミノ酸であり、天然にはＬ体が存在する。エルゴチオネインについて、免疫応答活性化サイトカイン産生促進作用などの生理作用が報告されている（特許文献２）。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開第2008/126587号

特許文献2：特開2017-218431号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Herbig U, Ferreira M, Condell L, Carey D, Sedivy JM. "Cellular Senescence in Aging Primates." Science. 2006;311(5765):1257-1257.

非特許文献2：Baker, Darren J., et al. "Naturally occurring p16 Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan." Nature 530. 7589 (2016): 184-189.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、セサミン類及びエルゴチオネインを含む組成物の細胞老化に対する作用は、これまで報告されていない。

[0008] 本発明の目的は、細胞老化を効果的に抑制することができる組成物を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、セサミン類の一種以上の化合物と、エルゴチオネイン又はその塩とを組み合わせると、細胞老化を効果的に抑制することができることを見出した。

[0010] 本発明は、以下の組成物等を包含する。

〔1〕セサミン類の1種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩を含有し、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）が、0.05～50である、組成物。

〔２〕セサミン類が、セサミン及び／又はエピセサミンである上記〔１〕に記載の組成物。

〔３〕経口用組成物である上記〔１〕又は〔２〕に記載の組成物。

〔４〕飲食品である上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の組成物。

〔５〕化粧料である上記〔１〕又は〔２〕に記載の組成物。

〔６〕細胞老化を抑制するために使用される、上記〔１〕～〔５〕のいずれかに記載の組成物。

〔７〕抗老化用組成物である、上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の組成物。

〔８〕「細胞老化抑制」、「老化細胞化抑制」、「細胞老化を予防する」、「老化細胞を作らせない」、「老化細胞の増加を抑制する」、「老化細胞の蓄積を抑える」、「細胞老化を遅らせる」、「細胞老化の進行を遅らせる」、「細胞老化誘導抑制」、「若い細胞の割合が増える」、「健康寿命延伸」、「健康長寿」、「細胞が若い」、「全身が若々しい」及び「見た目が若々しい」からなる群より選択される１以上の表示を付した、上記〔１〕～〔７〕のいずれかに記載の組成物。

〔９〕上記〔１〕～〔８〕のいずれかに記載の組成物を投与することを含む、細胞老化を抑制する方法。

〔１０〕細胞老化を抑制するための、上記〔１〕～〔８〕のいずれかに記載の組成物の使用。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、細胞老化を効果的に抑制することができる組成物を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図１は、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの細胞老化抑制効果を調べた結果を示すグラフである。

[図2]図２は、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの細胞老化抑制効果を調べた結果を示すグラフである。

[図3]図3は、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの酵母における寿命延長効果を調べた結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

- [0013] 本発明の組成物は、セサミン類の1種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩を含有し、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）が、0.05～50である、組成物である。
- [0014] 本発明において、セサミン類とは、セサミン及びその類縁体を含む化合物の総称である。セサミンは、ゴマに含まれる主要なリグナン化合物の一種である。セサミン類縁体としては、エピセサミンの他、例えば特開平4-9331号公報に記載されたジオキサビシクロ〔3.3.0〕オクタン誘導体が挙げられる。セサミン類の1種以上として、これらの化合物の1種を単独で用いてもよく、2種以上を用いてもよい。セサミン類の具体例としては、セサミン、エピセサミン、セサミノール、エピセサミノール、セサモール、セサモリン等を例示でき、これらの立体異性体又はラセミ体を単独で、または混合して使用することができる。本発明においては、セサミン類の1種以上として、セサミン及び／又はエピセサミンが好ましく、セサミン及びエピセサミンがより好ましい。セサミン及びエピセサミンを用いる場合、これらの比率は特に限定されないが、例えば、セサミン：エピセサミン（重量比）が1：0.1～1：9が好ましく、1：0.3～1：3がより好ましく、1：0.5～1：2が更に好ましい。
- [0015] 本発明で使用されるセサミン類は、その形態や製造方法等によって、何ら制限されるものではない。例えば、セサミンの場合は、ゴマ油から公知の方法（例えば、特開平4-9331号公報に記載された方法）によって抽出したセサミンを含有する抽出物（セサミン抽出物又は精製物という）を用いることができる。また、市販のゴマ油（液状）をそのまま用いることもできる。しかしながら、ゴマ油を用いた場合には、ゴマ油特有の風味が官能的に好ましくないと評価されることもあることから、ゴマ油から抽出された無味無臭

