



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202308606 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：111143564

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 12 月 26 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/20 (2006.01)**A61K35/20 (2006.01)**A61K36/48 (2006.01)**A61P19/00 (2006.01)*

(30)優先權：2017/12/26

日本

2017-249980

(71)申請人：福岡大太郎 (日本) FUKUOKA, HIROTARO (JP)

日本

(72)發明人：福岡大太郎 FUKUOKA, HIROTARO (JP)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：15 共 85 頁

(54)名稱

飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途

(57)摘要

本發明係提供包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽作為有效成分之使用於增加毛髮、頭皮或皮膚之改質、創傷治癒、骨形成促進，或毛髮之改質的醫藥組成物及方法。

【發明摘要】

【中文發明名稱】

飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途

【中文】

本發明係提供包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽作為有效成分之使用於增加毛髮、頭皮或皮膚之改質、創傷治癒、骨形成促進，或毛髮之改質的醫藥組成物及方法。

【指定代表圖】 無
【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途

【技術領域】

【0001】本發明係關於使用於增加毛髮、頭皮或皮膚之改質、創傷治癒、骨形成促進，或毛髮之改質的醫藥組成物及方法。

【先前技術】

【0002】在哺乳類的乳汁(特別是初乳)中，包含含營養素之各式各樣之物，例如免疫物質或細胞內傳遞物質、胞外體、mRNA、細胞激素等。若嬰兒經口攝取，則此等諸物質被攝入至體內，有助於嬰兒的發育。

【0003】藉由在脂肪系列細胞的有無上之比較檢討，已報導脂肪細胞系列細胞有益於皮膚幹細胞的微環境(niche)而驅動毛髮循環(非專利文獻1)。在非專利文獻1中，已暗示CD34陽性細胞的出現、PPAR γ 陽性脂肪細胞的增加及脂肪細胞的成熟係與成長期毛髮的增長相關。此外，在非專利文獻2中，已報導在組織中發生組織再生時可觀察到組織常在型M2樣巨噬細胞的增加。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

【0004】

[非專利文獻1] Festa E et al., Cell, 146: 761-71, 2011

[非專利文獻2] Satoh T. et al., Nature, 495: 524-528,
2013

【發明內容】

【0005】本發明係提供使用於對頭皮或皮膚進行改質之局部投予用醫藥組成物。本發明復提供使用於治療創傷之局部投予用醫藥組成物，本發明又提供使用於促進增加毛髮或對毛髮進行改質之局部投予用醫藥組成物。

【0006】本發明者等人發現包含乳汁、乳汁之離心上清液成分及大豆油以及此等中所包含之主要的脂肪酸等脂肪酸之組成物有用於對頭皮或皮膚進行改質、治癒創傷、促進骨形成及對毛髮進行改質。本發明乃基於此等見解。

【0007】根據本發明，係提供以下發明。

(1)一種醫藥組成物，其係(i)使用於對頭皮或皮膚進行改質之局部投予用醫藥組成物、(ii)使用於治療創傷之局部投予用醫藥組成物，或(iii)使用於促進增加毛髮之局部投予用醫藥組成物或使用於對毛髮進行改質之局部投予用醫藥組成物，其包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽。

(2)如上述(1)所記載之醫藥組成物，其係使用於對頭皮或皮膚進行改質。

(3)如上述(1)所記載之醫藥組成物，其係使用於治療創傷。

(4)如上述(1)所記載之醫藥組成物，其係使用於促進增加毛髮或對毛髮進行改質。

(5)如上述(1)所記載之醫藥組成物，其係使用於促進骨形成。

(6)如上述(6)所記載之醫藥組成物，其呈飽和脂肪酸塗佈於生體適合性膜而得之形態。

(7)如上述(1)～(6)中任一項所記載之醫藥組成物，其中，前述飽和脂肪酸為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸。

(8)如上述(1)～(7)中任一項所記載之醫藥組成物，其進一步包含不飽和脂肪酸。

(9)如上述(1)～(6)中任一項所記載之醫藥組成物，其包含大豆油或乳汁或者此等之萃取物或加工物，該大豆油或乳汁或者此等之萃取物或加工物包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽。

(10)如上述(9)所記載之醫藥組成物，其中，乳汁係經滅菌。

(11)如上述(10)所記載之醫藥組成物，其中，乳汁係經高溫滅菌。

【0008】根據本發明，就提供可用於上述各式各樣的醫藥用途，而且即便治療終了後亦可繼續發揮效果之醫藥組成物或治療法之方面而言實屬有利。

【圖式簡單說明】

【 0009】

[圖 1]圖 1 為示出乳汁投予所引發之對毛髮的角質層之影響之照片。

[圖 2A]圖 2A 為示出乳汁投予所引發之在白髮減少上所呈現出之效果之局部的照片。

[圖 2B]圖 2B 為示出乳汁投予所引發之在白髮減少上所呈現出之效果之頭部側面的照片。

[圖 3]圖 3 為示出乳汁投予與皮膚的脂肪層的厚度之關係之圖。 #1 ~ #6 各自表示治療 1 ~ 6 個月後。

[圖 4]圖 4 示出在治療前後之皮膚組織中之 I 型膠原蛋白及 III 型膠原蛋白的組織染色。

[圖 5]圖 5 為示出乳汁投予對脂肪細胞的大小之效果之圖。

[圖 6A]圖 6A 為示出乳汁投予對創傷治癒之效果之圖。

[圖 6B]圖 6B 為示出乳鐵蛋白投予對創傷治癒之效果之圖。

[圖 6C]圖 6C 為示出飽和脂肪酸或不飽和脂肪酸投予對創傷治癒之效果之圖。

[圖 6D]圖 6D 為示出大豆油投予對創傷治癒之效果之圖。

[圖 7]圖 7 示出乳汁投予所引發之韋斯大鼠 (Wistar rat) 背部皮下脂肪層組織的免疫組織學染色 (Ki67 陽性脂肪細胞的染色及 CD68 陽性巨噬細胞的染色) 之結果。

[圖 8A]圖 8A 示出乳汁投予所引發之頭皮脂肪層組織的

免疫組織學染色(CD31染色及CD34染色)之結果。

[圖 8B]圖 8B 示出乳汁投予所引發之頭皮脂肪層組織的免疫組織學染色(CD68陽性巨噬細胞的染色、CD163陽性組織常在型M2樣巨噬細胞的染色及PPAR γ 陽性細胞的染色)之結果。

[圖 9]圖 9 示出乳鐵蛋白經口投予所引發之大鼠背部皮下脂肪層組織的免疫組織學染色(CD68及PPAR γ 陽性細胞的染色)之結果。

[圖 10A]圖 10A 示出生理食鹽水投予4週後及8週後之組織中之CD68及PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10B]圖 10B 示出棕櫚酸投予4週後及8週後之組織中之CD68及PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10C]圖 10C 示出硬脂酸投予4週後及8週後之組織中之CD68及PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10D]圖 10D 示出肉豆蔻酸投予4週後及8週後之組織中之CD68及PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10E]圖 10E 示出油酸投予 4 週後及 8 週後之組織中之 CD68 及 PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10F]圖 10F 示出 α -次亞麻油酸投予 4 週後及 8 週後之組織中之 CD68 及 PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 10G]圖 10G 示出亞麻油酸投予 4 週後及 8 週後之組織中之 CD68 及 PPAR γ 陽性細胞的染色結果。圖中之箭頭表示陽性細胞存在之處，各染色影像之右下的括號內之數字表示視野中之陽性細胞數。

[圖 11A]圖 11A 示出乳汁投予所引發之毛髮的長度每長度 $\times$ 根數之總和。

[圖 11B]圖 11B 為以長條圖之形式示出圖 11A 之結果之圖。在圖 11B 中，「1.4mm 以上」為 1.4mm 以上的長度之毛髮的長度之總和，「全體」為 0.9mm 以上的長度之毛髮的長度之總和。

[圖 12]圖 12 為將骨切除部位(直徑 8.8mm)載置於經塗佈棕櫚酸之生體適合性膜或未經塗佈之生體適合性膜，藉由 3D-CT 觀察隨後之骨形成所獲得之影像。針對骨形成後之骨，為了組織取樣而一部分人工地穿開直徑 3mm 的孔。

[圖 13]圖 13 示出在骨形成後經組織取樣之骨的切片的蘇木精-伊紅染色影像。虛線的橢圓表示在骨切除部位所

新形成之骨。數值表示所形成之各骨的面積(像素數及 mm^2)。

[圖 14]圖 14 示出經投予棕櫚酸或乳汁之對象中之 Bone morphogenetic protein-4(Bmp4) 及 Bone morphogenetic protein-7(Bmp7)的基因表現的變動。

[圖 15]圖 15 示出相對於對照而言之棕櫚酸投予或乳汁投予所引發之基因表現的變動。

【實施方式】

【0010】在本說明書中，所謂「對象」，係為哺乳動物。作為哺乳動物，可列舉例如人類(男性及女性)。

【0011】在本說明書中，所謂「乳汁」，係意味源自哺乳動物之乳。作為哺乳動物，可列舉例如人類及牛。

【0012】在本說明書中，所謂「乳清」，係意味自乳汁中去除乳脂肪分或酪蛋白等而得之水溶液。乳清可例如將乳供予離心分離等操作來去除沉澱物而獲得。

【0013】在本說明書中，所謂「頭皮」，係指頭部的皮膚中，包含頭頂部，顏面、顎及頸(包含耳)以外之區域。在本說明書中，「皮膚」係以包含頭皮及頭皮以外之皮膚之意義使用。人類的頭皮具有約 700mm^2 ～約 800mm^2 的面積。

【0014】在本說明書中，所謂「改質」，係意味對該質進行改良、改善、提升或較佳化。在本說明書中，所謂「改善」，係以包含相較於目前的狀況而言變佳以及差的

部分變得較佳之意義使用。

【0015】在本說明書中，所謂「毛髮」，係意味長在皮膚之毛。在本說明書中，所謂「頭髮」，係意味長在頭皮之毛。

【0016】在本說明書中，所謂「白髮」，係意味白毛髮，特別是頭髮中缺乏真黑色素(eumelanin)(或真性黑色素)及／或脫黑色素(pheomelanin)等色素，呈現出白色之毛髮。在本說明書中，所謂「黑髮」，係意味包含真黑色素並呈現出黑色之毛髮。

【0017】在本說明書中，所謂「角質層」，係覆蓋毛髮的表面之結構，其係存在於毛髮的最外層之結構。角質層係擔任從來自外部之刺激中保護毛髮之角色以及防止來自內部的皮層之水分或成分損失至外部之角色。角質層係自根部對毛尖鱗片狀地覆蓋毛髮。

【0018】在本說明書中，所謂「創傷」，係意味組織的物理性損傷。在創傷中，包含體表的創傷。

【0019】根據本發明，係提供

(A)使用於對頭皮或皮膚進行改質之局部投予用醫藥組成物，其包含治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽；

(B)使用於治療創傷之局部投予用醫藥組成物，其包含治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽；及

(C)使用於促進增加毛髮之局部投予用醫藥組成物或

使用於對毛髮進行改質之局部投予用醫藥組成物，其包含治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽；以及

(D)使用於促進骨形成之醫藥組成物，其包含治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽

(以下，有時將上述(A)～(D)所記載之醫藥組成物總稱為「本發明之醫藥組成物」)。

【0020】 在本發明之某一態樣中，作為包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之物，可列舉乳汁、乳汁萃取物(例如乳清)及乳汁加工物(例如乳製品，例如乳酪之乳清、酸乳之乳清等)以及此等之混合物。乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物亦可經滅菌，例如可經低溫滅菌(例如 $62^{\circ}\text{C} \sim 68^{\circ}\text{C}$ 的加熱滅菌)或高溫滅菌(120°C 以上的加熱滅菌)。乳汁的滅菌通常大致區分成於 $62^{\circ}\text{C} \sim 68^{\circ}\text{C}$ 施行約30分鐘(例如於 65°C ，30分鐘)之低溫滅菌及於 $120^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$ 施行1秒 $\sim$ 4秒(例如於 $120^{\circ}\text{C} \sim 130^{\circ}\text{C}$ ，2秒 $\sim$ 3秒)之高溫滅菌。從而，在本發明之某一態樣中，本發明之醫藥組成物包含乳汁作為有效成分。

【0021】 在本發明之某一態樣中，作為包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之物，可列舉動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物(例如大豆油、大豆油萃取物或大豆油加工物)或此等之混合物。

【0022】 在本說明書中，來自乳汁或大豆油之萃取物

為萃取自乳汁或大豆油之部分，有時各自被稱為乳汁萃取物或大豆油萃取物，其各自包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽。

【0023】在本說明書中，乳汁或大豆油之加工物為對乳汁或大豆油進行加工所獲得之物，有時各自被稱為乳汁加工物或大豆油加工物，其各自包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽。

【0024】作為包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之組成物，可列舉包含乳汁及乳清之溶液以及此等之凍結乾燥製劑。

【0025】本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸可為作為乳汁之成分所包含之脂肪酸。

【0026】在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之飽和脂肪酸為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上飽和脂肪酸。

【0027】在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸可為飽和脂肪酸，例如為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸。

【0028】在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之飽和脂肪酸為棕櫚酸。

在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之飽和脂肪酸為硬脂酸。

在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組

成物中所包含之飽和脂肪酸為肉豆蔻酸。

【0029】在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物亦可進一步包含不飽和脂肪酸，作為不飽和脂肪酸，可包含例如選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上不飽和脂肪酸。

在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為油酸。

本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為 α -次亞麻油酸。

本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為亞麻油酸。

【0030】在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸可為至少1種飽和脂肪酸與至少1種以上不飽和脂肪酸之混合物。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為棕櫚酸及亞麻油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為棕櫚酸及油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為硬脂酸及亞麻油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為硬脂酸及油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為棕櫚酸及硬脂酸以及亞麻油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含之脂肪酸為棕櫚酸、硬脂酸及油酸。在某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物中所包含

之脂肪酸為肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸。

【0031】在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含例如選自飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸{在此處，所謂可包含，可列舉天然包含於乳汁中之情況以及追加至乳汁中之情況}。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可進一步包含不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含例如選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含例如選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含例如1種以上飽和脂肪酸及1種以上不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸以及選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物可包含肉豆蔻酸、棕櫚酸及油酸。在某一態樣中，本發明中可使用之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或

者此等之混合物可包含肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸。在本發明之某一態樣中，上述1種以上脂肪酸可以乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物的形態添加至醫藥組成物中。

【0032】在本發明之某一態樣中，乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物亦可增強選自飽和脂肪酸及不飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸的含量。在增強時，只要相較於增強前之乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物中之脂肪酸含量而言，增強後之脂肪酸含量增加即可。增強可藉由例如將選自飽和脂肪酸及不飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸添加至乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物中而施行。在某一態樣中，增強可例如為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為1種以上飽和脂肪酸及1種以上不飽和脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量以及選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可為肉豆蔻酸、棕櫚酸及油酸各自的含量的增強。在某一態樣中，可為肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸各自的含量的增強。

【0033】在本發明之某一態樣中，乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物亦可減低乳鐵蛋白含量。乳鐵蛋白含量的減低亦可藉由高溫殺菌等方法施行。

在本發明之某一態樣中，乳汁、乳汁萃取物或乳汁加工物或者此等之混合物亦可進行脂肪酸含量的增強及乳鐵蛋白含量的減低。

【0034】在本發明之某一態樣中，動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含選自飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸。在某一態樣中，動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可進一步包含不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含例如選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含例如選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含例如1種以上飽和脂肪酸及1種以上不飽和脂肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸以及選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂

肪酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含肉豆蔻酸、棕櫚酸及油酸。在某一態樣中，本發明中可使用之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物可包含肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸。

【0035】在本發明之某一態樣中，動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物亦可增強選自飽和脂肪酸及不飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸的含量。在增強時，只要相較於增強前之動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物中之脂肪酸含量而言，增強後之脂肪酸含量增加即可。增強可藉由例如將選自飽和脂肪酸及不飽和脂肪酸之1種以上脂肪酸添加至動物性油、植物性油、此等油萃取物或加工物或者此等之混合物中而施行。在某一態樣中，增強可例如為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為1種以上飽和脂肪酸及1種以上不飽和脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可例如為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量以及選自由油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸所組成之群組之1種以上脂肪酸的含量的增強。在某一態樣中，增強可為肉豆蔻酸、棕櫚

酸及油酸各自的含量的增強。在某一態樣中，可為肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸各自的含量的增強。

【0036】在某一態樣中，在本發明之局部投予用醫藥組成物中，以可溶化形態包含脂肪酸。在某一態樣中，在本發明之局部投予用醫藥組成物中，以醫藥上可容許之鹽之形式包含脂肪酸。在某一態樣中，在本發明之局部投予用醫藥組成物中，以乳液的形態包含脂肪酸。在某一態樣中，在本發明之局部投予用醫藥組成物中，脂肪酸並非為酯形態及甘油酯形態。

【0037】脂肪酸係溶解於二甲基亞砷、乙醇、氯仿、二乙醚中。若將脂肪酸製成醫藥上可容許之鹽，例如鈉鹽，則水溶性提升。亦可使脂肪酸鹽形成微膠粒而溶解於水中。

【0038】本發明之局部投予用醫藥組成物在某一態樣中，可為注射用之製劑。在本發明之某一態樣中，本發明之局部投予用醫藥組成物可以套組的形態提供，該套組包含：包含脂肪酸之溶液之凍結乾燥製劑及注射用水，凍結乾燥劑可在需要時以注射用水進行調製。注射用水亦可加熱使用。

本發明之使用於促進骨形成之醫藥組成物亦可以塗佈於生體適合性膜上之狀態提供。從而，在本發明中，可提供包含塗佈於生體適合性膜上之治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之醫藥。作為生體適合性膜，可

列舉例如具有磷酸鈣的表面之薄膜(例如磷酸鈣的薄膜)、具有聚乳酸的表面之薄膜(例如聚乳酸的薄膜)、具有聚甘醇酸的表面之薄膜(例如聚甘醇酸的薄膜)、具有乳酸與聚甘醇酸之共聚物或嵌段共聚物的表面之薄膜(例如乳酸與聚甘醇酸之共聚物或嵌段共聚物的薄膜)及具有羥基磷灰石的表面之薄膜(例如羥基磷灰石的薄膜)。將有效成分塗佈於生體適合性膜上可藉由例如在生體適合性膜上滴加將有效成分進行溶解而得之溶液，使其進行乾燥而施行。例如，可將 $10\sim 50\mu\text{g}$ 左右的醫藥有效成分塗佈於生體適合性膜而使用。

【0039】包含治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之使用於對頭皮或皮膚進行改質之局部投予用醫藥組成物在投予後，頭皮自投予部分附近獲得改善，其效果耗費時間緩緩地傳播至周圍。從而，可使其分散在頭皮或皮膚上耗費時間使發明之效果傳播至周圍，亦可使其密集來縮短傳播所需要之時間。在本發明之某一態樣中，本發明之醫藥組成物並無特別限定，可例如對 $1\text{cm}^2\sim 10\text{cm}^2$ 、 $1\text{cm}^2\sim 5\text{cm}^2$ 、 $1\text{cm}^2\sim 4\text{cm}^2$ 、 $1\text{cm}^2\sim 3\text{cm}^2$ 、 $1\text{cm}^2\sim 2\text{cm}^2$ 、 $0.5\text{cm}^2\sim 2\text{cm}^2$ 、 $0.7\text{cm}^2\sim 1.5\text{cm}^2$ 設為1處。在本發明之某一態樣中，本發明之醫藥組成物可例如以每 0.5cm^2 為1處以下、每 0.6cm^2 為1處以下、每 0.7cm^2 為1處以下、每 0.8cm^2 為1處以下、每 0.9cm^2 為1處以下或每 1cm^2 為1處以下的投予密度進行投予。在本發明之某一態樣中，本發明之醫藥組成物可例如局部投予至皮下正下方或真皮層至脂

