

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2012 年 4 月 5 日(05.04.2012)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2012/043743 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/06 (2006.01) *A61P 1/02* (2006.01)
A61K 8/99 (2006.01) *A61P 1/04* (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01) *A61P 31/10* (2006.01)
A61K 36/899 (2006.01) *A61Q 11/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2011/072424

(22) 国際出願日: 2011 年 9 月 29 日(29.09.2011)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2010-221439 2010 年 9 月 30 日(30.09.2010) JP
特願 2010-248633 2010 年 11 月 5 日(05.11.2010) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人広島大学(Hiroshima University) [JP/JP];
〒7398511 広島県東広島市鏡山一丁目 3 番 2 号
Hiroshima (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 杉山 政則
(SUGIYAMA, Masanori).

(74) 代理人: 特許業務法人原謙三国際特許事務所
(HARAKENZO WORLD PATENT & TRADE-

MARK); 〒5300041 大阪府大阪市北区天神橋 2
丁目北 2 番 6 号 大和南森町ビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: ANTI-BACTERIAL COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 抗菌組成物およびその利用

(57) Abstract: The present invention provides an anti-bacterial composition containing rice malt or an extract of the rice malt, as a novel anti-bacterial technique. This composition may additionally contain a fermentation raw material for producing the rice malt or an extract of the fermentation raw material.

(57) 要約: 本発明は、麴または該麴の抽出物を含有している抗菌組成物を、新たな抗菌技術として提供する。本発明の組成物は、上記麴を得るための発酵原料または該発酵原料の抽出物をさらに含有してもよい。



WO 2012/043743 A1

明 細 書

発明の名称： 抗菌組成物およびその利用

技術分野

[0001] 本発明は、抗菌組成物およびその利用に関する。

背景技術

[0002] ヒトの口腔内には約 700 種類の細菌が、総数 100 億個を超えて生息しており、これらの細菌が相互作用することによって歯の表面や歯肉溝にデンタルプラーク（歯垢）を形成する。歯垢は、口腔洗浄が不十分である場合に増大する。歯垢によって歯肉に炎症を生じたものが歯肉炎である。歯垢は唾液中のカルシウム成分と反応して軽石上の歯石を形成する。歯石は非常に硬く、通常のブラッシングでは除去し得ない。歯肉溝に付着した歯周病菌は歯根膜や歯槽骨を溶かしながら歯周ポケットの奥へ侵入する。歯肉が歯根との接着を保つことができなくなった歯は、最終的に抜けてしまう。

[0003] 歯周病は、口腔内の歯周病原性細菌によって、歯肉や歯槽骨などの歯周組織が破壊されている疾患であり、成人の約 8 割が罹患している。歯周病は、歯肉に炎症が生じる歯肉炎と、歯槽骨の吸収および歯根膜の破壊が生じるまで深く進行した段階の歯肉炎とに大別される。歯周病のうち、歯肉に限局した炎症が生じる状態を歯肉炎、他の歯周組織にまで炎症が生じている状態を歯周炎という。

[0004] 歯周病は、元来、成人病の範疇に含まれていたが、近年、生活習慣病として認定されている。また、歯周病が動脈硬化や心筋梗塞発症のリスクを高めることがわかってきた。さらに、歯周病になると糖尿病の症状が悪化することも明らかになってきた。すなわち、歯周病と糖尿病は、相互に悪影響を及ぼしあっているともいえる。実際、歯周病の原因となる細菌が全身疾患に関与している証拠が示された。すなわち、歯周病菌が、歯周ポケットに定着すると、歯周組織を破壊し、最終的には血液中に入り込むことができる。その結果、歯周病菌が血液中に存在すると、動脈硬化症を発症しやすくなる。そ

れに加えて、歯周病菌の細胞内に存在する「毒素」が血糖値にも悪影響を及ぼす。すなわち、血液中に存在する内毒素が、脂肪組織や肝臓からのTNF- α の産生を高める。TNF- α は、血中の糖分の取り込みを抑える作用も有しているので、血糖値を下げるホルモン（インスリン）の働きを阻害し、血糖値を下がりにくくさせる。すなわち、歯周病も肥満も、TNF- α の分泌が活発化されることによって血糖値のコントロールがうまく行われず、結果的に、糖尿病の発症につながる。歯周病を合併した糖尿病の患者に抗菌薬を用いた歯周病治療を行ったところ、血液中のTNF- α 濃度が低下するだけではなく、血糖値のコントロール状態を示すHbA1c値も改善するという結果が得られている。虫歯菌や歯周病菌の影響として、心臓の人工弁をつけた人が抜歯などの治療を受けた時に心内膜炎を発症しやすいことが、既に明らかにされている。弁の部位で血流が流れにくくなっていることによって、体内に入った菌が感染して炎症を起こしやすいからである。高齢者では、だ液や食物を飲み込む際の嚥下（えんげ）反射がうまく行われず、そのために、口内細菌が誤って気道に入ってしまう、誤嚥性肺炎を起こすことがある。このように、歯周病の予防改善が誤嚥性肺炎を予防する上でも重要である。

[0005] 歯周病の主な原因菌はPorphyromonas gingivalis (Pg)であり、強い口臭の発生源でもある。Pg以外には、Aggregatibacter actinomycetemcomitans、Fusobacterium nucleatum、Prevotella intermediaなどが歯周病に関与しているといわれている。Pgは、嫌気性のグラム陰性桿菌であり、血液平板上にて黒色でありかつ悪臭を放つコロニーを形成する。Pgの菌体表面には莢膜があり、貪食細胞の食作用に抵抗性を示す。さらに、Pgの産生するプロテアーゼの触媒作用によって、組織が侵されるだけでなく、IgG、IgAなどの免疫グロブリンも分解されてしまう。また、Pgの菌体の表層に存在するリポ多糖は、骨吸収を促進させ、線毛によって粘膜上皮細胞や赤血球に付着する能力を有している。Pgの細胞に結合している血液凝固因子（ヘマグルチニン）によって血液凝集性も示される。このように、Pgは口腔

内細菌の中でも強い病原性を示し、かつ成人において発症している歯周炎の患部から高頻度で分離される。

[0006] P g は、自らの線毛タンパク質をコードする遺伝子fimAを5種類有している。fimAは、コードするタンパク質のアミノ酸配列の差異に基づいてタイプⅠ～Ⅴに分類される。線毛は細胞への付着に関与し、細胞をアポトーシスに導く。P g による毒性はこのアポトーシス誘導能によって決定され、タイプⅠⅠ、タイプⅠⅤ、タイプⅠⅠⅠの順に毒性が強い。最も毒性が強いタイプⅠⅠは重度の歯周病患者から高頻度で検出され、最も毒性が弱いタイプⅤは健常者からも検出される。

[0007] 微生物を用いた、歯周病の治療または予防を目的とした技術が開示されている（特許文献1～5参照）。例えば、特許文献1には、乳酸菌、乳酸菌培養液等が、口腔病原菌（例えば、P g や、虫歯の原因とされるミュータンス菌等）の増殖を抑制する効果を示すことや、キシリトール等の甘味料や砂糖等の糖類、各種植物抽出物が、単独では口腔病原菌の増殖抑制効果を示さないものの、上記乳酸菌、乳酸菌培養液等による効果を顕著に増強することが記載されている。特許文献2～4には、P g の生育を阻害する乳酸菌が開示されており、特許文献4には、文献記載の乳酸菌が資化する糖類をさらに含有することによって効果が増強されることや、文献記載の乳酸菌がP g からの酵素の分泌を著しく抑えることが記載されている。特許文献5には、酵母の生菌、または酵母の生菌と酵母の死菌の混合物を含む、う蝕または歯周病の予防剤が開示されており、歯周組織内の免疫抵抗性をさらに高めるために、酵母以外の可食性菌の死菌をさらに配合することが記載されている。

[0008] P g が産生する毒素は一種のプロテアーゼであり、ジンジパインとよばれている。この酵素は、生体内タンパク質を分解することによって宿主細胞を傷害し、歯周病に関連する種々の病態を生じさせるほか、血管組織を破壊することによってP g が血管内に侵入し、動脈硬化や心疾患の原因にもあることがわかってきた。ジンジパインを阻害する物質としては、アンチパイン、ロイペプチン等のシステインプロテアーゼ阻害剤が知られているが、毒性が

高いので、歯周病の予防および／または治療には使用されない。特許文献6および7には、歯周病の予防および／または治療を念頭においた、植物または植物抽出物を有効成分として用いたジンジパイン阻害剤が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：国際公開公報「WO 2002/080946パンフレット（2002年10月17日国際公開）」

特許文献2：日本国公開特許公報「特開2010-124772号公報（平成22年6月10日公開）」

特許文献3：日本国公開特許公報「特開2006-328052号公報（平成18年12月7日公開）」

特許文献4：日本国公開特許公報「特開2003-171292号公報（平成15年6月17日公開）」

特許文献5：日本国公開特許公報「特開2006-219441号公報（平成18年8月24日公開）」

特許文献6：日本国公開特許公報「特開2003-335648号公報（平成15年11月25日公開）」

特許文献7：日本国公開特許公報「特開2007-91703号公報（平成19年4月12日公開）」

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] このように、歯周病の予防および／または治療を目的として、Pgの増殖抑制やジンジパインの活性抑制を実現する物質についての研究が進められている。しかしながら、微生物を用いたPgの増殖抑制については、乳酸菌に関する報告がほとんどであり、ジンジパインの活性抑制成分については、特定の植物の抽出物に関する報告がほとんどである。

[0011] 本発明は、上記の問題点に鑑みてなされたものであり、その目的は、抗菌に関する新たな技術、特に、歯周病の処置するための新たな技術を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0012] 上記の課題を解決するために、本発明の組成物は、抗菌組成物であり、麴または該麴の抽出物を含有していることを特徴としている。本発明の組成物は、上記麴を得るための発酵原料または該発酵原料の抽出物をさらに含有していることが好ましい。

[0013] 本発明の組成物において、上記麴を得るための発酵原料は、大豆、脱脂大豆、ピーナッツ、空豆、麦、米および醤油麴用原料からなる群より選択されることが好ましい。また、本発明の組成物において、上記麴は、醸造に用いられ、食の安全性が担保（確保）されているアスペルギルス属糸状菌 *A. oryzae*、*A. sojae*、*A. kawachii* および *A. awamori* からなる群より選択される麴菌を用いて製造されていることが好ましい。また、上記麴を得るための発酵原料が、大豆、脱脂大豆および醤油麴用原料からなる群より選択され、かつ上記麴が、*A. oryzae* であることが、より好ましい。

[0014] 本発明の組成物は、口腔内に適用するために使用されることが好ましく、歯周病を処置するために使用されても、カンジダ菌の増殖を抑制するために使用されても、さらには、ピロリ菌の増殖を抑制するために使用されてもよい。すなわち、本発明の組成物を用いれば、歯周病を処置することができるとともに、口腔内のカンジダ菌の増殖を抑制することができ、さらには、胃内のピロリ菌の増殖を抑制することができる。このように、本発明の組成物における有効成分は広い抗菌スペクトルを有しているので、本発明の組成物は抗菌組成物といえる。

