

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4567508号
(P4567508)

(45) 発行日 平成22年10月20日(2010.10.20)

(24) 登録日 平成22年8月13日(2010.8.13)

(51) Int. Cl.	F 1	
A 2 3 L 1/30 (2006.01)	A 2 3 L 1/30	B
A 2 3 L 2/52 (2006.01)	A 2 3 L 2/00	F
A 6 1 K 31/352 (2006.01)	A 6 1 K 31/352	
A 6 1 K 36/18 (2006.01)	A 6 1 K 35/78	C
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

請求項の数 5 (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2005-106232 (P2005-106232)	(73) 特許権者	502317909
(22) 出願日	平成17年4月1日(2005.4.1)		グローブサイエンス株式会社
(65) 公開番号	特開2006-280300 (P2006-280300A)		東京都荒川区西日暮里二丁目2番1号
(43) 公開日	平成18年10月19日(2006.10.19)		ステーションプラザタワー
審査請求日	平成20年3月7日(2008.3.7)	(73) 特許権者	592068200
前置審査			学校法人東京薬科大学
			東京都八王子市堀之内1432-1
		(74) 代理人	100085198
			弁理士 小林 久夫
		(74) 代理人	100098604
			弁理士 安島 清
		(74) 代理人	100087620
			弁理士 高梨 範夫
		(72) 発明者	豊田 裕夫
			東京都中野区江古田3-2-5-102
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ビルベリー果実より抽出標準化された、アントシアニジンを概ね25%含有するビルベリーエキスを1ml当たり0.1~0.25μg含有し、ビタミンEが添加されていることを特徴とする腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品。

【請求項2】

ビルベリー調合香料、糖類または酸味料の1または2以上が配合されている請求項1に記載の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品。

【請求項3】

前記酸味料がクエン酸であり、前記糖類が少なくともブドウ糖、果糖、麦芽糖から選ばれた糖類であることを特徴とする請求項2に記載の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品。

【請求項4】

腫瘍細胞増殖抑制作用に相乗効果が期待できるアミノ酸が加えられていることを特徴とする請求項1乃至3の何れかに記載の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品。

【請求項5】

正常細胞に対しては増殖抑制を示さないことを特徴とする請求項1乃至4の何れかに記載の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、腫瘍細胞増殖抑制効果を持つビルベリー配合食品、特にその効果を期待できるビルベリー配合健康飲料に関するものである。

【背景技術】

【0002】

主として、ヨーロッパ等で栽培されてきたビルベリーは、古くから鮮やかな赤色や紫色等いわゆるビルベリー色の色素特性を利用することに多く用いられてきた。また、近年はその薬効に関する論文が発表され、主として、眼精疲労回復、視力回復や血管の透過性等に有効であるとするこの種の研究も進んでいる。

また、昨今ビルベリーを含有する飲料についても、色々開発がすすめられている。(例えば、特許文献1参照)

【特許文献1】特開平11-178553号公報

【0003】

また、前記薬効もビルベリーから抽出されたビルベリーエキスの含有量によりその効果が異なり、視力治療、回復や毛細血管の浸透性の低減などには、或る所定の濃度のビルベリーエキスが必要であることがわかっている。しかしながら、従来ビルベリーエキスはその溶解度に難があるため、その処方では粉末乃至粉末を固めた錠剤の形で服用されているのが現実であった。従って、より服用し易くかつ、薬効を示すい所定の濃度のアントシアニジンを含む液体処方としてのものが強く要求されている。

【0004】

今世紀における高死亡率を占める各種のがん疾患は、消化器系、呼吸器系を初めとして身体のあらゆる部分へと拡大されてきており、先端医学による初期のがん疾患の検出技術、抗がん剤の進歩等とそれなりの成果は認められるものの、副作用を含めこれらが必ずしも十分に対処されているとは言えず、大きな社会問題となってきた。

【0005】

一般的にがん疾患に対する考え方としては、当然予防的対処および治療的対処とがあり、この内、治療的対処としては、(1)外科的手法によるがん細胞・組織の除去、(2)化学療法・放射線療法によるがん細胞の増殖阻止、および(3)新しい細胞免疫療法などがある。しかしながら、侵襲性、副作用などの点から、患者の苦痛を軽減する新しい治療法の開発が求められている。