であるセサミン抽出物（又はセサミン精製物）を用いることが好ましい。また、ゴマ油を用いた場合、セサミン含有量が低いため、好ましい量のセサミンを配合しようとする、処方される組成物の単位投与当りの体積が大きくなり過ぎるため、摂取に不都合を生じることがある。特に、経口摂取用に製剤化した場合は、製剤（錠剤、カプセルなど）が大きくなり過ぎて摂取に支障が生じる。したがって、摂取量が少なくてもよいという観点からもゴマ油からのセサミン抽出物（又はセサミン精製物）を用いることが好ましい。合成によりセサミン類を得ることもできる。その方法としては、例えば、セサミン、エピセサミンについては、Berrozaらの方法（J. Am. Chem. Soc., 78, 1242（1956））で合成することができる。

[0016] エルゴチオネインは、含硫アミノ酸の一種である。本発明において、エルゴチオネインは、好ましくはL-エルゴチオネインである。

エルゴチオネインの塩としては、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もよい。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。

[0017] エルゴチオネイン又はその塩は、その形態や製造方法等によって、何ら制限されるものではない。エルゴチオネイン又はその塩は、化学合成品を使用してもよく、天然物から抽出及び精製したものを使用してもよい。L-エルゴチオネインは、ヒラタケ科ヒラタケ属のキノコであるタモギタケ（Golden/Yellow Oyster mushroom）（学名：Pleurotus cornucopiae var. citrinopileatus）に多く含有される。L-エルゴチオネインは、ホワイトボタンマッシュルーム、クリミニマッシュルーム、ポータベラ（Portabella）マッシュルーム等のツクリタケ（学名：Agaricus bispo

rus)、ヒラタケ (Grey Oyster Mushroom) (学名: *Pleurotus ostreatus*)、シイタケ (学名: *Lentinula edodes*)、マイタケ (学名: *Grifola Frondosa*)、レイシ (学名: *Ganoderma lucidum*)、ヤマブシタケ (学名: *Hericium erinaceus*)、ヤナギマツタケ (学名: *Agrocybe aegerita*)、アンズタケ (学名: *Cantharellus cibarius*)、ポルチーニ (学名: *Boletus edulis*)、アミガサダケ (学名: *Morchella esculenta*) 等のキノコにも含まれる。天然物からエルゴチオネインを得る場合は、タモギタケから抽出等することが好ましい。エルゴチオネイン又はその塩は、微生物発酵で製造することもできる。エルゴチオネイン又はその塩は、単離されたものであってもよい。

[0018] 本発明の組成物において、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率 (セサミン類/エルゴチオネイン) は、0.05~50である。エルゴチオネイン又はその塩 (エルゴチオネイン換算) に対するセサミン類の重量の比率 (セサミン類/エルゴチオネイン) が上記範囲であると、セサミン類単独、又は、エルゴチオネイン又はその塩を単独で使用するよりも効果的に、細胞老化を抑制することができる。

これにより、本発明の組成物を用いると、低用量であっても上記作用を発揮させることができる。服用量の少量化は、服用のしやすさに繋がることから、継続摂取しやすい組成物を得ることができる。

[0019] 本発明において、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率 (セサミン類/エルゴチオネイン) は、0.1以上であることが好ましく、0.15以上であることがより好ましく、また、20以下であることが好ましく、16以下であることがより好ましく、15以下であることが更に好ましい。一態様において、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量

の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）は、0.1～20であることが好ましく、0.15～16であることがより好ましく、0.15～15であることが更に好ましい。セサミン類、及び、エルゴチオネイン又はその塩を上記の比率で含有する組成物は、細胞老化を効果的に抑制することができる。組成物中のセサミン類、及び、エルゴチオネイン又はその塩の重量の比率は、上記であることが好ましい。

[0020] 細胞老化とは、細胞の増殖が不可逆的に停止した状態をいう。個体の老化の要因は多岐にわたるが、老齢の動物において、加齢に伴い細胞老化を起こした細胞（老化細胞）が増加すること、また、ヒトの初代培養細胞を継代するといずれ分裂限界を迎え、老化細胞となることが見出されている。老化細胞から分泌される生理活性因子は、周囲の正常な細胞に悪影響を与えると考えられている。老化細胞は、その細胞としての機能も低下している。細胞老化を抑制することは、細胞老化又は老化細胞の増加に起因する状態又は疾患の予防又は改善に有効である。細胞老化又は老化細胞の増加に起因する状態又は疾患として、例えば、細胞の機能低下、臓器の機能低下、全身の機能低下、癌、慢性炎症等が挙げられる。対象において細胞老化を抑制して老化細胞の増加（蓄積）を抑制することより、細胞の機能維持、臓器の機能維持、全身の機能維持等の効果が得られることが期待される。また、癌、慢性炎症等の状態又は疾患の予防又は改善効果が得られることが期待される。