肪層上層。投予可藉由例如注射施行。

【0040】此外，治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽可例如每1處投予 $10\mu\text{L} \sim 50\mu\text{L}$ 、 $15\mu\text{L} \sim 30\mu\text{L}$ 、 $15\mu\text{L} \sim 25\mu\text{L}$ 或約 $20\mu\text{L}$ 的溶液。

【0041】投予部位可適宜選擇，例如亦可投予至頭皮整體，或者可投予至頭皮整體中相較於其他而言較不良的部分。

【0042】此外，令人驚訝的是本發明者等人發現若投予至頭皮整體中比較良好的部位，則其效果易於傳播至周圍。良好的部分對本發明之醫藥組成物之應答性較高，其效果傳播而到達該投予處的周邊。傳播所引發之改善效果在離投予處較近的位置強烈表現，到達投予處起數cm的範圍(例如 $1\text{cm} \sim 4\text{cm}$)。從而，可對頭皮中比較良好的部位進行投予。此外，比較不良的部位係由於自良好的部位傳播改善效果，因而即便僅對比較良好的部位進行投予，亦可獲得對不良的部位之治療效果。

從而，亦可對頭皮中比較良好的部位進行投予，藉由傳播的效果嘗試進行不良的部分的改善。此外，若在比較不良的部位可獲得改善，則對本發明之醫藥組成物之應答性提高。從而，若能對頭皮中比較良好的部位進行投予，藉由傳播的效果進行不良的部分的改善，則亦可在隨後對該先前為不良之部分投予本發明之醫藥組成物。

一般認為每次投予本發明之醫藥組成物，在投予部位之組織刺激、巨噬細胞的活性或年輕脂肪細胞的活性會升

高，修復機能上升。期望診察患者的症狀(狀況)及改善程度來進行投予。

【0043】在某一態樣中，上述局部投予可設成每成人的頭皮150處～250處(例如約200處)或250處～800處，投予處的數量可視需要決定。在此處，所謂用語「約」，係意味包含接續此用語之數值的 $\pm 10\%$ 或 $\pm 5\%$ 之數值範圍。

【0044】本發明之醫藥組成物並無特別限定，可例如以1個月2次至6個月1次、1個月2次至5個月1次、1個月2次至4個月1次、1個月2次至3個月1次、1個月2次至2個月1次、1個月1.5次至1.5個月1次或1個月1.2次至1.2個月1次，例如約每月1次的投予間隔進行投予。

【0045】本發明之醫藥組成物係即便僅投予1次亦具有頭皮或皮膚之改質效果，此效果可持續。從而，投予可為1次，亦可為複數次。本發明之醫藥組成物亦可繼續進行投予直至繼續治療完畢為止或直至患者滿意為止。特定而言，根據本發明，頭皮或皮膚之改質效果係自狀態佳的部分開始表現，在狀態差的部分則較晚表現。從而，治療期及治療間隔可因應頭皮或皮膚的狀態而變動。經由本發明之醫藥組成物之治療期可設為例如最短1次治療～3年、最短1次治療～2年、最短1次治療～1.5年、最短1次治療～1年、最短1次治療～8個月、最短1次治療～6個月或最短1次治療～4個月。此外，本發明之醫藥組成物亦可在觀察到年齡增長對毛髮或頭皮、皮膚所引發之變化之前、觀察到時或觀察到之後施行投予。此外，本發明之醫藥組成

物亦可在經由本醫藥組成物的投予之治療後之對象中，在觀察到年齡增長對毛髮或頭皮、皮膚所引發之變化之前、觀察到時或觀察到之後再次開始進行投予。

【0046】在本發明之某一態樣中，上述(A)所記載之醫藥組成物可為用於頭皮或皮膚的年輕化或年輕化的促進之醫藥組成物。在本發明之某一態樣中，上述(A)所記載之醫藥組成物可為用於頭皮或皮膚的再生或再生的促進之醫藥組成物。在本發明之某一態樣中，上述(A)所記載之醫藥組成物可為用於頭皮或皮膚的活性化之醫藥組成物。在本發明之某一態樣中，上述(A)所記載之醫藥組成物可與增毛髮劑或生毛髮劑併用。

【0047】在本發明之某一態樣中，上述(B)所記載之醫藥組成物可使用於治療創傷。在本發明中，創傷的治療可為創傷的治癒、創傷的治癒的促進或創傷的治癒的早期化。

【0048】藉由改善頭皮，其效果亦到達毛髮本身。且，如後述之實施例中所示，作為毛髮之改善效果，可列舉白髮的減少、白髮部分的分量的減少及白髮的比例的減少、白髮的比例的減少、角質層粗糙的改善、毛髮的粗細及伸長速度的改善。從而，在本發明之某一態樣中，上述(C)所記載之醫藥組成物可為使用於使白髮減少之醫藥組成物。作為白髮的減少，可列舉白髮的根數的減少、白髮部分的分量的減少及白髮的比例的減少。白髮的減少可伴隨藉由各種黑色素進行著色而得之髮的根數的增加、該種

髮之部分的分量的增加及該種髮的比例的增加。在本發明之某一態樣中，上述(C)所記載之醫藥組成物可為使用於改善毛髮的角質層粗糙之醫藥組成物。作為改善髮毛的角質層粗糙，可列舉提高角質層整齊排列的程度及縮減角質層凌亂之區域。在本發明之某一態樣中，上述(C)所記載之醫藥組成物可為使用於改善毛髮的粗細或伸長速度之醫藥組成物。作為毛髮的粗細的改善，可列舉加粗毛髮、使較粗的毛髮的根數增加及使較粗的毛髮的比例增加。作為伸長速度的改善，可列舉例如使具有每月10mm以上、11mm以上、12mm以上、13mm以上、14mm以上、15mm以上、16mm以上、17mm以上、18mm以上、19mm以上、20mm以上或21mm以上的伸長速度之毛髮的根數或比例增加。

【0049】在本發明之某一面中，係提供

(a)在有需要的對象(或有需要的部位)中對頭皮或皮膚進行改質之方法，其包含對頭皮或皮膚局部投予治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽；

(b)在有需要的對象中治療創傷之方法，其包含對頭皮或皮膚局部投予治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽；

(c)在有需要的對象中促進增加毛髮之方法或在有需要的對象中對毛髮進行改質之方法，其包含對頭皮或皮膚局部投予治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽；以及

(d)在有需要的對象中促進骨形成之方法，其包含對需要骨形成之部位(例如骨的損傷部位)投予治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽{在此處，治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽亦可以塗佈於生體適合性膜之狀態進行投予}。

【0050】 在本發明之某一面中，係提供

(α)治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之用途，其係用在製造使用於對頭皮或皮膚進行改質之局部投予用醫藥製劑；

(β)治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之用途，其係用在製造使用於治療創傷之局部投予用醫藥製劑；

(γ)治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之用途，其係用在製造使用於促進增加毛髮之局部投予用醫藥製劑或使用於對毛髮進行改質之局部投予用醫藥製劑；以及

(δ)治療上有效量的飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽之用途，其係用在製造使用於促進骨形成之醫藥組成物或醫藥製劑{在此處，醫藥製劑可以治療上有效量的脂肪酸(特別是飽和脂肪酸)或其醫藥上可容許之鹽塗佈於生體適合性膜之狀態提供}。

【0051】 在本發明之某一態樣中，醫藥組成物可除了治療上有效量的脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽以外，尚包

含賦形劑(例如溶媒、共溶媒、可溶化劑、潤濕劑、懸浮劑、增黏劑、乳化劑、螯合劑、緩衝液、pH調整劑、抗氧化劑、還原劑、抗菌劑、保存劑、填充劑、保護劑或等張劑)。在本發明之某一態樣中，醫藥組成物可為注射劑的形態。在本發明之某一態樣中，醫藥組成物可經局部投予，例如皮內投予或皮下投予。

[實施例]

【0052】

<實施例1：乳汁的調製及投予>

(1)乳汁係如以下般進行調製。

作為用於投予至人類之乳汁，係使用擠乳器自女性34歲及40歲的乳房獲得所謂的初乳(在生產後3週以內所採取之乳)。

作為用於投予至大鼠之乳汁，就牛乳而言，係使用以手擠所獲得之牛的初乳或市售的牛乳。

(2)乳汁係如以下般進行投予。

乳汁係以每1處20 μ L的量注射至人類的頭皮的右半部分或左半部分或者大鼠的背部皮膚。在人類之情況，每1名患者對該患者的頭的半部分注射合計2mL的初乳(即，每1名100處)。在大鼠之情況，藉由在12週齡韋斯大鼠(雄)背部對頭部至尾部設定3個區域，再進一步將各區域以背骨的左右分成2個區域，而在背部設定共計6個區域。在各區域的中央附近各2處注射20 μ L／1處的乳汁。另外，前述2

處間之距離設為1cm。

【0053】

<實施例2：髮質的變化>

在本實施例中，針對髮的角質層調查在處置前後是否可見到改善。

【0054】作為乳汁，係使用實施例1中所記載之人類的初乳。平均的毛髮的伸長速度為1個月10mm左右。各自採取投予部位及非投予部位之毛髮各1根，考慮患者的毛髮的伸長速度，各自以相當於治療前3個月之毛髮的部分及相當於治療開始起第3.5個月之毛髮的部分作為樣本。在毛髮採取日或其翌日使檢查部位之毛髮以樹脂接著固定於固定板。在其翌日或再翌日進行碳固定，在同日依常法藉由掃描電子顯微鏡觀察髮的角質層的狀態。使用同一患者的未經處置之部分(非投予部位)之毛髮作為陰性對象。以毛髮的新增長之部分(根部側)及既存的部分(尖端側)進行比較。將代表性例示於圖1。圖1為同一患者的毛髮之電子顯微鏡影像。

【0055】其結果，針對經治療之毛髮，可觀察到在尖端側係角質層粗糙，相對於此，在屬於新增長之部分之根部側係角質層整齊之情形，髮質之差異明顯改善。相對於此，在陰性對象的未經處置之部分之毛髮中，根部、尖端側皆可觀察到角質層粗糙，在未經處置之部分並未看出該質之改善效果。

【0056】對更多患者實施同樣的評估。評估係基於電

子顯微鏡影像基於下述評分施行。評估係由屬於醫療從事者之醫師等7名施行。求出評分之平均值。

【 0057】

<髮質評估之評分表>

5分：角質層整齊，並未看見粗糙

4分：相較於平均而言角質層整齊，但可看出幾分粗糙

3分：角質層的整齊度屬平均

2分：相較於平均而言角質層粗糙，可看出幾分剝落

1分：角質層整體而言粗糙，整體而言可看出剝落

【 0058】結果如表1所示。

【 0059】

表 1：治療所引發之髮質評估的改善

患者編號	評分 (治療側根部)	評分 (未治療側根部)	評分 (治療側尖端)
1	4.43	2.86	3.29
1	3.71	3.00	2.00
2	3.29	3.86	3.00
2	3.29	2.29	3.29
3	3.43	3.29	3.00
3	3.43	2.71	3.14
4	3.43	3.29	2.57
4	3.14	2.14	2.00
全體平均	3.52	2.93	2.79

【 0060】如表1所示，求出同一個髮毛的尖端與根部之評分之差異，結果治療側、未治療側同時皆為根部之評

估較高。具體而言，治療側之根部之電顯影像之平均評分為3.52，治療側尖端之平均評分為2.79，此差異在統計學上顯著($p=0.017$)。更具體而言，改善程度(根部之評分-尖端之評分)在治療側為0.73，在未治療側為0.39，在治療側改善程度提高($n=4$ ，33~56歲，女性4人，平均年齡45.8歲)。此外，如表1所示，治療側之根部之平均評分為3.52，未治療側之根部之平均評分為2.93，可確認治療側與未治療側之根部之評分之差異在統計學上顯著($p=0.036$)。由此，明確得知藉由乳汁投予，在治療側之根部部分，即，治療後新生之毛髮部分，表現出髮質改善效果。

【0061】

<實施例3：髮質的變化>

在本實施例中，著眼於髮色(白髮)，調查在處置前後其改善效果。

具體而言，將患者兩側的眼角延長至頭側，在與連結兩耳與頭頂之線交叉之2點以墨汁進行刺青，以標記為中心將2cm的範圍進行剃毛。在剃毛3日後對1處頭皮注射實施例1中所記載之20 μ L的人類的初乳，對頭部的半部分在100處共注射2mL，在1個月後進行觀察。毛髮顯微像(trichogram)係每次以標記為中心進行拍攝(Canon Power Shot A520, Tokyo, Japan)，對拍攝範圍中所包含之以刺青為中心之直徑11mm的圓(面積95mm²)內之毛髮進行照片拍攝，以目視進行計量。

其結果，在上述剃毛部分，在治療前有白髮之患者3人中，在單次注射後治療後6個月，所有3人的白髮皆減少，每上述拍攝範圍平均減少7.7根／95mm²的白髮(n=3)。此外，治療側在治療前後白髮根數減少至92.9%。將未治療側之治療開始前設為100時之白髮減少率相較於將治療側之治療開始前設為100時而言低28.2%，在治療側白髮大幅減少(n=3)。

【0062】將剃毛、初乳的單次注射後，經過半年之患者(48歲女性)的頭髮之代表例示於圖2A。如圖2A所示，在非投予部位，並未看出白髮的減少，在投予部位，白髮則明顯減少。具體而言，在非投予部位，在治療前白髮根數為49根，在6個月後增加至63根，相對於此，在投予部位，在治療前為85根，其減少至66根。

【0063】再者，將每1處頭皮經注射4次實施例1中所記載之人類初乳20μL之患者(50歲男性)中之治療開始起13個月後之側頭部與非治療側之側頭部進行比較。結果係如圖2B所示。如圖2B所示，在非治療側之側頭部，白髮區域的面積為833cm²，相對於此，在治療側之側頭部，白髮面積為294cm²。如此，明確得知藉由初乳投予，白髮減少。在圖2B中，對側頭部之照片疊上網格，對針對網格之各方格藉由目視判斷為白色之方格賦予記號「○」。明確得知在治療側，相較於非治療側而言，記號「○」的數量減少。

【0064】

<實施例4：頭皮之改質效果的驗證>

已藉由上述顯示出毛髮的改質，驗證其係基於頭皮的何種改質。

【0065】作為乳汁，係使用實施例中所記載之人類初乳。對患者的頭皮每1處頭皮注射20 μ L乳汁，共注射100處(1次注射6人，以1個月1次1人注射4次)。

【0066】藉由使用10Mz的探針之回波檢查，觀察單次投予後之頭皮的皮下組織之脂肪層的厚度的變化。一般認為在此檢查中，可測定皮脂腺區域至下方部分之區域，可測定大略至真皮層為止之區域的厚度(惟，真皮層並未包含在測定值中)。結果係如圖3所示。在圖3中，「#1～#6」表示各自在治療1～6個月後獲得數據。如圖3所示，在治療開始後6個月，雖然在脂肪層的厚度上可看出若干增加，但並未看出大幅度變化。

【0067】

<實施例5：頭皮之組織影像>

在上述實施例中，可確認角質層的改善或白髮的減少之效果。在本實施例中，為了調查此等效果是否為頭皮的改善所引發，而調查頭皮的膠原蛋白量。

【0068】對人類患者的頭皮每1處皮下投予乳汁20 μ L。投予係每月施行1次。作為乳汁，係使用實施例1中所記載之人類的初乳。

【0069】

(1)膠原蛋白影像的變化

首先，觀察I型膠原蛋白及III型膠原蛋白的增減。具體而言，製作頭皮的組織(自表皮朝向頭蓋骨之面)之切片，使用Picrosirius Red Stain Kit試藥(Polysciences, Inc., Cat#: 24901-250)依照根據製造者之說明書將I型膠原蛋白及III型膠原蛋白進行染色。I型膠原蛋白係染色成黃色系，III型膠原蛋白係染色成綠色系。在此系統中，III型以外之膠原蛋白係染色成紅黃色系。

【0070】染色影像係在顯微鏡(Nikon股份有限公司，OLYMPUS股份有限公司)安裝偏光濾色片裝置來進行觀察，以顯微鏡所附屬之照相機(DP-22 OLYMPUS股份有限公司，DS-Fi3股份有限公司Nikon Instech)進行拍攝。以灰階製成數位影像並保存於電腦中，由各像素的亮度推斷出膠原蛋白量。在圖4A中，示出單次投予後經過5個月之女性患者(49歲)的頭皮樣本，在圖4B中，示出施行4次每月1次之投予，自初次治療起經過15個月之男性患者(50歲)的頭皮樣本。

【0071】其結果，如圖4A及4B所示，在治療前及未治療側，可觀察到I型膠原蛋白及III型膠原蛋白的存在。

【0072】將在圖4A中，綠系像素數(相當於III型膠原蛋白量)、黃色系像素數(相當於I型膠原蛋白量)及紅黃色系(相當於III型以外之膠原蛋白的總量)總結於表中。

【0073】

表 2：圖 4A 之照片之像素解析結果

像素數	治療前	治療後	增減(%的差分)
綠系	27,084 (49.6%)	11,217 (19.6%)	30.0%分的減少
紅黃色系	27,546 (50.4%)	46,022 (80.4%)	30.0%分的增加
黃色系的內部數值	16,469 (30.1%)	35,635 (62.3%)	32.1%分的增加
合計	54, 630 (100%)	57,239 (100%)	

※數字表示照片內之像素數，括弧內之數字表示其相對於整體而言之比例。

【 0074】如表 2 所示，可知在單次投予後經過 5 個月之患者中，III 型膠原蛋白的比例自 49.6% 減少至 19.6%，I 型膠原蛋白比例自 30.1% 增加至 62.3%。雖然可知 III 型以外之膠原蛋白整體的總量亦同樣地自 50.4% 增加至 80.4%，但一般認為此增加主要係起因於 I 型膠原蛋白的增加。

【 0075】將在圖 4B 中，綠系像素數(相當於 III 型膠原蛋白量)、黃色系像素數(相當於 I 型膠原蛋白量)及紅黃色系(相當於 III 型以外之膠原蛋白的總量)總結於表中。

【 0076】

表 3：圖 4B 之照片之像素解析結果

像素數	未治療側	治療側	增減(%的差分)
綠系	9,640 (26.3%)	1,815 (2.8%)	23.5%分的減少
紅黃色系	27,023 (73.7%)	62,214 (97.2%)	23.5%分的增加
黃色系的內部數值	9,047 (24.7%)	36,071 (56.3%)	31.7%分的增加
合計	36,663 (100%)	64,029 (100%)	

※數字表示照片內之像素數，括弧內之數字表示其相對於整體而言之比例。

【 0077】此外，如表 3 所示，在治療開始 15 個月後之患者中，就未治療側與治療側之對比而言，可觀察到 III 型膠原蛋白自 26.3% 大幅減少至 2.8%，I 型膠原蛋白自 24.7

%增加至56.3%之情形(參照圖4B)。雖然可知III型以外之膠原蛋白整體的總量亦同樣地自73.7%增加至97.2%，但一般認為此增加主要係起因於I型膠原蛋白的增加。

【0078】在治療側之前後比較以及未治療側與治療側之左右比較中皆可見到同樣的傾向，明確得知藉由乳汁投予，III型膠原蛋白減少，I型膠原蛋白增加。再者，在人類檢體(n=3)中施行同樣的觀察，結果在所有檢體中，皆可觀察到藉由乳汁的投予，III型膠原蛋白減少，I型膠原蛋白增加之情形。另外，在經紅黃色系染色之膠原蛋白(III型以外)中亦可看出此結果，與經黃色系染色之I型膠原蛋白的增加同樣的傾向。

III型膠原蛋白的減少及I型膠原蛋白的增加為在組織修復，特別是創傷治癒中所產生之現象。由本實施例之結果，暗示乳汁的投予誘發頭皮及皮膚的組織修復。

【0079】

(2)脂肪細胞的年輕化

於是，觀察脂肪細胞的年輕化。

脂肪細胞係在成長之同時，細胞質大部分會成為脂肪滴，並將脂肪滴蓄積於細胞質中，發生肥大化。從而，較大的細胞係意味已成熟之老細胞，較小的細胞則被認為是年輕的新細胞(即，年幼的脂肪細胞)。在本實施例中，確認藉由乳汁投予，較小的年輕細胞是否增加。更具體而言，觀察經投予乳汁20 μ L之人頭皮組織切片來確認脂肪層中之脂肪細胞的大小的變化。脂肪細胞之影像近似圓形，