[0015] また、本発明の組成物は、カンジダ菌の増殖を抑制するために使用する観点から、外用剤として用いられてもよく、化粧用組成物として用いられることが好ましい。

[0016] 本発明の組成物は、医薬部外品であっても、食品であっても、医薬であっ

てもよく、これらに用いられる場合は、上記麴の抽出物は水抽出物であることが好ましく、上記発酵原料の抽出物も水抽出物であることが好ましい。

[0017] 本発明の方法は、歯周病を処置するために、上記組成物を、被験体の口腔内にて歯周病の原因菌とを接触させる工程を包含することを特徴としている。本発明の方法は、上記組成物を、被験体の口腔内へ供給する工程をさらに包含してもよい。

[0018] 本発明の方法はまた、口腔カンジダ症を処置するために、上記組成物を、被験体の口腔内にてカンジダ菌と接触させる工程を包含することを特徴としている。本発明の方法は、上記組成物を、被験体の口腔内へ供給する工程をさらに包含してもよい。

[0019] 本発明の方法はまた、ピロリ菌の増殖を阻害するために、上記組成物を、被験体の胃内にてピロリ菌と接触させる工程を包含することを特徴としている。本発明の方法は、上記組成物を、被験体の胃内へ供給する工程をさらに包含してもよい。

発明の効果

[0020] 本発明を用いれば、歯周病菌の増殖を阻害し得る。また、本発明を用いれば、歯周病菌が生成する毒素を阻害し得る。これらを組み合わせて用いることにより、歯周病菌の作用をより顕著に抑制することができる。さらに、歯周病の原因菌である *P g* は口臭の主原因でもあるので、本発明を用いれば、口臭を予防または改善し得る。

[0021] 本発明を用いれば、歯周病を処置することができるとともに、口腔内のカンジダ菌の増殖を抑制することができ、さらには、胃内のピロリ菌の増殖を抑制することができる。このように、本発明は抗菌組成物を提供する。

図面の簡単な説明

[0022] [図1]種々の麴菌および種々の麴材料を用いて *P g* に対する増殖阻害活性を調べた結果を示す図である。

[図2]大豆麴およびその抽出物、ならびに醤油麴原料およびその抽出物による、抗ジンジパイン活性を示す図である。

[図3]各種麹の抽出物による、抗カンジダ菌活性を示す図である。

[図4]各種麹の抽出物による、抗ピロリ菌活性を示す図である。

[図5a]本発明の有効成分による、抗歯周病菌活性を示す図である。

[図5b]本発明の有効成分による、抗歯周病菌の最小発育阻止濃度を示す図である。

[図6]本発明の有効成分を含む口腔用組成物による、抗歯周病菌活性を示す図である。

[図7]本発明の有効成分による、抗ピロリ菌活性を示す図である。

発明を実施するための形態

[0023] 以下、本発明の実施の形態について、歯周病の処置を例に挙げて説明するが、本発明はこれに限定されず、歯周病菌だけでなく、ピロリ菌やカンジダ菌などにも適用可能な抗菌組成物およびその利用に関するものである。

[0024] [1] 歯周病を処置するための有効成分

[麹菌]

麹菌は、日本の伝統的な発酵食品である醤油、味噌、清酒、焼酎などの醸造に不可欠である。麹菌とは、麹づくりに用いられるカビの総称である。

[0025] 本明細書中にて使用される場合、「麹菌」は、長い間の食経験に基づいて安全性が担保されているアスペルギルス属のカビをいう。一般に、紅麹菌と呼ばれるモナスカス属に属するカビ(*Monascus purpureus*など)が存在するが、モナスカス属は形態的にもアスペルギルス属とはまったく異なる。アスペルギルス属のカビは、菌糸が通常無色であり、よく伸びて、分枝する。アスペルギルス属のカビの形状は、無性生殖時では、菌糸から発生した分生胞子柄 (conidophore) の頂端が球根状の頂囊 (vesicle) となり、この頂囊の表面上に、放射状にトックリ上のフィアライド (phialide) が形成されて、その先端に分生子 (conidia) が連鎖状に着生する。麹菌は、その分生胞子の色に応じて、黒麹菌、黄麹菌などと称されることもある。ちなみに、中国などで紅酒をつくるのに用いられるカビ(*Monascus purpureus*)は、菌糸内に紅色または桃色の色素を生成し、有性生殖時に、多数の子嚢を収容した子嚢果を

、菌糸の先端に形成し、無性生殖時に、子嚢膜を消失した子嚢果が単一子嚢のように存在する。

[0026] 特許文献1は乳酸菌、乳酸菌培養液等が口腔病原菌の増殖抑制効果を示す文献であり、乳酸菌培養液によるPgの増殖抑制効果を、紅麹菌がキシリトールと同様に著しく増強する旨が記載されている。しかし、特許文献1の表18によれば、紅麹菌の添加ありの場合と紅麹菌の添加なしの場合との間でPgの増殖抑制効果に差がないことが容易に理解し得る。もちろん、特許文献1の表18によれば、紅麹菌そのものにPgの増殖抑制効果があるとは理解し得ない。このように、モナスカス属の紅麹菌がアスペルギルス属である麹菌と全く異なることや、紅麹菌がPgの増殖抑制に関与していないことを理解している当業者は、特許文献1に基づいて本発明に容易に想到し得ない。

[0027] アスペルギルス属麹菌は、アミラーゼ、プロテアーゼ、ペプチダーゼなどの酵素を産生し、これらの酵素によって原料のデンプンやタンパク質を分解し、ブドウ糖やアミノ酸へ変換する。これらの分解産物は、醸造物に特有の風味造りに貢献する。麹造りのほとんどが*Aspergillus oryzae*を用いて行われ、清酒や味噌の製造にも*A. oryzae*が用いられている。醤油の製造において、その90%は*A. oryzae*が用いられ、残りの10%は*A. sojae*が用いられている。他の麹菌としては、九州での焼酎造りに用いられる*A. kawachii*、沖縄での泡盛の製造に用いられる*A. awamori*も知られている。

[0028] 後述する実施例に示すように、麹菌による発酵産物あるいはその抽出物を用いれば、歯周病菌の増殖を阻害し得、麹原料あるいはその抽出物を用いれば、歯周病菌が生成する毒素活性を阻害し得る。麹原料と、その麹原料から製造される麹とを併せて用いれば、Pgの増殖阻害と毒素の不活化が同時にできるので、歯周病菌の作用をより顕著に抑制することができる。なお、120℃で30分間高圧滅菌した脱脂大豆を原料として作製した脱脂大豆麹の抽出物は、歯周病菌の増殖活性を顕著に阻害する以外に、ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) やカンジダ症の原因菌 (*Candida albicans*) の増殖も顕著に

阻害する。

[0029] なお、本明細書中において、「麴」は、発酵産物、あるいは麴菌による発酵産物ともいい、「麴原料」は、麴造りの際に用いられる原料が意図され、発酵原料、あるいは麴を得るための発酵原料ともいう。

[0030] 〔歯周病菌に対する活性物質〕

後述する実施例に示すように、麴あるいはその抽出物は、歯周病菌に対する増殖阻害活性を示す。すなわち、麴またはその抽出物は、歯周病菌の増殖を阻害する活性を有している。さらに、麴あるいはその抽出物は、カンジダ症の原因菌 (*Candida albicans*) や胃潰瘍や胃がんのリスクファクターであるピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) の増殖を阻害する活性を有している。

[0031] 目的の麴を製造するために用いられる麴菌は、アフラトキシンのような毒素を産生しない *Aspergillus* 属であれば特に限定されないが、*A. oryzae*、*A. sojae*、*A. kawachii* および *A. awamori* からなる群より選択される麴菌が良好に *P. g* の増殖を阻害し、*A. oryzae* が特に好ましい。また、目的の麴を製造するために用いられる麴原料は、*Aspergillus* 属の麴菌による発酵に利用可能な穀物であれば特に限定されないが、大豆、麦および米が好ましく、大豆および麦が特に好ましい。また、麴原料として、脱脂大豆および醤油麴用原料（すなわち、脱脂大豆と小麦との混合物）も好ましく用いられる。目的の麴は、*Aspergillus* 属の麴菌によって得られた麴であれば特に限定されないが、醤油麴、大豆麴、脱脂大豆麴、麦麴および米麴が好ましく、醤油麴、大豆麴、脱脂大豆麴および麦麴がより好ましく、醤油麴、大豆麴および脱脂大豆麴が特に好ましい。

[0032] 醤油の製造は、以下のような手順が採られている：（１）原料（撒水して蒸煮した大豆原料（脱脂大豆）と炒って引き割した小麦原料との混合物）に、麴菌を接種混合して麴を調製する；（２）得られた麴を仕込みタンクにて食塩水中に仕込み、発酵熟成させて醤油諸味を得る；（３）これを圧搾、火入れ等して、製品としての醤油を得る。上記（１）は、通常数日間にわたって行われるので、製造された麴には、原料に含まれているデンプンやタンパ

ク質が含まれていないといえる。すなわち、本明細書中にて使用される場合、「麴」は、原料の穀物（例えば、米、大豆、麦など）に麴菌を接種して繁殖させ、原料のデンプンやタンパク質が完全に分解した状態が意図される。

[0033] 麴の抽出に使用される溶媒は、特に制限されないが、例えば、水（熱水を含む。）、アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノールなど）、塩酸、有機酸（例えば、クエン酸、酢酸など）、有機溶媒（クロロホルム、酢酸エチルなど）が挙げられる。食品などに使用される観点から、水が最も好ましい。必要に応じて、抽出の際に、超音波、攪拌機などを用いて攪拌してもよい。

[0034] [歯周病菌の生成する毒素に対する活性物質]

後述する実施例に示すように、麴原料またはその抽出物は、トリプシン様活性を示すジンジパイン（gingipain）に対する阻害活性を示す。すなわち、麴原料またはその抽出物は、ジンジパインの活性を阻害する。ジンジパインは、Pgの生産するシステインプロテアーゼであり、ペプチド切断部位特異性の異なるアルギニンの位置で切断するArg-ジンジパイン（Rgp）とリジンの位置で切断するLys-ジンジパイン（Kgp）の2つの酵素がある。

[0035] Pgが分泌するタンパク分解酵素であるジンジパインは、それ自体が病原因子であり、毒素として作用するが、Pgの増殖に重要な因子でもある。後述する実施例に示すように、大豆麴またはその抽出物は、Pgの増殖とジンジパインの活性を阻害する。これに対して、醤油麴原料またはその抽出物は、Pgの増殖を阻害しないが、ジンジパインの活性を強く阻害する。これらのことから、麴原料またはその抽出物によるジンジパインの活性阻害は、歯周病菌の増殖に非依存的な経路に作用していると考えられる。

