



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119053319 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 29

(21) 申请号 202380029666.7

(22) 申请日 2023.05.24

(30) 优先权数据

2022-085086 2022.05.25 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/019334 2023.05.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/228977 JA 2023.11.30

(71) 申请人 筑野集团股份有限公司

地址 日本

(72) 发明人 山内优步 中村纪夫 筑野卓夫

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

专利代理师 田凌宇 李琴

(51) Int.Cl.

A61K 8/9794 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61K 36/899 (2006.01)

A23L 33/105 (2006.01)

A23L 33/11 (2006.01)

A23L 33/115 (2006.01)

A23L 33/12 (2006.01)

权利要求书1页 说明书14页

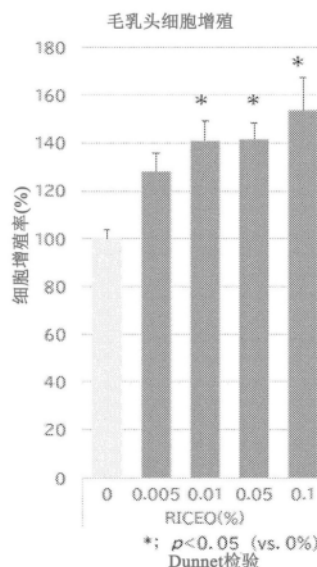
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

育毛剂

(57) 摘要

本发明提供含有米糠衍生成分混合物的育毛剂,其特征在于,所述米糠衍生成分混合物为(1)水溶性米糠成分、(2)植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯、(3)米糠油非皂化物浓缩物、或(4)含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油。



1. 一种育毛剂,其含有米糠衍生成分混合物。
2. 根据权利要求1所述的育毛剂,其中,
所述米糠衍生成分混合物选自以下的(1)~(4):
 - (1) 水溶性米糠成分、
 - (2) 植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯、
 - (3) 米糠油非皂化物的浓缩物、
 - (4) 含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油。
3. 根据权利要求2所述的育毛剂,其中,所述(1)含有植酸及肌醇。
4. 根据权利要求3所述的育毛剂,其中,所述(1)含有15质量%以上且45质量%以下的植酸,并含有5质量%以上且20质量%以下的肌醇。
5. 一种育毛剂,其含有经提纯的肌醇及经提纯的植酸。
6. 根据权利要求5所述的育毛剂,其中,肌醇与植酸的掺合比以质量比计为1:2以上且1:9以下。
7. 一种药物,其特征在于,包含权利要求1所述的育毛剂。
8. 一种化妆品,其特征在于,包含权利要求1所述的育毛剂。
9. 一种饮食品,其特征在于,包含权利要求1所述的育毛剂。
10. 一种毛乳头细胞生长促进剂,其含有米糠衍生成分混合物。
11. 一种血管内皮生长因子产生促进剂,其含有米糠衍生成分混合物。
12. 一种胰岛素样生长因子-1产生促进剂,其含有米糠衍生成分混合物。
13. 一种2型5 α -还原酶产生抑制剂,其含有米糠衍生成分混合物。

育毛剂

技术领域

[0001] 本发明涉及育毛剂。

背景技术

[0002] 很多人因为年龄增长、遗传素因、社会压力等原因而存在头发稀疏或脱发的烦恼, 为了提供优异的育毛剂、生发剂及脱发抑制剂, 进行了各种尝试。作为与育毛相关的因子, 报告了血管内皮生长因子(VEGF)及胰岛素样生长因子(IGF-1)等。米诺地尔(Minoxidil)具有促进产生VEGF、IGF-1的作用, 虽然出售有将其作为有效成分的药物, 但有报告称在女性中会产生皮肤疾病等副作用, 因而限制了用量。作为男性型脱发症的治疗药, 有阻碍 5α -还原酶的度他雄胺(Dutasteride)和非那司提(Finasteride), 但其具有性功能下降及肝功能障碍等严重副作用, 尤其是妊娠中的女性禁止使用。鉴于该情况, 近年来, 对低风险的来自天然物质的替代品的关注逐渐升高。例如, 来自天然物质的植酸及肌醇具有促进育毛的作用(专利文献1、2)。此外, 雪莲果提取物通过阻碍 5α -还原酶从而具有抗脱发效果(专利文献3)。

[0003] 现有技术文献

[0004] 专利文献

[0005] 专利文献1: 日本特开2018-24692号公报

[0006] 专利文献2: 日本特开平3-74318号公报

[0007] 专利文献3: 日本特开2006-273755号公报

发明内容

[0008] (一) 要解决的技术问题

[0009] 本发明的技术问题在于提供一种来自天然物质的新型育毛剂。

[0010] (二) 技术方案

[0011] 本发明包括以下各发明, 以解决上述问题。

[0012] [1] 一种育毛剂, 其含有米糠衍生成成分混合物。

[0013] [2] 根据所述[1]所述的育毛剂, 其中, 所述米糠衍生成成分混合物选自以下的(1)~(4):