基於其直徑分類成S、M或L。將其直徑為 $51\mu\text{m}$ 以下的細胞定為「S」，將超過 $51\mu\text{m}$ 且 $63\mu\text{m}$ 以下的細胞定為「M」，將超過 $63\mu\text{m}$ 之細胞定為「L」並加以總計。關於患者，係在單次投予後經過6個月之患者(以下，稱為「患者1」)以及施行4次每月1次之投予，自治療開始起經過15個月之患者(以下，稱為「患者2」)中施行。結果係如圖5所示。

【0080】如圖5所示，在治療後6個月後(患者1，51歲男性)及15個月後(患者2，50歲男性)中，藉由乳汁的投予，「S」的脂肪細胞的比例皆顯著地增大。此外，若將患者1與患者2進行比較，則「S」的脂肪細胞的比例的增大在患者2中較顯著。由此，明確得知4次治療者係「S」的脂肪細胞的比例的增加大於1次治療者。

【0081】由此等結果，顯示出藉由乳汁的投予，年輕的細胞增加，組織年輕化。此外，暗示組織的年輕化牽涉到組織修復能力的增強之可能性。

【0082】

<實施例6：對創傷治癒之效果>

於是，在本實施例中，確認乳汁的投予是否有提早對皮膚之創傷的治癒之效果。

【0083】創傷的作成：將12週齡韋斯大鼠的背部以推剪器進行剃毛，在頭側、尾側的左右各自作成各1個直徑8毫米的圓狀皮膚全層缺損。皮膚全層缺損係每1個體在4處作成。

乳汁的投予：在離創傷部分邊緣4mm之場所，在上下

左右4處皮下注入乳汁20 μ L。作為乳汁，係使用實施例1所記載之經加熱殺菌(130度，2秒，以及65度，30分鐘)之市售的牛乳。

脂肪酸的投予：作為乳汁中所包含之脂肪酸，將各自包含棕櫚酸、硬脂酸、肉豆蔻酸、次亞麻油酸、 α -次亞麻油酸及油酸之滅菌性精製水(投予液)，飽和脂肪酸則予以加熱，不飽和脂肪酸則以室溫的狀態進行投予。投予係在離創傷邊緣4mm上下左右4處皮下投予投予液20 μ L(含1mg脂肪酸)。

【0084】

<創傷治癒之評分>

5分：治癒

4分：創傷部位的面積的縮小率為70%以上

3分：創傷部位的面積的縮小率為50%以上且未滿70%

2分：創傷部位的面積的縮小率為20%以上且未滿50%

1分：創傷部位的面積的縮小率為未滿20%

【0085】結果係將上述評分除以生理食鹽水之評分並以該比之形式表示。如圖6A所示，在投予乳汁之組中，可看出促進創傷治癒之效果。

【0086】將市售的低溫殺菌乳(65度，30分鐘)8mL $\times$ 2瓶以離心分離機(2600g $\times$ 6分鐘)進行離心，各自收集相當於除去泡狀物部分而得之上清液4分之1之2mL，將2瓶份

合併而製成 4mL，將此 4mL 進行攪拌，使用於實驗中(以下，將所獲得之試料稱為「離心試料」)。以每 1 處 20 μ L 的用量與上述同樣地對創傷部位投予所獲得之離心試料。結果係如圖 6A 之「離心試料」所示。

【0087】如圖 6A 所示，離心試料係發揮與乳汁同等或其以上的改善創傷治癒之效果。由此，暗示乳汁所引發之創傷治癒效果主要為不會因離心分離而沉澱之成分中所包含之成分所引發之效果。此外，顯示出雖然在生理食鹽水投予後亦會發生創傷的自然治癒，但無論是乳汁投予還是離心試料投予，相較於生理食鹽水投予後之自然治癒而言，治癒皆受到促進(圖 6A)。

【0088】其次，對乳鐵蛋白所引發之促進創傷治癒之效果進行檢討。乳鐵蛋白係使用自 Lion 製所購入之(製品名：Nice Rim Essence 62971)，以與上述同樣的方法在一處投予 20 μ g 或 60 μ g。具體而言，使乳鐵蛋白在粉碎後充分地溶解於精製水中。以上述量包含在注入量 20 μ L 中之方式調整乳鐵蛋白濃度。結果係求出將 7 日後及 10 日後之評分各自除以生理食鹽水投予組之評分而得之值。結果係如圖 6B 所示。如圖 6B 所示，乳鐵蛋白在創傷治癒中並未顯示出顯著的促進效果。由此，暗示乳鐵蛋白以外之成分具有促進創傷治癒之效果。

【0089】在通常的生乳中，乳鐵蛋白(亦稱為「LF」)被認為在 1L 中包含約 3mg。在 20 μ L 的生乳中應含有 0.06 μ g 左右的乳鐵蛋白。此外，乳鐵蛋白不耐加熱，一般認為其

幾乎自上述實施例中所使用之經以高溫加熱殺菌之牛乳中消失(參照野呂未來等人，電泳，59：21-24，2015)。從而，在經高溫殺菌之牛乳投予中可見到促進創傷治癒之效果，在離心試料投予中亦可見到促進創傷治癒之效果，另一方面，在乳鐵蛋白投予中則幾乎未觀察到促進創傷治癒之效果，此在乳鐵蛋白並非有效成分之結論中呈一致之結果。

【0090】由上述實施例，明確得知若投予乳汁或乳汁之離心上清液，則會促進創傷治癒。此外，由上述實施例，暗示藉由乳汁或乳汁之離心上清液的投予來活化皮膚的組織再生之可能性。

【0091】其次，對乳汁中之有效成分進行鑑定。具體而言，將乳汁中所包含之脂肪酸各自如上述投予至創傷部分，調查有無促進創傷治癒之效果。結果係如圖6C所示。如圖6C所示，明確得知棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸對創傷治癒具有較高的促進效果。由此，明確得知此等脂肪酸有益於乳汁投予中之促進創傷治癒之效果之可能性。此外，油酸、 α -次亞麻油酸及亞麻油酸具有較弱的促進創傷治癒之效果。

【0092】此外，將已知豐富地包含棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸及 α -次亞麻油酸之食用大豆油(理研農產化工股份有限公司，福岡工廠製)投予至創傷部分，調查有無促進創傷治癒之效果。結果係如圖6D所示。如圖6D所示，大豆油對創傷治癒顯示出較高的促進效果。

【0093】另外，將一般的牛乳1g或大豆油1g中所包含之代表性脂肪酸及其含量示於以下。

表4：牛乳及大豆油中所包含之代表性脂肪酸及其含量(單位：mg/g 可食部分)

脂肪酸成分	含量(牛乳)	含量(大豆油)
肉豆蔻酸	3.6	0.71
棕櫚酸	10	99
硬脂酸	4	40
油酸※	7.6	220
亞麻油酸	0.88	500
α - 次亞麻油酸	0.13	61

日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) 脂肪酸成分表 編

第1表 由每 100g 可食部分之脂肪酸成分表換算

※在油酸中包含順-異油酸

【0094】
<實施例7：乳汁投予後之頭皮組織中之組織常在型M2樣巨噬細胞及PPAR γ 陽性脂肪細胞的檢測>

已報導在末梢組織(特別是脂肪組織)中發生組織再生時，會發生組織常在型M2樣巨噬細胞的增加(Satoh T. et al., Nature, 495: 524-528, 2013)、CD34陽性細胞的出現或PPAR γ 陽性脂肪細胞的增加(Festa E et al., Cell, 146: 761-71, 2011)。於是，在本實施例中，調查在乳汁20 μ L投予後之頭皮組織中，是否發生組織常在型M2樣巨噬細胞的增加或PPAR γ 陽性細胞的增加。此外，作為12週齡韋斯大鼠背部皮膚中之細胞增殖之活性化標記，確認是否發生Ki67陽性細胞的增加。組織常在型M2樣巨噬細胞係作為CD68陽性細胞或CD163陽性細胞加以檢測。在本實施例中，作

為乳汁，在人類中係投予人類的初乳，在大鼠中係投予牛的初乳。

【0095】將複數個大鼠之乳汁投予組(1次投予)之背部皮膚之組織切片依常法進行固定，供予免疫組織學染色。在大鼠中，樣本係各自在投予5週後及8週後對投予部位以及離投予部位10mm之部位(遠位)共2處進行取樣。患者係治療頭的半部分，剩餘的半部分係設為未治療。將包含患者的頭皮表面至頭蓋骨骨膜上或側頭肌膜上之直徑3mm衝頭之切片進行固定。此外，在本實施例中，用於染色之初級抗體及次級抗體係如以下。

【0096】

表 5：用於大鼠檢體的免疫組織學染色之初級抗體及次級抗體

Ki-67	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	Monoclonal Mouse Anti-Rat Ki-67 Antigen (clone: MIB-5)	M7248	20030236	DaKo	丹麥
次級	LSAB2 System-HRP for use on Rat Specimens	K0609	-	DaKo	丹麥
CD68	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	Mouse ANTI RAT CD68 (clone: ED1)	MCA341R	1014	BIO-RAD	美國
次級	LSAB2 System-HRP for use on Rat Specimens	K0609	-	DaKo	丹麥
PPAR γ	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	PPAR γ (C26H12) Rabbit mAb	#2435	No,4	Cell Signaling Technology	美國
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit	K4003	-	DaKo	丹麥

【0097】結果係如圖7所示。如圖7所示，Ki67陽性脂肪細胞數及CD68陽性巨噬細胞數在投予5週後增加，在投予8週後各自減少。相對於此，在遠位，在投予5週後並未

觀察到陽性細胞，若在投予8週後，則變得可觀察到 Ki67 陽性細胞數 CD68 陽性巨噬細胞。

由此，明確得知藉由乳汁的投予，Ki67 陽性脂肪細胞增加，即，脂肪細胞活性化而使分裂活化，以及組織內之巨噬細胞增加。由顯微鏡影像，一般認為 Ki67 陽性脂肪細胞主要為脂肪細胞及脂肪幹細胞。然而，在投予8週後，Ki67 陽性脂肪細胞數及巨噬細胞數減少。另一方面，令人驚訝的是在遠位亦比投予部位更晚觀察到 Ki67 陽性脂肪細胞數及 CD68 陽性巨噬細胞數的增加。此暗示乳汁投予所引發之效果對組織進行傳播。

【0098】對人類亦實施同樣的實驗。對於人類組織，係除了 CD31 以外，亦實施 CD34、CD68、CD163 及 PPAR γ 的染色。

【0099】

表 6：用於人類檢體的免疫組織學染色之初級抗體及次級抗體

CD31	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	Monoclonal Mouse Anti-Human CD31	M0823	000083027	DaKo	丹麥
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Mouse	K4001	-	DaKo	丹麥
CD34	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	Monoclonal Mouse Anti-Human CD34	M7165	00048997	DaKo	丹麥
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Mouse	K4001	-	DaKo	丹麥
CD68	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	CD68 Mouse monoclonal antibody	NCL-CD68-KP1	211710	NOVOCASTRA	英國
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Mouse	K4001	-	DaKo	丹麥
CD163	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	抗人類巨噬細胞表面抗原單株抗體	KT013	TG201213	Trans Genic Inc.	日本
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Mouse	K4001	-	DaKo	丹麥
PPAR γ	名稱	產品編號	批次	製造商資訊	
初級	PPAR γ (C26H12) Rabbit mAb	#2435	No,4	Cell Signaling Technology	美國
次級	EnVision+ System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit	K4003	-	DaKo	丹麥

【 0100】此外，圖 8A 係示出 CD31 及 CD34 染色。CD31 陽性細胞僅在血管內皮中觀察到。另一方面，CD34 陽性細胞則在血管除外之區域觀察到。由此，暗示藉由乳汁投予，在投予處，CD31 陰性的 CD34 陽性細胞增加。如圖 8A

所示，在治療前及單次治療後第5個月可看出CD34陽性細胞在每單位面積中增加(女性，49歲)。此外，關於CD34陽性細胞，在未治療側，3mm衝頭之切片整體平均為106.7 (n=3)，相對於此，在治療側，平均成為129.7個(n=3)，在所有患者中，在治療側皆可觀察到CD34陽性細胞的增加。另外，CD34陽性細胞係已知為脂肪幹細胞標記，CD34陽性細胞的增加暗示脂肪幹細胞的增加。從而，由此結果，明確得知乳汁投予部位中之脂肪組織受到改質，產生脂肪幹細胞。

【0101】CD68陽性巨噬細胞及PPAR γ 陽性細胞的染色之結果係如圖8B所示。如圖8B所示，在人類中，藉由乳汁20 μ L的投予，每單位面積之CD68陽性巨噬細胞、CD163陽性巨噬細胞、PPAR γ 陽性細胞皆增加(女性，49歲)。此外，在治療開始起經過15個月之男性患者(4次投予，50歲)中，亦可觀察到乳汁所引發之在治療側每單位面積增加CD68陽性巨噬細胞、CD163陽性巨噬細胞、PPAR γ 陽性細胞。

如此，在乳汁投予部位，組織常在型M2樣巨噬細胞增加，顯示出屬於PPAR γ 陽性細胞之年輕的脂肪細胞的參與。

另外，在圖8A及8B中，記號「H」表示毛囊，記號「V」表示血管，記號「S」表示皮脂腺。

【0102】

<實施例8：藉由乳鐵蛋白之組織變化的檢討(大容量強制

經口攝取)>

作為比較試驗，投予乳鐵蛋白來代替乳汁，確認是否發生CD68陽性細胞及PPAR γ 陽性細胞的增加。乳鐵蛋白係將Nice Rim Essence(Lion製，62971)3錠、有效乳鐵蛋白300mg(人的1日攝取量)經口投予至12週齡韋斯大鼠(n=3)。投予係1日施行1次，使用經口餵食管使其注入(強制攝取)至胃內，在投予8週後依常法製作背部皮膚之石蠟包埋切片並供予免疫組織學染色。結果係如圖9所示。

【0103】如圖9所示，在乳鐵蛋白投予中，並未觀察到CD68陽性細胞及PPAR γ 陽性細胞的增加。由此，明確得知儘管乳鐵蛋白的投予強調毛髮之增毛效果，但是與乳汁不同，其不具有皮膚之改質效果。另外，如圖9所示，若使用抗CD68抗體及PPAR γ 抗體各自對18週齡韋斯大鼠的正常組織(背部)進行染色，則在正常組織與乳鐵蛋白投予第8週(20週齡)並未發現顯著差異。已報導乳鐵蛋白係在抑制脂肪前驅細胞的脂肪分化之同時，壓制PPAR γ 的活性(參照M. Yag, et al., Journal of Oral Science, 50: 419-425, 2008)，上述結果與此報導一致。一般認為乳汁之乳鐵蛋白以外之成分成為乳汁投予所引發之脂肪細胞的年輕化、脂肪前驅細胞的增加之要因。

【0104】

<實施例9：乳汁中所包含之代表性脂肪酸所引發之組織變化及PPAR γ 活性>

其次，投予處係如上述實施例1(2)，對12週齡韋斯大

鼠的背部皮膚之複數處投予乳汁中所包含之代表性脂肪酸，並藉由免疫組織學染色觀察投予所引發之組織變化。更具體而言，觀察生理食鹽水20 μ L／1處的投予、含有脂肪酸1mg之投予液20 μ L／1處的投予所引發之CD68陽性巨噬細胞染色影像及PPAR γ 陽性細胞影像的變化。韋斯大鼠之樣本係各自對投予部位(投予4週後及投予8週後)進行取樣。結果係如圖10A～10G所示。圖10A係示出投予生理食鹽水之組(陰性對照)中之結果。

【0105】如圖10B～10D各自所示，在棕櫚酸、硬脂酸或肉豆蔻酸投予中，在投予4週後，在投予部位可觀察到PPAR γ 陽性細胞或CD68陽性細胞的增加。此外，即便在所有上述脂肪酸的投予8週後，亦可維持投予部位中之PPAR γ 陽性細胞及CD68陽性細胞的增加。

另外，在飽和脂肪酸注入部位可看出多數的CD68陽性細胞的浸潤，可看出正常組織的纖維化。從而，在圖10B～10D中，觀察離投予部位最近之正常組織受到維持之處(非纖維化處)之脂肪組織的變化。

如圖10E～10G各自所示，在油酸、 α -次亞麻油酸或亞麻油酸投予中，在投予4週後，相對於對照而言並未看出PPAR γ 陽性細胞或CD68陽性細胞的顯著增加，在投予8週後，可看出PPAR γ 陽性細胞的增加。另一方面，在油酸、 α -次亞麻油酸或亞麻油酸投予中，並未看出CD68陽性細胞的大幅增加(整體而言可看出較弱的效果)。CD68陽性細胞係藉由PPAR γ 分化成組織常在型M2樣巨噬細胞，促進組織

之恆定性維持。由於在棕櫚酸、硬脂酸或肉豆蔻酸等飽和脂肪酸投予中會發生CD68陽性細胞的增加及PPAR γ 陽性細胞的增加，故一般認為在經投予脂肪酸之組織內，組織常在型M2樣巨噬細胞會增加。另一方面，在不飽和脂肪酸中，雖然PPAR γ 陽性細胞增加，但並未看出CD68陽性細胞的大幅增加，一般認為組織常在型M2樣巨噬細胞之誘導效果受到限制。此外，此結果為與下列情形呈一致之結果：在上述實施例6中，飽和脂肪酸發揮出較高的促進創傷治癒之效果，相對於此，不飽和脂肪酸之促進創傷治癒之效果有限。已報導巨噬細胞的PPAR γ 活性對脂肪細胞之機能而言大幅相關(參照 Odegaard J I, et al., Nature, 447:1116-1121, 2007)，由此，飽和脂肪酸投予所引發之在脂肪組織內之CD68陽性細胞的增加及PPAR γ 陽性細胞的增加亦為支持藉由飽和脂肪酸投予來引發皮膚的改質之考察之結果。另外，由在細胞內具有脂肪滴之PPAR γ 陽性細胞的增加，可確認PPAR γ 陽性脂肪細胞的增加，由此結果，暗示飽和脂肪酸投予所引發之PPAR γ 陽性的脂肪幹細胞的活性化。

【0106】棕櫚酸、硬脂酸或肉豆蔻酸為飽和脂肪酸，油酸、 α -次亞麻油酸或亞麻油酸為不飽和脂肪酸。由圖10B~10G之結果，飽和脂肪酸對組織具有早期誘導PPAR γ 陽性細胞的表現(包含年輕的脂肪細胞)之效果，不飽和脂肪酸具有相較而言較晚誘導PPAR γ 陽性細胞的表現(年輕的脂肪細胞)之效果。由此結果，一般認為飽和脂肪酸會

誘發較強的組織炎症而使巨噬細胞聚集，但其在使巨噬細胞聚集至組織之同時，使PPAR γ 陽性細胞增加，壓制所誘發之炎症。另一方面，一般認為不飽和脂肪酸就使巨噬細胞聚集至組織而言較弱，PPAR γ 所引發之抑制炎症之效果優異。

【0107】已知脂肪酸促進炎症性細胞激素的分泌(參照Hotamisligil G. S., Nature, 542:177-185, 2017)。在本實施例之結果中，飽和脂肪酸誘發較強的炎症反應，但另一方面，通過PPAR γ 陽性細胞的增加而使炎症減弱，促進組織再生。由此，暗示藉由飽和脂肪酸投予，在組織中增加之PPAR γ 陽性細胞誘導出脂肪幹細胞或年輕的脂肪細胞，誘導出M2巨噬細胞而引發創傷治癒反應及組織的再生之可能性。另外，可確認藉由PPAR γ 的表現及其對巨噬細胞之作用，會引起免疫細胞的活性化(特別是將M1巨噬細胞誘導成M2巨噬細胞)(參照Croadell A. et al., PPAR Research, ID 549691, 2015)。

