

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6064274号  
(P6064274)

(45) 発行日 平成29年1月25日 (2017. 1. 25)

(24) 登録日 平成29年1月6日 (2017. 1. 6)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 38/00 (2006. 01)

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 31/7028 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7028

A 6 1 K 36/889 (2006. 01)

A 6 1 K 36/889

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 31/365 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1

請求項の数 15 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-155781 (P2012-155781)  
 (22) 出願日 平成24年7月11日 (2012. 7. 11)  
 (65) 公開番号 特開2013-234164 (P2013-234164A)  
 (43) 公開日 平成25年11月21日 (2013. 11. 21)  
 審査請求日 平成27年7月10日 (2015. 7. 10)  
 (31) 優先権主張番号 13/465, 873  
 (32) 優先日 平成24年5月7日 (2012. 5. 7)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 512182337  
 ムハンメド マジード  
 アメリカ合衆国 ニュージャージー州 O  
 8820 エディソン コッパーツリー  
 コート 117  
 (74) 代理人 100092093  
 弁理士 辻居 幸一  
 (74) 代理人 100082005  
 弁理士 熊倉 禎男  
 (74) 代理人 100084663  
 弁理士 箱田 篤  
 (74) 代理人 100093300  
 弁理士 浅井 賢治  
 (74) 代理人 100119013  
 弁理士 山崎 一夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 真皮乳頭細胞保護のための相乗作用性セレノペプチド処方物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物であって、前記組成物が、1 - O - ガロイル - D - グルコース ( - グルコガリン)、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、およびセレノペプチドを含む、前記処方物。

【請求項 2】

前記相乗作用性組成物が、少なくとも 10 % w / w の 1 - O - ガロイル - D - グルコース ( - グルコガリン) を含む、請求項 1 に記載の処方物。

【請求項 3】

前記相乗作用性組成物が 0 . 5 % w / w のココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物を含み、前記濃縮物が 40 % w / w 以上の総溶解固体を含む、請求項 1 又は 2 に記載の処方物。

10

【請求項 4】

前記相乗作用性組成物が 0 . 001 % w / w のセレノペプチドを含む、請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の処方物。

【請求項 5】

セレノペプチドが L - グルタミル - セレノメチル - L - セレノシステインである、請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載の処方物。

【請求項 6】

セレノペプチドが L - グルタミル - L - セレノメチオニンである、請求項 1 乃至 4

20

のいずれかに記載の処方物。

【請求項 7】

相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物であって、前記組成物が、1 - O - ガロイル - - D - グルコース ( - グルコガリン) および没食子酸エステル、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、並びにセレノペプチドを含む、前記処方物。

【請求項 8】

前記相乗作用性組成物が、少なくとも 10 % w / w の 1 - O - ガロイル - - D - グルコース ( - グルコガリン)、並びにムチン酸 1, 4 - ラクトン - 5 - O - 没食子酸エステル、ムチン酸 2 - O - 没食子酸エステル、ムチン酸 6 - メチルエステル 2 - O - 没食子酸エステル、ムチン酸 1 - メチルエステル 2 - O - 没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む 50 % 以上の総没食子酸エステルを含む、請求項 7 に記載の処方物。

10

【請求項 9】

前記相乗作用性組成物が、0.5 % w / w のココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物を含み、前記濃縮物が 40 % w / w 以上の総溶解固体を含む、請求項 7 又は 8 に記載の処方物。

【請求項 10】

前記相乗作用性組成物が 0.001 % w / w のセレノペプチドを含む、請求項 7 乃至 9 のいずれかに記載の処方物。

【請求項 11】

セレノペプチドが - L - グルタミル - セレノメチル - L - セレノシステインである、請求項 7 乃至 10 のいずれかに記載の処方物。

20

【請求項 12】

セレノペプチドが - L - グルタミル - L - セレノメチオニンである、請求項 7 乃至 10 のいずれかに記載の処方物。

【請求項 13】

ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高めるための、請求項 1 乃至 12 のいずれかに記載の処方物。

【請求項 14】

ストレスシグナルに暴露されている間に真皮乳頭細胞の形態および数を維持するための、請求項 1 乃至 12 のいずれかに記載の処方物。

30

【請求項 15】

真皮乳頭細胞が真皮幹細胞 / 前駆細胞を含む、請求項 13 または 14 に記載の処方物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は真皮乳頭細胞のための保護組成物に関する。より具体的には、本発明は、(a) - グルコガリンまたは - グルコガリンおよび没食子酸エステル、(b) ココス・ヌシフェラ (Cocos nucifera ; ココナッツ) の液状内乳濃縮物、および (c) セレノペプチドを含む相乗作用性組成物を含む、真皮乳頭細胞の保護のための処方物に関する。