[0036] 目的の麴を製造するために用いられる麴原料は、穀物や豆類であれば特に限定されないが、上述した麴とともに用いられる場合、その調製の簡便さの観点から、Aspergillus属の麴菌による発酵に利用可能な穀物であることが好ましく、大豆（脱脂した大豆を含む）、麦および米がより好ましく、大豆（脱脂

した大豆を含む)および麦が特に好ましい。また、上述したように、脱脂大豆および醤油麴用原料(すなわち、脱脂大豆と小麦との混合物)も、麴原料として好ましく用いられる。

[0037] 麴原料の抽出に使用される溶媒は、特に制限されないが、例えば、水(熱水を含む。)、アルコール(例えば、メタノール、エタノール、プロパノールなど)、塩酸、有機酸(例えば、クエン酸、酢酸など)、有機溶媒(クロロホルム、酢酸エチル、アセトン、ヘキサンなど)が挙げられる。食品などに使用される観点から、水が最も好ましい。必要に応じて、抽出の際に、超音波、攪拌機、海底1万メートルの深さに相当する超高压(100 MPa)処理などを用いて攪拌してもよい。

[0038] [2] 有効成分の利用

(1) 組成物

1つの局面において、本発明は、歯周病を処置するための有効成分を含む組成物を提供する。本明細書中にて使用される場合、用語「処置」は、症状の軽減、改善または排除が意図され、治療的(発症後)に行われ得るものだけでなく、予防的(発症前)に行われ得るものもまた包含される。「歯周病を処置するための有効成分」は、上述した「歯周病菌に対する活性物質」および「歯周病菌の生成する毒素に対する活性物質」の少なくとも一方が意図され、本明細書中にて「有効成分」と省略され得る。すなわち、本明細書中にて使用される場合、「有効成分」は、麴またはその抽出物であり得、麴原料またはその抽出物でもあり得る。なお、歯周病菌は口臭の原因でもあるので、本明細書中にて使用される場合、「歯周病の処置」は「口臭の予防または改善」を包含し得る。

[0039] なお、本明細書中にて使用される場合、「有効成分」は、「麴重量の3倍量の水を添加した後、室温で振盪しながら1時間にわたる抽出を行い、フィルター(0.2 μ m)滅菌した抽出溶液を凍結乾燥して得られた乾燥粉末」を基準として定量される。具体的には、後述する実施例にて示すように、麴20gに対して60mLの水を添加して抽出し、抽出溶液30mLを凍結乾

燥して得られる麴水抽出エキス（3.1 g）を基準に有効成分の量が規定される。また、本明細書では、上述した抽出溶液が、麴抽出物の抗菌活性サンプルとして用いられている。

[0040] 本発明の組成物は、使用前に水等に溶解される固形剤であっても、懸濁液等の液体であっても、あるいは塗布に好ましいペーストであってもよい。本発明の組成物は、有効成分が含有されており、その生理作用を発現させるための有効量が含有されていれば特にその形状が限定されることはなく、タブレット状、顆粒状、カプセル状などの経口的に摂取可能な形状物も包含する。また、本発明の組成物における有効成分の含有量は特に限定されず、その官能と作用発現の観点から適宜選択できる。

[0041] 本発明の組成物は、任意の形態を採り得るが、歯周病の予防または治療、あるいは口臭の予防または改善を目的としているので、口腔内に留まりやすい形態であることが好ましく、例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、丸剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤、パッチ剤等であり得、錠剤、散剤、顆粒剤、ペースト剤、チュアブル剤、含嗽剤、トローチ剤、またはパッチ剤であることがより好ましい。

[0042] 歯周病の予防または治療、あるいは口臭の予防または改善を目的としているため、本発明の組成物は、口腔用組成物として提供されることが好ましい。「口腔用組成物」は、口腔内への適用可能な形態であれば限定されず、医薬部外品であっても食用組成物であっても医薬組成物であってもよい。なお、本発明の有効成分は、公知の種々の口腔用組成物に配合可能であり、組成物全量に対して、本発明の有効成分が0.001～80質量%の範囲内で配合されればよく、より好ましくは0.01～50質量%、さらに好ましくは0.1～50質量%、よりさらに好ましくは1～50質量%の範囲内で配合され得、本発明の実施に好適に用いられる抗菌活性サンプル30 mLから本発明の有効成分が約3 g得られることや、実施例に記載した本発明の有効成分の重量とP gに対する最小発育阻止濃度との関係から、本発明の有効成分は口腔用組成物の全量に対して2.5～25質量%含まれていることがなお

さらに好ましいといえる。

[0043] なお、口腔用組成物は、従来公知の方法に従って調製され得、その剤型に応じて、通常配合される任意の成分を単独または複数宜組み合わせても調製されてもよい。配合される成分としては、例えば、研磨剤、界面活性剤、粘結剤、粘稠剤、甘味料、防腐剤、香料、着色剤、pH調整剤、賦形剤、各種薬効成分等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0044] 本発明に好ましい口腔用組成物としては、歯磨き剤（練り歯磨き剤、粉歯磨き剤、液状歯磨き剤）、チュアブル錠、マウスウォッシュ、うがい薬（錠剤、散剤を含む。）、軟膏、クリーム（歯肉マッサージクリームを含む。）、口中清涼剤、義歯洗浄剤、トローチ、ガム等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0045] 本発明に好ましい食用組成物としては、キャンデー、チョコレート、ドリンク、発酵品等が挙げられるがこれらに限定されない。発酵品が食用組成物として用いられる場合には、発酵食品または発酵飲料等に配合することが知られている種々の成分、例えば甘味料、風味剤、増粘剤、矯味剤、着色剤、着香剤等が配合されてもよい。本発明の食用組成物は、歯周病菌の生育または歯周病菌からの毒素を阻害するための食用組成物であり、健康食品（機能性食品）として極めて有用である。本発明の食用組成物の製造法は特に限定されず、調理、加工および一般に用いられている食品または飲料の製造法による製造を挙げることができ、上述した有効成分が、その食品または飲料中に含有されていればよい。

[0046] 本発明に好ましい医薬組成物としては、歯周ポケット内へ投与するための徐放性製剤等が挙げられるがこれに限定されない。医薬組成物として提供される場合、本発明の組成物は、製薬分野における公知の方法を用いて所望の剤型を採り得る。例えば、賦形剤、必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えて固形剤として形成された後に、常法に従って、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、被覆錠剤、カプセル剤等の剤型にて提供され得る。

[0047] 本発明の医薬組成物にて使用される医薬用担体は、医薬組成物の投与形態および剤型に応じて選択することができる。経口剤の場合、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩などが医薬用担体として利用される。また経口剤を調製する際、更に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、潤滑剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料などを配合してもよい。

[0048] 本発明の医薬組成物は、製薬分野における公知の方法により製造することができる。本発明の医薬組成物における有効成分の含有量は、投与形態、投与方法などを考慮し、この医薬組成物を適切な量にて投与できるような量であれば特に限定されない。本発明の医薬組成物の投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的および当該医薬の投与対象である患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され一定ではない。投与は、所望の投与量範囲内において、1日内において単回で、または数回に分けて行ってもよい。また、本発明の医薬組成物はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることもできる。

[0049] なお、本明細書中にて使用される場合、用語「組成物」はその含有成分を単一組成物中に含有する態様と、単一キット中に別個に備えている態様であってもよい。すなわち、本明細書中にて使用される場合、「キット」は、「組成物」の一態様であるといえる。

[0050] 上述した医薬部外品は、カンジダ菌の増殖を抑制する、天然の防腐剤として、口腔内だけでなく皮膚等に適用される外用剤（例えば化粧用組成物）の成分としても用いられ得る。すなわち、他の局面において、本発明は、カンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分を含有する組成物を提供する。本発明の組成物は、外用剤（例えば化粧用組成物）として用いられる医薬部外品である。本発明に係る組成物は、カンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分を含んでいる。外用剤としては、薬用皮膚外用剤、化粧薬用皮膚外用剤、化粧用組成物等の種々の使用形態をとることができる。本明細書中で使用される場合、用語「皮膚」は、顔、首、胸、背中、腕、脚、手および頭皮の皮

膚が意図される。

[0051] 化粧用組成物としての外用剤は、化粧品で通常使用される形態で存在していればよい。本実施形態に係る化粧用組成物は、常用の方法により上記種々の形態のものに調製することができ、カンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分を含有させて新たに製造されても、従来既存の化粧品に上記有効成分を含有させて製造されてもよい。本実施形態に係る化粧用組成物は、化粧料成分として一般に使用されている油分、保湿剤、紫外線吸収剤、美白剤、アルコール類、キレート剤、pH調整剤、防腐剤、増粘剤、色素、植物エキス、香料等を任意に組み合わせて配合することができる。化粧用組成物としては、種々の用途および形態、例えば、水／油または油／水型の乳化化粧料、クリーム、化粧乳液、化粧水、油性化粧料、口紅、ファンデーション、皮膚洗浄剤、ヘアートニック、ヘアークレーム、整髪剤、養毛剤、育毛剤、入浴剤として用いることができる。

[0052] 本実施形態に係る化粧用組成物は、流体であっても固体であってもよい。流体で提供される場合、白色または着色クリーム、軟膏、乳液、ローション、美容液、ペースト、またはムースの外観を有してもよい。さらに本実施形態に係る化粧用組成物は、エアロゾルの形態で適用されてもよい。本実施形態に係る化粧用組成物はまた、固体形態、特にスティックの形態で提供され得る。

[0053] 本実施形態に係る化粧用組成物の使用に際して、少量の、例えば1～100 mLの組成物を、好適な容器またはアプリケーションから皮膚の露出面に適用し、必要に応じて、手または指または好適な器具を使用して、皮膚に拡げ、そして擦り込む。

[0054] 一実施形態において、本発明に係る組成物は、ローション、クリーム、またはゲルとして製剤化され得る。本実施形態に係る組成物は、その粘度および意図される使用に適した容器に包装され得る。本実施形態に係る組成物は、例えば、ローションまたはクリームは、ボトルまたはローラーボールアプリケーション、または噴射剤被動エアゾールデバイス (propellant

t-driven aerosol device) または指での操作に好適なポンプ付き容器に包装され得る。本実施形態に係る組成物がクリームの場合は、非変形性ボトルまたはスクイズ容器、例えば、チューブまたは蓋付き広口瓶に収容されても、カプセルに封入されてもよい。本実施形態に係る組成物は、化粧的に受容可能な組成物を含有する密閉容器に収容された形態で提供され得る。

[0055] 化粧用組成物以外の外用剤としては、経皮投与用の固体、半固体または液状の製剤、あるいは、座剤などが挙げられる。例えば、乳剤、ローション剤などの乳濁剤、外用チンキ剤などの液状製剤、油性軟膏、親水性軟膏などの軟膏剤、フィルム剤、テープ剤、パップ剤などの経皮投与用の貼付剤などとして用いることもできる。