【0108】

<實施例10：頭皮的改善與髮質之改善效果及增加毛髮效果之關係>

根據上述實施例1~9，明確得知藉由乳汁投予，會發生頭皮或皮膚的再生及改質，藉此，產生髮質提升之效果。

在本實施例中，由上述實施例之結果，著眼於增長速度較快的髮毛，評估乳汁投予之效果。具體而言，自頭皮

影像中擷取出3日增長0.9mm以上之毛髮，算出增長之長度之總和。另外，已知在成人的毛髮中，係以1個月約10mm的比例(即，3日約1mm的比例)進行增長。

為了此目的，將經投予乳汁20 μ L／1處之複數名成人(僅1次投予之治療6名，每月1次治療4個月1名)的頭皮的一部分進行剃毛，在3日後拍攝經剃毛之部位之影像，進行影像解析。此外，在投予1年後再次將同一處進行剃毛，在3日後拍攝經剃毛之部位之影像，進行影像解析。剃毛後，毛髮平均而言具有0.4mm的長度。以下，針對在剃毛3日後具有1.4mm以上的長度之毛髮，算出增長之長度之總和。

【0109】將以影像解析軟體對毛髮部分的長度進行計數而得之該患者之計數結果示於圖11A及11B。在此處，作為代表計測例，將患者A(50歲／男性，每月1次治療4個月，治療開始後經過1年)之治療經過比較計數結果示於圖11A，將2名患者(患者A、患者B(47歲／女性，僅1次投予之治療，治療後經過1年))之未治療側與治療側之比較計測之結果示於圖11B。

【0110】在圖11A中，比較患者A之治療前與治療開始後1年之計測結果。在圖10A中，各自示出在剃毛3日後具有1.4mm以上的長度之毛髮的長度之總和(1.4mm以上)，以及剃毛3日後之包含0.9mm以上且未滿1.4mm的毛髮之所有毛髮的長度之總和(全體)。在患者A中，針對在3日後具有1.4mm以上的長度之毛髮之長度之總和在治療前

為 311.9，在治療開始後 1 年顯示為 337.9。剃毛 3 日後之所有毛髮的長度之總和在治療前為 405.7，在治療開始後 1 年顯示為 419.2。

【0111】在圖 11B 中，比較患者 A 及 B 之治療開始 1 年之未治療側與治療側之測定結果。在圖 10B 中，各自示出在剃毛 3 日後具有 1.4mm 以上的長度之毛髮的長度之總和 (1.4mm 以上)，以及剃毛 3 日後之包含 0.9mm 以上且未滿 1.4mm 的毛髮之所有毛髮的長度之總和 (全體)。在患者 A 中，針對在剃毛 3 日後具有 1.4mm 以上的長度之毛髮之長度之總和在未治療側為 199.4，在治療側顯示為 337.9。在患者 B 中，針對在剃毛 3 日後具有 1.4mm 以上的長度之毛髮之長度之總和在未治療側為 114.3，在治療側顯示為 300.7。

同樣地，在患者 A 中，剃毛 3 日後之 0.9mm 以上的毛髮的長度之總和在未治療側為 357.8，在治療側顯示為 419.2。在患者 B 中，剃毛 3 日後之所有毛髮的長度之總和在未治療側為 261.5，在治療側顯示為 378.1。

【0112】將生理食鹽水注入至頭部單側的半部分作為陰性對照。觀察每月對頭部單側注入生理食鹽水共 6 個月所引發之毛髮的變化 (1.4mm 以上的毛髮根數)，治療前與治療第 6 個月之變化率為 $-0.84\% \sim +1.24\%$ ，平均為 1.03%。此外，在已注入生理食鹽水之治療側與未治療側，治療第 6 個月的變化為 $-0.99\% \sim +1.25\%$ ，平均為 1.06% ($n=4$)。觀察每月對頭部單側注入生理食鹽水共 6 個月所引

發之毛髮的變化(1.4mm以上的毛髮的長度之總和)，治療前與治療第6個月的變化為-0.79%～+1.33%，平均為1.05%。此外，在已注入生理食鹽水之治療側與未治療側，治療第6個月的變化為-0.95%～+1.28%，平均為1.07%(n=4)。如此，作為陰性對照，在投予生理食鹽水之組中，在剃毛後第3日並未看出1.4mm以上的毛髮的顯著增加。

【0113】如此，明確得知藉由乳汁(20 μ L／1處投予)投予，可顯示出頭皮改質及其所引發之毛髮的伸長速度的改善。

【0114】此外，若在3日後調查1.4mm以上的長度的毛髮，則由影像解析明確得知其相較於增長之速度較慢的毛髮(在3日後未滿1.4mm的長度的毛髮)而言較粗。具體而言，剃毛3日後之長度為2.1～2.2mm之毛髮的粗細平均為97.42 μ m，相對於此，增長未滿1.4mm之毛髮的粗細平均為75.39 μ m。由此結果，明確得知藉由乳汁(20 μ L／1處投予)投予，伸長速度較快，較粗的毛髮增加。

在乳汁投予中，可觀察到毛髮的緊緻感或韌性的改善(可觀察到毛髮的緊緻感或韌性提升，毛髮增量)，此情形與較粗的毛髮增加呈一致之結果。

如此，在經投予乳汁之對象中可見到增加毛髮，而且乳汁投予所引發之頭皮的改質牽涉到毛髮的伸長速度的改善以及較粗且具韌性及緊緻感之優質毛髮的增加。

【0115】

<實施例 A11：骨形成促進作用>

在本實施例中，確認棕櫚酸投予對骨形成之效果。

【0116】骨缺損的作成：將12週齡(4個體)及18週齡(1個體)韋斯大鼠(雄)的頭部以推剪器進行剃毛，將眼部上方及相反側耳殼前方在對角線上引出切線，在其交叉點之後方作成直徑8.8毫米的頭蓋骨缺損。依序施行1.全身麻醉、2.皮膚切開、3.骨膜剝離、4.頭蓋骨削除(直徑8.8mm)。頭蓋骨缺損係使用取骨鑽(trephine bur)及微鑽頭(microdrill)一面緩緩地切削周圍的骨一面作成，最後設法將骨掀起而作成。

骨形成的觀察：將配合骨缺損部分的大小對羥基磷灰石薄膜加以作成而得之物載於骨缺損部分。此時，將棕櫚酸0.02mg(20μg)塗佈於片材。具體而言，將在1mL中溶入1mg而得之物滴0.02mL(20μL)至薄膜，使其進行乾燥並而載於骨缺損部分。

【0117】飼養8週後，在組織採取後進行宰殺灌流固定，將頭蓋骨的橫剖面進行蘇木精-伊紅染色，進行顯微鏡觀察。然後，在使用經塗佈棕櫚酸之薄膜之情況及使用未經塗佈之薄膜之情況將骨形成之可見部分的面積進行比較。解析時係使用ImageJ。

【0118】頭蓋骨之3D-CT影像係使用以下系統取得。

裝置名	Comscantecno公司製	ScanXmate-E090
拍攝條件	X射線管電壓	88kV
X射線管電流		89μA

解析度

30.649 $\mu\text{m}/\text{pixel}$

三維構築係使用VGSTUDIO MAX(VOLUME GRAPHICS公司)施行。

【0119】結果係如圖12所示。如圖12所示，在使用經塗佈棕櫚酸之薄膜之情況，藉由新骨的形成，頭蓋骨大致完全閉合，相對於此，在使用未經塗佈之薄膜之情況，新骨的形成並不充分。

【0120】其次，經蘇木精-伊紅染色之切片係如圖13所示。如圖13所示，在載置經塗佈棕櫚酸之薄膜之情況，經紅色染色之骨(參照虛線)大量形成，相對於此，在載置薄膜之情況，經紅色染色之骨(參照虛線)較少形成。若將組織剖片中之骨形成部分各自的染色面積(像素數及 mm^2)進行對比，則在棕櫚酸塗佈薄膜中為12,132像素(0.984mm^2)，相對於此，在對照中只不過是1,025像素(0.083mm^2)。所形成之骨在棕櫚酸塗佈薄膜中相對於對照之薄膜而言顯著較厚。

【0121】由此，明確得知在棕櫚酸中具有骨形成促進作用。在宰殺時採取骨組織片(直徑3mm)。飼養8週後，進行組織採取，灌流固定。骨組織採取在骨形成不充分時係使用取骨鑽(直徑3mm)進行採取，對於不充分的檢體(大鼠)係以骨鉗子(Luer鉗子)採取開放骨緣部分之既存骨及再生骨。

【0122】將所採取之組織片浸於RNA Stabilization Solution(Thermo Fisher Scientific, Lithuania)中，以液態氮

進行凍結，於 -80℃ 進行保存。total RNA自所保存之組織片之精製及萃取係將25mg的組織片連同5個不銹鋼珠粒(直徑 3mm)封入樣本管中，使用 RNeasy Mini Kit(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)及 TissueLyser II(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)將組織片予以均質化後，如附屬於套組之實驗程序利用旋轉管柱(spin column)施行。經由定量PCR之基因表現解析係將基因特異性引子及探針的設計及合成委託予Integrated DNA Technologies, Inc(Skokie, IL, USA)，利用PrimeTime Gene Expression Master Mix試藥(Integrated DNA Technologies, Inc, Skokie, IL, USA)及Rotor-Gene Q PCR裝置(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)，每1個檢體1個基因實施2次PCR解析，解析對象基因的表現量。經由定量PCR(qPCR)之基因表現解析中所使用之7種大鼠基因之資訊以及所合成之探針及引子組之鹼基序列係如以下。

1.) Ribosomal protein lateral stalk subunit P0 (RplP0), Rattus norvegicus:
mRNA, 1,093 bp, NM_022402.2, GI: 310616731
6-FAM/CCT GTC TTC /ZEN/CCT GGG CAT CAC G/IABkFQ
CAA TCC CTG ACG CAC CG
TGT CTG CTC CCA CAA TGA AG

2.) C-X-C motif chemokine ligand 12 (Cxcl12), transcript variant 1, Rattus norvegicus: mRNA 1,880 bp NM_022177.3 GI: 7649650
56-FAM/TCA ACA CTC /ZEN/CAA ACT GTG CCC TTC A/3IABkFQ
GAG CCA ACG TCA AAC ATC TG
GGC TTT GTC CAG GTA CTC TTG

3.) C-X-C motif chemokine receptor 4 (Cxcr4), Rattus norvegicus: mRNA 1,726 bp NM_022205.3 GI: 82617587
56-FAM/CAA TGC TCG /ZEN/CTC TCC AGC CCT /3IABkFQ
CGT TTG GTG CTC CGG TAG
TCT CCA GAC CCT ACT TCT TCG

4.) Integrin subunit alpha 4 (Itga4), Rattus norvegicus: mRNA 3,736 bp NM_001107737.1 GI: 157819948
56-FAM/CGA AGG ACG /ZEN/TCA AAT CAG CCA GTC A/3IABkFQ
GCA TCT CCT CTA CAT ACT CAC AG
CAC CAA CCG CTA CAT CAA CA

5.) CD34, Rattus norvegicus: CD34 molecule (Cd34), mRNA 1,161 bp NM_001107202.2 GI: 169790781
56-FAM/TCC CTG GAA /ZEN/GTA CCA GCC ACT ACT /3IABkFQ
GGA GTA TTT CCA CCA GTT CCT AC
GAT GGC TGG TGT GGT CTT ATT

6.) Bone morphogenetic protein-4 (BMP4), Rattus norvegicus: mRNA 1,559 bp NM_012827.2 GI: 148747215
56-FAM/CCT TGT TTT /ZEN/CTG TCA AGA CAC CAT GAT TCC /3IABkFQ
ATA AAA CGA CCA TCA GCA TTC G
GCC TTT CCA GCA AGT TTG TTC

7.) Bone morphogenetic protein-7 (BMP7), Rattus norvegicus: mRNA 2,448 bp NM_001191856.2 GI: 683523995
56-FAM/TGC GAT GAT /ZEN/CCA GTC CTG CCA G/3IABkFQ
CGT TCA TGT AGG AGT TCA GAG G
CTG TAT GTT AGC TTC CGA GAC C

【 0123 】 將 屬 於 Housekeeping Genes 之 Ribosomal protein lateral stalk subunit P0(RplP0)與 目 標 基 因 之 mRNA

的表現量(Ct值)之差異(檢體2次檢查平均，12週齡及18週齡各1個體)，與對照(12週齡，未投予棕櫚酸)之情況之RplP0與目標基因之mRNA的表現量之差異進行比較，將該等差異轉換成基因表現比(倍率)，將該倍率進一步進行log2轉換而示於圖表上(參照圖14)。

【0124】如圖14所示，相較於僅埋入薄膜而言，可看出對骨形成很重要之BMP4及BMP7的上升。

【0125】

<實施例A12：皮下投予後之組織中之基因表現的變化>

其次，確認組織中之基因表現的變化。藉由在12週齡韋斯大鼠(雄)背部對頭部至尾部設定3個區域，再進一步將各區域以背骨的左右分成2個區域，而在背部設定共計6個區域。在各區域的中央附近各2處注射20 μ L／1處的乳汁或棕櫚酸。另外，前述2處間之距離設為1cm。

將所採取之組織片以液態氮進行凍結，於-80℃進行保存。total RNA自所保存之組織片之精製及萃取係將25mg的組織片連同5個不銹鋼珠粒(直徑3mm)封入樣本管中，使用RNeasy Mini Kit(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)及TissueLyser II(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)將組織片予以均質化後，如附屬於套組之實驗程序利用旋轉管柱施行。經由定量PCR之基因表現解析係將基因特異性引子及探針的設計及合成委託予Integrated DNA Technologies, Inc(Skokie, IL, USA)，利用PrimeTime Gene Expression Master Mix 試藥(Integrated DNA

Technologies, Inc, Skokie, IL, USA)及Rotor-Gene Q PCR裝置(QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)，每1個檢體1個基因實施2次PCR解析，解析對象基因的表現量。將屬於Housekeeping Genes之Ribosomal protein lateral stalk subunit P0(Rp1P0)與目標基因之mRNA的表現量(Ct值)之差異(各檢體2次檢查之3個體平均)，與對照(未投予棕櫚酸或乳汁)之情況之Rp1P0與目標基因之mRNA的表現量之差異進行比較，將該等差異轉換成基因表現比(倍率)，將該倍率進一步進行log2轉換而示於圖表上。

【0126】結果係如圖15所示。如圖15所示，明確得知在棕櫚酸投予及乳汁投予中，組織中之Cxcl12、Cxcr4及Itga4的表現量皆大幅增加。Itga4及Cxcr4為可見於骨髓細胞中之標記，其在組織中進行表現顯示出源自骨髓之細胞在組織中受到募集(recruit)。由於在組織中Cxcl12會進行表現，亦顯示出接收此等源自骨髓之細胞之體制已同時完善。再者，如圖15所示，同時亦可看出CD34的增加。可考慮到在骨髓前驅細胞及巨噬細胞存在下，脂肪細胞受到誘導之可能性。

【0127】

<文獻列表>

- 野呂未來等人，電泳，59：21-24，2015
 Satoh T. et al., Nature: 495, 524-528, 2013
 Festa E et al., Cell, 146: 761-71, 2011
 M. Yag, et al., Journal of Oral Science, 50: 419-425, 2008
 Odegaard J I, et al., Nature, 447: 1116-1121, 2007
 Hotamisligil G. S., Nature, 542: 177-185, 2017
 Croadell A. et al., PPAR Research, ID 549691, 2015

【序列表】

<110> 福岡博太郎

<120> 飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途

<130> PF30-5002TW

<150> JP 2017-249980

<151> 2017-12-26

<160> 21

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Rp1P0 探針

<400> 1

cctgtcttcc ctgggcatca cg

<210> 2

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Rp1P0 正向引子

<400> 2

caatccctga cgcaccg

22

17

<210>	3	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Rp1P0 反向引子	
<400>	3	
	tgtctgctcc cacaatgaag	20
<210>	4	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxcl 12 探針	
<400>	4	
	tcaacactcc aaactgtgcc ctcca	25
<210>	5	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxcl 12 正向引子	
<400>	5	
	gagccaacgt caaacatctg	20
<210>	6	

<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxc112 反向引子	
<400>	6	
	ggctttgtcc aggtactctt g	21
<210>	7	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxcr4 探針	
<400>	7	
	tcaacactcc aaactgtgcc ctcca	25
<210>	8	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxcr4 正向引子	
<400>	8	
	cgtttggtgc tccggtag	18
<210>	9	
<211>	21	
<212>	DNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cxcr4 反向引子	
<400>	9	
	tctccagacc ctacttcttc g	21
<210>	10	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Itga4 探針	
<400>	10	
	cgaaggacgt caaatcagcc agtca	25
<210>	11	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Itga4 正向引子	
<400>	11	
	gcattctctc tacatactca cag	23
<210>	12	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	Itga4 反向引子	
<400>	12	
caccaaccgc tacatcaaca		20
<210>	13	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cd34 探針	
<400>	13	
tccctggaag taccagccac tact		24
<210>	14	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cd34 正向引子	
<400>	14	
ggagtatttc caccagttcc tac		23
<210>	15	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Cd34 反向引子	

<400> 15
gatggctggg gtggtcttat t 21

<210> 16
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP4 探針

<400> 16
ccttgttttc tgtcaagaca ccatgattcc 30

<210> 17
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP4 正向引子

<400> 17
ataaaaacgac catcagcatt cg 22

<210> 18
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP4 反向引子

<400> 18

gcctttccag caagtttggt c 21

<210> 19
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP7 探針

<400> 19
tgcgatgatc cagtcctgcc ag 22

<210> 20
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP7 正向引子

<400> 20
cgttcatgta ggagttcaga gg 22

<210> 21
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BMP7 反向引子

<400> 21
ctgtatgtta gcttccgaga cc 22

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途，其用於製備用於對骨的損傷部位投予之醫藥組成物，該醫藥組成物係使用於促進骨形成，該醫藥組成物包含飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽，該飽和脂肪酸為選自由棕櫚酸、硬脂酸，及肉豆蔻酸所成群組中之1種以上的脂肪酸。

【請求項2】一種飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的用途，其用於製備用於對骨的損傷部位投予之醫藥組成物，該醫藥組成物係使用於促進骨形成，該醫藥組成物包含含有飽和脂肪酸或其醫藥上可容許之鹽的大豆油或乳汁或者此等之萃取物或加工物。