[0014] (1) 水溶性米糠成分、

[0015] (2) 植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯、

[0016] (3) 米糠油非皂化物的浓缩物、

[0017] (4) 含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油。

[0018] [3] 根据所述[2]所述的育毛剂, 其中, 所述(1)含有植酸及肌醇。

[0019] [4] 根据所述[3]所述的育毛剂, 其中, 所述(1)含有15质量%以上且45质量%以下的植酸, 并含有5质量%以上且20质量%以下的肌醇。

[0020] [5] 一种育毛剂, 其含有经提纯的肌醇及经提纯的植酸。

[0021] [6] 根据所述[5]所述的育毛剂,其中,肌醇与植酸的掺合比以质量比计为1:2以上且1:9以下。

[0022] [7] 一种药物,其特征在于,包含所述[1]所述的育毛剂。

[0023] [8] 一种化妆品,其特征在于,包含所述[1]所述的育毛剂。

[0024] [9] 一种饮食品,其特征在于,包含所述[1]所述的育毛剂。

[0025] [10] 一种毛乳头细胞生长促进剂,其含有米糠衍生成成分混合物。

[0026] [11] 一种血管内皮生长因子产生促进剂,其含有米糠衍生成成分混合物。

[0027] [12] 一种胰岛素样生长因子-1产生促进剂,其含有米糠衍生成成分混合物。

[0028] [13] 一种2型5 α -还原酶产生抑制剂,其含有米糠衍生成成分混合物。

[0029] (三)有益效果

[0030] 通过本发明,能够提供一种来自天然物质的新型育毛剂。本发明的育毛剂还能够用作药物、化妆品或饮食品。

附图说明

[0031] 图1为示出在人原代毛乳头细胞中,相对于阴性对照的基于RSE、RTN或RICE0处理的VEGF基因的相对基因表达量的图。

[0032] 图2为示出在人原代毛乳头细胞中,相对于阴性对照的基于RSE、RICE0处理的IGF-1基因的相对基因表达量的图。

[0033] 图3为示出在人前列腺癌细胞中,相对于阴性对照的基于GX-N或RTN处理的5 α -R2基因的相对基因表达量的图。

[0034] 图4为在人原代毛乳头细胞中,相对于阴性对照的基于RICE0处理的细胞增殖率的图。

[0035] 图5为在人原代毛乳头细胞中,相对于阴性对照的基于PA、IN或IN/PA mix处理的VEGF基因的相对基因表达量的图。

具体实施方式

[0036] [育毛剂]

[0037] 本发明提供一种含有米糠衍生成成分混合物作为有效成分的育毛剂。本发明的育毛剂中的米糠衍生成成分混合物只要为含有两种以上以米糠作为原料而获得的成分的混合物,则没有特别限定。作为米糠衍生成成分混合物,例如,可列举出水溶性米糠成分、植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯、米糠油非皂化物的浓缩物、含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油、它们的组合等。

[0038] 水溶性米糠成分只要为由米糠获得的水溶性成分的混合物,则没有特别限定。水溶性米糠成分中包含植酸、肌醇、无机物(钾、镁、钾、钠、铁、锌、铜、硒等)、食物纤维、蛋白质、水溶性维生素(维生素B族等)等。优选水溶性米糠成分含有植酸及肌醇,更优选含有多于肌醇的植酸,进一步优选含有15质量%以上且45质量%以下的植酸,并含有5质量%以上且20量%以下的肌醇,特别优选含有20质量%以上且40质量%以下的植酸,并含有7质量%以上且15质量%以下的肌醇。

[0039] 水溶性米糠成分可以为溶解于水溶液中的物质,也可以为通过干燥而具有粉末等

形态的物质。

[0040] 水溶性米糠成分可以为采用公知的方法提取自米糠的水溶性米糠成分,也可以为市售的水溶性米糠成分。由米糠获得水溶性米糠成分的方法没有特别限定,例如,可列举出利用米糠中所含的有机酸、乙酸、草酸、酒石酸、磷酸、乳酸、丁酸、柠檬酸、琥珀酸等中的一种或两种以上的酸进行提取的方法;日本特开2002-20307号公报中记载的方法等。作为市售的水溶性米糠成分,例如,可列举出TSUNO CO., LTD.制造的RICEO-EX(产品名称)等。RICEO-EX含有约30质量%的植酸,并含有约10质量%的肌醇。虽然没有对水溶性米糠成分的组成进行限定,但作为一个实例,可列举出在100g中含有碳水化合物:30.0g、钾:5.3g、镁:2.7g、钙:121mg、钠:30.9mg、铁:19.1mg、锌:13.2mg、铜:0.4mg、维生素B₁:7.2mg、维生素B₂:0.6mg、维生素B₆:10.2mg、食物纤维:11.2g、蛋白质:8.2g、植酸:27.8g、肌醇:11.0g的物质。

[0041] 植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯只要为包含由米糠获得的甾醇酯的混合物,则没有特别限定,可以为含有植物甾醇与脂肪酸的酯的物质,也可以为含有三萜醇与脂肪酸的酯的物质,也可以为含有它们的混合物的物质。

[0042] 甾醇是指,在具有环戊烷多氢菲骨架(甾烷骨架)的化合物(类固醇)中,在3位具有羟基的化合物。甾醇通常以游离状、酯型、配糖体等形态广泛分布于动植物界,其也为生物膜的重要构成成分。本发明的育毛剂中所含的植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯为与脂肪酸的酯型的甾醇。

[0043] 甾醇的碳原子数为27~30,也可以为在5/6位、7/8位、8/9位或其他位置具有1个双键的不饱和化合物,还可以为通过氢化得到的饱和化合物。作为甾醇中较多存在于植物中的植物甾醇,可列举出 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇等。三萜醇为碳原子数为30的甾醇,其为较多包含于米糠或米糠油中的成分。

[0044] 植物甾醇与脂肪酸的酯及三萜醇与脂肪酸的酯中的酯可以来自式(A)所表示的羧酸:

[0045] $R'CO-OH$ (A)

[0046] 式中, $R'CO$ 为碳原子数为14~22,且双键数为0~3中的任意一种的直链脂肪酸酰基。

[0047] 作为式(A)所示的羧酸,例如,可列举出肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生酸、山萘酸等。

[0048] 植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯可以为采用公知的方法由米糠提纯的甾醇酯,也可以为市售的甾醇酯。由米糠获得甾醇酯的方法没有特别限定,例如,可列举出以由米糠制造米糠油的过程中所产生的汤料(soup stock)或脱臭浮渣等副产物作为原料,利用丙酮或己烯等溶剂进行提取、提纯的方法;公知文献(日本特开2014-47311号公报、谷口等、日本食品科学工学会杂志、2012年、59卷、7号、p301-318)中记载的方法;使用非特异性或特异性酯化的酶将由米糠获得的植物甾醇及三萜醇中的至少一种酯化的方法等。作为市售的甾醇酯,例如,可列举出TSUNO CO., LTD.制造的Riceterol Esters(产品名称)等。

[0049] 米糠油非皂化物的浓缩物只要为将由米糠获得的非皂化物进行浓缩后的物质,则没有特别限定,也可以为从由米糠提纯米糠油的过程中的脱臭工序中附带产生的米糠油脱臭馏出物中将脂肪酸中和并去除从而得到的非皂化物的浓缩物。米糠油非皂化物的浓缩物中包含维生素E类(生育酚、生育三烯酚等)、甾醇类(植物甾醇、三萜醇、它们的脂肪酸酯

等)、角鲨烯等。

[0050] 作为甾醇类中所含的植物甾醇及三萜醇,可列举出与针对本发明中的植物甾醇与脂肪酸的酯和/或三萜醇与脂肪酸的酯所示例出的甾醇相同的物质。

[0051] 米糠油非皂化物浓缩物中的植物甾醇的脂肪酸酯和/或三萜醇的脂肪酸酯的合计含量可以为3质量%以上且70质量%以下,也可以为5质量%以上且60质量%以下。米糠油非皂化物浓缩物中的植物甾醇的含量可以为5质量%以上且20质量%以下。米糠油非皂化物浓缩物中的生育酚的含量可以为1质量%以上且5质量%以下。米糠油非皂化物浓缩物中的生育三烯酚的含量可以为1质量%以上且5质量%以下。米糠油非皂化物的浓缩物中的角鲨烯的含量可以为1质量%以上且10质量%以下。

[0052] 米糠油非皂化物浓缩物可以为将采用公知的方法从米糠中提取、提纯油的过程中所得到的非皂化物进行浓缩后的物质,也可以为市售的米糠油非皂化物浓缩物。由米糠获得米糠油非皂化物浓缩物的方法没有特别限定,例如,可列举出在采用公知的制造方法制造米糠油之后,利用脱臭工序中所得到的脱臭浮渣将大量包含的脂肪酸通过所需最低限度的碱进行脱酸,从而制造脂溶性的米糠油非皂化物浓缩物的方法;日本特开2005-255746号公报中记载的方法等。作为市售的米糠油非皂化物浓缩物,例如可列举出TSUNO CO., LTD. 制造的Ricetrienol (产品名称) 等。虽然没有对米糠油非皂化物浓缩物的组成进行限定,但作为一个实例,可列举出酸值为0.8mgKOH/g,且在100g中含有角鲨烯:5.8g、植物甾醇:10.1g、三萜醇:5.2g、生育酚:3.7g、生育三烯酚:3.0g、植物甾醇的脂肪酸酯及三萜醇的脂肪酸酯:10.0g的物质。

[0053] 含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油只要为在含有 γ -谷维醇的米糠油中含有20质量%以上的 γ -谷维醇的米糠油,则没有特别限定。含有 γ -谷维醇的米糠油的 γ -谷维醇的含量优选为25质量%以上,更优选为30质量%以上,含有 γ -谷维醇的米糠油的 γ -谷维醇含量的上限没有特别限定,例如可以为60质量%。含有 γ -谷维醇的米糠油也可以为含有 γ -谷维醇的米胚芽油。

[0054] 含有 γ -谷维醇的米糠油也可以为不从外部添加 γ -谷维醇的米糠油。这种含有 γ -谷维醇的米糠油的制造方法没有特别限定,例如,能够通过国际公开第2012/063794号中记载的方法进行制造。具体而言,可以利用包括以下工序的制造方法:(A) 得到具有油层与含有 γ -谷维醇盐的碱性油渣层的油脂处理物的工序;以及(B) 向(A) 中所得到的油脂处理物中添加酸,使 γ -谷维醇从碱性油渣层移动至油层,并回收 γ -谷维醇含量增多的油脂的工序。若利用该制造方法,则能够制造含有约60质量%左右的 γ -谷维醇的米糠油。

[0055] 含有 γ -谷维醇的米糠油也可以为市售的含有 γ -谷维醇的米糠油。作为市售的含有 γ -谷维醇的米糠油,例如,可列举出TSUNO CO., LTD. 制造的米胚芽油GX-N (产品名称) 等。米胚芽油GX-N在米胚芽油GX-N中含有约30质量%的 γ -谷维醇。