[0056] 薬用皮膚外用剤および化粧薬用皮膚外用剤としては、例えば、薬効成分を含有する各種の軟膏剤が挙げられる。軟膏剤としては、油性基剤をベースとするもの、油／水、水／油型の乳化系基剤をベースとするもののいずれであってもよい。上記油性基剤としては、特に制限はなく、例えば、植物油、動物油、合成油、脂肪酸、および天然または合成のグリセライド等が挙げられる。また、上記薬効成分としては、特に制限はなく、例えば、鎮痛消炎剤、鎮痛剤、殺菌消毒剤、収斂剤、皮膚軟化剤、ホルモン剤、ビタミン類等を必要に応じて適宜使用することができる。

[0057] 本実施形態に係る外用剤は、製薬分野における公知の方法により製造することができる。本実施形態に係る外用剤における、カンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分の含有量は、投与形態、投与方法などを考慮し、当該皮膚外用剤を用いて所望の投与量範囲でカンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分を投与できるような量であれば特に限定されない。また、本実施形態に係る外用剤へのカンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分の配合量は、特に制限されない。

[0058] (2) キット

1つの局面において、本発明はまた、歯周病を処置するための有効成分を

備えているキットを提供する。他の局面において、本発明は、カンジダ菌の増殖を抑制するための有効成分を備えているキットを提供する。本明細書中にて使用される場合、用語「キット」は、特定の材料を内包する容器（例えば、ボトル、プレート、チューブ、ディッシュなど）を備えた包装が意図される。好ましくは、上記材料を使用するための指示書を備えている。本明細書中にてキットの局面において使用される場合、「備えた（備えている）」は、キットを構成する個々の容器のいずれかの中に内包されている状態が意図される。また、本発明のキットは、複数の異なる組成物を１つに梱包した包装であってもよく、容器中に内包された溶液形態の組成物を梱包していてもよい。本発明のキットは、異なる２つ以上の物質を同一の容器に混合して備えても別々の容器に備えてもよい。「指示書」は、紙またはその他の媒体に書かれていても印刷されていてもよく、あるいは磁気テープ、コンピューター読み取り可能ディスクまたはテープ、CD-ROMなどのような電子媒体に付されてもよい。本発明のキットは、上述した組成物を構成するためにもちいられてもよく、上述した組成物に含まれる物質を別々に備えていても、上述した組成物とさらなる成分とを別々に備えていてもよい。

[0059] （３）歯周病を処置する方法

本発明はさらに、歯周病を処置するための方法を提供する。本発明の方法は、本発明の有効成分（または該有効成分を含有する組成物）と、歯周病の原因菌とを接触させる工程を包含する。本発明の有効成分と歯周病の原因菌とを接触させる工程は、歯磨き、指でのペーストの塗布、パッチの貼付であっても、トローチ剤またはチュアブル剤等を口に含むことであってもよく、含嗽剤を用いてうがいをする工程であってもよい。なお、本工程において、本発明の有効成分と歯周病の原因菌とを接触させる時間は、採用される手段に応じて適宜設計されるが、１０秒間～１０分間の範囲内が好ましく、３０秒間～１０分間の範囲内がより好ましく、１分間～５分間の範囲内がさらに好ましい。

[0060] 本発明の方法は、本発明の有効成分と歯周病の原因菌とを接触させること

が必要であるので、被験体への投与は口腔内投与であることが好ましい。すなわち、本発明の方法は、歯周病を処置するための有効成分を、被験体の口腔内へ供給する工程をさらに包含してもよい。

[0061] 本発明の方法における有効成分の具体的な適用は、上述した組成物およびキットの使用形態に準じればよいことを、本明細書を読んだ当業者は容易に理解する。

[0062] [3] 本発明のさらなる利用

上述したように、本発明は、歯周病菌だけでなく、ピロリ菌やカンジダ菌などにも適用可能である。すなわち、本発明は、ピロリ菌やカンジダ菌の増殖を阻害するための有効成分、該有効成分を含有する組成物、該有効成分を備えているキット、ならびに、該有効成分、該組成物および該キットを用いるピロリ菌やカンジダ菌の増殖阻害方法を提供する。

[0063] カンジダ菌は、ヒトの口腔内等に生息する真菌であり、主として苔様の小斑点状が形成される疾患（口腔カンジダ症）の原因菌である。この菌は、約30～40%のヒトの口腔に常在している。口腔カンジダ症は、免疫感染防御機能が低下した際、あるいは、この菌に効果を示さない抗菌剤を長期にわたって投与された際に生じる。口腔カンジダ症は、通常、高齢者や乳幼児に見られるが、糖尿病、癌の放射線療法または化学療法、ステロイド剤または抗菌剤の長期服用、免疫不全症（エイズなど）などが原因となり得る。また、唾液の量の低下、入れ歯の入れっぱなし、口腔清掃の不良なども、口腔カンジダ症の原因となり得る。

[0064] また、50歳を超える日本人の70%以上が*Helicobacter pylori*（ピロリ菌）に感染している。ピロリ菌は、微好気性であり、らせん状のグラム陰性菌である。この細菌は、胃中において胃粘膜に接着して生存するが、菌体の長軸の両端にある極鞭毛の回転運動によって、粘液中を遊泳しながら移動することができる。ピロリ菌は、萎縮性胃炎や胃潰瘍などの炎症性疾患、および胃癌のリスクファクターであることが判明している。胃潰瘍および胃癌の予防治療を目的としたピロリ菌の除菌には、アモキシシリンやクラリスロマ

イシンなどの抗生物質二剤にプロトンポンプ阻害剤を加えた三剤併用療法が一般的である。しかし、この療法の副作用として、儀膜生大腸炎や腎不全が再燃しやすく、味覚異常や下痢の他に、しばしば耐性菌の出現も認められる。

[0065] ピロリ菌は、尿素を CO_2 およびアンモニアに分解する酵素（ウレアーゼ）を産生する。その結果、アンモニアで胃酸を中和することによって、pHの低い胃液環境下でのピロリ菌の生存が可能となる。また、ウレアーゼはピロリ菌の走化性や胃粘膜傷害にも大きく関わっているほか、ピロリ菌の分泌する細胞空胞化毒素（VacA）やムチナーゼなども、胃粘膜および胃上皮細胞を傷害する。他方、ピロリ菌がCagA毒素を胃粘膜細胞へ注入することによって、胃粘膜細胞からインターロイキン8（IL-8）が誘導／産生され、その結果、多核白血球が集合する。この白血球は活性酸素を産生してピロリ菌を攻撃するが、胃粘膜細胞自身をも傷害し、萎縮性胃潰瘍や癌の発生／進展を引き起こす。それ故に、ピロリ菌に対して有効でありかつ侵襲性の少ないピロリ菌の除菌法の開発が急務となっている。

[0066] 特開2001-143号には、特定の乳酸菌（*Lactobacillus gasseri*）を含有するピロリ菌の除菌性／感染防御性飲食品が開示されている。特開平9-241173号には、特定の乳酸菌（*Lactobacillus salivarius*または*Lactobacillus brevis*）を有効成分とする、胃または十二指腸からピロリ菌を除菌しうる薬剤および醗酵食品が開示されている。また、本発明者らは、新たな植物乳酸菌を取得し、これらの乳酸菌を用いて新しい風味および機能を備えた醗酵飲料を製造している（特開2006-42796号参照）。しかし、これらの報告は、いずれも乳酸菌を用いた技術である。

[0067] 本発明者らは、かんきつ類の果汁を用いて麹菌を培養した際の培養上清中に抗ピロリ活性が存在し、その抗ピロリ活性の本体がヘスペリジンのアグリコンであるヘスペレチンであることを、最近見出している（特許出願中、現在未公開）。特開2003-102430号には、黒麹菌を用いてかんきつ類を醗酵させることにより、かんきつ類に含まれているヘスペリジンをヘス

ペレチンに変換することが記載されている。また、水への溶解度が低く容易に沈殿するヘスペレチンを有効利用するために、ヘスペレチンを水溶液中に安定して分散させる技術が提案されている（特開２００８－１８４３８５号参照）。

[0068] 後述する実施例にて示すように、１２０℃で３０分間高压滅菌した脱脂大豆を原料として作製した脱脂大豆麴の抽出物は、歯周病菌の増殖活性を顕著に阻害する以外に、ピロリ菌（*Helicobacter pylori*）やカンジダ症の原因菌（*Candida albicans*）の増殖も顕著に阻害する。本発明における抗ピロリ活性の本体はヘスペレチンではない。

[0069] ピロリ菌やカンジダ菌の増殖を阻害するための、本発明の組成物、キットおよび方法における有効成分の具体的な適用は、上述した抗歯周病菌の形態に準じればよいことを、本明細書を読んだ当業者は容易に理解する。

[0070] なお、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中にて参考として援用される。

[0071] 本発明は、以下の実施例によってさらに詳細に説明されるが、これに限定されるべきではない。

実施例

[0072] [１．麴による *P. g* に対する増殖阻害]

４種類の麴菌（*A. oryzae*、*A. sojae*、*A. kawachii*、*A. awamori*）を用いて、米、麦、醤油麴原料（脱脂大豆と小麦の混合物）、大豆、そら豆、ピーナッツを発酵させて麴を製造した。

[0073] 大豆麴の製造は、まず、大豆を軽く洗浄した後に、重量が大豆原料の約１．６倍になるまで水に浸漬する。浸漬時の吸水速度は、浸漬水の温度や大豆の種類などによって異なるので、その都度予備試験する必要がある。具体的には、各種丸大豆１００ｇを準備した後に、それぞれを洗浄し、水に浸漬した３０，６０，９０，１２０分間後に取り出した各種丸大豆をガーゼに包み、軽く振盪して表面に付着した水分を除去する。次いで、各種丸大豆の重量を測定して約１６０ｇになるおよその時間を調べる。吸水量が多すぎると

、麴菌以外の細菌の汚染を受けやすくなり、少なすぎると大豆を首尾よく蒸すことができず、その結果、麴菌の酵素分解を受けにくくなる。吸水させた後の上清を破棄し、吸水した大豆をタオル上に配置して約2時間にわたって水切りをする。次いで、その大豆をメッシュ状の布に包み、121℃で30分間高圧滅菌する。殺菌済みの大豆を35℃付近まで冷却した後に、麴菌の分生子を接種する。30℃で24時間培養した後に、25℃に温度を下げてさらに約18時間製麴する。製麴は、乾燥しない場所であり、かつ温度を保持し得る場所にて行う。製麴の際に、麴菌の発熱によって落下する水滴を、ろ紙などを用いて吸収することが望まれる。麴抽出物を作製する際には、麴重量の2～3倍量の水を用いて、室温で、振盪しながら2時間にわたる抽出を行い、得られた抽出溶液を適宜濃縮し麴抽出物を得る。当然ながら、水の量が多いと抽出物の濃度は低下する。なお、発酵原料として大豆を例に挙げて、麴の製造を説明したが、他の発酵原料もこれに準じて行えばよい。