特に、近年その手法の一つとして、健康食品による漢方医学的な予防的対処が脚光を浴びてきており、アガリクス茸を含有する健康食品などはこれらの最たるものとして認められてきている。しかしこのアガリクス茸系の健康食品もそれが効果ありとするためには価格的に問題がある。

他方、本出願人は、多くの実験の結果、従来視力治療、回復に効果ありとして認められているビルベリー果実より抽出標準化した所定量のビルベリーエキスが、がん細胞、特に白血球系由来腫瘍細胞および消化器系由来腫瘍細胞に顕著なる細胞増殖抑制作用を示す見を得た。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は由来の異なる腫瘍細胞に対する増殖抑制効果、しかも、安価で且つ服用し易いビルベリーエキスを用いた配合健康飲料が望まれており、本発明はこれを提供することを、その目的としている。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品は、以下である。

(1)ビルベリー果実より抽出標準化された、アントシアニジンを概ね25%含有するビルベリーエキスを1ml当たり0.1~0.25 μ g含有し、ビタミンEが添加されていることを特徴とする。

10

20

30

40

50

(2) 前記(1)において、ビルベリー調合香料、糖類または酸味料の1または2以上が配合されている。

(3) 前記(2)において、前記酸味料がクエン酸であり、前記糖類が少なくともブドウ糖、果糖、麦芽糖から選ばれた糖類であることを特徴とする。

(4) 前記(1)乃至(3)の何れかにおいて、腫瘍細胞増殖抑制作用に相乗効果が期待できるアミノ酸が加えられていることを特徴とする。

(5) 前記(1)乃至(4)の何れかにおいて、正常細胞に対しては増殖抑制を示さないことを特徴とする。

【発明の効果】

【0009】

本発明は、ビルベリー果実より抽出標準化された、アントシアニジンを25%以上含有するビルベリーエキスを1ml当たり0.1~1.0 μ g含有し、さらに少なくともビルベリー調合香料と、糖類、酸味料、および添加物として腫瘍細胞増殖抑制作用に相乗効果が期待できる少なくとも種々のビタミン類、又は/およびアミノ酸などを添加物として加えることが可能で、その作用の増強と共に安価で、服用し易い腫瘍細胞増殖抑制作用を有するビルベリー配合健康飲料を提供することが出来る。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

ビルベリーは、植物学的分類におけるツツジ(*Ericaceae*)科、スノキ(*Vaccinium*)属、*Mytillus*節に属する主として北部ヨーロッパ自生する落葉性低木であって、その果実特にその果皮は紫色でアントシアニン色素に富む。このアントシアニンは、シアニジン(*Cyanidin*)、デルフィニジン(*Delphinidin*)、マルビジン(*Malvidin*)、ペラルゴニジン(*Pelargonidin*)、ペオニジン(*Peonidin*)、ペチュニジン(*Petunidin*)、の6種のアントシアニジンに、グルコース(*glucose*)、ガラクトース(*galactose*)、アラビノース(*arabinose*)の3つの糖類がそれぞれ1つずつ結合した配糖体よりなる。