【背景技術】

40

【0002】

真皮乳頭細胞は皮膚の間葉細胞であり、前記は毛突起の発達を調節するだけでなく多機能性幹細胞系列の貯蔵庫もまた構成する (Driskell et al., 2011)。これらの幹細胞系列は“組織のエンジニア”として機能し、再生医療における貴重な資産である。幹細胞マーカー遺伝子 Sox2 (幹細胞の多分化能性表現型の保存のために必須の転写因子) を発現する真皮乳頭細胞は自己再生能力を示し、毛突起形成を誘発し、さらに皮膚細胞外マトリックスの形成を助ける線維芽細胞に分化する。実際、真皮乳頭は、老化線維芽細胞を健康な線維芽細胞に置き換え、それによって線維芽細胞数を維持するために非常に重要な役割を果たす。最近の研究 (Arnold I. Caplan, Diego Correa. The MSC: An Injury Drugstore . Cell Stem Cell, Volume 9, Issue 1, 11-15, 8 July 2011 DOI: 10.1016/j.stem.2011

50

.06.008) はまた、(i) 組織の損傷に続く不当な炎症性応答を和らげる(したがって自動的な組織修復のための処理環境を助成する)間葉系幹細胞(MSC)の能力、さらに(b)大腸菌(*Escherichia coli*)および黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)のような細菌を殺すタンパク質を産生する(したがって身体系から微生物を一掃する)それらの能力から、間葉系幹細胞の役割は強力な“先天性防御手段”であることを示している。真皮乳頭細胞の上述の多様な機能を考えれば、これら細胞の数および形態に関して健康な状態を維持し、さらにまたこれら幹細胞の性状を保護することは重要である。

#### 【0003】

血管内皮増殖因子(VEGF)およびその5-アルファレダクターゼ活性を強化する、セレノペプチド、ガンマ-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインおよび -L-グルタミル-L-セレノメチオニンの能力は、US8003614(Majeed et al.)に記載されている。驚くべきことに、本発明者らは、セレノペプチドは単独では真皮乳頭細胞の貧弱な保護物質であるが、US20110033565でMajeedらが開示した処方物の真皮乳頭保護能力を相乗的に強化することを記載している(前記処方物は、(a)1-O-ガロイル- -D-グルコース( -グルコガリン)または -グルコガリンおよび没食子酸エステル、並びに(b)ココス・ヌシフェラ(*Cocos nucifera*)の液状内乳濃縮物を含む組成物を含む)。

結果として、本発明の相乗作用性セレノペプチド処方物は、十分な数の形態学的に健康な真皮乳頭細胞を維持し、したがって前記細胞の幹細胞としての性状の保護に大いに利用され得る。

本発明の主要な目的は、(a) -グルコガリンまたは -グルコガリンおよび没食子酸エステル、(b)ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物、並びに(c)セレノペプチドを含む相乗作用性組成物を含む、ストレスシグナルから真皮乳頭細胞を保護する保護処方物、並びに関連するその利用を開示することである。

本発明は、記載の目的を満足させ、関連する更なる利点を提供する。

#### 【発明の概要】

#### 【0004】

本発明は、(a) -グルコガリンまたは -グルコガリンおよび没食子酸エステル(b)ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物、並びに(c)セレノペプチドを含む相乗作用性組成物を含む、ストレスシグナルから真皮乳頭細胞を保護する処方物を開示する。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0005】

【図1】0.5%のココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物の顕微鏡写真を示す。前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含み、単独では真皮乳頭細胞を保護することはできない。

【図2】UVB照射未処理細胞と比較した、保護処方物PC-1(少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース( -グルコガリン)を含む組成物)で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-1は0.43 J/cm<sup>2</sup>を超えるUVB線量から真皮乳頭細胞を保護することはできない。PC-1処理細胞の細胞損傷は0.648 J/cm<sup>2</sup>のUVB線量で発生する(図4の部分として示されている)。

【図3】UVB照射未処理細胞と比較した、保護処方物PC-2(少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース( -グルコガリン)および50% w/w以上の没食子酸エステルを含む組成物)で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-2は0.43 J/cm<sup>2</sup>を超えるUVB線量から真皮乳頭細胞を保護することはできない。PC-2処理細胞の細胞損傷は0.648 J/cm<sup>2</sup>のUVB線量で発生する(図5の部分として示されている)。