[0074] そして、得られた麴からの抽出物の機能を調べた。特に、歯周病の原因菌でありかつ口臭の原因菌にもなり得る *Porphyromonas gingivalis* (以下、Pg) に対する抗菌活性を示すか否かを調べた。Pgには、広島大学歯学部小児歯科から分与されたHNA99 (タイプV) を用いた。

[0075] 本発明の麴の抽出物は、通常は水を用いて得られるが、抽出のための溶剤としては、水以外に、エタノール、酢酸エチル、クロロホルム、アセトン、ブタノール、ヘキサンのような有機溶媒、またはこれらを適切な割合で組み合わせた混合溶媒、特に、親水性の有機溶媒を水と組み合わせた混合溶媒が挙げられる。また、各種果汁や野菜汁を抽出のための溶剤として使用することもできる。麴の抽出物は、食の安全性の面からすると、水抽出物であることが好ましく、上記発酵原料の抽出物も水抽出物であることが好ましい。また、抽出温度は0℃から100℃の間でも良いが、室温が最も望ましい。また、抽出時間は1時間から48時間の範囲で行うが、振盪しながら2時間程度行うことが望ましく、麴原料や当該麴によって適宜行うのが望ましい。

[0076] Pgを使用したバイオアッセイを、以下の手順に従って行った。なお、P

gの培養を、全て嫌気条件下にて37℃で行った。Pgを、PVブルセラHK寒天培地（BHK PV、極東）を用いて48時間培養した。28gのブルセラブロス粉末（BD社製）を1Lの純水に溶解して、2.8%ブルセラブロスを調製した。1白金耳のPgを採取し、それを140μLの2.8%ブルセラブロスに懸濁した。この懸濁液（130μL）を、BHK PV入りのプレートの表面上に塗布した。このPg塗布したプレートを検定用プレートとして用いた。次いで、サンプル（麴抽出物など）30μLを染み込ませた、滅菌済みのペーパーディスク（直径8mm）を、検定プレート上に配置した。配置後48時間にわたってPgを培養し、生じた阻止円直径の大きさに基づいて抗菌活性を評価した。

[0077] 大豆麴および麦麴において、麴菌（*A. awamori* SH41、*A. kawachii* SH46、*A. oryzae* S-03、*A. sojae* No.9）のいずれを用いた場合であっても、Pgに対する阻止円が形成された（図1）。特に、*A. oryzae*を用いて得られた麴はPgに対する抗菌活性が非常に強く、米麴においてもPgの阻止円が形成された。

[0078] [2. 麴またはその原料によるPgに対する増殖阻害]

醤油麴、丸大豆、大豆麴、および、脱脂大豆と小麦との混合物を用いて、*A. oryzae*を用いた場合の醤油麴および大豆麴における抗菌活性をさらに調べた。上記混合物は、醤油麴を製造するための原料であり、具体的には、炒った小麦を粉碎したものと、脱脂した大豆に散水してオートクレーブしたものととの混合物である。醤油麴（O-s）は、上記混合物に*A. oryzae* S-03を接種して得られた麴である。大豆麴（O-d）は、丸大豆に吸水させてオートクレーブしたものに*A. oryzae* S-03を接種して得られた麴である。これらの麴から2倍量の水で抽出した後に凍結乾燥したものをサンプルとして用いた。丸大豆に吸水させてオートクレーブしただけのものも併せて用いた。

[0079] 100mg/mLの水に溶解した各サンプルを濾過滅菌し、未処理のものと、100℃で10分間の加熱処理を施したものと、ペプシンまたはトリプシンを用いて処理したものとを調製した。これらを同時に染み込ませたペー

パーディスクを、Pgを播種したプレート上に配置した後に、37℃で48時間培養することによって、各サンプルのPgに対する増殖阻害活性を調べた。

[0080] 脱脂大豆と小麦との混合物には、Pgに対する増殖阻害活性が存在しなかったが、醤油麴（O-s）および大豆麴（O-d）には、Pgに対する増殖阻害活性が存在した（結果は示さず）。さらに、醤油麴（O-s）および大豆麴（O-d）における、Pgに対する増殖阻害活性は、トリプシン処理によって消失しなかったが、ペプシン処理または加熱処理によって消失した（結果は示さず）。このように、醤油麴（O-s）および大豆麴（O-d）には、Pgの増殖を阻害する物質が含有されており、その活性物質はタンパク質であることが推測される。

[0081] [3. Pgに対する増殖阻害活性物質]

続いて、醤油麴（O-s）の原液200mLを3倍量のクロロホルムで2回抽出した。次いで、得られたクロロホルム相を脱水および濃縮し、クロロホルム画分としてバイオアッセイに供した。同時に得られた水相を酢酸エチルで2回抽出し、得られた酢酸エチル相を脱水および濃縮し、酢酸エチル画分として、残存した水相を水面分としてバイオアッセイに供した。さらに、水相と酢酸エチル相との間に形成された薄層を中間層としてバイオアッセイに供した。

[0082] その結果、クロロホルム画分、酢酸エチル画分および水面分によって阻止円が形成されたが、クロロホルム画分および酢酸エチル画分による阻止円は非常に大きかった（結果は示さず）。このように、醤油麴（O-s）中のPg増殖阻害活性物質はクロロホルム画分および酢酸エチル画分に含有される。

[0083] 上記画分を用いて単一物質まで精製することを試みた。クロロホルム画分と酢酸エチル画分をTLCにて展開し、図中矢印にて示したバンドの物質について、W83株（広島大学歯学部小児歯科から分与されたタイプIVのPg）を用いたバイオアッセイに供したところ、酢酸エチル画分にて阻止円が

確認された（結果は示さず）。そこで、この物質を大量生成してNMR解析に供した。

[0084] 〔4. Pgが生成する毒素に対する活性阻害〕

Pgの生産するシステインプロテアーゼであり、トリプシン様活性を示すジンジpain（gingipain）の作用に対する阻害活性を調べた。麴または発酵原料からの抽出物（4 mg/mLまたは10 mg/mL）を、Z-His-Glu-Lys-MCA（ペプチド研究所より購入）とともに、反応溶液（50 mM酢酸ナトリウム（pH 6.8）、100 mM NaCl、10 mM DTTを含む。）中にて、37℃で2分間インキュベートした。次いで、この反応溶液に100 μg/mLのジンジpain溶液を添加し、37℃で10分間反応させた。この反応によって生成されたアミノクマリンの蛍光を355/460 nmにて測定した。なお、MCAは、4-メチルー7-アミノクマリンであり、Z-His-Glu-Lys-MCAはLys-ジンジpainの基質である。その結果、大豆麴およびその抽出物、ならびに醤油麴原料およびその抽出物が、ジンジpainの活性を強く阻害することがわかった（図2）。

[0085] 〔5. さらなる抗菌活性〕

麴抽出物の、カンジダ菌（*Candida albicans*）に対する抗菌活性を調べた。A. sojoe No.9を用いて製造した各種麴の水抽出物（100 mg/mL）を染み込ませたペーパーディスクを、カンジダ菌（*Candida albicans* IF0 01385）を播種したプレート上に配置した後に、37℃で24時間培養することによって、各サンプルのカンジダ菌に対する増殖阻害活性を調べた（図3）。なお、脱脂大豆麴を製造する際には、脱脂大豆を120℃で30分間高压殺菌した後に、麴菌の分生子を接種した。また、各抽出物は、全て100℃で10分間の加熱処理を行ったものを用いた。示されるように、醤油麴原料は抗カンジダ菌活性を有していないが、脱脂大豆麴または醤油麴の抽出物は、高い抗カンジダ菌活性を有していることがわかった。

[0086] さらに、麴または該麴の抽出物の、ピロリ菌（*Helicobacter pylori*）に対

する抗菌活性を調べた。ピロリ菌は、現在、日本人の約50%、特に50歳以上の70%がに感染していると言われており、ピロリ菌の感染は胃潰瘍や十二指腸潰瘍の原因となり、さらには胃癌の発生にも深く関わっていることが明らかになっている。

[0087] A. sojae No.9を用いて製造した各種麴の水抽出物（100mg/mL）を染み込ませたペーパーディスクを、ピロリ菌（広島大学病院での患者からの分離株）を播種したプレート上に配置した後に、37℃で72時間培養することによって、各サンプルのピロリ菌に対する増殖阻害活性を調べた（図4）。なお、各抽出物は、全て100℃で10分間の加熱処理を行ったものを用いた。示されるように、いずれの麴抽出物も醤油麴原料と同程度に高い抗ピロリ菌活性を有していることがわかった。

[0088] [6. まとめ]

麴または発酵原料による各抗菌活性を調べた結果を、表1に示す。なお、脱脂大豆麴を製造する際には、脱脂大豆を120℃で30分間高压殺菌した後に、麴菌の分生子を接種した。また、各抽出物は、全て100℃で10分間の加熱処理を行ったものを用いた。工事の製造には、A. oryzae S-03を用いた。また、表中の「+/-」はジンジパイン阻害活性がわずかに存在したことを示す。

[0089] [表1]

試料	抗P _g 活性	ジンジパイン阻害活性	抗カンジダ活性	抗ピロリ活性
醤油原料(脱脂大豆と小麦との混合物)	—	++	—	—
醤油麴	+	+	+	+
大豆原料	—		—	—
大豆麴	+	+	+	+
脱脂大豆麴	++	+/-	++	++

[0090] このように、本発明の組成物は、歯周病菌の増殖活性を抑制するだけでなく、カンジダ菌およびピロリ菌に対してもその増殖活性を抑制する。すなわち、本発明の組成物は、抗菌組成物として広く用いることができる。

[0091] [7. 歯周病菌に対する、脱脂大豆麴エキス中の抗菌活性]

麴菌 (A. oryzae S-03) を用いて得られた脱脂大豆麴 20 g に対して 3 倍量の蒸留水 (60 mL) を加え、室温にて攪拌ながら 1 時間抽出した。その抽出液 (30 mL) をメンブランフィルター (ポアサイズ 0.2 μ m) を用いて濾過滅菌した。この濾液を凍結乾燥し、3.1 g の粉末 (脱脂大豆麴エキス) を得た。

[0092] 得られた粉末を蒸留水に溶解し、脱脂大豆麴エキス 1.8 mg に相当する溶液 (溶液 I) を濾紙 (直径 8 mm) にスポットし、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) HNA99 を被検菌として抗菌活性を測定した。Pg は 37 °C で 72 時間嫌気性培養した。その結果、直径 17 mm の阻止円が形成された (図 5 a)。上記溶液の 2.5 倍希釈溶液 (溶液 II)、5 倍希釈溶液 (溶液 III)、および 10 倍希釈溶液 (溶液 IV) を作製し、同量の溶液を同様に濾紙にスポットし、Pg を被検菌とした抗菌活性を測定した。その結果、2.5 倍希釈溶液、5 倍希釈溶液、および 10 倍希釈溶液によって、それぞれ 12 mm、9.5 mm、および 8.4 mm の阻止円が形成された。図 5 b に示すように、脱脂大豆麴エキスの重量と Pg に対する最小発育阻止濃度 (MIC) との間に直線的な相関性が認められた。なお、溶液 II ~ IV のスポット中に含まれている脱脂大豆麴エキスの量はそれぞれ 0.72 mg、0.36 mg および 0.18 mg に相当する。