このアントシアニンの代表的構造式は次式で示される。

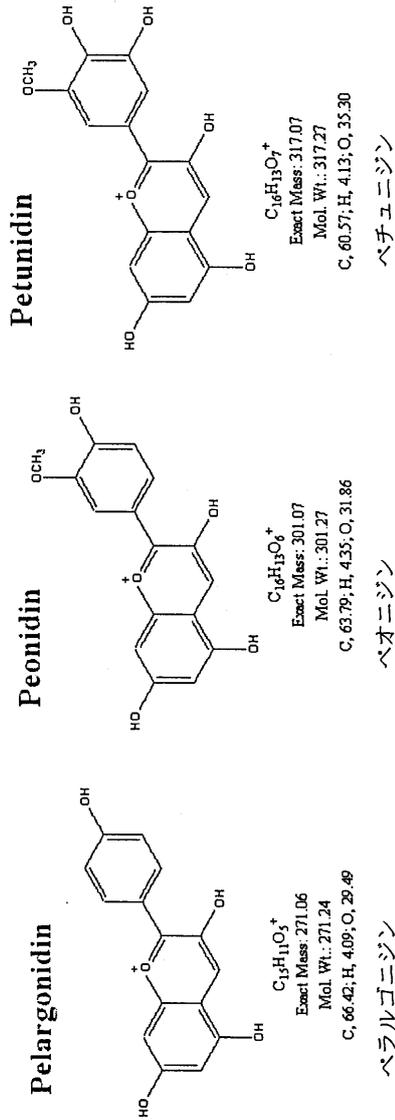
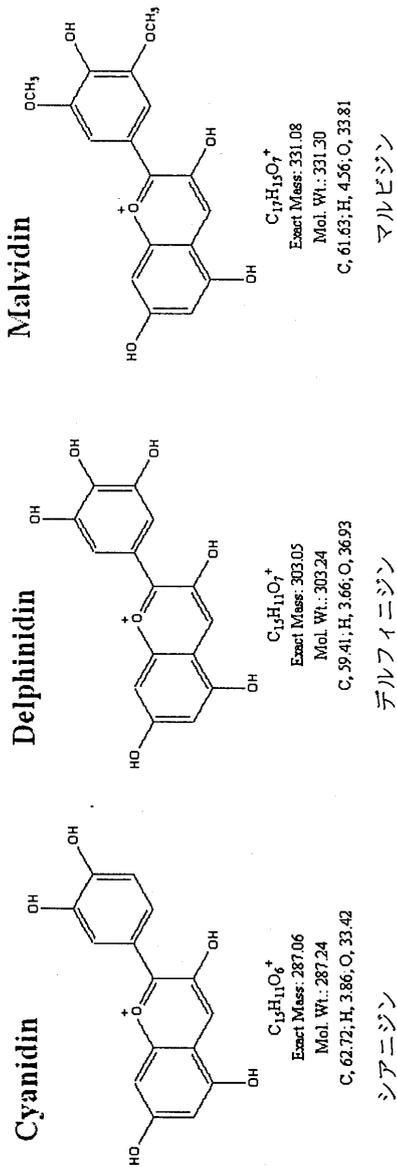
【0011】

10

20

【表 1】

アントシアニジンの構造式



10

20

30

【 0 0 1 2 】

従来から、ビルベリーの薬効として、眼の網膜活性化効果、毛細血管保護効果、抗酸化作用効果、抗炎症作用効果、抗潰瘍活性効果などが知られている。

本発明は、上記ビルベリーの各種効果に対し、腫瘍細胞、特に白血病由来腫瘍細胞および消化器系由来腫瘍細胞に対する細胞増殖抑制作用効果に焦点を合わせ、特殊の方法により抽出標準化したビルベリーエキスを使用することにより、従来の適用量に較べて極めて低いビルベリー濃度の適用量にて、十分上記作用効果を実現したところにそのポイントがある。

40

【 0 0 1 3 】

本発明に使用するビルベリーエキスは、本発明の出願人による特許出願である特願 2 0 0 3 - 1 5 7 7 2 7 号「ビルベリー原液の製造方法」に記載されたものをベースとしており、ビルベリー果実を圧縮粉碎し、該圧縮粉碎されたビルベリー砕体より抽出、標準化して 2 5 % 以上のアントシアニンを含む粉体のビルベリーエキスを使用するものである。

すなわち、ビルベリーエキストラクト（原液）は、ビルベリー果実を圧縮粉碎する第 1 工

50

程と、該圧縮粉碎されたビルベリー砕体より抽出、標準化して25%以上のアントシアニジンを含む粉体のビルベリーエキスを生成する第2工程と、該粉体のビルベリーエキスを85~100の高温水にて攪拌、溶解しビルベリーエキスを100ml当たり10,000mg以上含有するビルベリーエキストラクト(原液)とする第3工程により作成される。

このビルベリーエキストラクト(原液)にビルベリー調合香料、糖類、酸味料および少なくとも種々のビタミン類、又は/およびアミノ酸を添加物として加えてビルベリー飲料原液とする第4工程と、該ビルベリー飲料原液を、最終アントシアニジンを0.025~0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 含有するように混合添加してビルベリー配合飲料とする第5工程により本発明の腫瘍細胞増殖抑制効果をもつビルベリー配合食品は製造される。

10

【0014】

多くの実験の結果、このビルベリーエキスによるビルベリー濃度として1ml当たり0.2~1.0 μg 含有する混合液、が顕著な腫瘍細胞増殖抑制効果発現に望ましいことがわかった。

0.2 μg 未満では腫瘍細胞増殖抑制作用効果は殆ど現れず、0.2 μg 以上の濃度において顕著な細胞増殖抑制効果を発現し始める。また1.01 μg を越えても該効果(90%以上の細胞において増殖抑制が認められる)はサチュレートしており、意味がない。