【請求項3】如請求項1或2之用途，其中飽和脂肪酸為塗佈於生體適合性膜上之狀態。

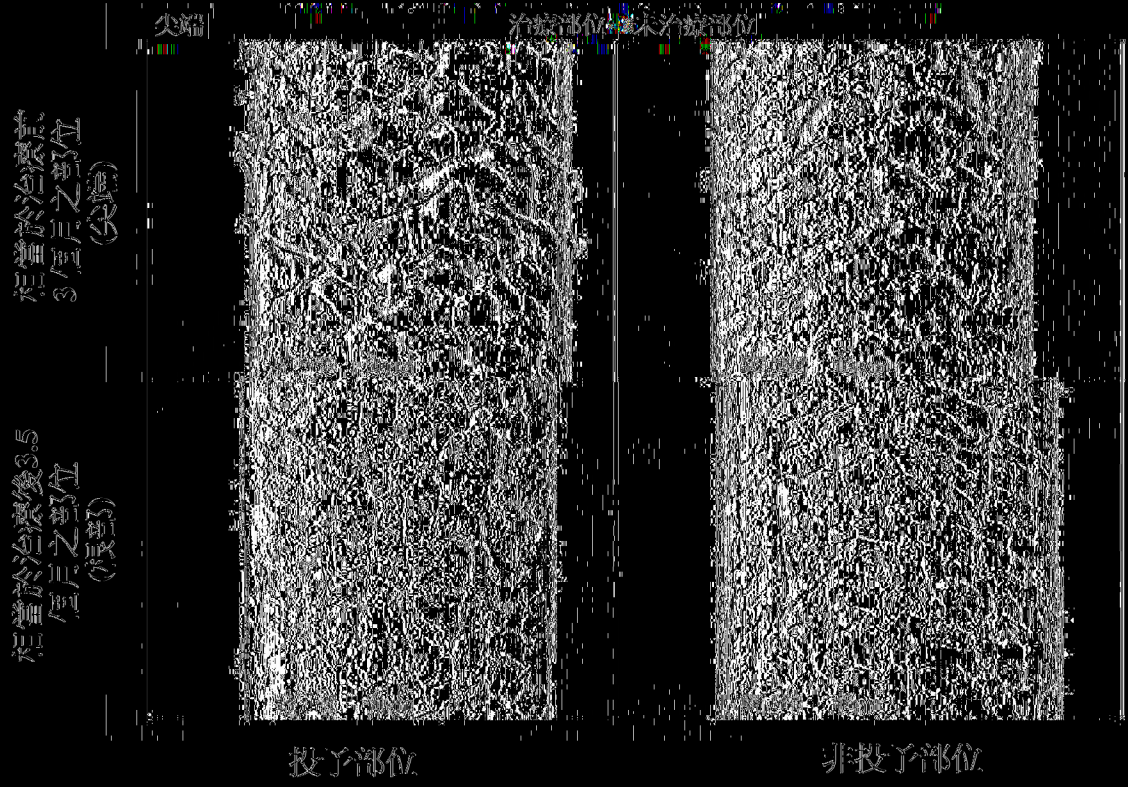
【請求項4】如請求項2之用途，其中前述飽和脂肪酸為選自由棕櫚酸、硬脂酸及肉豆蔻酸所組成之群組之1種以上的脂肪酸。

【請求項5】如請求項1或2之用途，其中進而包含不飽和脂肪酸。

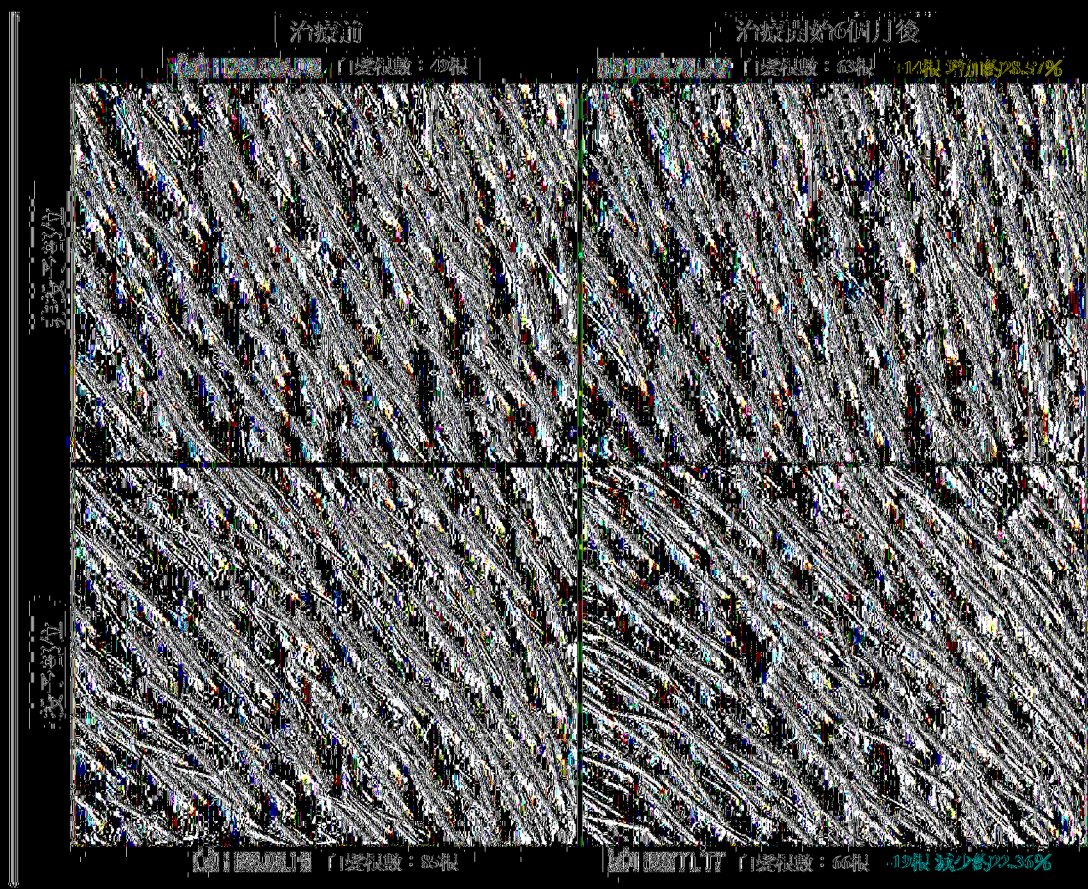
【請求項6】如請求項2之用途，其中乳汁係經滅菌。

【請求項7】如請求項2之用途，其中乳汁係經高溫滅菌。

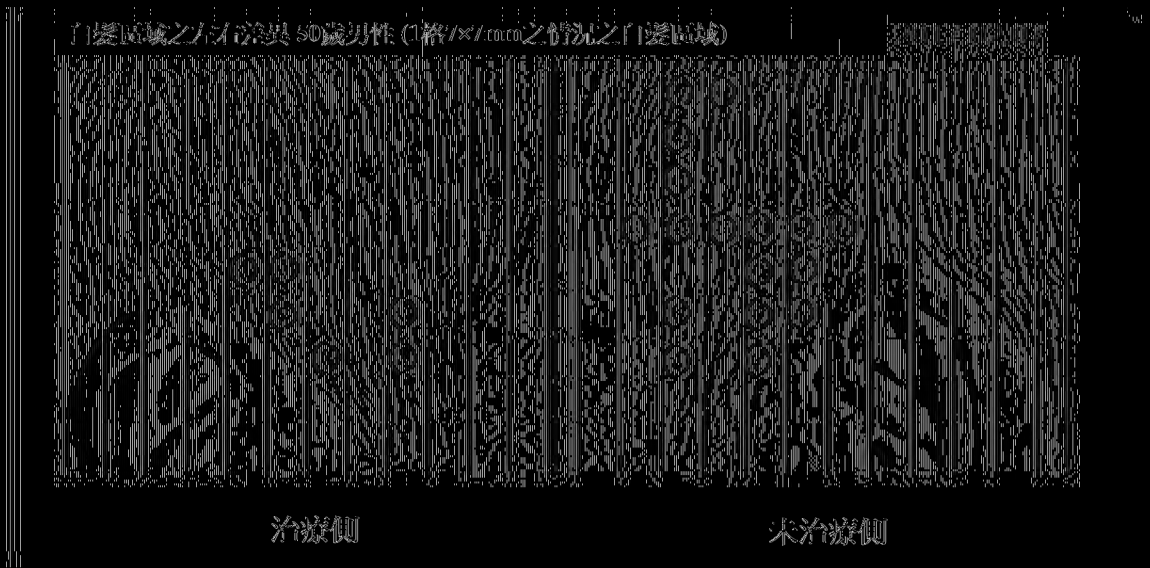
〔發明圖式〕



〔図 1〕



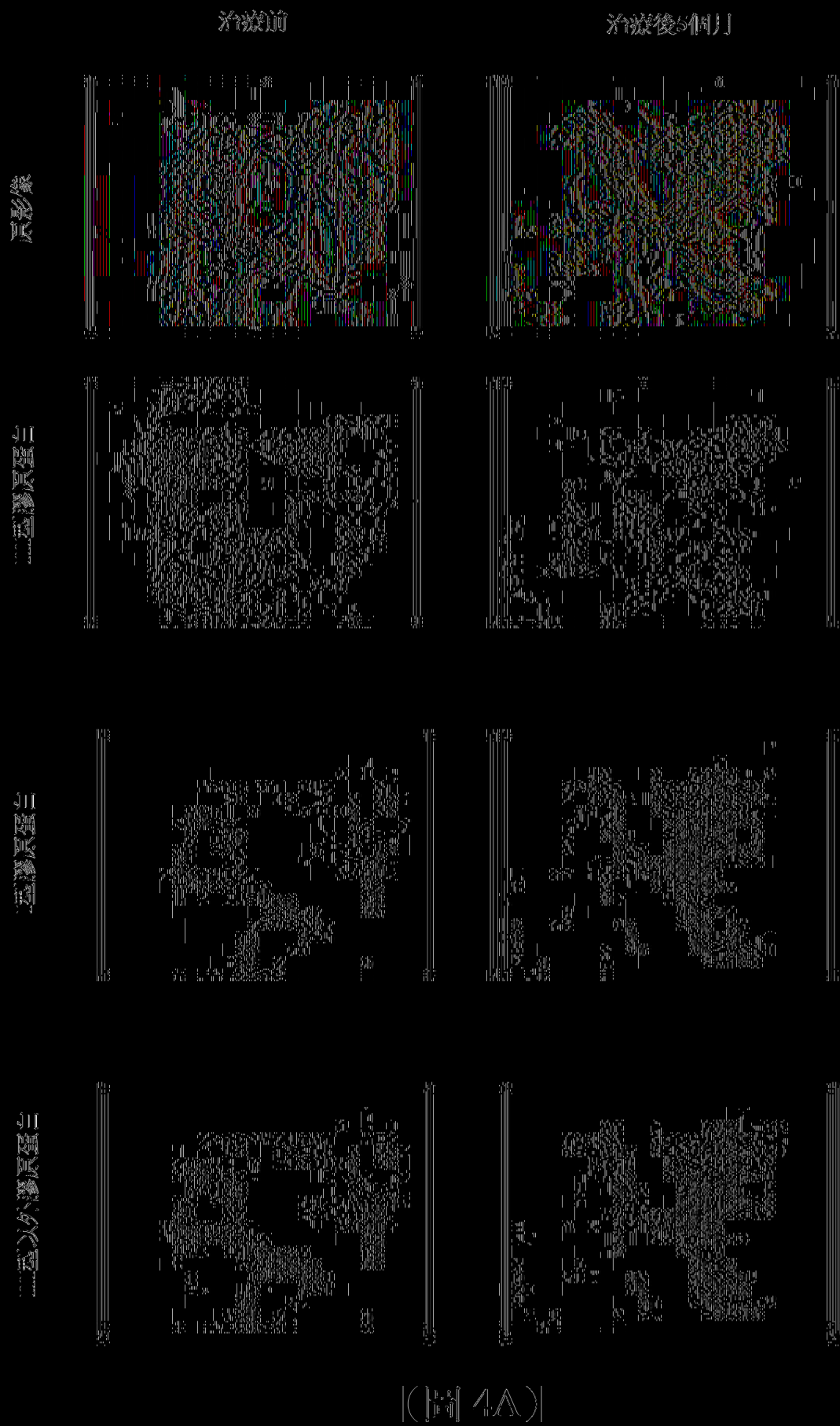
〔図 2A〕



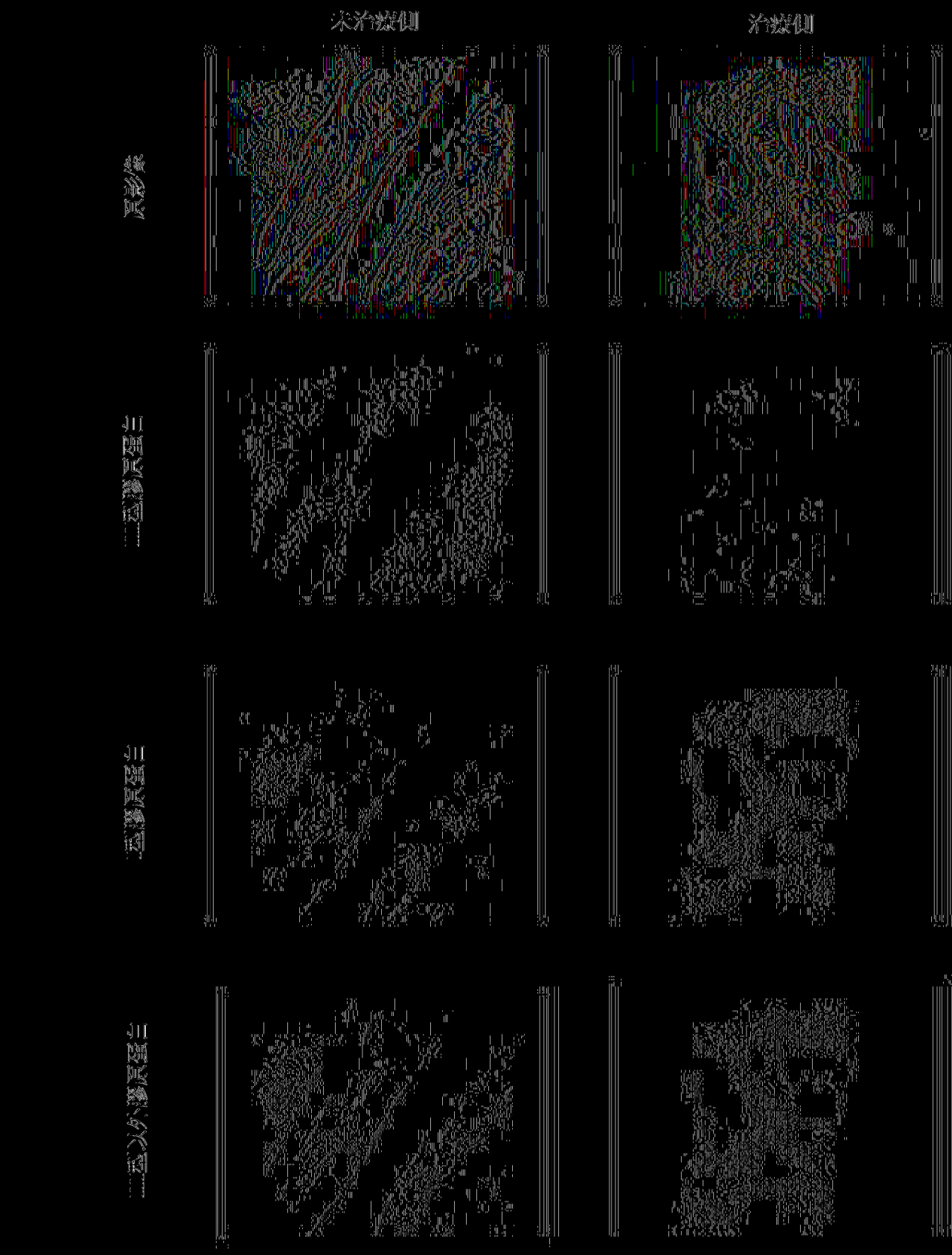
[(圖 2B)]



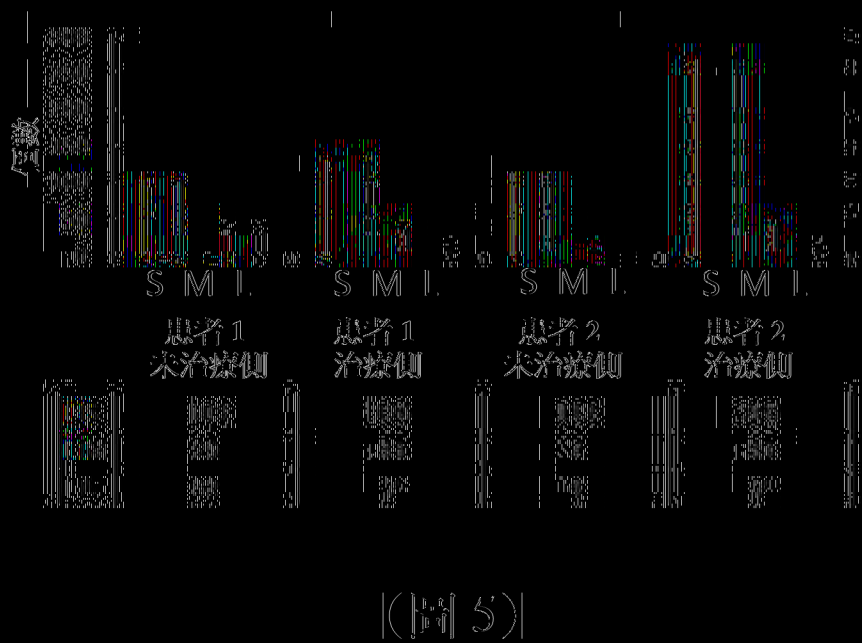
[(圖 3)]

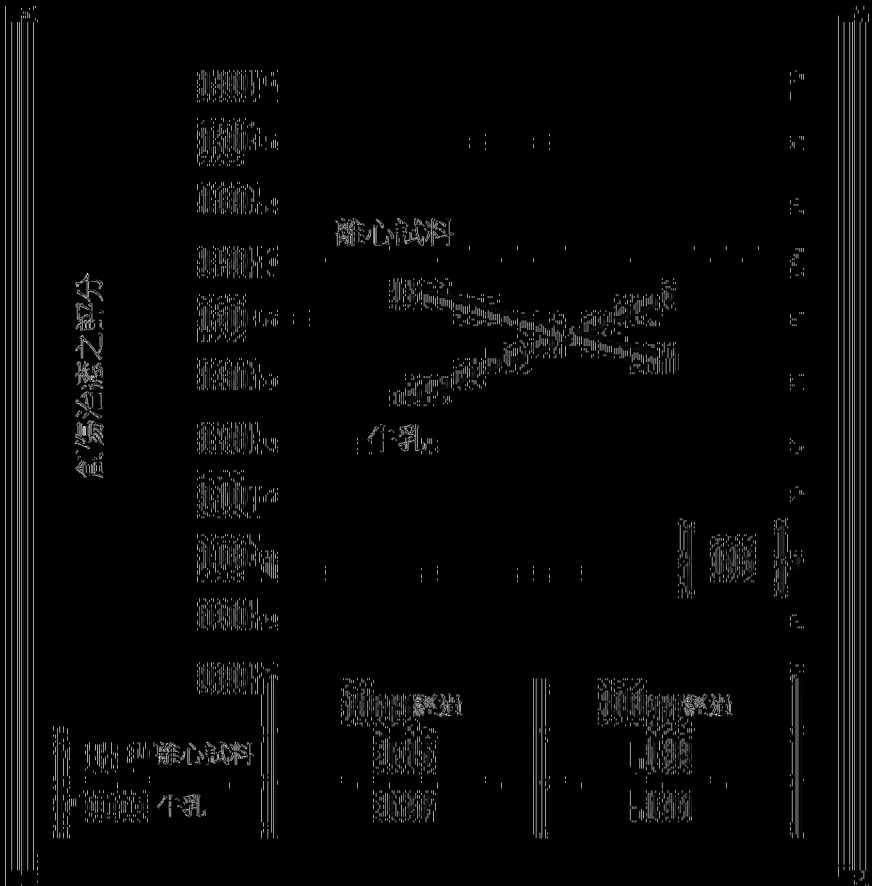


(圖 4A)