【図4】保護処方物PC-3(PC-1+0.5%のココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物、前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む)で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-3は0.648 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルに対してのみ真皮乳頭細胞を保護するが、0.8 J/cm<sup>2</sup>では保護しない。0.8 J/cm<sup>2</sup>での細胞死が図で示されている。

【図5】保護処方物PC-4(PC-2+0.5%のココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物、前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む)で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-4は0.648 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルに対してのみ真皮乳頭細胞を保護するが、0.8

10

20

30

40

50

J/cm<sup>2</sup>では保護しない。0.8 J/cm<sup>2</sup>での細胞死が図で示されている。

【図6】保護処方物PC-5 (PC-3 + 0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステイン) で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-5は0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射に曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な (95%) 保護を提供する。

【図7】保護処方物PC-6 (PC-3 + 0.001% w/wの -L-グルタミル-L-セレノメチオニン) で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-6は1.0 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射に曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な (95%) 保護を提供する。

【図8】保護処方物PC-7 (PC-4 + 0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステイン) で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-7は0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射に曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な (95%) 保護を提供する。

【図9】保護処方物PC-8 (PC-4 + 0.001% w/wの -L-グルタミル-L-セレノメチオニン) で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-8は1.0 J/cm<sup>2</sup>の非常に高い線量のUVB照射に曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な (95%) 保護を提供する。

【図10】保護処方物PC-9 (0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステイン (図10a) または0.001% w/wの -L-グルタミル-L-セレノメチオニン (図10b) ) で処理したUVB照射真皮乳頭細胞の顕微鏡写真を示す。PC-9は、低レベルのUVB照射 (0.432 J/cm<sup>2</sup>のUVB線量) に曝露された真皮乳頭細胞に対してさえ保護を提供しない。

【発明を実施するための形態】

【0006】

本発明は相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物に関し、前記組成物は1-0-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン)、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、およびセレノペプチドを含む。

本発明の別の実施態様では、相乗作用性組成物は少なくとも10% w/wの1-0-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) を含む。

本発明のさらに別の実施態様では、相乗作用性組成物は0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳由来濃縮物を含み、前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む。

本発明のさらに別に実施態様では、相乗作用性組成物は0.001% w/wのセレノペプチドを含む。

本発明のさらに別の実施態様では、セレノペプチドは -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインである。

本発明のさらに別の実施態様では、セレノペプチドは -L-グルタミル-L-セレノメチオニンである。

【0007】

本発明は相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物に関し、前記組成物は、1-0-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) および没食子酸エステル、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、並びにセレノペプチドを含む。

本発明のさらに別の実施態様では、相乗作用性組成物は、少なくとも10% w/wの1-0-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) および50%以上の総没食子酸エステルを含み、前記没食子酸エステルは、ムチン酸1,4-ラクトン-5-0-没食子酸エステル、ムチン酸2-0-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-0-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-0-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む。

本発明のさらに別の実施態様では、相乗作用性組成物は0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳由来濃縮物を含み、前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む。

本発明のさらに別に実施態様では、相乗作用性組成物は0.001% w/wのセレノペプチドを含む。

本発明のさらに別の実施態様では、セレノペプチドは -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインである。

本発明のさらに別の実施態様では、セレノペプチドは -L-グルタミル-L-セレノメチオニンである。

本発明はまたストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法に関し、前記

10

20

30

40

50

方法は、真皮乳頭細胞および請求項1または7に記載の保護処方物を接触させる工程を含む。

本発明はまた、ストレスシグナルに暴露されている間、真皮乳頭細胞の形態および数を維持する方法に関し、前記方法は、真皮乳頭細胞および請求項1または7に記載の保護処方物を接触させる工程を含む。

本発明のさらに別の実施態様では、真皮乳頭細胞は真皮幹細胞 / 前駆細胞を含む。

【0008】

もっとも好ましい実施態様では、本発明は、以下の真皮乳頭細胞保護用相乗作用性セレノペプチド処方物に関する。

(A) 相乗作用性組成物を含むPC-5。前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) β-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wのβ-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

10

(B) 相乗作用性組成物を含むPC-6。前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) β-L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wのβ-L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

20

【0009】

(C) 相乗作用性組成物を含むPC-7。前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)および没食子酸エステル；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) β-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wのβ-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

30

(D) 相乗作用性組成物を含むPC-8。前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)および没食子酸エステル；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) β-L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wのβ-L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

40

本発明の他の好ましい実施態様では、他のアミノ酸との結合物として存在する他のジペプチドを上述の相乗作用性真皮乳頭細胞保護処方物で用いることができる。

【0010】

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-5を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル-β-D-グルコース