[0056] 米糠油中的 γ -谷维醇含量能够通过公知的方法进行测定。例如能够通过以下的方法实施。然而,并不限于此方法。

[0057] 称量2~5g的油脂,利用正己烷制成100mL。取其中的2mL,利用正己烷稀释至100mL,对由此获得的物质测定315nm的吸光度。当将油脂重量设为X(g),并将吸光度设为A时, γ -谷维醇含量G(质量%)可通过以下的公式(B) 计算出。

[0058] $G = (A \times 5000) / (X \times 359)$ (B)

[0059] 含有 γ -谷维醇的米糠油除了 γ -谷维醇以外,也可以含有通常的米糠油所含的成分,即,阿魏酸、甾醇、石蜡、葡萄糖神经酰胺、生育酚(维生素E)、生育三烯酚等。

[0060] 含有 γ -谷维醇的米糠油也可以为能够作为食用油脂进行实施的米糠油。作为食用油脂,只要包含含有 γ -谷维醇的米糠油,则没有特别限定,也可以为混合含有 γ -谷维醇的米糠油与除此以外的食用油脂而成的混合油。作为除含有 γ -谷维醇的米糠油以外的食用油脂,例如,可列举出棕榈油、菜籽油、大豆油、芝麻油、玉米油、棉籽油、椰子油、橄榄油、椰子油、红花油、葵花油、杏仁油、腰果油、榛子油、澳洲坚果油、曼杰提树仁油、山核桃油、松子油、核桃油、山茶油、茶油、牛油、猪油、鸡油、马油、鱼油等。混合油可以为将含有 γ -谷维醇的米糠油与除此以外的食用油脂混合两种以上而成的混合油。

[0061] 本发明提供一种含有经提纯的肌醇及经提纯的植酸的育毛剂。本发明的育毛剂中的肌醇及植酸只要分别为含有经提纯的肌醇的物质及经提纯的植酸的物质即可。

[0062] “经提纯的肌醇”是指经过用于提高肌醇纯度的提纯工序由包含肌醇的混合物获得的肌醇。“经提纯的肌醇”可以为粉末产品。“经提纯的植酸”是指经过用于提高植酸纯度的提纯工序由包含植酸的混合物获得的植酸。“经提纯的植酸”可以为液体产品,也可以为粉末产品。

[0063] 经提纯的肌醇及经提纯的植酸可以为以相同生物种作为原料并通过公知的方法进行提取并经提纯的物质,也可以为分别以不同的生物种作为原料并通过公知的方法进行提取并经提纯的物质,还可以为人工合成的肌醇和/或植酸经提纯的物质。

[0064] 关于作为经提纯的肌醇的原料的生物种,只要为在生物体内含有肌醇的生物,则没有特别限定,例如,可列举出米糠等谷类的糠、大豆等豆类、水果、坚果类等植物或食用肉、鱼肉类等。

[0065] 关于作为经提纯的植酸的原料的生物种,只要为在生物体内含有植酸的生物,则没有特别限定,例如,可列举出米糠等谷类、大豆等豆类等。

[0066] 本发明的育毛剂中的肌醇与植酸的掺合比没有特别限定,例如,以质量比计,可以为1:2以上且1:9以下,优选以质量比计为1:2.5以上且1:5以下。

[0067] 本发明的育毛剂中所含的米糠衍生成分混合物及经提纯的肌醇与经提纯的植酸的混合物具有育毛作用、生发作用、养发作用、抑制脱发的作用等,因此适宜用作育毛剂、生发剂、养发剂、脱发抑制剂的有效成分。本发明的育毛剂也能够称作生发剂、养发剂、脱发抑制剂。

[0068] 本发明的育毛剂中所含的米糠衍生成分混合物由于为也可用于食用的成分,对生物体的安全性高,能够持续长时间使用或摄取。本发明的育毛剂所含的米糠衍生成分混合物由于混有多种米糠衍生成分,出于米糠衍生成分彼此的叠加或协同作用,能够实现优异的育毛作用。经提纯的肌醇与经提纯的植酸的混合物也是如此。

[0069] 本发明的育毛剂的特征在于具有育毛作用。本发明的育毛剂具有育毛作用这一点,能够通过以下方式进行确认,例如,使用本发明的育毛剂处理毛乳头细胞,并测定毛乳头细胞的细胞增殖率;测定血管内皮生长因子(VEGF)的蛋白质表达量或VEGF基因表达量;测定胰岛素样生长因子(IGF-1)的蛋白质表达量或IGF-1基因表达量;及使用本发明的育毛剂处理前列腺癌细胞,并测定前列腺癌细胞的2型5 α -还原酶(5 α -R2)的蛋白质表达量或5 α -R2基因表达量。

[0070] 毛乳头细胞的细胞增殖率例如能够通过使用市售的细胞生长测定试剂盒对处理后的细胞培养液进行测定。VEGF、IGF-1或5 α -R2的蛋白质表达量例如能够通过从处理后的毛乳头细胞或前列腺癌细胞中提取蛋白质,并使用SDS-PAGE、免疫印记、ELISA、免疫沉降等公知的方法进行测定。VEGF、IGF-1或5 α -R2的基因表达量,例如能够通过从处理后的毛乳头细胞或前列腺癌细胞中提取核酸,并采用RT-PCR、定量PCR、微阵列等公知的方法进行测定。

[0071] 本发明的育毛剂中的米糠衍生成成分混合物及经提纯的肌醇与经提纯的植酸的混合物的含量只要在能够实现育毛作用的范围内,则没有特别限定,米糠衍生成成分混合物及经提纯的肌醇与经提纯的植酸的合计含量,例如,相对于育毛剂整体,可以为0.01 (wt/v) %以上且80 (wt/v) %以下,也可以为0.05 (wt/v) %以上且50 (wt/v) %以下,还可以为0.1 (wt/v) %以上且30 (wt/v) %以下。