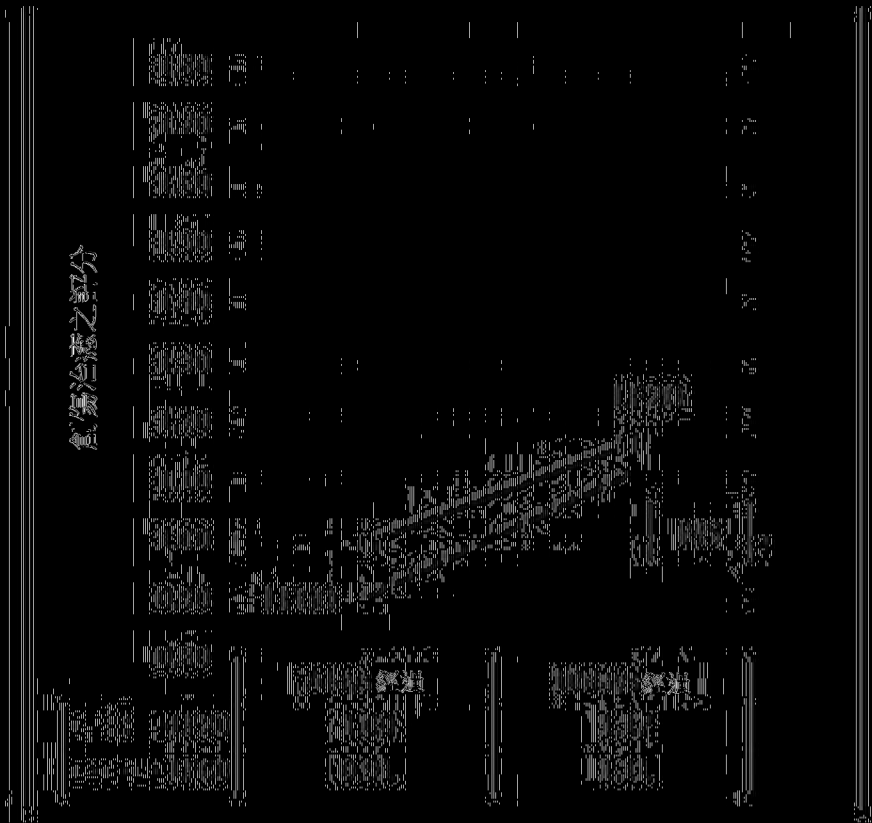


(圖 4B)

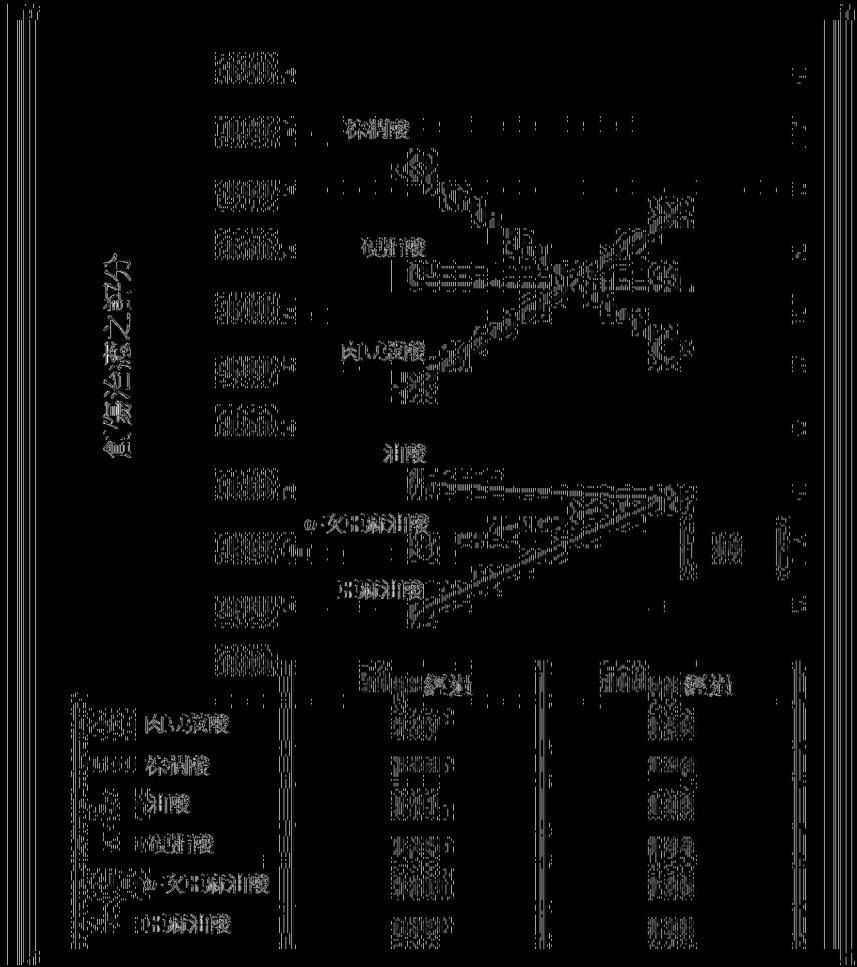




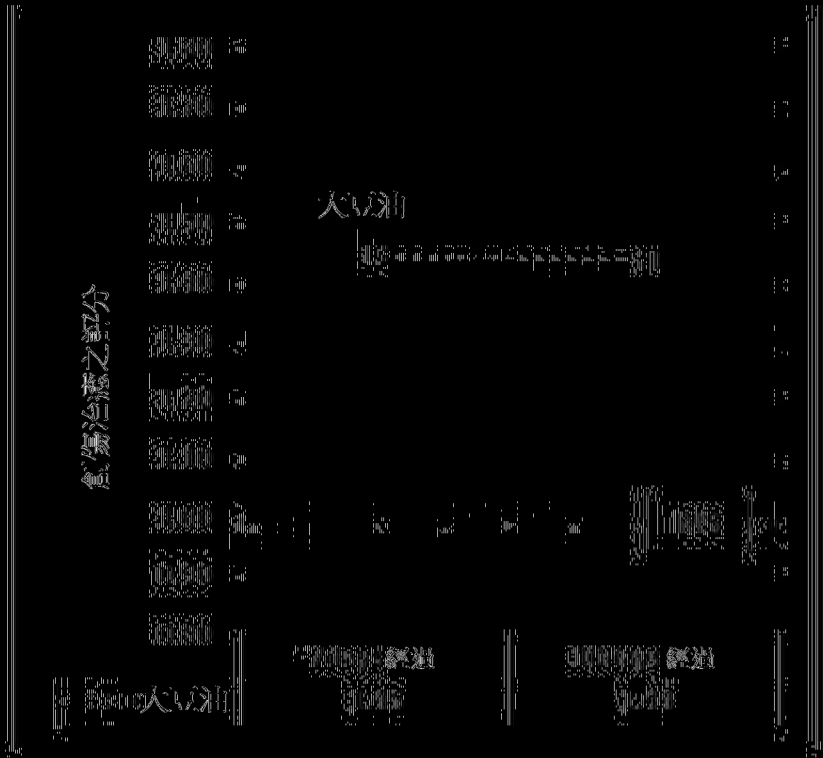
|(圖 6A)|



|(圖 6B)|



(圖 6C)



(圖 6D)

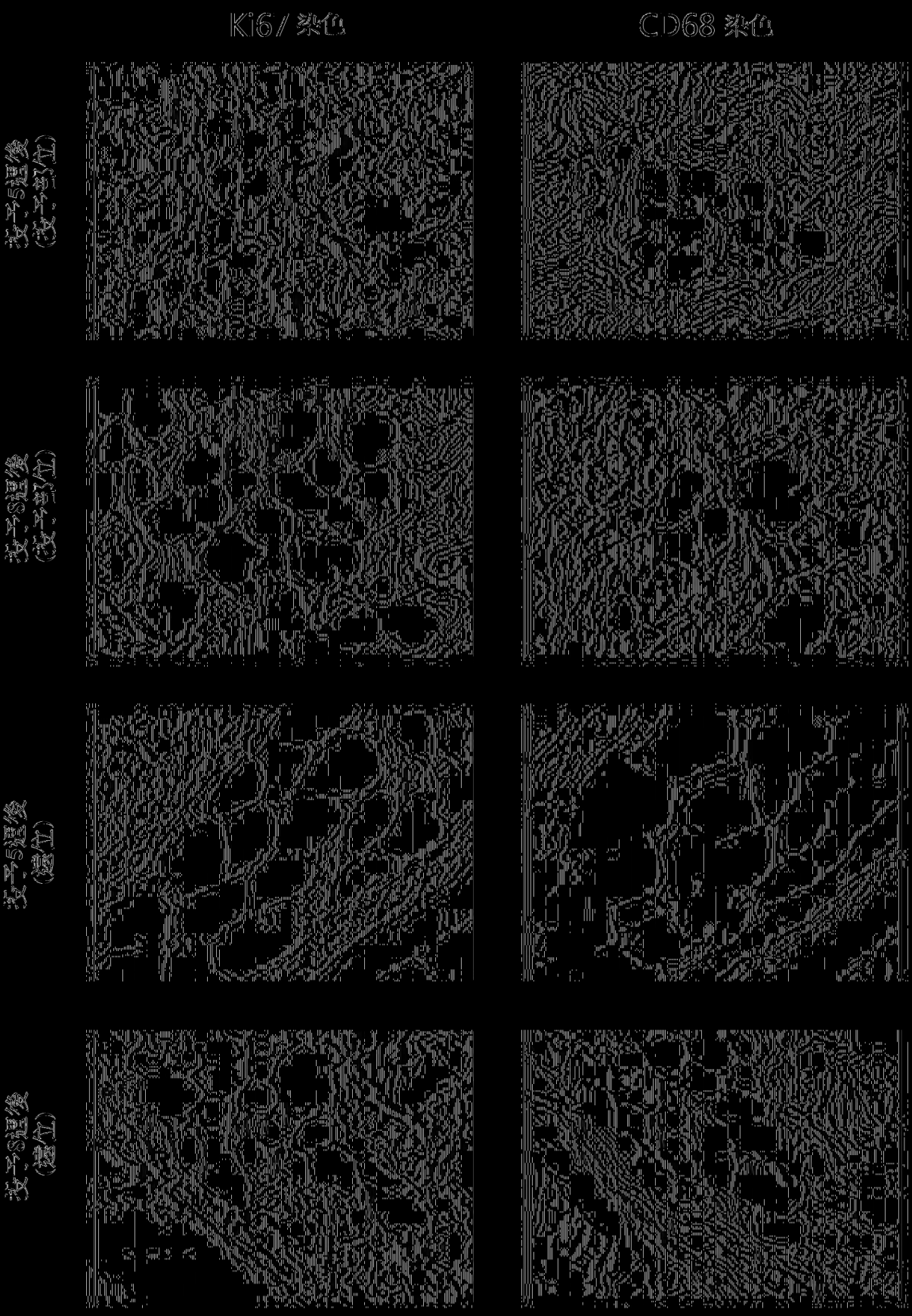
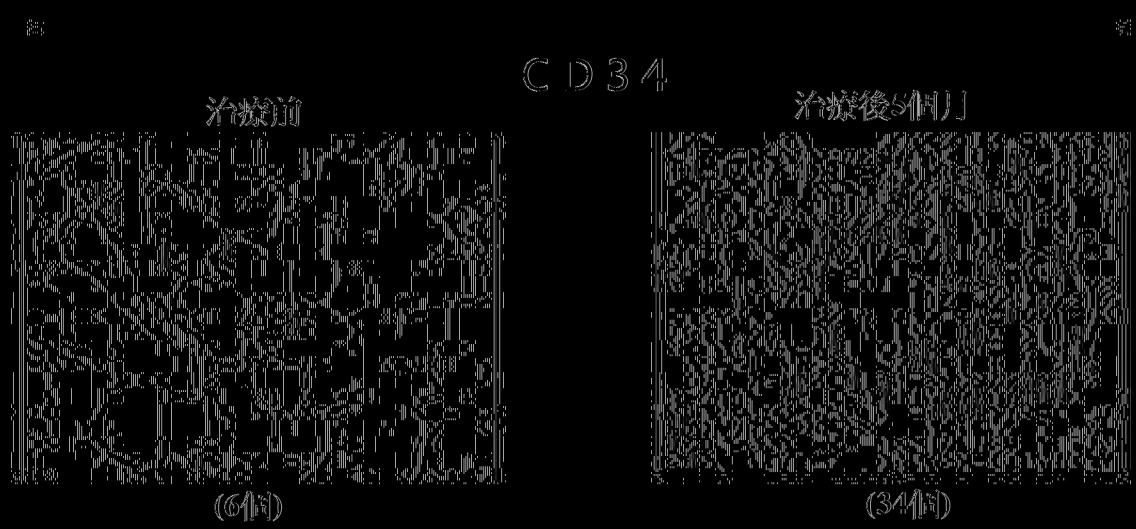
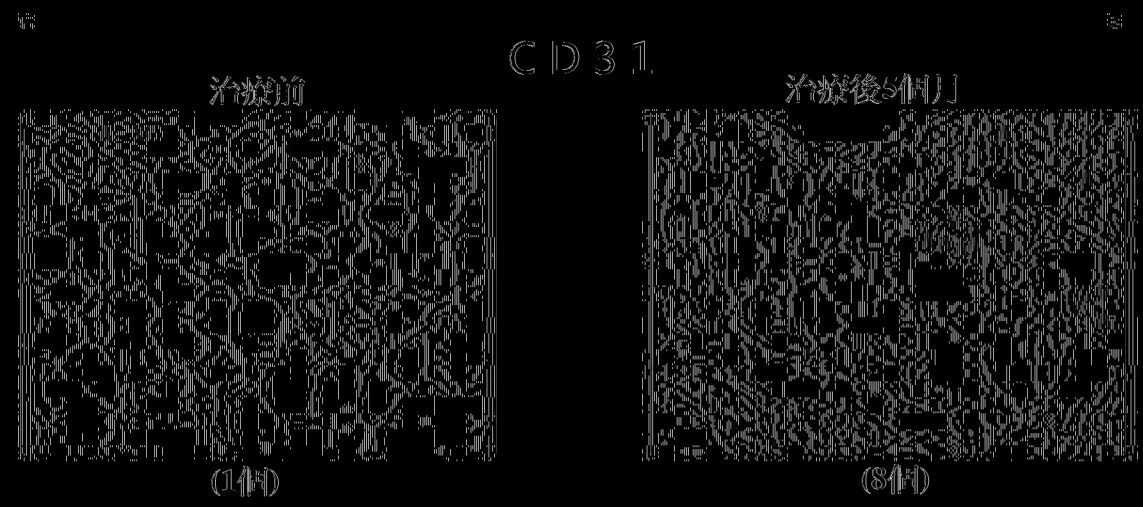


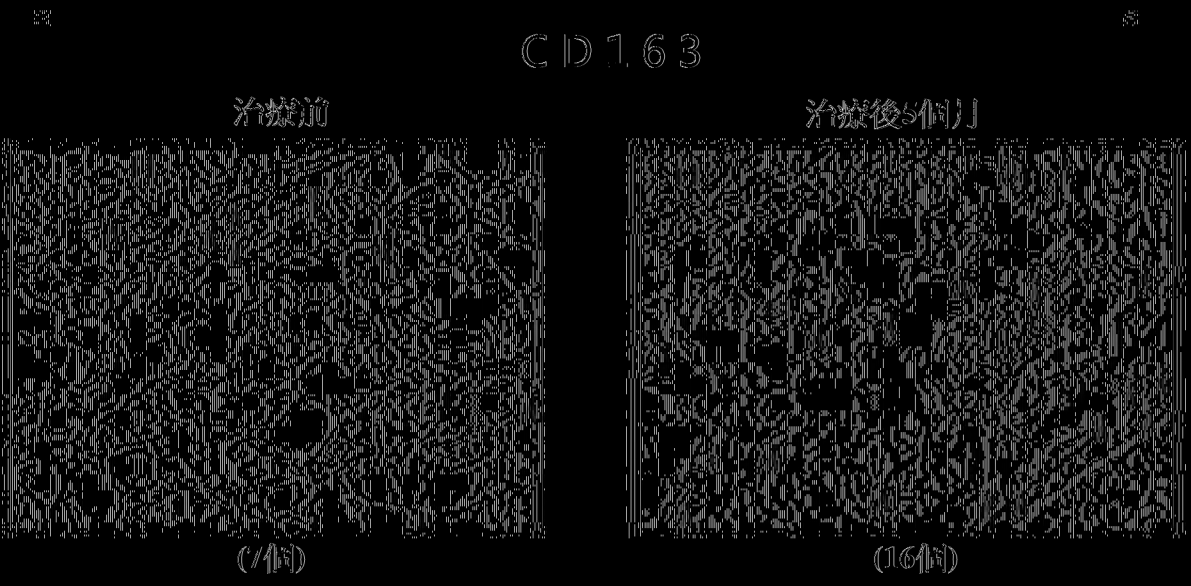
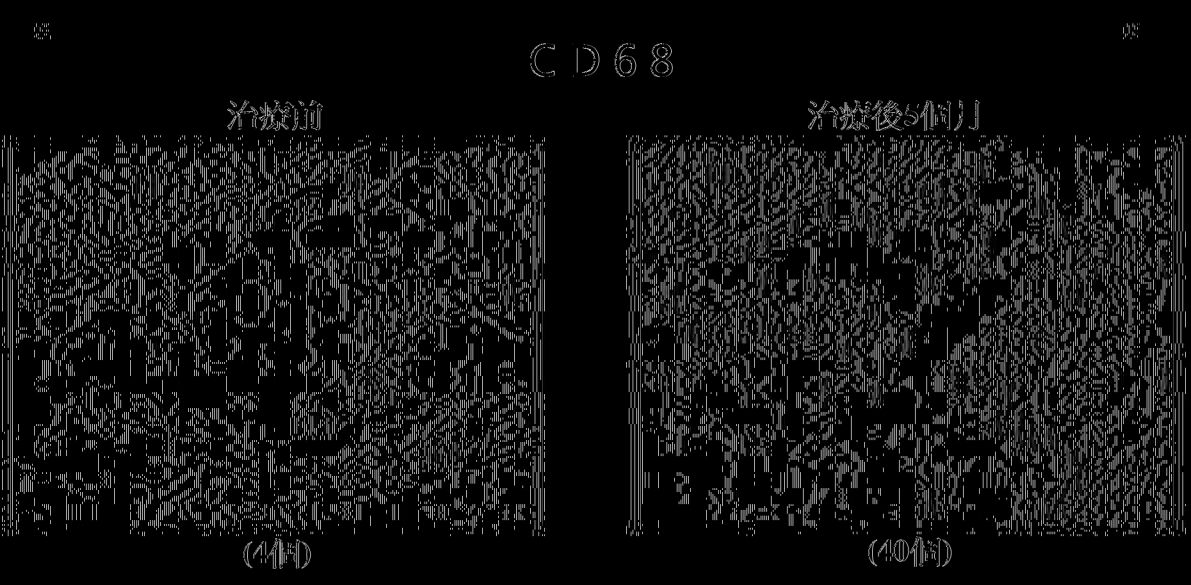
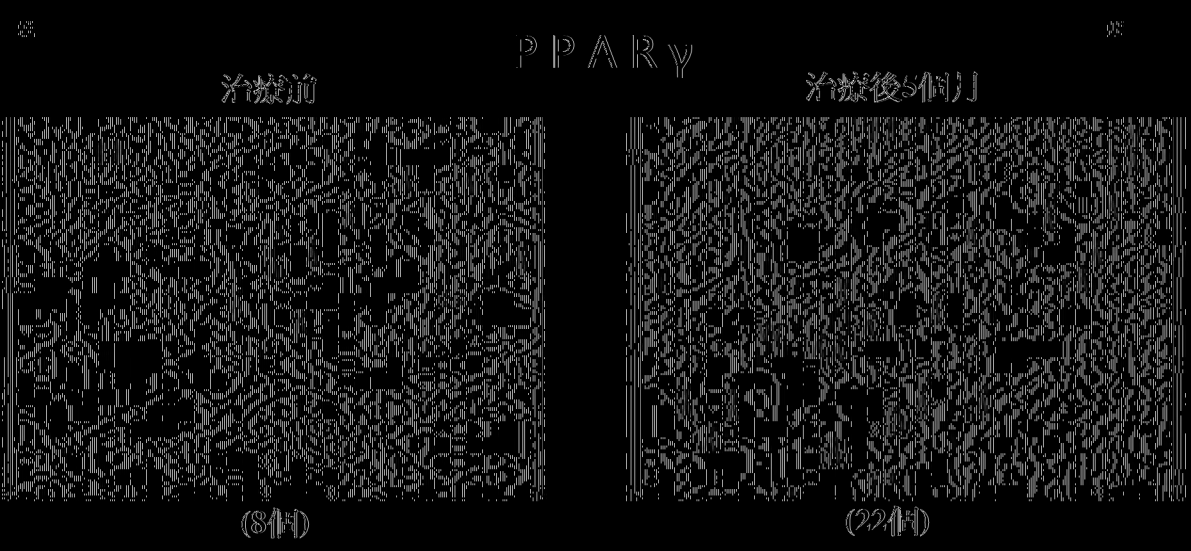
図17