[0093] [8. 脱脂大豆麴エキスを含む口腔用組成物]

公知の手順に従って、下記成分を下記割合 (重量%) で混合して口腔用洗浄液 (マウスウォッシュ) を調製した：

グリセリン	5.0
プロピレングリコール	3.0
ラウリル硫酸ナトリウム	1.5

ポリオキシエチレン (60) 硬化ヒマシ油	0.4
サッカリンナトリウム	0.3
クエン酸ナトリウム	0.15
メチルパラベン (防腐剤)	0.1
香料	適量
蒸留水	
合計	100 (重量%)。

[0094] 調製した口腔用洗浄液 35 μ L (サンプル 1)、サンプル 1 に脱脂大豆麴エキス 2 mg を溶解した溶液 (サンプル 2)、調製した口腔用洗浄液の 10 倍希釈溶液 35 μ L (サンプル 3)、およびサンプル 3 に脱脂大豆麴エキス 2 mg を溶解した溶液 (サンプル 4) を、濾紙 (直径 8 mm) にスポットし、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) HNA99 を被検菌として抗菌活性を測定した。Pg は 37 °C で 72 時間嫌気性培養した。結果を図 6 および表 2 に示す。

[0095] [表2]

	サンプル	阻止円 (mm)
1	マウスウオッシュ	14
2	+脱脂大豆麴エキス(2 mg)	19.8
3	マウスウオッシュ $\times$ 10	8.4
4	+脱脂大豆麴エキス(2 mg)	14.5

[0096] サンプル 1 および 3 の結果から、調製した口腔用洗浄液は Pg に対する抗菌活性を有しているが、10 倍希釈することによって Pg に対する抗菌活性を喪失する。そして、サンプル 3 および 4 の結果から、脱脂大豆麴エキスによる Pg に対する抗菌活性が確認された。また、サンプル 1 および 2 の結果から、脱脂大豆麴エキスは口腔用洗浄液に含まれた状態であっても、口腔用洗浄液の構成成分によって Pg に対する抗菌活性が阻害されることはなかった。このように、脱脂大豆麴エキスを含む口腔用組成物は十分実用的である。

[0097] 〔 9. ピロリ菌に対する、脱脂大豆麴由来の果汁抽出物中の抗菌活性〕

麴菌 (A. oryzae S-03) を用いて得られた脱脂大豆麴 1 g に対して 3 倍量の蒸留水または各種果汁 (3 mL) を加え、室温にて攪拌ながら 1 時間抽出した。その抽出液を、メンブランフィルターを用いて濾過滅菌したものを、抗菌活性サンプルとして用いた。果汁は市販の濃縮果汁を 1 倍まで希釈したもの (100%還元) を、pH 6.0 に調整した後に用いた。また、果汁は蒸留水と比較して粘度が高いため、ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターを用いた。

[0098] 各抗菌活性サンプル 35 μL を直径 8 mm の濾紙にスポットし、ピロリ菌 *Helicobacter pylori* を被検菌とした抗菌活性を測定した。結果を図 7 および表 3 に示す。

[0099]

[表3]

	サンプル	阻止円 (mm)
1	バナナ果汁	< 8
2	バナナ果汁由来抽出液	16
3	ブドウ果汁	< 8
4	ブドウ果汁由来抽出液	15
5	デーツ果汁	< 8
6	デーツ果汁由来抽出液	15.8
7	マンゴー果汁	< 8
8	マンゴー果汁由来抽出液	< 8
9	ミカン果汁	< 8
10	ミカン果汁由来抽出液	9.1
11	モモ果汁	< 8
12	モモ果汁由来抽出液	17
13	リンゴ果汁	< 8
14	リンゴ果汁由来抽出液	9
15	シークァーサ果汁	8.5
16	シークァーサ果汁由来抽出液	15
17	ザクロ果汁	16
18	ザクロ果汁由来抽出液	14
19	オレンジ果汁	< 8
20	オレンジ果汁由来抽出液	16
21	パイナップル果汁	< 8
22	パイナップル果汁由来抽出液	11
23	スモモ果汁	< 8
24	スモモ果汁由来抽出液	14.5
25	蒸留水	12

[0100] バナナ、ブドウ、デーツ、モモ、シークァーサ、オレンジ、パイナップル、スモモのみでは、ピロリ菌に対する発育阻止円は認められなかったが、これらの果汁で抽出した脱脂大豆麴の抽出液は、顕著な発育阻止円を形成した。ただし、温州ミカンまたはザクロの果汁で抽出した脱脂大豆麴の抽出液には、抗ピロリ活性物質がほとんど認められなかった。蒸留水で抽出した脱脂大豆麴の抽出液を対照として用いた（ピロリ菌に対する発育阻止円直径は 12 mm）。バナナ、ブドウ、デーツ、モモ、シークァーサ、オレンジの果汁

で抽出した脱脂大豆麴の抽出液は、15～17mmの発育阻止円を形成し、これらの果汁による抽出が抗ピロリ活性物質を量的に得るに有効であった。また、ザクロ果汁自体に抗ピロリ活性物質が含まれていることがわかった。

[0101] 本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

産業上の利用可能性

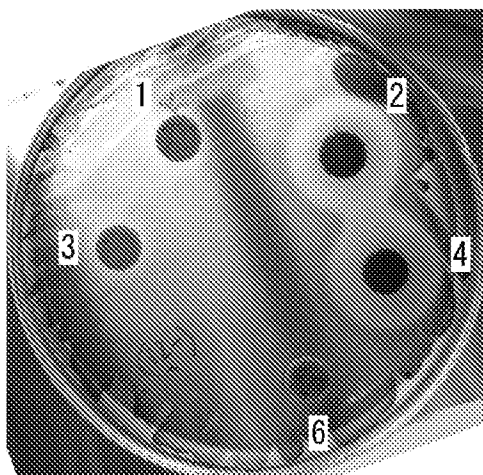
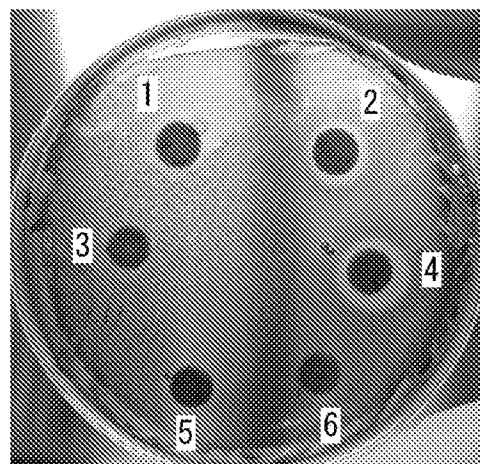
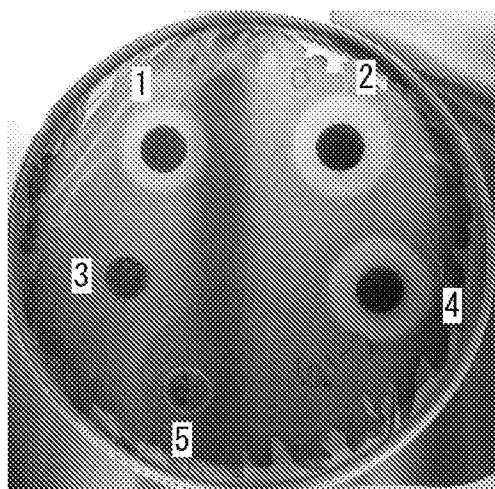
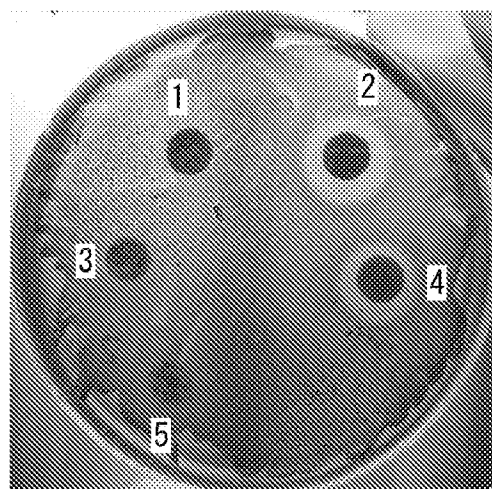
[0102] 本発明を用いれば、従来よりも効果の高い、歯周病の予防剤または治療剤、あるいは口臭の予防剤または改善剤を開発することができる。また、本発明を用いれば、広い抗菌スペクトルを有する抗菌技術を提供することができる。

請求の範囲

- [請求項1] 麴または該麴の抽出物を含有している、抗菌組成物。
- [請求項2] 前記麴を得るための発酵原料または該発酵原料の抽出物をさらに含有している、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] 前記麴を得るための発酵原料が、大豆、脱脂大豆、麦、米および醤油麴用原料からなる群より選択される、請求項1または2に記載の組成物。
- [請求項4] 前記麴が、*A. oryzae*、*A. sojae*、*A. kawachii*および*A. awamori*からなる群より選択される麴菌を用いて製造された、請求項1～3のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項5] 前記麴を得るための発酵原料が、大豆、脱脂大豆および醤油麴用原料からなる群より選択され、かつ前記麴が、*A. oryzae*である、請求項1または2に記載の組成物。
- [請求項6] 前記麴の抽出物が水抽出物である、請求項1～5のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項7] 前記発酵原料の抽出物が水抽出物である、請求項2～6のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項8] 口腔内に適用するために使用される、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項9] 歯周病を処置するために使用される、請求項8に記載の組成物。
- [請求項10] カンジダ菌の増殖を抑制するために使用される、請求項8または9に記載の組成物。
- [請求項11] ピロリ菌の増殖を抑制するために使用される、請求項8～10のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項12] 外用剤としての医薬部外品である、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。
- [請求項13] 化粧用に用いられる、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物。