[0072] 本发明的育毛剂的给与对象只要为动物,则没有特别限定,例如,可列举出人、除人以外的哺乳动物(牛、马、猪、绵羊、山羊、美洲驼、羊驼、骆驼、兔、水貂、狐狸、毛丝鼠、鹅、鸭等家畜动物,犬、猫等宠物)等。

[0073] 本发明的育毛剂的使用或摄取频度没有特别限定,例如,可列举出1天1次以上、1天1~5次的范围内等。

[0074] 本发明的育毛剂的使用或摄取期间没有特别限定,例如可以为4周以上、8周以上、12周以上。

[0075] 本发明的育毛剂的剂型没有特别限定,例如,可以为低粘度液体、化妆水等液剂、混悬剂、乳剂、凝胶剂、糊剂、霜剂、泡沫剂、薄片(sheet)剂、软膏、粉剂、气雾剂、吸入剂、滴眼剂、点鼻剂、栓剂、贴剂等外用剂,也可以为片剂、颗粒剂、胶囊剂、内服用液剂等内服剂,还可以为直接给与至肌肉、血管内的注射剂。

[0076] [药物、化妆品或饮食品]

[0077] 本发明提供药物、化妆品或饮食品。本发明的药物、化妆品或饮食品含有本发明的育毛剂即可。本发明的药物、化妆品或饮食品的形态,能够使用与上述育毛剂的剂型相同的形态。

[0078] 当本发明为饮食品时,本发明的饮食品例如可以为健康食品、功能性食品、特定保健用食品、补剂、患者用食品等。饮食品的形态没有特别限定,例如可以是自然流食、半消化态营养食品、成分营养食品、饮料剂等加工形态,也可以是茶饮料、清凉饮料、碳酸饮料、营养饮料、果实饮料、乳酸饮料等饮料,荞麦面、乌冬面、中华面、方便面等面类,糖、糖果、口香糖、巧克力、点心、饼干、果冻、果酱、奶油、烤点心、面包等点心及面包类,鱼糕、火腿、香肠等水产畜产加工食品,加工乳、发酵乳等乳制品,色拉油、天妇罗油、人造黄油、蛋黄酱、起酥油、搅奶油、调味油等油脂及油脂加工食品,酱汁、料汁等调味料,咖喱、炖菜、盖饭、粥、杂烩粥等袋装食品,冰淇淋、冰冻果子露、刨冰等冷饮等。

[0079] 本发明的药物、化妆品或饮食品除了本发明的育毛剂以外,也可以包含药学上或者生理学上允许包含的成分。药学上或者生理学上允许包含的成分没有特别限定,能够采用水、油脂类、蜡类、烃类、脂肪酸类、高级醇类、酯类、植物提取精华类、维生素类、水溶性高分子、表面活性剂、醇、多元醇等。

[0080] 本发明的药物、化妆品或饮食品还可根据需要添加药物、准药(quasi-drug)、化妆品、饮食品等的组合物所使用的公知添加剂,例如,抗氧化剂、增稠剂、保存剂、pH调节剂、稳

定化剂、刺激减轻剂、防腐剂、着色剂、香料等。添加剂可单独使用一种或组合使用两种以上。

[0081] 本发明的药物、化妆品或饮食品能够进一步添加用于促进育毛或促进生发的其他有效成分。其他有效成分可单独使用一种或组合使用两种以上。作为其他有效成分,例如,可列举出米诺地尔、非那司提等。

[0082] 本发明包括含有米糠衍生成成分混合物的毛乳头细胞生长促进剂、血管内皮生长因子产生促进剂、胰岛素样生长因子-1产生促进剂、2型5 α -还原酶产生抑制剂等。此外,本发明包括含有经提纯的肌醇与经提纯的植酸的混合物的毛乳头细胞生长促进剂、血管内皮生长因子产生促进剂、胰岛素样生长因子-1产生促进剂等。

[0083] 本发明包括一种促进育毛的方法,其特征在于,对需要育毛的动物给与有效量的本发明的育毛剂。动物没有特别限定,例如,可以为人、除人以外的哺乳动物等。除人以外的哺乳动物没有特别限定,可列举出牛、马、猪、绵羊、山羊、美洲驼、羊驼、骆驼、兔、水貂、狐狸、毛丝鼠、鹅、鸭、犬、猫等。

[0084] 实施例

[0085] 以下,通过实施例对本发明进行详细说明,但本发明并不限于此。

[0086] [实施例1:毛发相关基因表达量的确认]

[0087] [试验材料及方法]

[0088] 1 米糠衍生成成分混合物、对照试样、试剂及溶剂

[0089] 1.1 米糠衍生成成分混合物

[0090] 使用以下4种米糠衍生成成分混合物。

[0091] • RICE0-EX (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0092] • Riceterol Esters (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0093] • Ricetrienol (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0094] • 米胚芽油GX-N (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0095] 1.2 对照试样

[0096] 使用以下两种对照试样。

[0097] • 植酸 (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0098] • 肌醇 (产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0099] 1.3 试剂

[0100] 使用以下试剂。

[0101] • D-MEM (高葡萄糖) (生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0102] • 胎牛血清 (生产商:Biosera公司)

[0103] • 0.25w/v% 胰蛋白酶-1mmol/1EDTA • 4Na溶液和酚红 (胰蛋白酶/EDTA溶液) (生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0104] • 青霉素/链霉素溶液 ($\times 100$) (生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0105] • 杜氏PBS (-) “Nissui” (生产商:日水製薬株式会社)

[0106] • 二甲基亚砷 (DMSO) (生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0107] • ISOGEN II (生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation (NIPPON GENE

CO., LTD.))