従って、ビルベリー濃度としての最適範囲としては、1ml当たり0.2 μg ~1.0 μg とすることが望ましい。

【0015】

20

また、本発明は、抗細胞増殖抑制に対する相乗効果を期待するため、抗酸化作用を有するビタミンE(最終濃度1mM:通常は200.400IUを摂取し、1mMはほぼ250IUに相当する)を混合すると、その細胞増殖抑制効果は増強されるという知見を得ている。このことは、該物質とビタミン類、アミノ酸などのサプリメントを添加し、その作用効果の増強が可能という点で新規性がある。

【実施例1】

【0016】

出願人は、上記アントシアニジン成分に注目し、腫瘍細胞の増殖に対する効果の確認試験を行った。

試験がん細胞としては、大腸がん細胞(COLO201)、胃印環細胞がん細胞(KATO-III)、Tリンパ血球系白血病細胞(I9.1)、単球由来白血病細胞(U937)を用いた。

30

各がん細胞の細胞株をそれぞれ培養液と混ぜ約 10^6 個の細胞数(200 μl)に調製し、96穴培養用マイクロプレートに播種し、ビルベリーエキスより調製したビルベリー液を培養液の1/10量(最終濃度:0.0.1、0.3、0.6および1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)加え一定時間(24時間)インキュベーター(37)中で培養した後生細胞数を計数した。

なお、比較のためヒト正常内皮細胞(HUVEC)の場合についても、同様の試験を行った。

【0017】

40

図1は、本発明の実施例1における、ビルベリー濃度と各種腫瘍由来ガン細胞に対する効果確認試験した結果を示した図である。なお、ビルベリー濃度0.1mg/mlはアントシアニジン含有量として0.025mg/mlに相当する。

図において、HCFおよびHUV(HUVEC)は正常培養細胞でありそれぞれヒト子宮頸管繊維芽細胞およびヒト内皮細胞、COLOは大腸がん細胞、KATO-IIIは胃印環がん細胞、U937およびHL-60は単核球由来白血病細胞、A3およびI9.1はTリンパ球由来白血病細胞の場合である。

【0018】

試験結果より、腫瘍細胞の種類によりビルベリーエキス濃度による影響は異なっており、白血病由来の細胞の場合は極めて低濃度(0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)から、その細胞増殖抑制効

50

果を發揮し、 $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で残存生存率約30%に達しほぼその効果はサチュレートする。

これに対して、大腸がん細胞、胃がん細胞の場合は、アントシアニン量にほぼ比例して、細胞死滅効果が高くなることがわかった。ただし、 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上ではこれもサチュレートすることが確認された。

白血病由来の細胞の場合は50~70%程度の細胞死滅が認められ、また消化器系のがん細胞の場合は約25~50%程度のがん細胞死滅が確認され、ビルベリー濃度の増加によりより大きな効果を期待することができる。

なお、正常細胞である内皮細胞(HUV)に対しては増殖抑制を示さず、また正常子宮頸管繊維芽細胞(HCF)に対してはその増殖を促進することから、該物質は選択的に腫瘍細胞の増殖を抑制する知見を得た。

【実施例2】

【0019】

本実施例2は、ビルベリーエキスにさらに添加物としてビタミンE(以下、VEという)を大腸がん由来細胞(COLO201)に添加し、ビルベリーエキスと添加物による細胞増殖抑制作用の相乗効果を測定した。

ビルベリー濃度0、0.01、0.1、0.3、0.6、 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 含有の培養液にVE1mMを添加し、24時間培養後および48時間培養後の実施例1に準じた方法で、細胞生存率を測定した。

【0020】

図2は、本発明の実施例2における、ビルベリーエキスにさらに上記添加物を加えた混合液による各種腫瘍由来ガン細胞に対する相乗効果を確認試験した結果を示す図であり、(a)は24hr培養後の細胞生存率、(b)は48hr後の細胞生存率を示す。

試験結果より、前記添加物VEを加えた場合、ビルベリーエキスの場合に較べていずれも細胞増殖抑制作用が増すことが明らかとなり、特にビルベリー濃度 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 含有においてVE添加の有無による効果が顕著であり、48時間培養時における細胞生存率は20%以下となっている。また、48時間培養の場合の細胞生存率は24時間培養の場合の細胞生存率の約50%、すなわち約2倍の効果があることがわかった。