V: Blood Vessel

V: 血管

[(H) 8A]



H: Hair Follicle H: 毛囊 S: 皮脂腺 S: Sebaceous Gland

|(圖 8.3)|

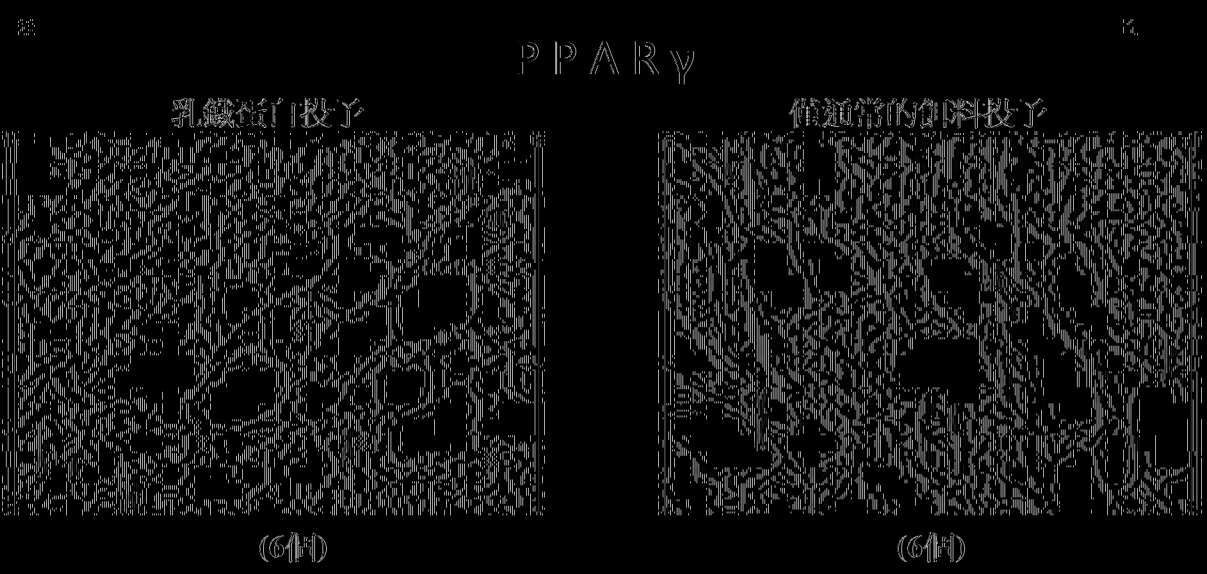
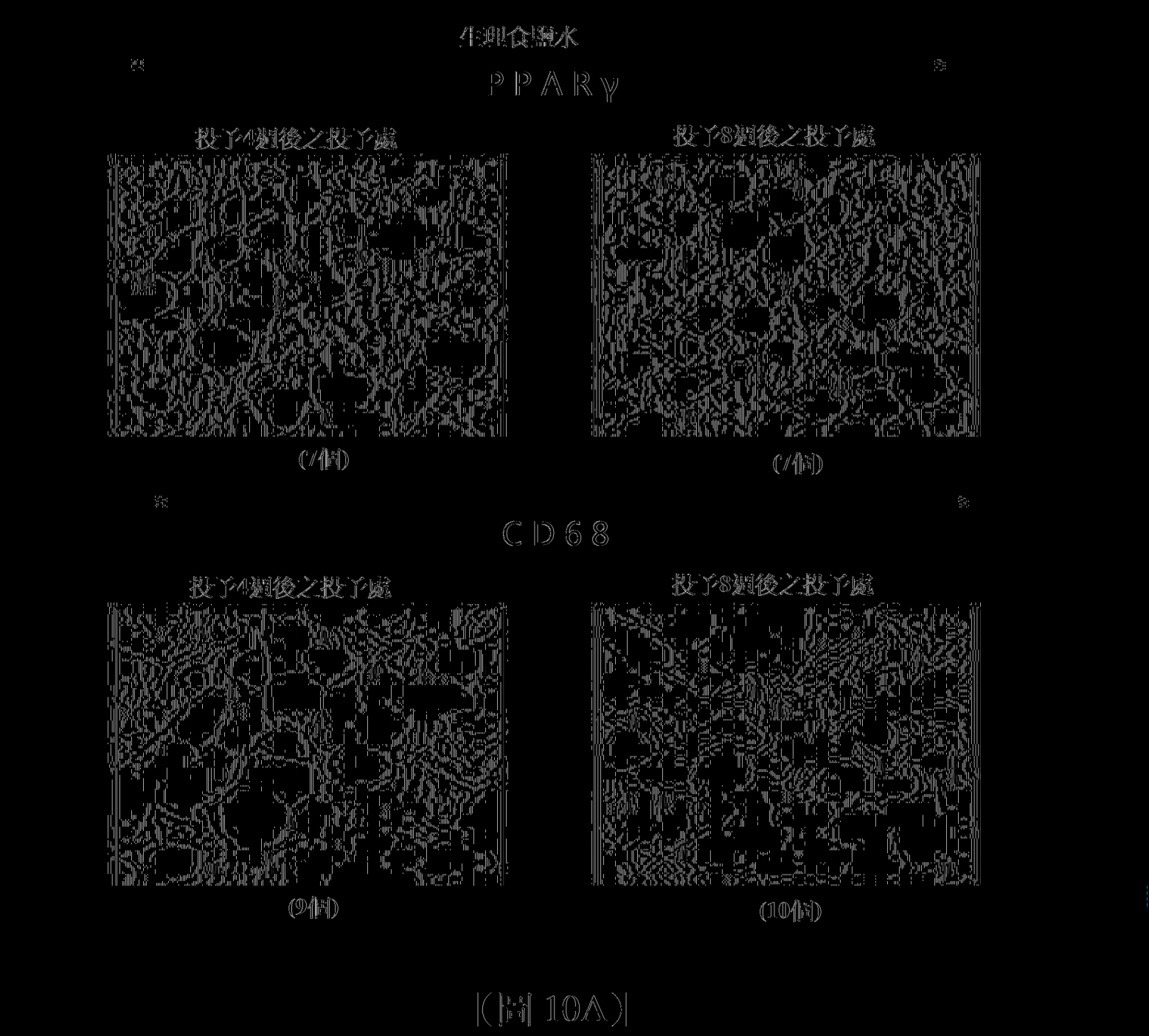
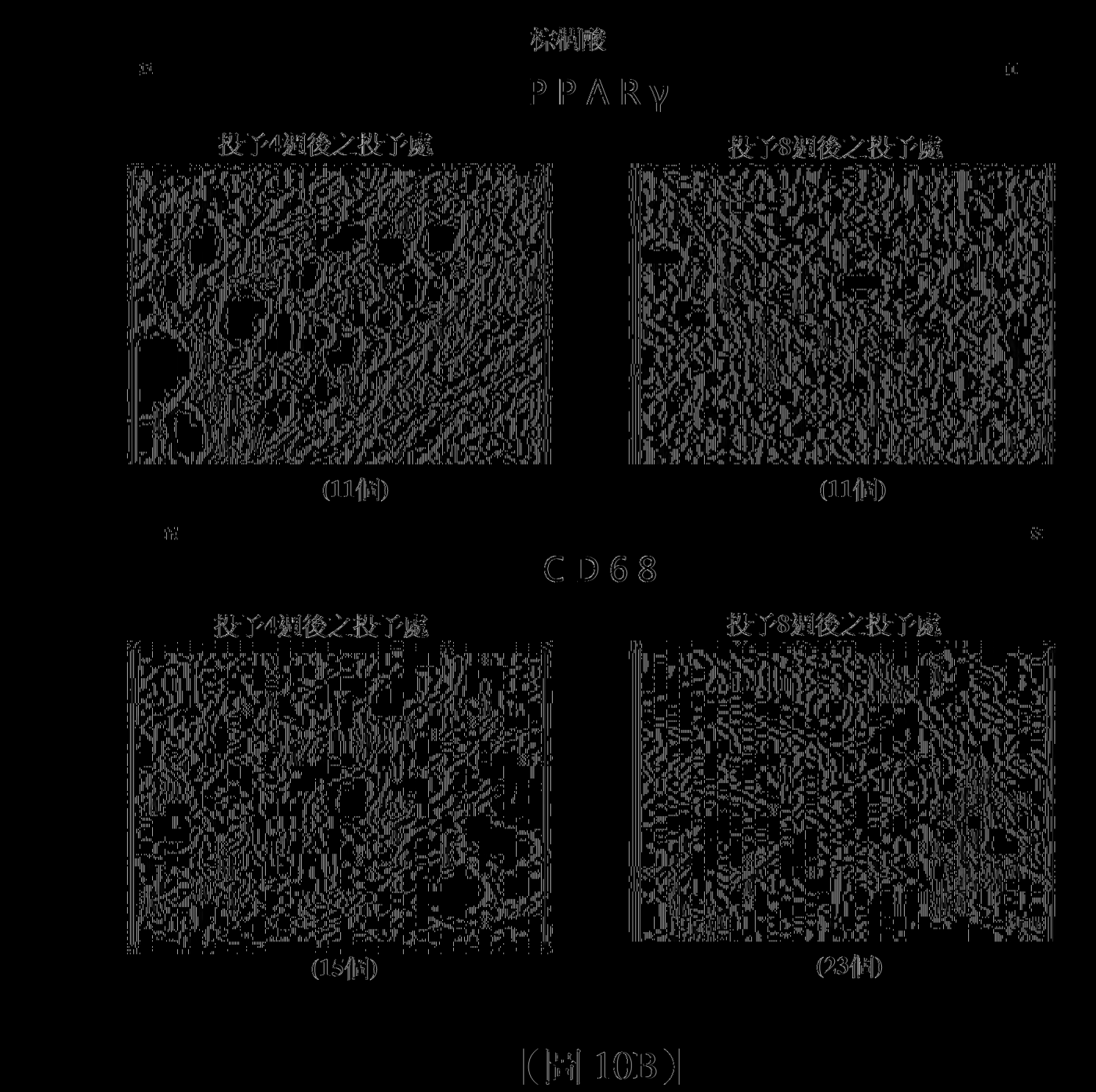
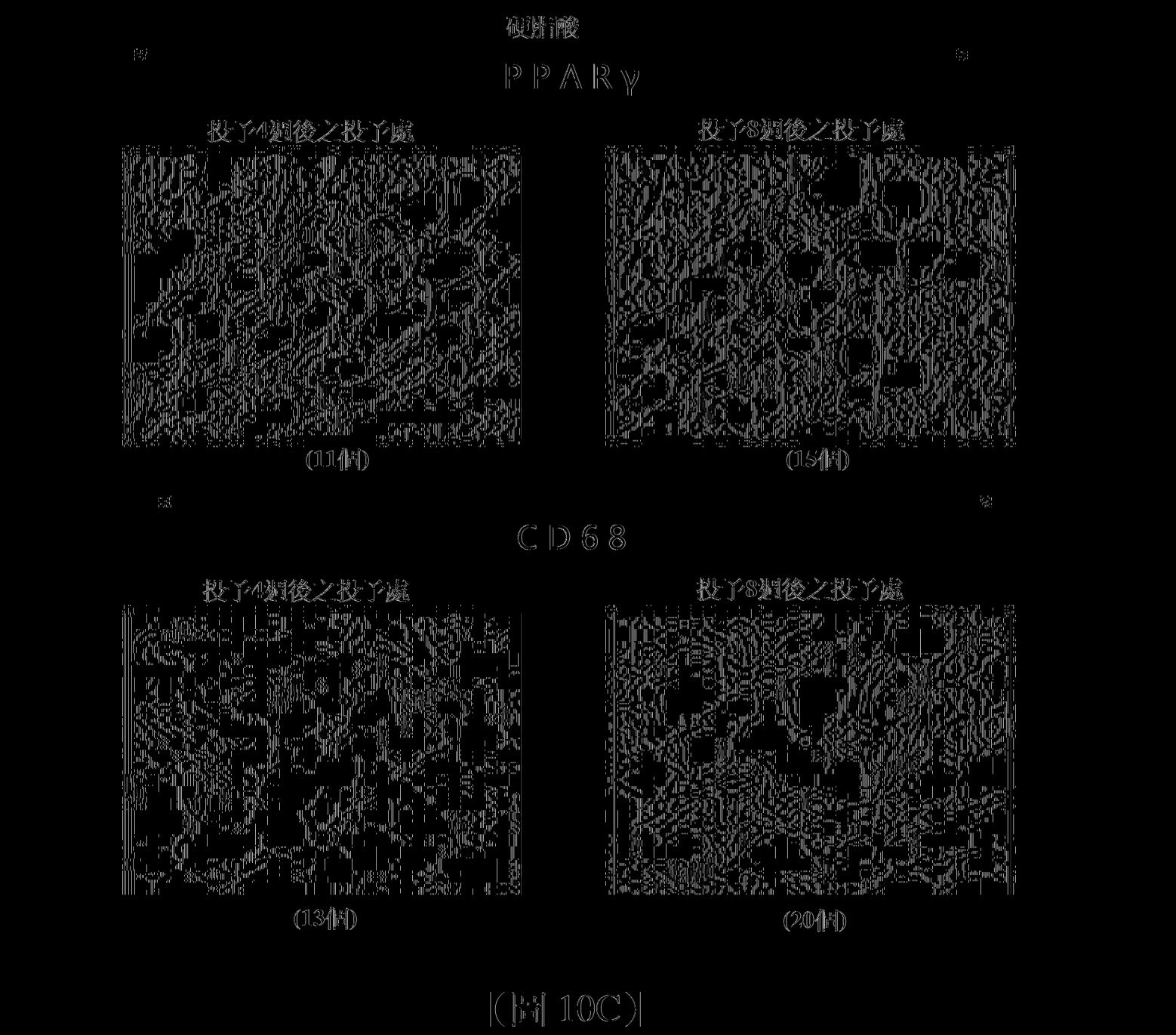


Figure 9







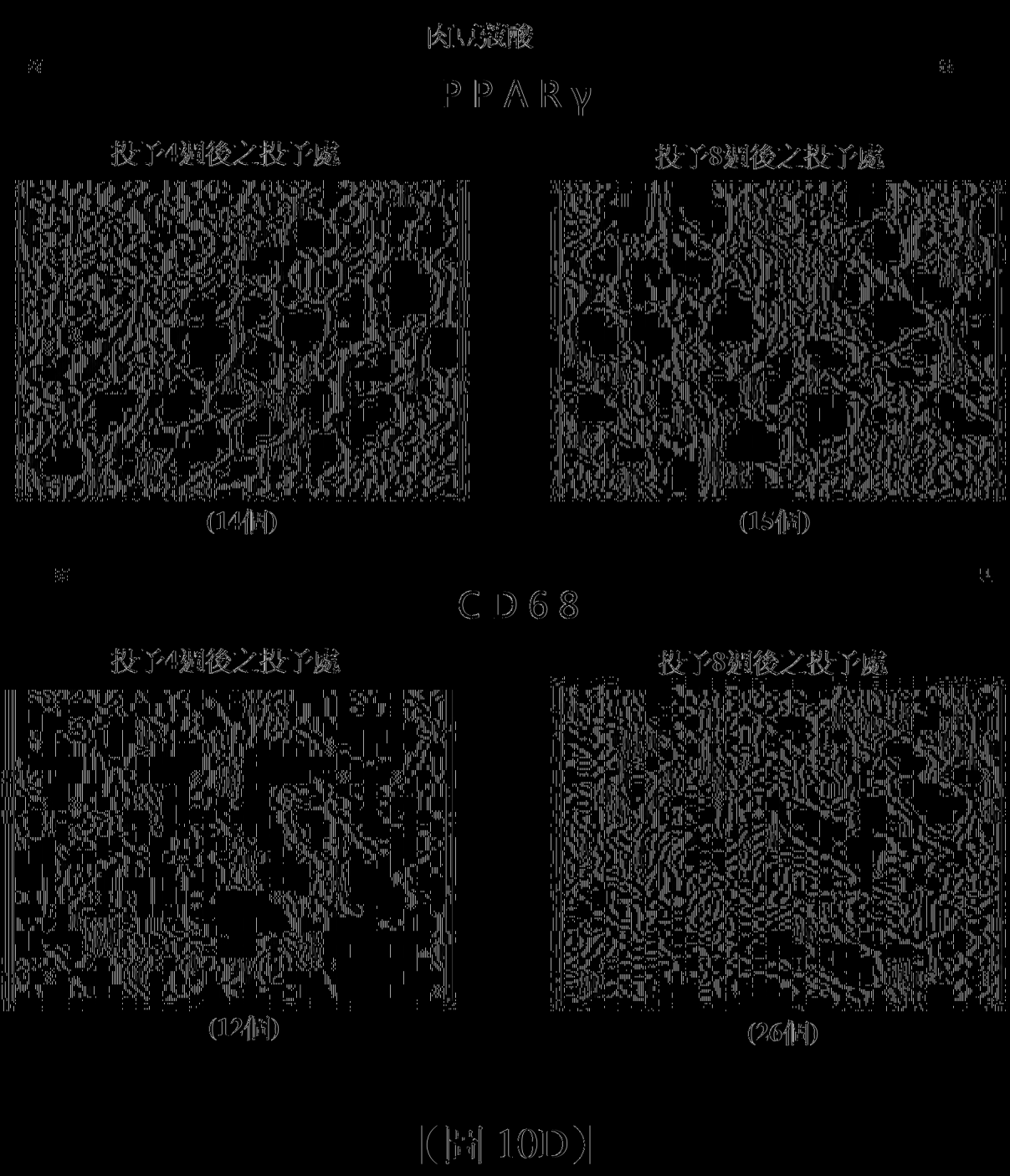


圖 10

油酸

PPAR γ

圖 11

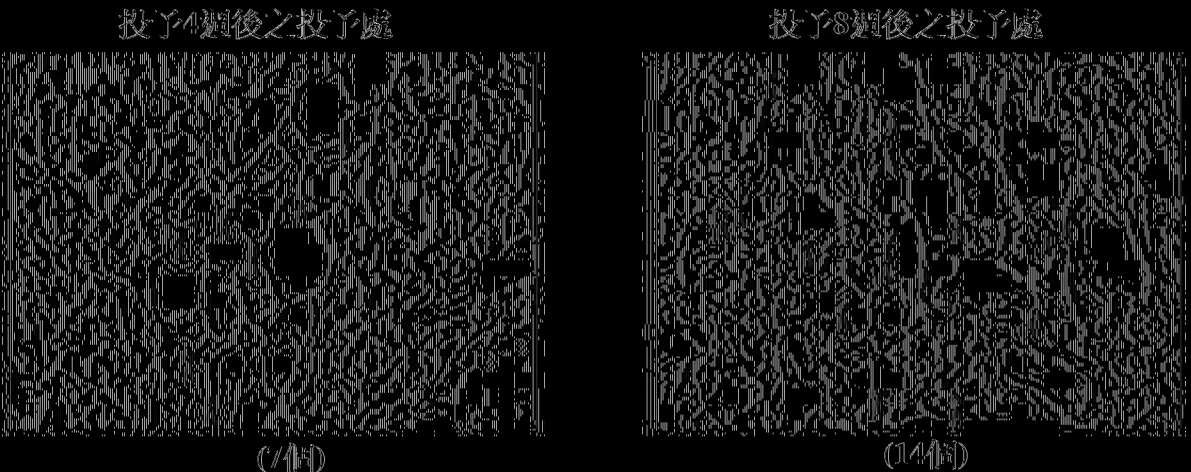
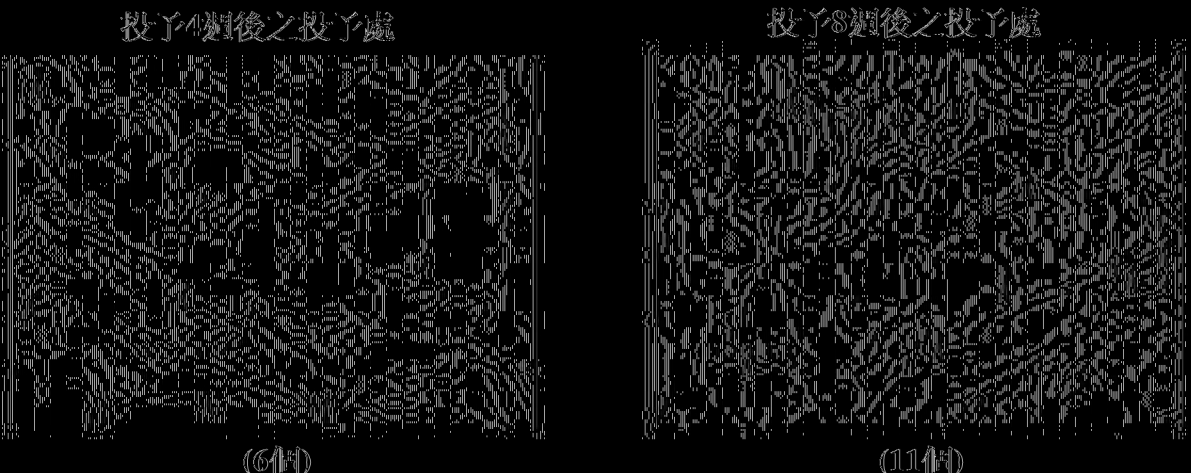