[0108] • 2-丙醇(生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0109] • 乙醇(99.5)(生产商:FUJIFILM Wako Chemicals Corporation)

[0110] • 蒸馏水,去离子,无菌(无核糖核酸酶蒸馏水)(生产商:NIPPON GENE CO., LTD.)

[0111] • PrimeScript RT试剂盒(PrimeScript RT Reagent kit)(生产商:Takara Bio Inc.)

[0112] • PowerUp SYBR Green预混液(PowerUp SYBR Green Master Mix)(生产商:applied biosystems)

[0113] 2 试剂的制备

[0114] 2.1 培养基

[0115] 向500mL的D-MEM(高葡萄糖)中添加5mL的青霉素/链霉素溶液及55mL的胎牛血清(FBS),从而制成10%FBS培养基。此外,使用D-MEM及青霉素/链霉素溶液的混合溶液,将10%FBS培养基稀释10倍,从而制成1%FBS培养基。

[0116] 2.2 杜氏PBS(-)

[0117] 将用电子天平称量的9.8g粉末杜氏PBS(-)“Nissui”溶解于1000mL的蒸馏水之中后,使用高压釜进行灭菌,得到用于细胞培养的杜氏PBS(-)。

[0118] 2.3 75%乙醇溶液

[0119] 将30mL的乙醇(99.5)及10mL的无核糖核酸酶蒸馏水进行混合,得到40mL的75%乙醇溶液。

[0120] 3 含有各试样的培养基的制备

[0121] 3.1 含有RICE0-EX的培养基的制备

[0122] 使用微量电子天平(Sartorius公司)将50mg的RICE0-EX(RICE0)称量至15mL容积的塑料管中,使用一次性移液管添加10mL的1%FBS培养基并使其溶解。为了去除夹杂固体物质,将制备的溶液移至安装有0.45 μ m滤膜的10mL容积的量筒中并进行过滤,得到含有0.5% RICE0的培养基。对2mL含有0.5% RICE0的培养基添加8mL的1% FBS培养基并使其溶解,从而得到含有0.1% RICE0的培养基。进一步向1mL的含有0.1% RICE0的培养基中添加9mL的1% FBS培养基并使其溶解,从而得到含有0.01% RICE0的培养基。

[0123] 3.2 含有植酸的培养基的制备

[0124] 使用一次性移液管将4.5mL的50%植酸溶液移液至15mL容积的塑料管中,并添加5.5mL的25%NaOH水溶液,从而得到22.5%植酸中和溶液(pH6.13)。向该溶液中添加1.25mL的蒸馏水,制成20%植酸中和液。使用一次性移液管向15mL容积的塑料管中添加4.875mL的1% FBS培养基,使用微量移液管将125 μ L的前述20%植酸中和液溶解,分别得到含有0.5%植酸的培养基。使用1%FBS培养基将培养基稀释5倍,从而得到含有0.1%植酸的培养基。

[0125] 3.3 含有肌醇的培养基的制备

[0126] 使用微量电子天平(Sartorius公司)将50mg肌醇粉体称量至15mL容积的塑料管中,使用一次性移液管添加10mL的1%FBS培养基并使其溶解,从而得到含有0.5%肌醇的培养基。用1%FBS培养基将含有0.5%肌醇的培养基稀释5倍,制备含有0.1%肌醇的培养基。

[0127] 根据用途调节浓度,制备含有目标浓度的RICE0、植酸、肌醇的培养基。另外,作为

针对含有RICE0、植酸、肌醇的培养基的阴性对照,使用1%FBS培养基。

[0128] 3.4 含有Riceterol Esters、Ricetrienol、米胚芽油GX-N的培养基的制备

[0129] 使用微量电子天平(Sartorius公司)将100mg的Riceterol Esters (RSE)、Ricetrienol (RTN) 及米胚芽油GX-N (GX-N) 分别称量至1.5mL容积的管中,然后使用微量移液管分别添加1mL的DMSO。使用小型加热块(ASONE Corporation)加热至50℃,通过进行颠倒混合从而得到透明的RSE、RTN、GX-N的10%溶液。将450μL的DMSO添加至1.5mL容积的管中,然后加热至50℃,向其中分别添加50μL的RSE、RTN、GX-N的10%溶液,得到RSE、RTN、GX-N的1%溶液。根据用途调节浓度,制备目标浓度的RSE、RTN、GX-N的溶液。使用一次性移液管向15mL容积的塑料管中添加4.95mL的1% FBS培养基,并使用微量移液管分别添加50μL的RSE、RTN、GX-N的10%溶液及1%溶液、或者它们的梯度稀释液,从而得到分别以0.1%、0.01%、或者它们的梯度稀释液的1/100浓度含有RSE、RTN、GX-N的培养基。另外,作为针对含有RSE、RTN、GX-N的培养基的阴性对照,使用向4.95mL的1%FBS培养基中添加了50μL的DMSO的培养基。