[0021] 本発明における細胞老化抑制効果は、公知の細胞老化マーカーにより確認することができる。細胞老化マーカーとして、例えば、p16-INK4A（p16）が挙げられる。p16は、細胞周期をG1期で停止させ、細胞老化を誘導する。このため、p16の発現上昇は、細胞老化を促進する。一態様において、本発明の組成物として、p16の発現を抑制するものが好ましい。一態様において、本発明の組成物は、p16の発現を抑制するために使用することができる。

[0022] 後記の実施例に示されるように、セサミン類及びエルゴチオネインを使用すると、細胞老化の指標であるp16の発現が効果的に抑制された。セサミン

類及びエルゴチオネインを組合わせた場合の p 1 6 の発現抑制効果は、セサミン類を単独、又は、エルゴチオネイン又はその塩を単独で使用した場合の効果から予測される効果（相加効果）よりも優れる相乗効果であった。セサミン類は、エルゴチオネイン又はその塩による p 1 6 の発現抑制作用を増強した。

従って、セサミン類の一種以上及びエルゴチオネイン又はその塩の組合せは、細胞老化を抑制するための有効成分として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、細胞老化を抑制するために使用することができる。

また、後記の実施例に示されるように、セサミン類及びエルゴチオネインの組合わせは、酵母において分裂寿命延長作用を示した。分裂寿命の延長は、個体の寿命の延長と捉えることができる。従って、セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩を含有する組成物は、個体の老化を予防又は改善する作用（抗老化作用）を示す。本明細書中、抗老化は、個体の老化の予防又は改善を指す。

[0023] セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩は、天然物や飲食品に含まれ、食経験がある化合物である。このため安全性の観点から、セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩は、例えば毎日摂取することにも問題が少ないと考えられる。本発明によれば、安全性が高い物質を有効成分として含み、細胞老化を抑制する作用を有する組成物を提供することができる。本発明の組成物は、セサミン類の一種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を有効成分として含有する、細胞老化抑制用組成物であってよい。

[0024] ヒト等の哺乳動物では、通常加齢に伴い代謝等が低下することから、加齢に伴い老化細胞の除去速度が遅くなることが推測される。細胞老化を抑制することは、例えば中高年者において老化細胞の増加を抑制するために特に有効であると考えられる。中高年者は、高齢者を含む。

[0025] ヒト等の対象において細胞老化を抑制することにより、対象における老化細胞の増加を抑制することができる。一態様において、本発明の組成物は、細

胞の機能低下、臓器の機能低下、全身の機能低下等の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。一態様において、本発明の組成物は、細胞老化を抑制することによって、加齢に伴う臓器の機能低下、加齢に伴う全身の機能低下等を予防又は改善するために使用することができる。加齢に伴う臓器の機能低下、加齢に伴う全身の機能低下は、生体の個体老化の症状の一例でもある。また、老化細胞の蓄積を抑制することで、寿命が延長することが報告されている（上記の非特許文献2）。本発明の組成物は、個体老化を予防又は改善するためにも有用であり、抗老化用組成物として使用することができる。個体は、好ましくはヒトである。本発明の組成物は、セサミン類の一種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を有効成分として含有する、抗老化用組成物であってよい。一態様において、本発明の組成物は、細胞老化抑制により老化を予防又は改善するための抗老化用組成物として好適に使用することができる。本発明の組成物は、細胞老化抑制を介した抗老化用組成物であってもよい。細胞老化を抑制して個体の老化を予防又は改善することによって、寿命延長効果も期待できる。本発明の組成物は、例えば、健康寿命延伸にも有用である。

本明細書で予防は、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、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。

[0026] 本発明の組成物は、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。

本発明の組成物は、飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態とすることができる。本発明の組成物は、それ自体が細胞老化抑制のために用いられる飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等であってもよく、これらに配合して使用される素材又は製剤等であってもよい。

本発明の組成物は、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、細胞老化抑制用組成物は、細胞老化抑制剤ということもできる。抗老化用組成物は、抗老化剤ということもできる。

[0027] 本発明の組成物は、経口用組成物、非経口用組成物のいずれであってもよい。一態様において、本発明の組成物は、好ましくは経口用組成物である。経口用組成物としては、飲食品、経口用の医薬品、医薬部外品、飼料が挙げられ、好ましくは飲食品又は経口用医薬品であり、より好ましくは飲食品である。

別の態様において、本発明の組成物は、皮膚外用剤（皮膚外用組成物）として使用することができる。皮膚外用剤は、化粧品、医薬品、医薬部外品等を含み、好ましくは化粧品である。

[0028] 本発明の組成物は、本発明の効果を損なわない限り、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩に加えて、任意の添加剤、任意の成分を含むことができる。これらの添加剤及び成分は、組成物の形態等に応じて選択することができ、一般的に飲食品、化粧品、医薬品、医薬部外品、飼料等に使用可能なものが使用できる。本発明の組成物を、飲食品、化粧品、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、一般的な方法により製造することができる。一態様において、本発明の組成物は、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩からなるものであってもよい。