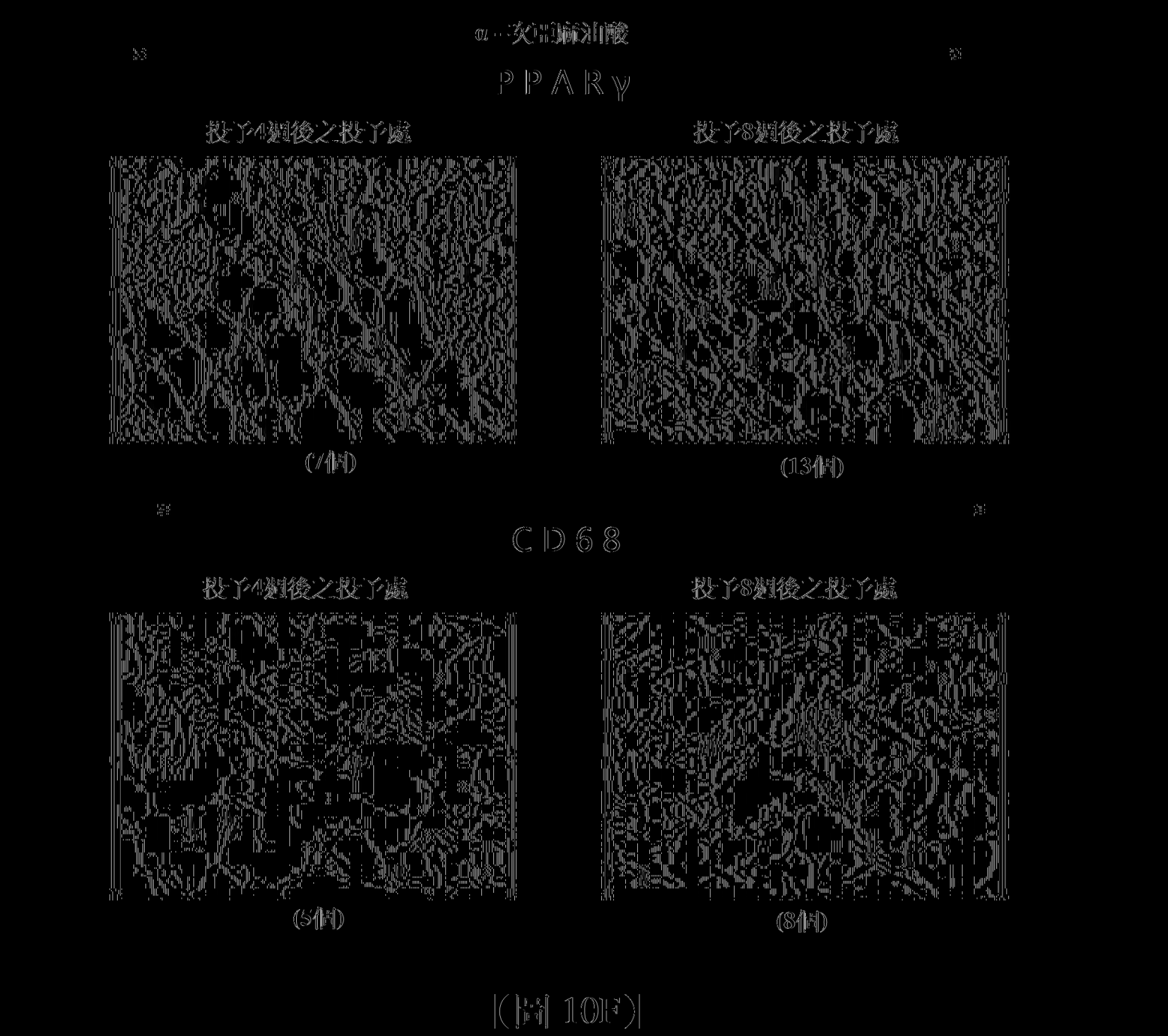
圖 12

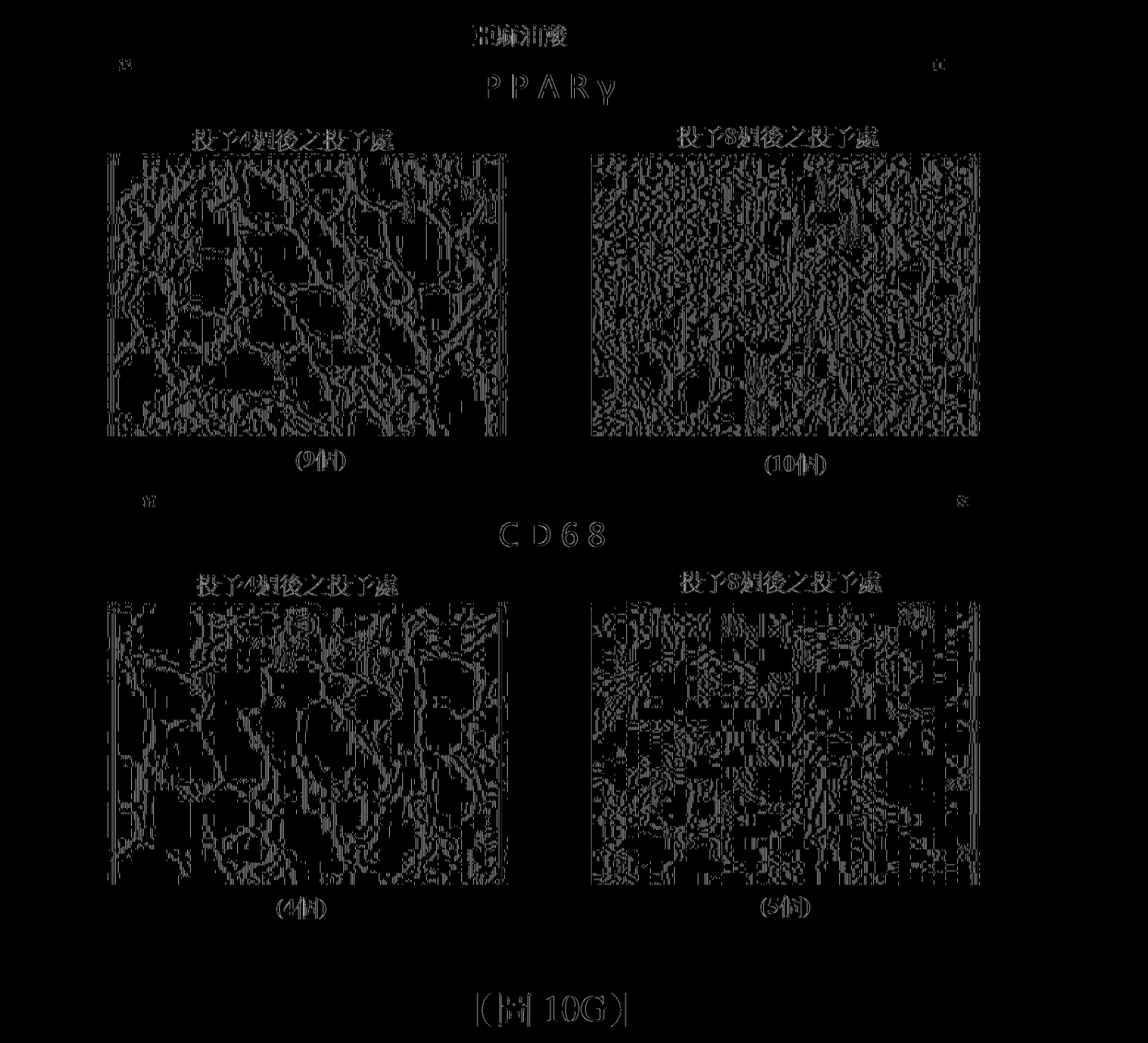
CD68

圖 13

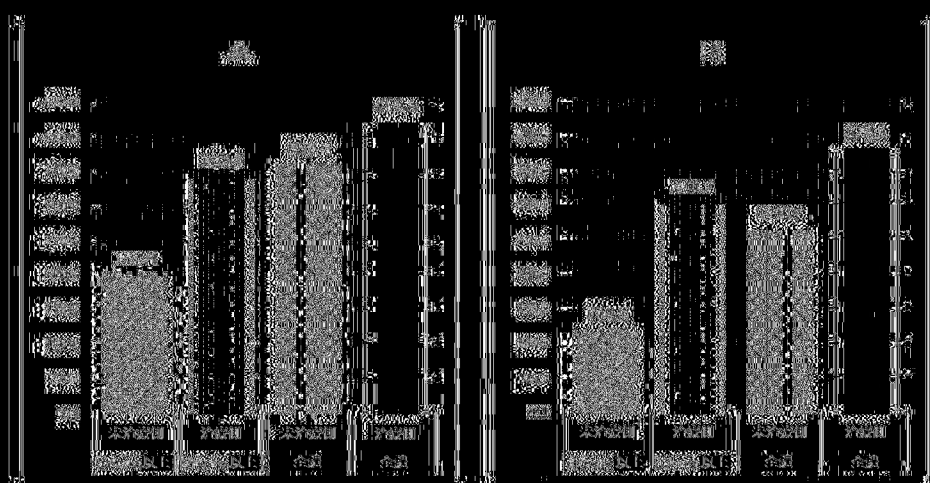


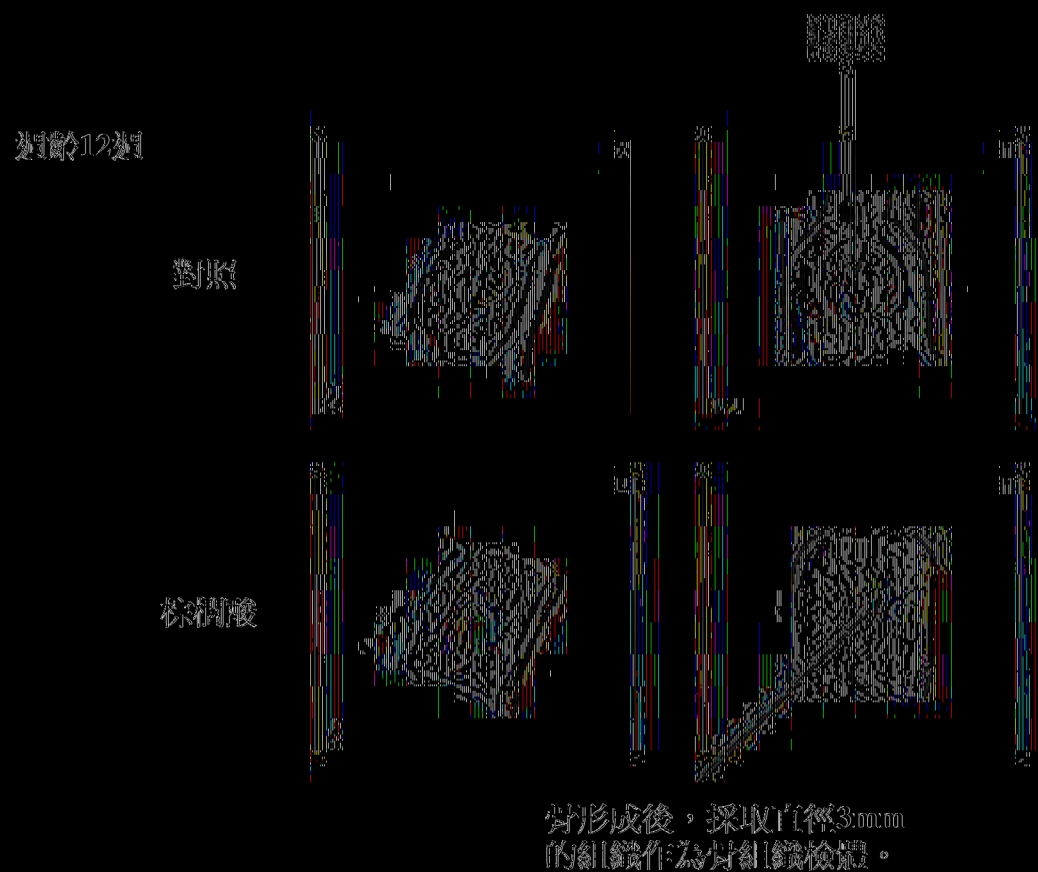
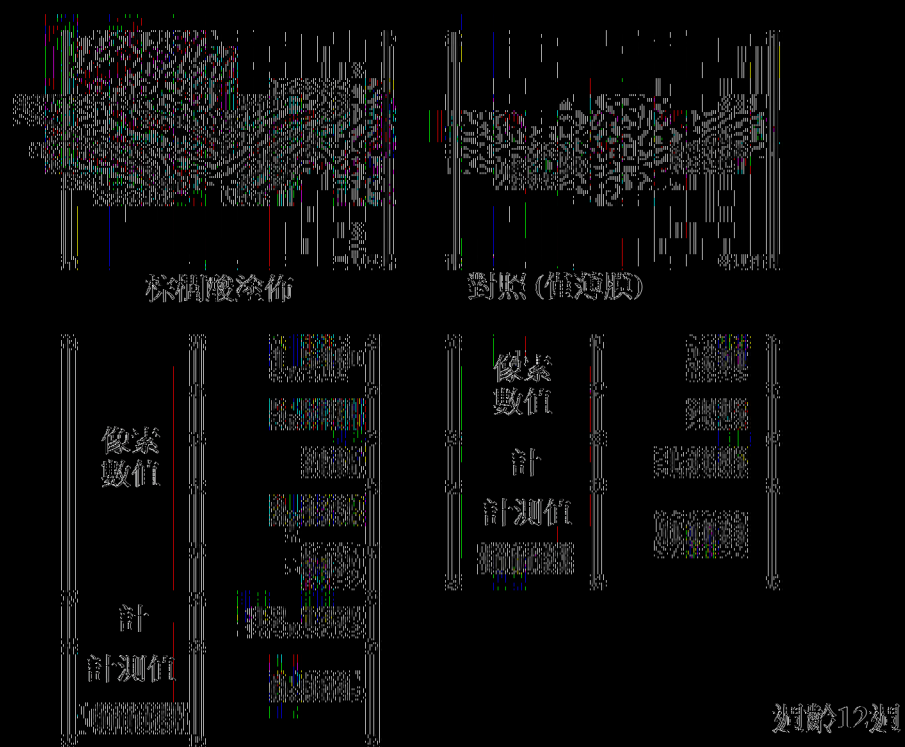
[(H) 10E]

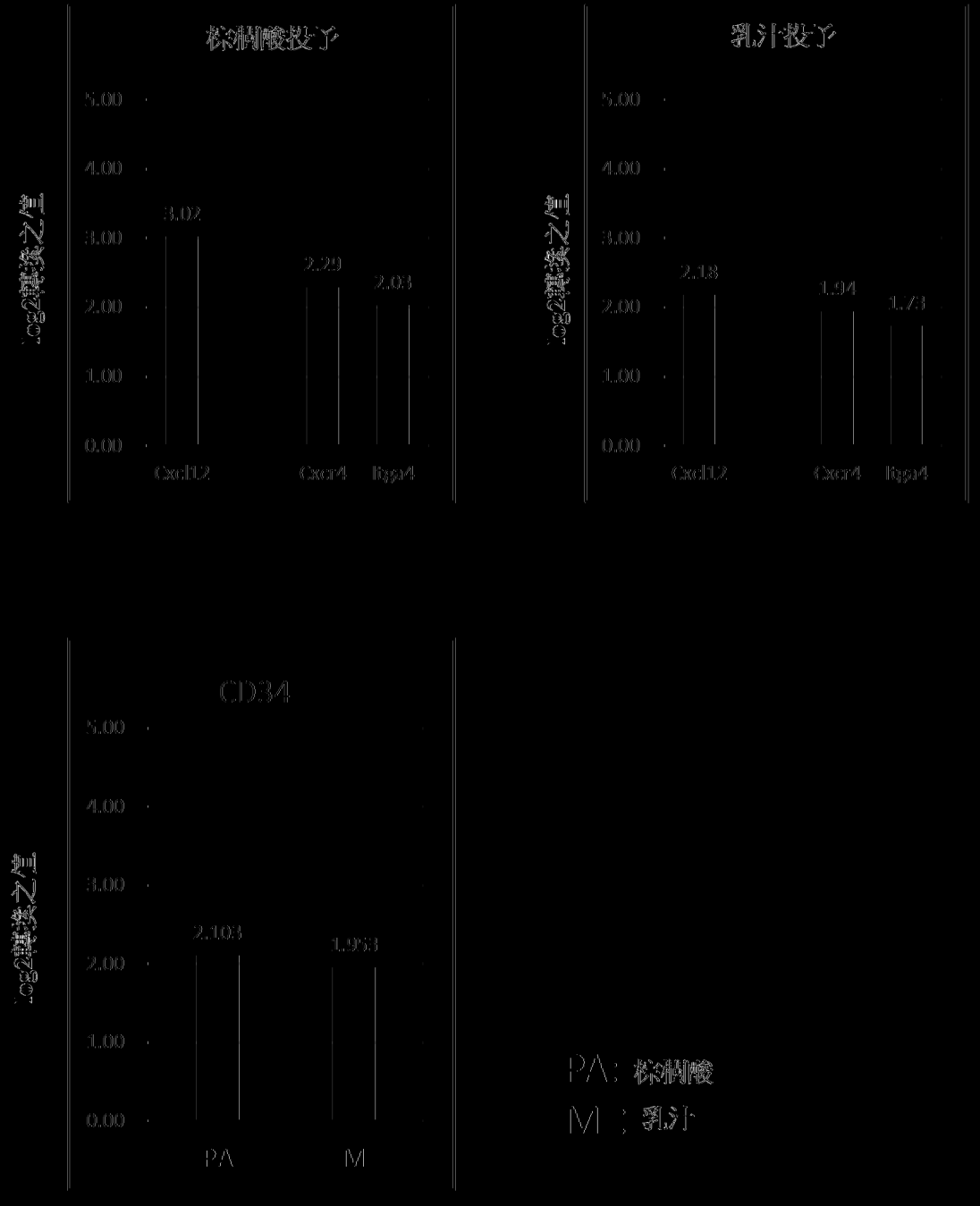




長度計測例 (治療経過と比較)


$$\left| \left(\begin{bmatrix} \hat{r}_1 \\ \vdots \\ \hat{r}_n \end{bmatrix} \right) \right|_{11A}$$

$$\left| \left(\begin{bmatrix} \hat{r}_1 \\ \hat{r}_2 \\ \hat{r}_3 \end{bmatrix} \parallel 1113 \right) \right|$$


$$|(\mathbb{P}_{\mathbb{R}}^n, \mathbb{R})| = 12,$$

$$|(\mathbf{H}_{\mathbf{B}}^{1,2} \quad 13)|$$



(圖 15)