[0130] 4 细胞培养

[0131] 以人原代毛乳头细胞(Human Follicle Dermal Papilla Cells:HFDPC)及人前列腺癌细胞(Lymph Node Carcinoma of the Prostate:LNCaP)作为试验对象。

[0132] 解冻在机柜下维持无菌状态,同时保管于液氮中的小瓶中的目标细胞,并播种于10cm培养皿(VIOLAMO公司)中。使用10mL的10%FBS培养基。以后的细胞操作均在机柜下使用乙醇除菌及火炎灭菌的基础上实施。使用CO₂培养箱(PHC公司)在37℃、5%CO₂气氛下培养3天。

[0133] 使用抽吸泵(HITEC CO.,LTD.)吸取培养后的培养细胞的上清。使用10mL容积的一次性移液管(VIOLAMO公司)将5mL的经高压釜灭菌后的杜氏PBS(-)滴加到培养皿上并清洗细胞。然后通过抽吸泵去除溶液。使用微量移液管(Thermo Fisher Scientific Inc)将0.5mL的胰蛋白酶/EDTA溶液添加至培养皿中,并静置2分钟。通过使用微量移液管进行连续的吸引排出操作使细胞悬浮,使用一次性移液管添加5mL的10%FBS培养基,从而终止反应。

[0134] 将反应终止后的溶液移入15mL容积的塑料管(VIOLAMO公司)中,使用篮(basket)式离心机(TOMY SEIKO CO.,LTD.),以1200rpm、5分钟、室温的条件进行离心从而使细胞积聚。通过抽吸泵去除溶液,使用新的一次性移液管添加10mL的10%FBS培养基并使细胞悬浮。使用全自动细胞计数仪(Bio-Rad Laboratories, Inc)计测细胞数。具体而言,将仪器附带的台盼蓝与细胞悬浊液各30μL进行混合,将混合溶液添加至专用计数片的2处,并将添加部分插入仪器内从而实施计测。根据所得到的浓度计算出稀释率,制备 1.0×10^5 细胞/mL的细胞悬浊液。

[0135] 以达到 1.0×10^5 细胞/孔的方式在24孔培养板(VIOLAMO公司)中播种目标细胞。使用CO₂培养箱在37℃、5%CO₂气氛下培养一晚。

[0136] 针对人原代毛乳头细胞(HFDPC),每孔添加1mL的含有RICE0的培养基(0.01%、0.1%、0.5%)、含有RSE的培养基(0.01%、0.1%)、含有RTN的培养基(0.01%、0.1%)或1%FBS培养基(阴性对照),使用CO₂培养箱在37℃、5%CO₂气氛下培养24小时。各组使用4孔(n=4)。

[0137] 除了将各含有米糠衍生成成分混合物的培养基变更为含有植酸的培养基(0.1%、0.5%)、含有肌醇的培养基(0.1%、0.5%)以外,以相同的方法进行细胞培养。

[0138] 针对人前列腺癌细胞(LNCaP),每孔添加1mL的含有RTN的培养基(0.01%、0.1%)、含

有GX-N的培养基(0.01%、0.1%)或0.05(v/v)%DMSO、1%FBS培养基(阴性对照),使用CO₂培养箱在37℃、5%CO₂气氛下培养24小时。各组使用4孔(n=4)。

[0139] 5 基因表达量分析

[0140] 5.1 RNA提取

[0141] 使用在4中得到的培养细胞,按照异硫氰酸胍-苯酚氯仿法(Chomczynski P and Sacchi N (1987) Anal. Biochem., 162(1): 156-159),通过以下的操作实施RNA提取。

[0142] 使用抽吸泵吸除所培养的24孔培养板的培养基,每孔添加1mL的灭菌杜氏PBS(-)并清洗掉培养基残渣。然后,再次使用抽吸泵去除溶液。

[0143] 向各孔中添加250μL的ISOGEN II(NIPPON GENE CO., LTD.),通过移液(pipetting)溶解细胞,将溶解液回收至1.5mL容积的管中。添加100μL的无核糖核酸酶蒸馏水(NIPPON GENE CO., LTD.)并利用旋涡混合器(vortex)进行混合。在室温下静置15分钟之后,使用微量高速离心机(TOMY SEIKO CO., LTD.),在12,000×g条件下并在室温下离心15分钟。以不会吸引沉淀的方式回收250μL左右的上清,并移入新的1.5mL容积的管中。添加250μL的2-丙醇(FUJIFILM Wako Chemicals Corporation),在进行颠倒混合之后,静置于室温下15分钟。

[0144] 使用微量高速离心机,在12,000×g条件下且在室温下离心15分钟。通过倾析去除上清,将吸油擦拭纸(Kimtowel)(NIPPON PAPER CRECIA CO., LTD.)抵住1.5mL容积的管口数秒以去除残液。添加500μL的75%乙醇溶液,进行颠倒混合。使用微量高速离心机,在12,000×g条件下且在室温下离心5分钟。通过倾析去除上清,将吸油擦拭纸抵住管口数秒以去除残液,然后再次添加500μL的75%乙醇,进行颠倒混合。使用微量高速离心机,在12,000×g条件下且在室温下离心5分钟。通过倾析去除上清,将吸油擦拭纸抵住管口数秒以去除水分,再次进行轻度离心,从而使溶液积聚到1.5mL容积的管底面。使用微量移液管去除底面的溶液,然后在无尘擦拭纸(Kimwipes)上以口朝下的方式使1.5mL容积的管直立并风干15分钟。向各1.5mL容积的管中添加10μL的无核糖核酸酶蒸馏水,溶解RNA。使用Epoch吸光度酶标仪(BioTek公司),计算出RNA的浓度。