[0029] 例えば本発明の組成物を飲食品とする場合、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩に、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、健康補助食品、健康飲料、機能性表示食品、特定保健用食品、病者用飲食品等が挙げられる。上記健康食品、健康補助食品、機能性表示食品、特定保

健用食品等は、例えば、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、シロップ剤、液剤、飲料、ドリンク剤、流動食等の各種製剤形態として使用することができる。

[0030] 本発明の組成物を化粧料とする場合、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩に、化粧料に使用可能な成分（例えば、化粧料に許容される担体、添加剤等）を配合して種々の化粧料とすることができる。化粧料の製品形態は特に限定されず、例えば、化粧水、美容液、パック、乳液、クリーム、日焼け止め等のスキンケア化粧料等が挙げられる。

[0031] 本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、例えば、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩に、薬理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。一態様において、本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、経口用の医薬品又は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、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。

別の一態様において、医薬品又は医薬部外品は、皮膚外用剤とすることが好ましい。皮膚外用剤の剤形等は特に限定されず、例えば溶液、乳液、クリーム、ゲル、粉末、エアゾール、ミスト、カプセル及びシート等任意の形態とすることができる。

医薬品は、非ヒト動物用医薬であってもよい。

[0032] 本発明の組成物を飼料とする場合には、セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン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。

[0033] 本発明の組成物に含まれるセサミン類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。本発明の組成物中のセサミン類の総含有量は、例えば、該組成物中に0.001重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、0.05重量%以上が更に好ましく、また、10重量%以下が好ましく、5重量%以下がより好ましい。一態様において、セサミン類の総含有量は、本発明の組成物中に0.001～10重量%が好ましく、0.01～5重量%がより好ましく、0.05～5重量%が更に好ましい。上記総含有量は、セサミン類の化合物を2種以上含有する場合は、これらの合計含有量である。セサミン類の含有量は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法等の公知の方法を用いて測定することができる。

[0034] 本発明の組成物に含まれるエルゴチオネイン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。

本発明の組成物中のエルゴチオネイン又はその塩の含有量は、エルゴチオネイン換算で、例えば、該組成物中に0.001重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、0.05重量%以上が更に好ましく、また、10重量%以下が好ましく、5重量%以下がより好ましい。一態様において、エルゴチオネイン又はその塩の含有量は、エルゴチオネイン換算で、本発明の組成物中に0.001～10重量%が好ましく、0.01～5重量%がより好ましく、0.05～5重量%が更に好ましい。エルゴチオネイン又はその塩の含有量は、HPLC法等の公知の方法を用いて測定することができる。エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の量又はこれに類する表現は、エルゴチオネインを使用する場合は、その量を意味し、エルゴチオネインの塩を使用する場合は、当該塩のモル数に、エルゴチオネインの分子量を乗じて得られる値を意味する。

[0035] 本発明の組成物は、その形態又は剤形に応じて自体公知の種々の方法で摂取又は投与することができる。一態様において、本発明の組成物は、経口で摂

取（経口投与）されることが好ましい。別の一態様において、本発明の組成物を皮膚外用剤とする場合は、皮膚に適用することができる。

本発明の組成物の投与量（摂取量ということもできる）は特に限定されない。本発明の組成物の投与量は、例えば、細胞老化抑制効果又は抗老化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。

[0036] 一態様において、本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、セサミン類の総投与量は、1日当たり、好ましくは0.5mg以上、より好ましくは1mg以上、更に好ましくは3mg以上、また、好ましくは200mg以下、より好ましくは100mg以下、更に好ましくは80mg以下である。一態様において、セサミン類の総投与量は、ヒト（成人）であれば、1日当たり、好ましくは0.5～200mg、より好ましくは1～100mg、更に好ましくは3～80mgである。一態様においては、セサミン及び／又はエピセサミンを、セサミン及びエピセサミンの総投与量として1日当たりで、好ましくは0.5～200mg、より好ましくは1～100mg、更に好ましくは3～80mg、ヒト（成人）に経口で摂取させる又は投与することが好ましい。上記総投与量は、セサミン類の化合物を2種以上使用する場合は、これらの合計量である。上記の投与量は、体重60kgあたりの投与量であってよい。

[0037] 一態様において、本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、エルゴチオネイン又はその塩の投与量は、1日当たり、エルゴチオネイン換算で好ましくは2mg以上、より好ましくは5mg以上、また、好ましくは50mg以下、より好ましくは25mg以下、更に好ましくは20mg以下である。一態様において、ヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、エルゴチオネイン又はその塩の投与量は、エルゴチオネイン換算で、1日当たり、好ましくは2～50mg、より好ましくは2～25mg、更に好ましくは5～25mg、特に好ましくは5～20mgである。一態様においては、1日当たり上記量のセサミン類、及び、エルゴチオネイ