50

( -グルコガリン) ; (b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) ; (b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) 0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-6を接触させる工程を含み、前記組成物は、a) 1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) ; (b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) ; (b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) 0.001% w/wの -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

#### 【0011】

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-7を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) および没食子酸エステル ; (b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) 並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル ; (b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) 0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-8を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) および没食子酸エステル ; (b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) 並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル ; (b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) 0.001% w/wの -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

#### 【0012】

さらにまた別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに暴露されている間、真皮乳頭細胞の形態および数を維持する方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-5を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a) 1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) ; (b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガロイル- -D-グルコース ( -グルコガリン) ; (b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物 (前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む) ; および (c) 0.001% w/wの -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

10

20

30

40

50

む。

さらにまた別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに暴露されている間、真皮乳頭細胞の形態および数を維持する方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-6を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a) 1-O-ガライル- $\beta$ -D-グルコース(  $\beta$ -グルコガリン)；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c)  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガライル- $\beta$ -D-グルコース(  $\beta$ -グルコガリン)；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wの  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

10

#### 【0013】

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに暴露されている間、真皮乳頭細胞の形態および数を維持する方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-7を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a)  $\beta$ -グルコガリンおよび没食子酸エステル；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c)  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガライル- $\beta$ -D-グルコース(  $\beta$ -グルコガリン)並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wの  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチル-L-セレノシステインを含む。

20

また別の実施態様では、本発明はまた、ストレスシグナルに暴露されている間、真皮乳頭細胞の形態および生存数を維持する方法に関する。前記方法は、真皮乳頭細胞および相乗作用性組成物を含む保護処方物PC-8を接触させる工程を含み、前記組成物は、(a)  $\beta$ -グルコガリンおよび没食子酸エステル；(b) ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c)  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。具体的な実施態様では、前記組成物は、(a) 少なくとも10% w/wの1-O-ガライル- $\beta$ -D-グルコース(  $\beta$ -グルコガリン)並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-O-没食子酸エステル、ムチン酸2-O-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-O-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-O-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50% w/w以上の総没食子酸エステル；(b) 0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(前記濃縮物は少なくとも40%の溶解固体を含む)；および(c) 0.001% w/wの  $\beta$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニンを含む。

30

より具体的な実施態様では、上記に記載した真皮乳頭細胞は真皮幹細胞/前駆細胞を含む。

#### 【実施例1】

#### 【0014】

##### 一般的手順

40

96ウェルの平底透明マイクロプレートにヒト真皮乳頭細胞を5000細胞/ウェルの播種濃度でプレートした。24時間単層細胞を、サンプル(保護処方物)処理を実施または実施せずに0.0072 J/cm<sup>2</sup>から1.0 J/cm<sup>2</sup>の範囲のUVB線量(ストレスシグナル)に曝露した。曝露後、細胞をCO<sub>2</sub>インキュベーターで48時間インキュベートし、細胞生存率分析のためにNRU(中性赤取込み)染色技術によって現像した。生存細胞による吸収はマイクロプレートリーダーで492nmで読み取る。

試験サンプル：0.5%のココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む)

図1は、0.5%のココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物(前記濃縮物は40% w/w以上の総溶解固体を含む)は、0.43 J/cm<sup>2</sup>および0.648 J/cm<sup>2</sup>のUVB曝露レベルでは単独で真皮乳頭細胞

50

胞を保護できないことを示している。

試験サンプル：未処理UVB照射細胞と比較したPC-1

図2は、PC-1は、単独では0.43 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルに対してのみ真皮乳頭細胞を保護できることを示している。

試験サンプル：未処理UVB照射細胞と比較したPC-2

図3は、PC-2は、単独では0.43 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルに対してのみ真皮乳頭細胞を保護できることを示している。

試験サンプル：PC-3

図4は、PC-3は0.648 J/cm<sup>2</sup>までUVB曝露レベルから真皮乳頭細胞を保護でき、PC-3処理真皮乳頭細胞死が0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB曝露レベルで認められることを示している。

10

試験サンプル：PC-4

図5は、PC-4は0.648 J/cm<sup>2</sup>までUVB曝露レベルから真皮乳頭細胞を保護でき、PC-4処理真皮乳頭細胞死が0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB曝露レベルで認められることを示している。

試験サンプル：PC-9

図10は、-L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステイン（図10a）も -L-グルタミル-L-セレノメチオニン（図10b）も単独では、低レベルUVB曝露（0.432 J/cm<sup>2</sup>）でさえ真皮乳頭細胞を保護できないことを示している。