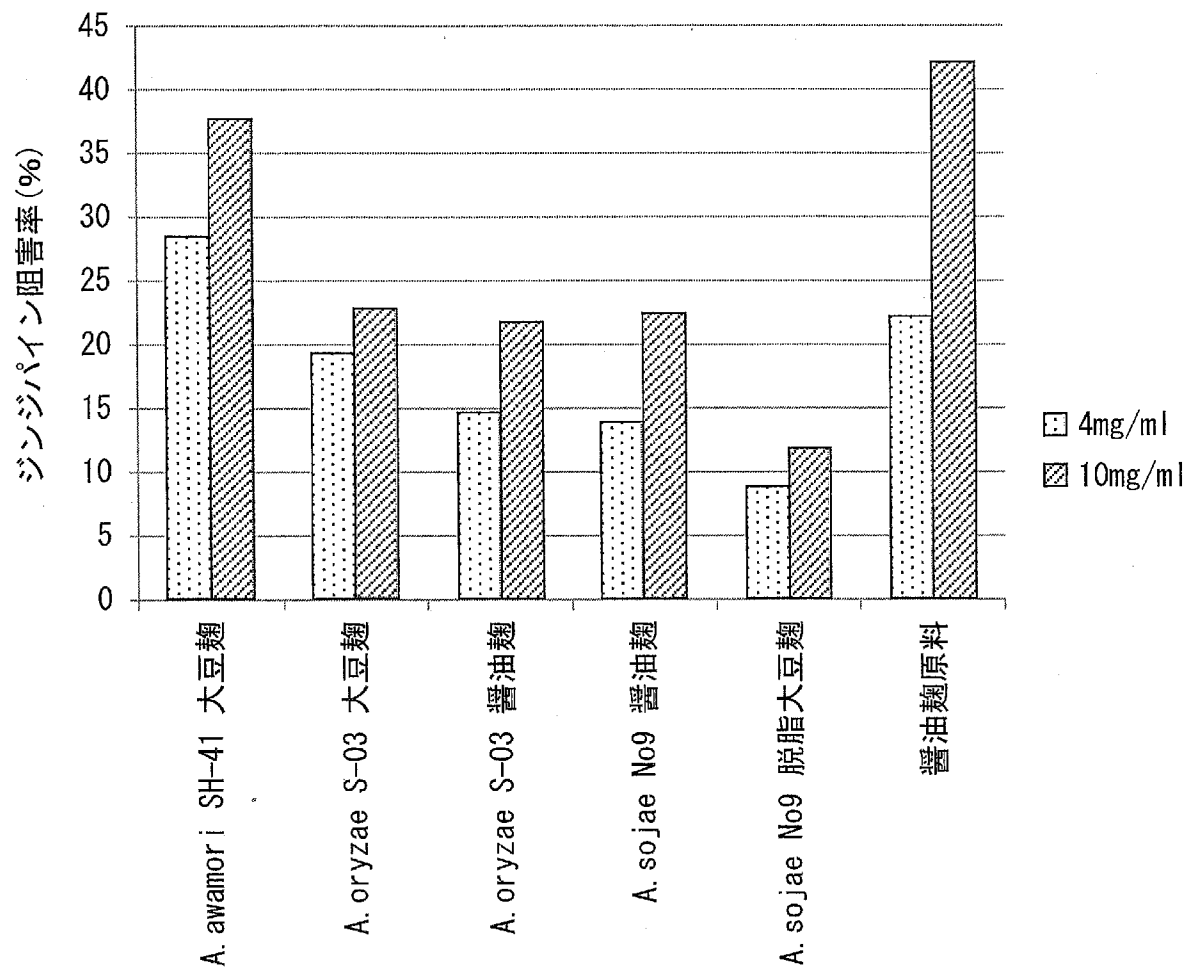
- [請求項14] 請求項1～13のいずれか1項に記載の組成物を含んでいる、医薬部外品。
- [請求項15] 請求項1～11のいずれか1項に記載の組成物を含んでいる、食品。
- [請求項16] 請求項1～11のいずれか1項に記載の組成物を含んでいる、医薬品。
- [請求項17] 請求項1～9のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の口腔内にて歯周病の原因菌とを接触させる工程を包含する、歯周病を処置する方法。
- [請求項18] 請求項1～9のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の口腔内へ供給する工程をさらに包含する、請求項17に記載の方法。
- [請求項19] 請求項1～10のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の口腔内にてカンジダ菌と接触させる工程を包含する、口腔カンジダ症を処置する方法。
- [請求項20] 請求項1～10のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の口腔内へ供給する工程をさらに包含する、請求項19に記載の方法。
- [請求項21] 請求項1～11のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の胃内にてピロリ菌と接触させる工程を包含する、ピロリ菌の増殖を阻害する方法。
- [請求項22] 請求項1～11のいずれか1項に記載の組成物を、被験体の胃内へ供給する工程をさらに包含する、請求項21に記載の方法。

[図1]

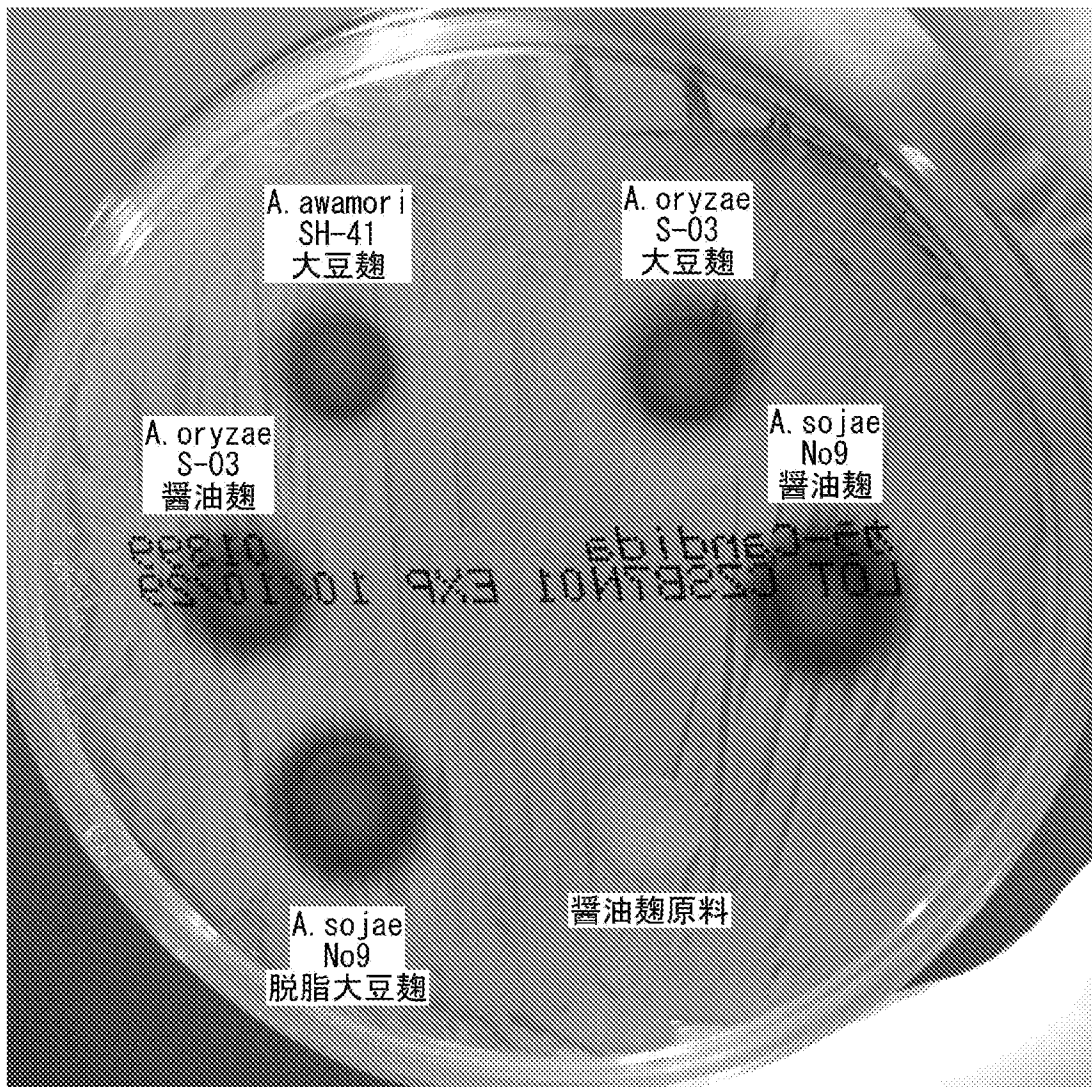
A. awamori SH-41*A. kawachii**A. oryzae* S-03*A. sojae* No9

- 1: 米麴
- 2: 大豆麴
- 3: ピーナッツ麴
- 4: 麦麴
- 5: そら豆麴
- 6: 醤油麴

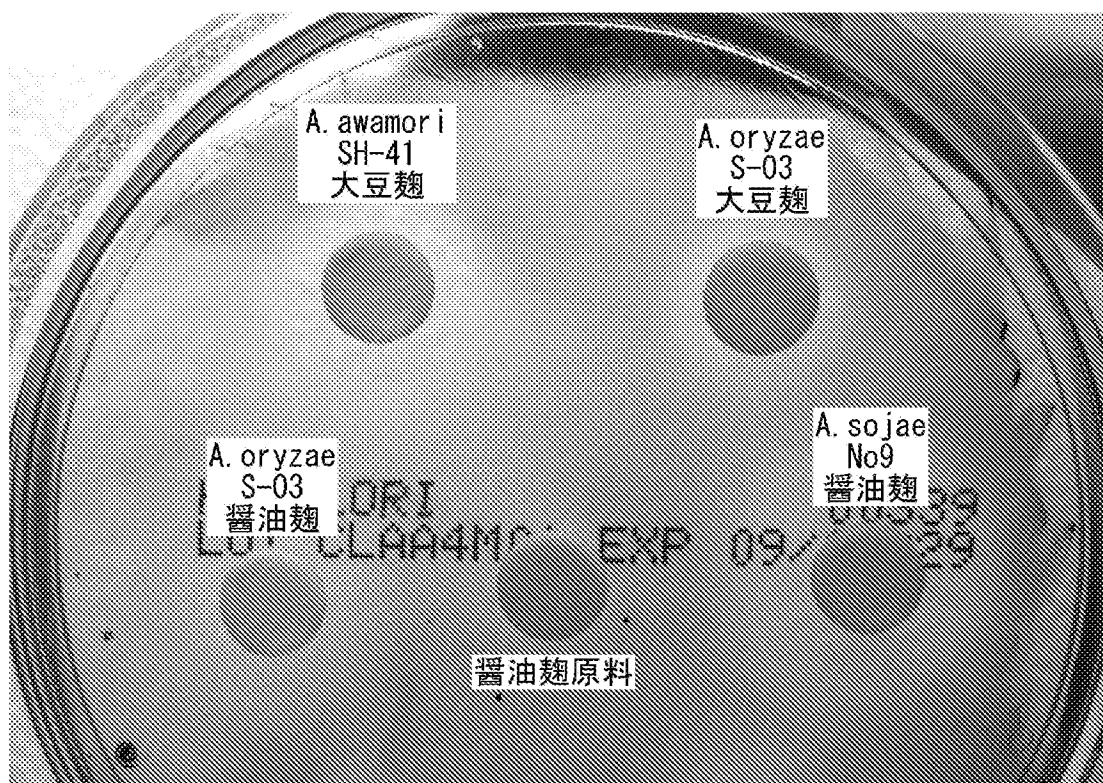
[図2]