ン又はその塩を、ヒトに経口で摂取させる又は投与することが好ましい。また、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、摂取させる又は投与することが好ましい。上記の投与量は、体重60kgあたりの投与量であってよい。

ヒトにおいて、細胞老化抑制効果又は抗老化効果を得ることを目的として本発明の組成物を使用する場合、セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩の投与量を上記の範囲とすることが好ましい。

一態様において、本発明の組成物は、ヒトに、1日あたり上記量のセサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩を摂取させる又は投与するために使用することができる。

[0038] 本発明の組成物は、セサミン類の総含有量が、成人の1日摂取量当たり、0.5～200mgであることが好ましく、1～100mgであることがより好ましく、3～80mgであることが更に好ましい。

本発明の組成物は、エルゴチオネイン又はその塩の含有量が、成人の1日摂取量当たり、エルゴチオネイン換算で2～50mgであることが好ましく、2～25mgであることがより好ましく、5～25mgであることが更に好ましく、5～20mgであることが特に好ましい。

[0039] 本発明の組成物は、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。一態様において、本発明の組成物は、好ましくは1週間以上、より好ましくは4週間以上、更に好ましくは8週間以上、特に好ましくは12週間以上継続して摂取又は投与されることが好ましい。

[0040] 本発明の組成物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、投与対象として、細胞老化抑制を必要とする又は希望する対象、個体の老化症状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。このような対象として、例えば、中高年者等が挙げられる。一態様において、本発明の組成物は、中高年者用の細胞老化抑制用組成物又は抗

老化用組成物として好適に使用される。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。本発明の組成物は、例えば、細胞老化抑制により予防又は改善が期待できる状態又は疾患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。

[0041] 細胞老化抑制の対象となる細胞の種類は特に限定されず、例えば、線維芽細胞、上皮細胞、表皮細胞、基底細胞、幹細胞、脂肪細胞、神経細胞、筋細胞、骨格筋細胞、平滑筋細胞、筋線維芽細胞、筋衛星細胞、衛星細胞、骨芽細胞、肝細胞、肝星細胞、腎細胞、間質細胞、血液細胞、免疫系細胞、内皮細胞、血管内皮細胞、周皮細胞、レンズ細胞、網膜細胞等が挙げられる。一態様において、本発明の組成物は、線維芽細胞の細胞老化抑制のために好適に使用される。線維芽細胞はほぼ全ての臓器において組織の支持、構造の形成に必須な細胞である。

[0042] 本発明の組成物には、例えば、「細胞老化抑制」、「老化細胞化抑制」、「細胞老化を予防する」、「老化細胞を作らせない」、「老化細胞の増加を抑制する」、「老化細胞の蓄積を抑える」、「細胞老化を遅らせる」、「細胞老化の進行を遅らせる」、「細胞老化誘導抑制」、「若い細胞の割合が増える」、「健康寿命延伸」、「健康長寿」、「細胞が若い」、「全身が若々しい」及び「見た目が若々しい」からなる群より選択される1又は2以上の機能の表示等が付されていてもよい。

本発明の一態様において、本発明の組成物は、上記の表示が付された飲食品又は皮膚外用剤であることが好ましく、飲食品又は化粧品であることがより好ましく、飲食品であることが更に好ましい。また上記の表示は、上記の機能を得るために用いる旨の表示であってもよい。上記の表示は、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。

[0043] 本発明は、以下の方法も包含する。

セサミン類の1種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を投与することを含

む、細胞老化を抑制する方法。

セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を対象に投与することにより、対象において細胞老化を効果的に抑制することが可能となる。また、対象において、抗老化効果を得ることができる。上記方法において、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）は、好ましくは０．０５～５０である。

[0044] 本発明は、以下の使用も包含する。

細胞老化を抑制するための、セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩の使用。

一態様において、セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩は、細胞老化を抑制することによって、個体の老化を予防又は改善するために好適に使用することができる。上記使用において、エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）は、好ましくは０．０５～５０である。

上記方法及び使用は、治療的な方法又は使用であってもよく、非治療的な方法又は使用であってもよい。

[0045] 上記の方法及び使用において、セサミン類の１種以上、エルゴチオネイン又はその塩及びそれらの好ましい態様は、上述した本発明の組成物と同じである。セサミン類の１種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩の重量の比率の好ましい範囲も、本発明の組成物の場合と同じである。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）、セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を対象に投与する（摂取させる）ことが好ましい。投与方法としては、経口投与（摂取）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。

[0046] 上記方法及び使用においては、所望の作用が得られる量（有効量ということもできる）のセサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を使用