試験サンプル：PC-5

図6は、PC-5は0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射レベルに曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な（95%）保護を提供することを示している。

20

試験サンプル：PC-6

図7は、PC-6は1.0 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射レベルに曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な（95%）保護を提供することを示している。

試験サンプル：PC-7

図8は、PC-7は0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射レベルに曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な（95%）保護を提供することを示している。

試験サンプル：PC-8

図9は、PC-8は1.0 J/cm<sup>2</sup>のUVB照射レベルに曝露された真皮乳頭細胞に対し有意な（95%）保護を提供することを示している。

本発明で用いた種々のサンプルの効果は下記の表1に提示される。

30

【 0 0 1 5 】

表1：



サンプル（試験した保護処方物）	真皮乳頭細胞へのUVB照射レベル		
	0.432J/cm <sup>2</sup>	0.648 J/cm <sup>2</sup>	0.8又は0.1 J/cm <sup>2</sup>
ココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物	保護無し (細胞死観察)	—	—
PC-1：少なくとも10%w/w以上の 1-O-ガロイル-β-D-グルコース (β-グルコガリン)を含む組成物	保護提供	保護無し (細胞損傷 惹起)	—
PC-2：少なくとも10%w/w以上の β-グルコガリンおよび50%w/w以上の 没食子酸エステル	保護提供	保護無し (細胞損傷 惹起)	—
PC-3：PC-1＋ ココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物	保護提供	保護提供	保護無し
PC-4：PC-2＋ ココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物	保護提供	保護提供	保護無し
γ-L-グルタミル-セレノメチル-L- セレノシステイン (PC-9)	保護無し	—	—
γ-L-グルタミル-L-セレノメチオニン (PC-9)	保護無し	—	—
PC-5：PC-3＋γ-L-グルタミル- セレノメチル-L-セレノシステイン	保護提供	保護提供	保護提供
PC-6：PC-3＋ γ-L-グルタミル-L-セレノメチオニン	保護提供	保護提供	保護提供
PC-7：PC-4＋γ-L-グルタミル- セレノメチル-L-セレノシステイン	保護提供	保護提供	保護提供
PC-8：PC-4＋ γ-L-グルタミル-L-セレノメチオニン	保護提供	保護提供	保護提供

## 【0016】

これらの結果から以下の事柄が明らかである：

A．セレノペプチドおよびココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物は単独では、たとえ低レベルのUVB曝露（0.432 J/cm<sup>2</sup>）であっても真皮乳頭細胞に保護を提供しない。

B．β-グルコガリンまたはγ-グルコガリンおよび没食子酸エステルは、0.432 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルに対してのみ真皮乳頭細胞の保護を提供できる。

C．ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物とβ-グルコガリンまたはγ-グルコガリンおよび没食子酸エステルとの組合せは0.648 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルから真皮乳頭細胞を保護するが、前記保護はこのレベルを超えて拡大しない。むしろ被検ストレスシグナルに対する耐性レベルは0.648 J/cm<sup>2</sup>である。

D．しかしながら、(a)β-グルコガリンまたはγ-グルコガリンおよび没食子酸エステル、(b)ココス・ヌシフェラの液状内乳濃縮物、および(c)セレノペプチドの組合せは、0.648 J/cm<sup>2</sup>をすら超える（具体的には0.8 1.0 J/cm<sup>2</sup>）UVB曝露レベルで真皮乳頭細胞への保護を拡大する。セレノペプチドは単独では貧弱な真皮乳頭細胞保護物質であるが、前記は、(a)1-O-ガロイル-β-D-グルコース（β-グルコガリン）または1-O-ガロイル-β-D-グルコース（γ-グルコガリン）および没食子酸エステル並びに(b)ココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物を含む処方物の真皮乳頭細胞保護能力を相乗的に強化する。したがって、(a)1-O-ガロイル-β-D-グルコース（β-グルコガリン）または1-O-ガロイル-β-D-グルコース（γ-グルコガリン）および没食子酸エステル、(b)ココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物、並びに(c)セレノペプチドの相乗作用性組成物によって付与された、ストレスシグナルに対する予想に反する真皮乳頭細胞の耐性の改善が本発明から明瞭である