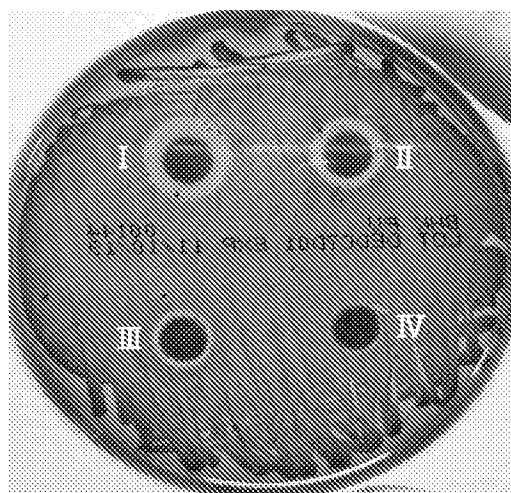
[図3]



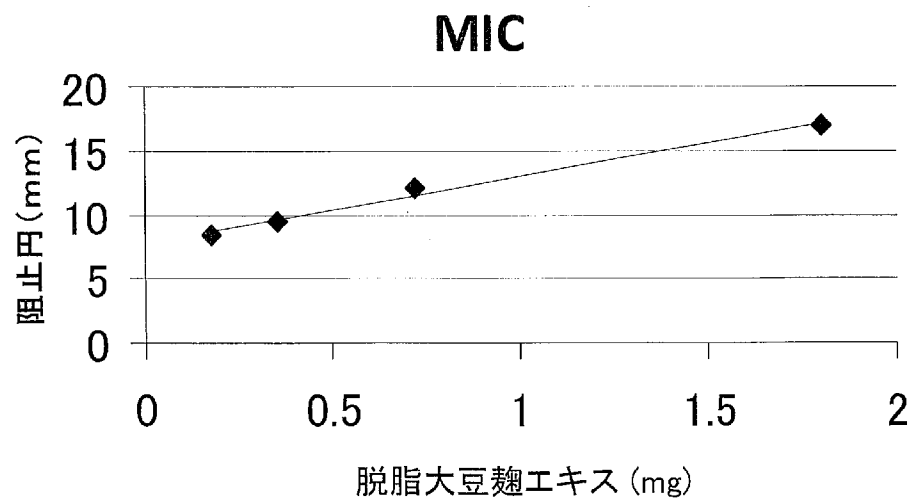
[図4]



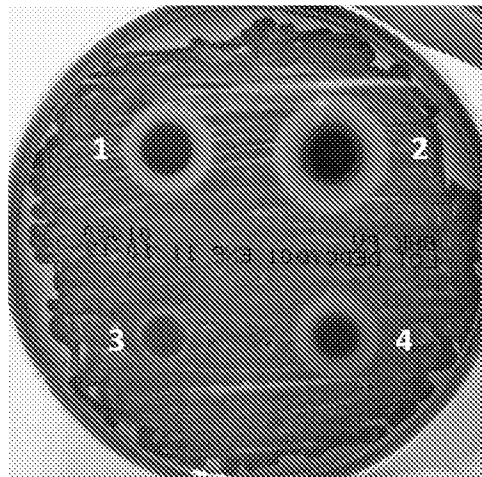
[図5a]



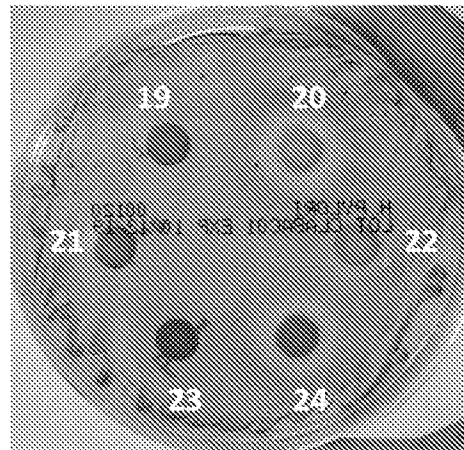
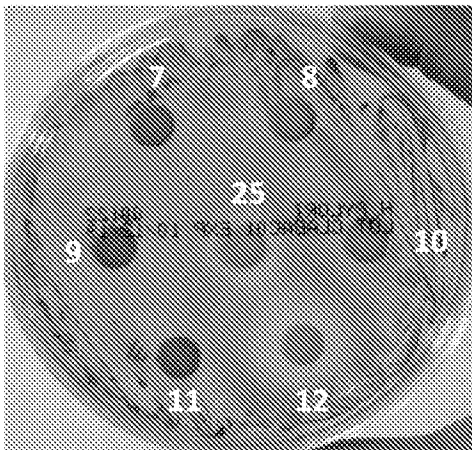
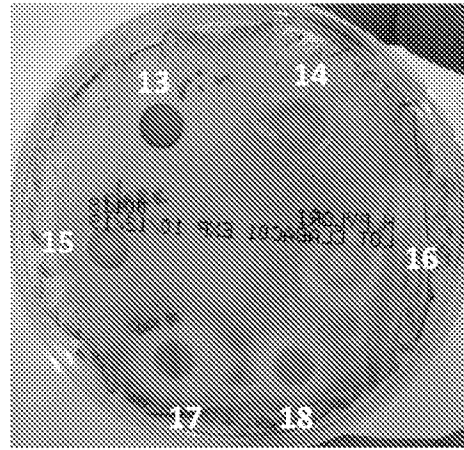
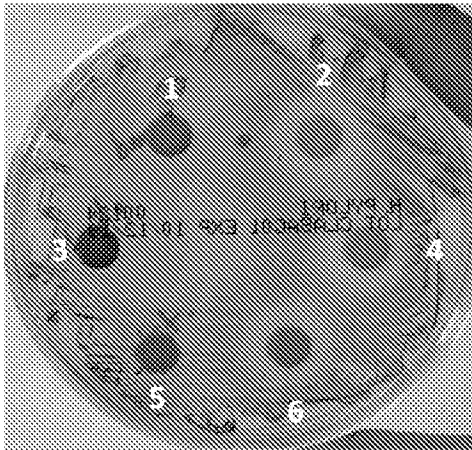
[図5b]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/072424

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/06(2006.01)i, A61K8/99(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61K36/48(2006.01)i, A61K36/899(2006.01)i, A61P1/02(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i, A61P31/10(2006.01)i, A61Q11/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K36/06, A61K8/99, A61K36/00, A61K36/48, A61K36/899, A61P1/02, A61P1/04, A61P31/04, A61P31/10, A61Q11/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2006-290794 A (ASAHI BREWERIES LTD.), 26 October 2006 (26.10.2006), particularly, claims; example 10 (Family: none)	1, 4, 6-8, 11, 14-16
X	JP 08-119873 A (SOKEN KABUSHIKI KAISHA), 14 May 1996 (14.05.1996), particularly, claims; examples (Family: none)	1-4, 6-8, 11, 14-16
Y		1-9, 12-16
Y	JP 62-286926 A (SUNSTAR KABUSHIKI KAISHA), 12 December 1987 (12.12.1987), particularly, claims; examples (Family: none)	1-9, 12-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
20 October, 2011 (20.10.11)

Date of mailing of the international search report
01 November, 2011 (01.11.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/072424

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 61-275224 A (SUNSTAR KABUSHIKI KAISHA), 05 December 1986 (05.12.1986), particularly, claims; examples (Family: none)	1-9, 12-16
Y	JP 04-283518 A (KIKKOMAN CORP.), 08 October 1992 (08.10.1992), particularly, claims; examples (Family: none)	1-9, 12-16
Y	Shigeru TAKAZANE et al., "Shoyu Koji ni Sonzai suru Bacillus-zoku Saikin no Shoyu Jozo ni Oyobosu Eikyo(the 1st report)", Journal of Japan Soy Sauce Research Institute, 1998, vol. 24, no.2, pages 77 to 82	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-095950 A (TENYO TAKEDA KABUSHIKI KAISHA), 03 April 2003 (03.04.2003), particularly, claims; tables 1 to 14 (Family: none)	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-026693 A (TENYO TAKEDA KABUSHIKI KAISHA), 29 January 2003 (29.01.2003), particularly, claims; table 1 (Family: none)	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 01-047794 A (YAMAMOTO M), 22 February 1989 (22.02.1989), particularly, claims; example 1 (Family: none)	1, 3-8, 10, 12-16
X	KLAUSMEYER, P. et al, Aspirochlorine class compounds from Aspergillus flavus inhibit azole-resistant Candida albicans, J Nat Prod, 2005, Vol.68, No.8, p.1300-2	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-327540 A (HIGASHIMARU SHOYU KABUSHIKI KAISHA), 19 November 2003 (19.11.2003), particularly, claims; examples (Family: none)	1, 3-15
P, X	JP 2010-285353 A (HIROSHIMA UNIV), 24 December 2010 (24.12.2010), (Family: none)	1-11, 14-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/072424

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 17-22
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 17 to 22 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/06(2006.01)i, A61K8/99(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61K36/48(2006.01)i,
A61K36/899(2006.01)i, A61P1/02(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i,
A61P31/10(2006.01)i, A61Q11/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/06, A61K8/99, A61K36/00, A61K36/48, A61K36/899, A61P1/02, A61P1/04, A61P31/04, A61P31/10,
A61Q11/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2006-290794 A (ASAHI BREWERIES LTD) 2006.10.26, 特に、特許請求の範囲、実施例 10 (ファミリーなし)	1, 4, 6-8, 11, 14-16
X	JP 08-119873 A (SOKEN KK) 1996.05.14, 特に、特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-4, 6-8, 11, 14-16
Y		1-9, 12-16
Y	JP 62-286926 A (SUNSTAR KK) 1987.12.12, 特に、特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-9, 12-16

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 0 . 1 0 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

0 1 . 1 1 . 2 0 1 1

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

平林 由利子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

3 6 3 4

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 61-275224 A (SUNSTAR KK) 1986. 12. 05, 特に、特許請求の範囲、実施例(ファミリーなし)	1-9, 12-16
Y	JP 04-283518 A (KIKKOMAN CORP) 1992. 10. 08, 特に、特許請求の範囲、実施例(ファミリーなし)	1-9, 12-16
Y	高實繁他, 醤油麴に存在するBacillus属細菌の醤油醸造に及ぼす影響 (第1報), 日本醤油研究所雑誌, 1998, Vol.24, No. 2, p. 77-82	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-095950 A (TENYO TAKEDA KK) 2003. 04. 03, 特に、特許請求の範囲、表1-14 (ファミリーなし)	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-026693 A (TENYO TAKEDA KK) 2003. 01. 29, 特に、特許請求の範囲、表1 (ファミリーなし)	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 01-047794 A (YAMAMOTO M) 1989. 02. 22, 特に、特許請求の範囲、実施例1 (ファミリーなし)	1, 3-8, 10, 12-16
X	KLAUSMEYER, P. et al, Aspirochlorine class compounds from Aspergillus flavus inhibit azole-resistant Candida albicans, J Nat Prod, 2005, Vol.68, No.8, p.1300-2	1, 3-8, 10, 12-16
X	JP 2003-327540 A (HIGASHIMARU SHOYU KK) 2003. 11. 19, 特に、特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1, 3-15
P, X	JP 2010-285353 A (HIROSHIMA UNIV) 2010. 12. 24, (ファミリーなし)	1-11, 14-16

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 17-22 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項17-22は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。