すればよい。セサミン類、エルゴチオネイン又はその塩の好ましい投与量や投与対象等は上述した本発明の組成物と同じである。セサミン類及びエルゴチオネイン又はその塩は、これらを含む組成物を用いて投与することが好ましい。好ましくは、セサミン類の一種以上及びエルゴチオネイン又はその塩を、上記の比率で含む組成物（上述した本発明の組成物）を使用する。

上述した本発明の組成物を投与することを含む、細胞老化を抑制する方法も本発明に包含される。細胞老化を抑制するための、本発明の組成物の使用、も本発明に包含される。

[0047] 上記方法及び使用において、セサミン類（又はそれを含有する組成物）と、エルゴチオネイン又はその塩（又はそれを含有する組成物）とを個別に準備し、それらをほぼ同時に、又は、一方を投与後、その効き目が持続している間に他方を投与すれば、本発明の意図するセサミン類の１種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩による効果（細胞老化抑制効果又は抗老化効果）が得られる。よって、セサミン類又はそれを含有する組成物と、エルゴチオネイン若しくはその塩、又はそれを含有する組成物とを含むキット等も本発明の範囲に含まれる。

[0048] 本発明は、細胞老化抑制用組成物又は抗老化用組成物を製造するための、セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩の使用も包含する。細胞老化抑制用組成物、抗老化用組成物及びそれらの好ましい態様等は、上述した本発明の組成物と同じである。

本発明は、細胞老化抑制用組成物又は抗老化用組成物を製造するための、セサミン類の１種以上及びエルゴチオネイン又はその塩の使用であって、上記組成物中のエルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）が、０．０５～５０である、使用も包含する。

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

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

[0049] 以下、本発明を実施例に基づいてより具体的に説明する。尚、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

[0050] 下記の実験で使用したエルゴチオネインは、L-エルゴチオネインである。セサミン・エピセサミン混合物には、セサミン：エピセサミン（重量比）が1：1であるセサミン及びエピセサミンの混合物を使用した。

[0051] <実施例1～2：セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインによる細胞老化への作用の評価試験>

TIG-3細胞（ヒト肺線維芽細胞）を使用し、当該細胞におけるp16-INK4A（p16）の発現量を測定した。実施例1～2、参考例1及び比較例1～4で使用した培地は、10%ウシ胎児血清を添加したイーグル最小必須培地である。H₂O₂処理に使用したH₂O₂（200μM）添加培地は、上記培地にH₂O₂を添加して調製した。H₂O₂（200μM）添加培地は、セサミン類及びエルゴチオネインを含まない。

[0052] 実施例1及び2では、細胞老化への作用を調べるため、セサミン類及びエルゴチオネインを含む培地で細胞を培養後、当該細胞をH₂O₂添加培地で処理した。その後、細胞をセサミン類及びエルゴチオネインを含む培地で培養した。

詳細には、セサミン・エピセサミン混合物（SE）及びエルゴチオネインがそれぞれ下記表1に記載の濃度で添加された培地に、4.0×10⁴ cells/wellのTIG-3細胞を6wellに播き、37℃、CO₂（5%）の条件で24時間培養した。表1に、培地中のエルゴチオネインに対するセサミン類（セサミン・エピセサミン混合物（SE））の重量比（SE／エルゴチオネイン）を示す。培養24時間後に、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを添加した培地を取り除き、ウェル中の細胞を、H₂O

₂ (200 μM) 添加培地で2時間処理した。その後、H₂O₂ (200 μM) 添加培地を、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを表1に示す濃度添加した培地に再度入れ替え、6日間培養した。6wellで培養した細胞を、500 μL QIAzol Lysis Reagent (QIAGEN社) で回収した。100 μM クロロホルム (ナカライテスク (株)) を添加し、上層200 μLを回収後、200 μL イソプロパノール (ナカライテスク (株)) を添加し遠心 (12000g, 10min, 4℃) した。その後、上清を除去し、ベレットに、500 μL 70% EtOH (ナカライテスク (株)) を添加し、遠心 (7500g, 5min, 4℃) した。上清を除去し、20 μL DNase RNase Free水 (invitrogen) で溶解し、ナノドロップで測定した。10 μLのRNAサンプルと、10 μLの調整したRT master mix (Applied Biosystems、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor) を混合し、サーマルサイクラー (Applied Biosystems) にて反応させ、合成したcDNA 20 μLをDNase RNase Free水で1/10希釈した。調整した15 μL Master mix (Takara、TB Green (登録商標) Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)) 及び5 μL cDNAサンプルを混和し、Real-Time PCR system (Applied Biosystems、StepOnePlus-01) にて、p16を測定した。p16発現量の平均 (n=6) を求めた。得られた結果を図1 (実施例1) 及び図2 (実施例2) に示す。有意差検定は、Student's t-test (vs H₂O₂処理) により行った (* : p<0.05)。