。本発明の組成物は、個々の成分または他の組合せと比較したとき優れた活性を示す。

【0017】

具体的な好ましい実施例を参考にしながら本発明を開示してきたが、当業者が本発明の範囲を逸脱することなく修正および多様化を実施できることは理解されよう。したがって、前述の開示は単なる例示であり限定的な意味はないと解されるべきである。本発明は添付の請求の範囲（前記もまた等価の範囲を含む）によってのみ限定される。

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

〔1〕相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物であって、前記組成物が、1-0-ガラロイル- -D-グルコース（ -グルコガリン）、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、およびセレノペプチドを含む、前記処方物。

10

〔2〕前記相乗作用性組成物が、少なくとも10% w/wの1-0-ガラロイル- -D-グルコース（ -グルコガリン）を含む、前記〔1〕に記載の処方物。

〔3〕前記相乗作用性組成物が0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳由来濃縮物を含み、前記濃縮物が40% w/w以上の総溶解固体を含む、前記〔1〕に記載の処方物。

〔4〕前記相乗作用性組成物が0.001% w/wのセレノペプチドを含む、前記〔1〕に記載の処方物。

〔5〕セレノペプチドが -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインである、前記〔1〕に記載の処方物。

〔6〕セレノペプチドが -L-グルタミル-L-セレノメチオニンである、前記〔1〕に記載の処方物。

20

〔7〕相乗作用性組成物を含む真皮乳頭細胞保護処方物であって、前記組成物が、1-0-ガラロイル- -D-グルコース（ -グルコガリン）および没食子酸エステル、ココス・ヌシフェラの液状内乳の濃縮物、並びにセレノペプチドを含む、前記処方物。

〔8〕前記相乗作用性組成物が、少なくとも10% w/wの1-0-ガラロイル- -D-グルコース（ -グルコガリン）、並びにムチン酸1,4-ラクトン-5-0-没食子酸エステル、ムチン酸2-0-没食子酸エステル、ムチン酸6-メチルエステル2-0-没食子酸エステル、ムチン酸1-メチルエステル2-0-没食子酸エステルおよびエラグ酸を含む50%以上の総没食子酸エステルを含む、前記〔7〕に記載の処方物。

〔9〕前記相乗作用性組成物が、0.5% w/wのココス・ヌシフェラ液状内乳由来濃縮物を含み、前記濃縮物が40% w/w以上の総溶解固体を含む、前記〔7〕に記載の処方物。

30

〔10〕前記相乗作用性組成物が0.001% w/wのセレノペプチドを含む、前記〔7〕に記載の処方物。

〔11〕セレノペプチドが -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステインである、前記〔7〕に記載の処方物。

〔12〕セレノペプチドが -L-グルタミル-L-セレノメチオニンである、前記〔7〕に記載の処方物。

〔13〕ストレスシグナルに対する真皮乳頭細胞の耐性を高める方法であって、前記方法が、真皮乳頭細胞および前記〔1〕または〔7〕に記載の保護処方物を接触させる工程を含む、前記方法。

〔14〕ストレスシグナルに暴露されている間に真皮乳頭細胞の形態および数を維持する方法であって、前記方法が、真皮乳頭細胞および前記〔1〕または〔7〕に記載の保護処方物を接触させる工程を含む、前記方法。

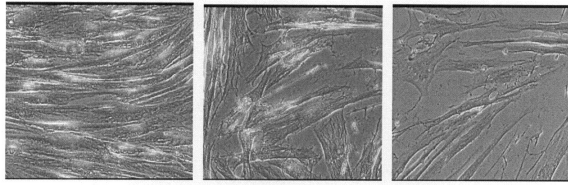
40

〔15〕真皮乳頭細胞が真皮幹細胞 / 前駆細胞を含む、前記〔13〕または〔14〕に記載の方法。

【図 1】

FIG.1

0.5%のコス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(濃縮物は40% w/wを下回らない総溶解固体を含む)単独処理真皮乳頭細胞



UV曝露無し      0.432 J/cm<sup>2</sup>のUV曝露      0.648 J/cm<sup>2</sup>のUV曝露

細胞死が0.432 J/cm<sup>2</sup>および0.648 J/cm<sup>2</sup>で示されている

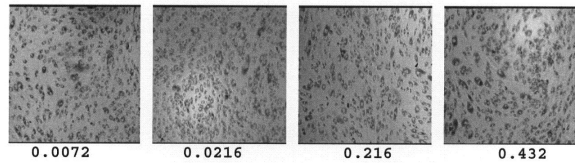
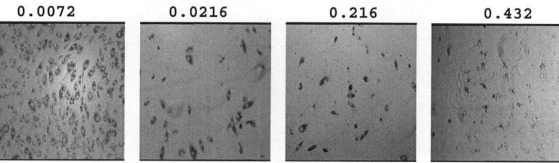
【図 2】