なお、ビルベリーエキスに対する添加剤VEの添加による細胞増殖抑制作用への相乗効果は、他の添加剤(アミノ酸等)の添加、または他の添加剤(アミノ酸等)との併用添加による場合も期待できるものである。

また、本実施例2においては、添加量を固定したが、添加剤の多量添加による相乗効果アップも期待することができる。

【産業上の利用可能性】

【0021】

本発明の実施例においては、対象がん細胞を大腸がん細胞(COLO)、胃がん細胞(KATO-III)、白血球系T細胞由来がん細胞(19.1)、血球系単球由来がん細胞(U937)の場合としたが、上記のごとく、ビルベリーエキスおよび添加物による細胞増殖抑制効果はこれらに限られるものではなく、各種のがん細胞に対し有効な細胞増殖抑制作用を有する健康食品(飲料)として適用することができる。また、本発明に示したように、正常細胞に対しては増殖抑制を示さないことから、安全性の高い飲料である。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】本発明の実施例1における、ビルベリーの濃度と各種腫瘍由来ガン細胞に対する効果確認試験した結果を示す図である。

【図2】本発明の実施例2における、ビルベリーエキスにさらに添加物を加えた場合の各種腫瘍由来がん細胞に対する相乗効果確認試験の結果を示す図であり、(a)は24hr培養後の細胞生存率、(b)は48hr後の細胞生存率を示す。

【符号の説明】

【0023】

10

20

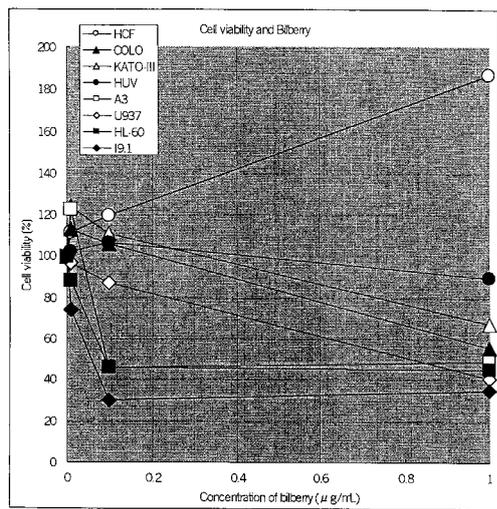
30

40

50

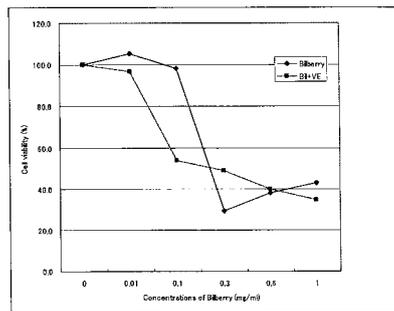
HCF ヒト子宮頸管繊維芽細胞（正常細胞）、HUV 正常内皮細胞、COLO 大腸がん細胞、KATO-III 胃印環がん細胞、U937 単核球由来白血病細胞、A3 およびI9.1はTリンパ球由来白血病細胞。

【図1】

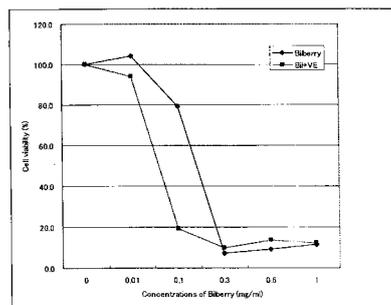


【図2】

(a) 24hr 培養 使用細胞株: COLO (大腸がん細胞)



(b) 48hr 培養 使用細胞株: COLO (大腸がん細胞)



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 0 7 D 311/62 (2006.01) C 0 7 D 311/62

(72)発明者 大山 邦男
東京都八王子市櫛田町558-26

(72)発明者 砂本 一也
東京都足立区足立1-1-3

審査官 富永 みどり

(56)参考文献 特開2004-357536(JP,A)
特開2004-357537(JP,A)
特開2004-357557(JP,A)
特開平11-178553(JP,A)
特開2003-277271(JP,A)
国際公開第03/075861(WO,A1)
特開2002-017295(JP,A)
特開平11-302142(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 2 3 L 1 / 3 0