[0053] <参考例1：無処理群の細胞老化の評価試験>

細胞老化への作用を調べるため、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを含まない培地に、 1.0×10^5 cells/wellのTIG

—3細胞を6wellに播き、37℃、CO₂（5％）の条件で24時間培養した。培養24時間後に、H₂O₂（200μM）添加培地で2時間処理することなく、また、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを添加した培地に入れ替えることなく、更に2日間培養した。つまり、参考例1では、TIG—3細胞を、セサミン類及びエルゴチオネインを含まない培地で24時間培養後、当該培地で更に2日間培養した。参考例1では、H₂O₂（200μM）添加培地での処理を行わなかった。他は実施例1と同様にし、p16を測定した。得られた結果を図1及び図2に示す。

[0054] <比較例1：H₂O₂処理群の細胞老化の評価試験>

細胞老化への作用を調べるため、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを含まない培地に、4.0×10⁴cells/wellのTIG—3細胞を6wellに播き、37℃、CO₂（5％）の条件で24時間培養した。培養24時間後に、ウェル中の細胞を、H₂O₂（200μM）添加培地で2時間処理した。その後、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを添加した培地に入れ替えることなく、6日間培養した。つまり、比較例1では、上記のH₂O₂（200μM）添加培地での処理後、H₂O₂（200μM）添加培地を、セサミン類及びエルゴチオネインを含まない培地に入れ替えて、更に6日間培養した。他は実施例1と同様にし、p16を測定した。得られた結果を図1及び図2に示す。

[0055] <比較例2～4：セサミン・エピセサミン混合物又はエルゴチオネインによる細胞老化の評価試験>

細胞老化への作用を調べるため、セサミン・エピセサミン混合物又はエルゴチオネインがそれぞれ下記表1に記載の濃度で添加された培地に、4.0×10⁴cells/wellのTIG—3細胞を6wellに播き、37℃、CO₂（5％）の条件で24時間培養した。培養24時間後に、セサミン・エピセサミン混合物又はエルゴチオネインを添加した培地を取り除き、ウェル中の細胞を、H₂O₂（200μM）添加培地で2時間処理した。その後、H₂O₂（200μM）添加培地を、セサミン・エピセサミン混合物又はエルゴチ

オネインを表 1 に示す濃度添加した培地に再度入れ替え、6 日間培養した。

他は実施例 1 と同様に、p 1 6 を測定した。

得られた結果を図 1（比較例 2 及び 3）及び図 2（比較例 2 及び 4）に示す。

表 1 中の「 H_2O_2 (μM)」は、 H_2O_2 ($200 \mu\text{M}$) 添加培地中の H_2O_2 濃度である。

[0056] [表1]

	H_2O_2 (μM)	SE (μM)	エルゴチオネイン (μM)	SE/エルゴチオネイン (重量比)
参考例 1	—	—	—	—
比較例 1	200	—	—	—
比較例 2	200	1	—	—
比較例 3	200	—	0.1	—
比較例 4	200	—	10	—
実施例 1	200	1	0.1	15.5
実施例 2	200	1	10	0.155

[0057] <結果>

図 1 及び図 2 は、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの細胞老化抑制効果を調べた結果を示すグラフである。図 1 及び図 2 に示す結果（相対値）は、参考例 1 の p 1 6 の発現量を 1 としたときの、実施例及び比較例における p 1 6 の発現量の相対値で示した。詳細には、実施例の p 1 6 の発現量（ $n = 6$ の平均値）を、参考例 1 の p 1 6 の発現量（ $n = 6$ の平均値）で除して（実施例の p 1 6 発現量／参考例 1 の p 1 6 発現量）、相対値を求めた。比較例についても同様に、比較例の p 1 6 の発現量（ $n = 6$ の平均値）を、参考例 1 の p 1 6 の発現量（ $n = 6$ の平均値）で除して相対値を求めた。

図 1 及び図 2 に示すように、p 1 6 は、コントロール群（参考例 1）に対して比較例 1 に係る $200 \mu\text{M}$ の H_2O_2 処理で、2 倍程度増加した。また、図 1 から、比較例 2、3 に係るセサミン・エピセサミン混合物（ $1 \mu\text{M}$ ）又はエルゴチオネイン（ $0.1 \mu\text{M}$ ）処理では、それぞれ比較例 1 に係る H_2O_2 処理群に対して、p 1 6 の発現量に有意な変化がなかった。一方実施例 1 に