FIG.2

UVB照射未処理細胞と比較した、保護処方PC-1(少なくとも10% w/w以上の1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)を含む組成物)処理UVB照射真皮乳頭細胞

UV線量上昇(J/cm<sup>2</sup>)

列I: 未処理細胞



列II: PC-1処理細胞

PC-1は0.43 J/cm<sup>2</sup>まで真皮乳頭細胞をUVB曝露から保護する

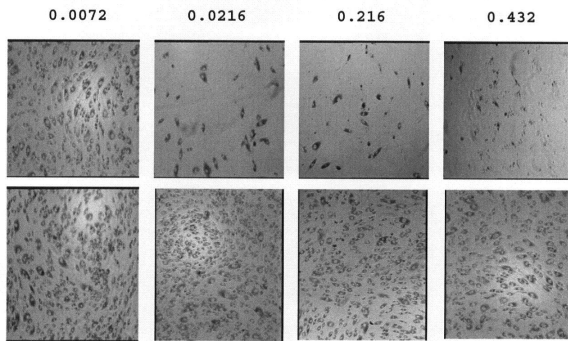
【図 3】

FIG.3

UVB照射未処理細胞と比較した、保護処方PC-2(少なくとも10% w/w以上の1-O-ガロイル-β-D-グルコース(β-グルコガリン)および50%以上の総没食子酸エステルを含む組成物)処理UVB照射真皮乳頭細胞

UV線量上昇(J/cm<sup>2</sup>)

列I: 未処理細胞



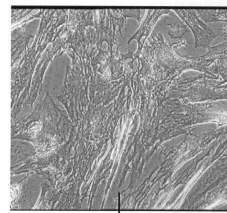
列II: PC-2処理細胞

PC-2は0.43 J/cm<sup>2</sup>まで真皮乳頭細胞をUVB曝露から保護する

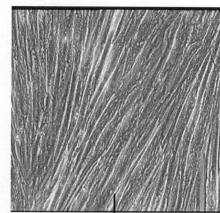
【図 4】

FIG.4

保護処方PC-3(PC-1+0.5%のコス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物(濃縮物は40% w/wを下回らない総溶解固体を含む))処理UVB照射真皮乳頭細胞



0.648 J/cm<sup>2</sup>でPC-1処理時の細胞の損傷



0.648 J/cm<sup>2</sup>でPC-3処理時の無傷の真皮乳頭細胞



PC-3は0.648 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルでのみ真皮乳頭細胞を保護するが、0.8 J/cm<sup>2</sup>では保護しない(ここでは0.8 J/cm<sup>2</sup>での細胞死が示されている)

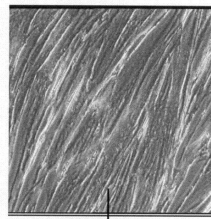
【図5】

FIG. 5

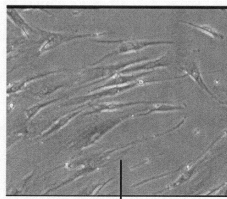
保護処方物PC-4(PC-2+0.5%のココス・ヌシフェラ液状内乳濃縮物  
(前記濃縮物は40% w/wを下回らない総溶解固体を含む))  
処理UVB照射真皮乳頭細胞



0.648 J/cm<sup>2</sup>でPC-2処理時の  
細胞の損傷



0.648 J/cm<sup>2</sup>でPC-4処理時の  
無傷の真皮乳頭細胞

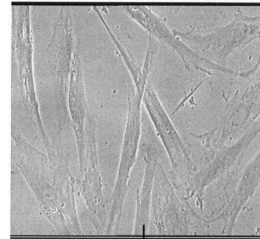


PC-4は0.648 J/cm<sup>2</sup>までのUVB曝露レベルでのみ真皮乳頭細胞を  
保護するが、0.8 J/cm<sup>2</sup>では保護しない(ここでは0.8 J/cm<sup>2</sup>での  
細胞死が示されている)

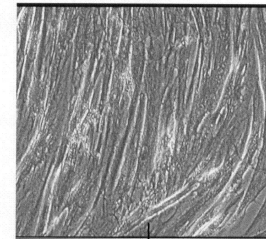
【図6】

FIG. 6

保護処方物PC-5(PC-3+0.001%のγ-L-グルタミル-セノメチル-  
L-セノシステイン)処理UVB照射真皮乳頭細胞



PC-3単独処理細胞は  
0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB線量に対し  
有意な保護を示さない