かかる、セサミン・エピセサミン混合物（ $1\ \mu\text{M}$ ）及び、エルゴチオネイン（ $0.1\ \mu\text{M}$ ）を含む組成物（エルゴチオネインに対するセサミン類の重量比が 15.5 ）による処理で、有意にp16の発現が抑制された。次に、図2に示すように、比較例2に係るセサミン・エピセサミン混合物（ $1\ \mu\text{M}$ ）では、比較例1に係る H_2O_2 処理群に対して、p16の発現量に有意な変化がなく、比較例4に係るエルゴチオネイン（ $10\ \mu\text{M}$ ）処理では、有意にp16の発現が抑制された。実施例2にかかる、セサミン・エピセサミン混合物（ $1\ \mu\text{M}$ ）及び、エルゴチオネイン（ $10\ \mu\text{M}$ ）を含む組成物（エルゴチオネインに対するセサミン類の重量比が 0.155 ）による処理で、有意にp16の発現が抑制され、且つ抑制レベルはエルゴチオネイン単独処理（比較例4）を上回った。実施例及び比較例の結果から、セサミン類によって、エルゴチオネインによる細胞老化抑制作用が増強されたと考えられた。

以上より、セサミン・エピセサミン混合物とエルゴチオネインとを含む組成物により、相乗的にp16の発現が抑制されたことを確認した。すなわち、セサミン類とエルゴチオネインとを含む組成物は、両者を含むことによる相乗的な細胞老化抑制効果を示すため、低用量でも効果を発揮することを確認した。

[0058] <実施例3：セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインによる寿命延長効果の確認試験>

酵母を用いて、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの寿命延長効果を調べた。酵母K6001は娘酵母が分裂しないため、親細胞から出芽した娘細胞数をカウントすることで、親細胞の分裂寿命を測定することが可能である。本試験では酵母K6001をYPGalactose液体培地（2%ガラクトース、1%酵母エキス、2%ペプトン）で定常期まで培養し、一部酵母を回収し、水で2回洗浄した。洗浄した酵母を、セサミン・エピセサミン混合物（ $10\ \mu\text{M}$ ）及びエルゴチオネイン（ $10\ \mu\text{M}$ ）を含むYPGlucose寒天培地（2%ガラクトース、1%酵母エキス、2%ペプトン）に播種し、 30°C で2日間培養後、顕微鏡で娘細胞をカウントした。

培地に含まれるエルゴチオネインに対するセサミン類の重量比（セサミン・エピセサミン混合物／エルゴチオネイン）は、1.55であった。

コントロールとして、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインを培地に添加しないこと以外は、上記と同じ方法で酵母を培養し、顕微鏡で娘細胞をカウントした。

[0059] <結果>

図3は、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの酵母における寿命延長効果を調べた結果を示すグラフである。図3のグラフの横軸は、1つの親細胞から出芽した娘細胞の世代（数）を示す。縦軸の分裂細胞（％）は、親細胞の総数（100％）に対する、横軸に示す世代の娘細胞を出芽した親細胞の割合（％）を示す（参考文献：Jarolim, et al., "A novel assay for replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*," FEMS yeast research 5, 2 (2004) : 169-177)。例えば、親細胞から5つの娘細胞（世代1～5）が出芽した場合、当該親細胞（分裂細胞）は、世代1～5にそれぞれカウントされる。図3中、黒丸（●）がコントロール、白丸（○）がセサミン・エピセサミン混合物（SE）及びエルゴチオネインを含有する培地で培養した酵母である。

図3に示した通り、コントロールと比較すると、セサミン・エピセサミン混合物及びエルゴチオネインの処理で、娘酵母の数が増え、酵母に分裂寿命延長効果を示した。以上より、セサミン類とエルゴチオネインとを含む組成物が、両者を含むことによる、寿命延長効果を発揮することを確認した。

請求の範囲

- [請求項1] セサミン類の1種以上、及び、エルゴチオネイン又はその塩を含有し、
エルゴチオネイン又はその塩のエルゴチオネイン換算の重量に対する、セサミン類の重量の比率（セサミン類／エルゴチオネイン）が、0.05～50である、組成物。
- [請求項2] セサミン類が、セサミン及び／又はエピセサミンである請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] 経口用組成物である請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項4] 飲食品である請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項5] 化粧品である請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項6] 細胞老化を抑制するために使用される、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項7] 抗老化用組成物である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項8] 「細胞老化抑制」、「老化細胞化抑制」、「細胞老化を予防する」、「老化細胞を作らせない」、「老化細胞の増加を抑制する」、「老化細胞の蓄積を抑える」、「細胞老化を遅らせる」、「細胞老化の進行を遅らせる」、「細胞老化誘導抑制」、「若い細胞の割合が増える」、「健康寿命延伸」、「健康長寿」、「細胞が若い」、「全身が若々しい」及び「見た目が若々しい」からなる群より選択される1以上の表示を付した、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項9] 請求項1又は2に記載の組成物を投与することを含む、細胞老化を抑制する方法。
- [請求項10] 細胞老化を抑制するための、請求項1又は2に記載の組成物の使用。