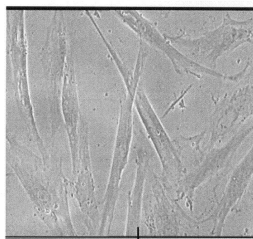


PC-5処理細胞は0.8 J/cm<sup>2</sup>の  
UVB線量に対し有意な(95%)  
保護を示す

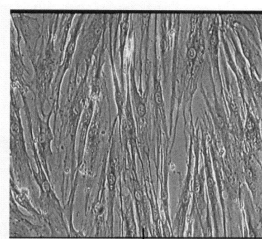
【図7】

FIG. 7

保護処方物PC-6(PC-3+0.001%のγ-L-グルタミル-  
L-セノメチオニン)処理UVB照射真皮乳頭細胞



PC-3単独処理細胞は  
0.8 J/cm<sup>2</sup>のUVB線量による  
損傷から保護されない

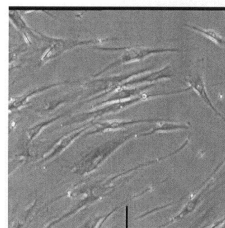


PC-6処理細胞は1.0 J/cm<sup>2</sup>の  
UVB線量による損傷から  
保護される

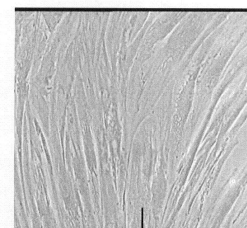
【図8】

FIG. 8

保護処方物PC-7(PC-4+0.001%のγ-L-グルタミル-セノメチル-  
L-セノシステイン)処理UVB照射真皮乳頭細胞



0.8 J/cm<sup>2</sup>でPC-4処理時の  
細胞の損傷

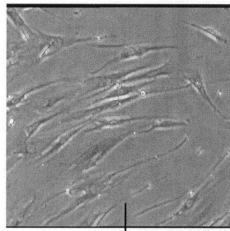


0.8 J/cm<sup>2</sup>でPC-7処理時の  
無傷の真皮乳頭細胞

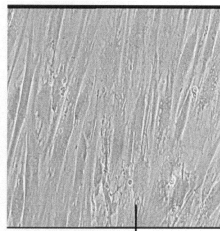
## 【図 9】

FIG. 9

保護処方物PC-8(PC-4+0.001%の $\gamma$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニン)処理UVB照射真皮乳頭細胞



0.8 J/cm<sup>2</sup>でPC-4処理時の  
細胞の損傷



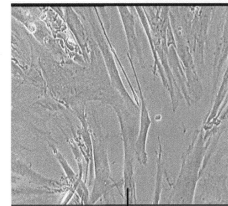
1.0 J/cm<sup>2</sup>でPC-8処理時の  
無傷の真皮乳頭細胞

## 【図 10】

FIG. 10

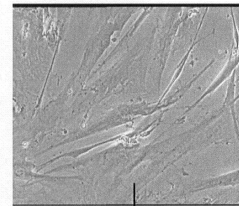
保護処方物PC-9(0.001%の $\gamma$ -L-グルタミル-セレノメチル-L-セレノシステイン(図10a)または $\gamma$ -L-グルタミル-L-セレノメチオニン(図10b))処理UVB照射真皮乳頭細胞

FIG. 10a



PC-9処理細胞は0.432 J/cm<sup>2</sup>  
より低いUVB線量に対し有意な  
保護を示さない

FIG. 10b



PC-9処理細胞は0.432 J/cm<sup>2</sup>  
より低いUVB線量に対し有意な  
保護を示さない

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/222 (2006.01)  
 A 6 1 K 31/37 (2006.01)  
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/365  
 A 6 1 K 31/222  
 A 6 1 K 31/37  
 A 6 1 P 17/00

(74)代理人 100123777

弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100147588

弁理士 渡辺 浩司

(72)発明者 ムハンメド マジード

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 8 8 2 0 エディソン コッパーツリー コート 1 1  
 7

(72)発明者 カリアナム ナガブシャナム

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 8 5 2 0 イースト ウィンザー ブルックローン ド  
 ライブ 3 9

審査官 菊池 美香

(56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0033565(US,A1)

米国特許出願公開第2008/0026017(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0

A 6 1 K 3 1 / 2 2 2

A 6 1 K 3 1 / 3 6 5

A 6 1 K 3 1 / 3 7

A 6 1 K 3 1 / 7 0 2 8

A 6 1 K 3 6 / 8 8 9

A 6 1 P 1 7 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)