[0145] 5.2 cDNA合成

[0146] 以提取出的RNA作为模板进行cDNA合成。cDNA合成使用PrimeScript RT 试剂盒(Takara Bio Inc.)。具体而言,利用M-MLV逆转录酶(Roth MJ, Tanese N and Goff SP (1985) J. Biol. Chem., 260(16): 9326-9335)变体的活性,实施以随机六聚体引物及寡聚胸腺嘧啶引物的互补部位作为起点的将全序列转换为DNA的酶法。

[0147] 使用无核糖核酸酶蒸馏水适当稀释各提取RNA,制成50μg/μL的溶液。使用微量移液管,在1.5mL容积的管中按照以下的用量制备混合液。

[0148] • 5×PrimeScript缓冲液(for Real Time(实时)) 26μL

[0149] • Oligo dT Primer(寡聚胸腺嘧啶引物) 50μM 6.5μL

[0150] • Random 6 mers(随机六聚体引物) 100μM 6.5μL

[0151] • 无核糖核酸酶蒸馏水 84.5μL

[0152] 最后在冰上添加以下物质。

[0153] • PrimeScript RT Enzyme Mix I 6.5μL

[0154] 26反应 合计 130μL

[0155] 在冷却的支架(rack)上准备8联PCR管(Thermo Fisher Scientific Inc),各添加5 μ L的所述混合液。对添加了混合液的8联PCR管的盖上各滴下50 μ g/ μ L的RNA溶液。关闭盖并进行颠倒混合或轻拍以使溶液混合,然后使用摆动式板离心机(久保田製作所)使溶液积聚在管底。使用热循环仪(Applied Biosystems公司)并按照以下的程序实施逆转录反应,然后向反应液中添加50 μ L的蒸馏水进行稀释。

[0156] I) 37 $^{\circ}$ C 15分钟

[0157] II) 85 $^{\circ}$ C 5秒

[0158] III) 4 $^{\circ}$ C 保温

[0159] 5.3 实时定量PCR(RT-qPCR)

[0160] 使用5.2中合成的cDNA文库,通过实时定量PCR(Higuchi R, Fockler C, Dollinger G and Watson R (1993) Biotechnology, 11: 1026-1030)评价各目标基因的表达量。实施利用PowerUp SYBR Green预混液(Applied Biosystems公司)的SYBR Green法(Kitahara T, Li HS and Balaban CD (2004) Hear Res., 196: 39-48)。引物参考过去的文献(Kim J, Kim M, Yun JG and Hwang J (2017), Pekmezci E, Turkoglu M (2017),及Nakamura T, Yamamura H (2018))设计以下的序列,其采购自Thermo Fisher Scientific Inc。

[0161] [表1]

[0162]	a)持家基因, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)	
	5'-CTCCTGTTTCGACAGTCAGCC-3'	(序列编号1)
	5'-TCGCCCCACTTGATTTTGA-3'	(序列编号2)
	b)靶基因, 2型5 α -还原酶(5 α -R2)	
	5'-CGCTCTACCGATACGCCAG-3'	(序列编号3)
	5'-AATTAAGCACCGATGCCCGT-3'	(序列编号4)
	c)靶基因, 血管内皮细胞生长因子(VEGF)	
	5'-CTACCTCCACCATGC-3'	(序列编号5)
	5'-ATGATTCTGCCCTCCTCC-3'	(序列编号6)
	d)靶基因, 胰岛素样生长因子-1(IGF-1)	
	5'-TTTCAAGCCACCCATTGACC-3'	(序列编号7)
	5'-GCGGGTACAAGATAAATATCCAAAC-3'	(序列编号8)

[0163] 分别使用10 μ L的用于使各目标基因扩增的正向及反向引物溶液(浓度100 μ M),用80 μ L的蒸馏水进行稀释,制备100 μ L的各引物为10 μ M的预混溶液。将以下的溶液在1.5mL容积的管中进行混合,制备反应溶液(针对一种引物套件制备一管)。

[0164] Power Up SYBR Green预混液(2 $\times$) 130 μ L

[0165] 引物 10 μ M 预混溶液 20.8 μ L

[0166] 灭菌纯化水 57.2 μ L

[0167] 合计 208 μ L

[0168] 将通过cDNA合成得到的cDNA以各2 μ L添加到PCR专用板的各孔中。使用微量移液管对添加有cDNA的PCR专用板的各孔添加8 μ L的反应溶液,通过反复进行吸引排出进行混合。使用专用的封条将专用板密封。并按照以下的程序进行反应。各目标基因的表达量可由持家基因与靶基因的循环数之差通过比较C_T法(Livak KJ and Schmittgen TD (2001))

Methods., 25 (4); 402-408) 计算出。统计分析使用大阪大学遗传信息实验中心提供的医学数据用统计分析程序MEPHAS, 实施Dunnett的多重检验。

[0169] [表2]

[0170]	第一阶段: UDG活性化	Reps: 1
		50°C 2分钟
	第二阶段: 双锁DNA聚合酶	Reps: 1
		95°C 2分钟
	第三阶段: PCR反应	Reps: 40
		95°C 3秒
		60°C 30秒
	第四阶段: 熔解曲线	Reps: 1
		95°C 15秒
		60°C 60秒
		95°C 15秒

[0171] [结果]

[0172] 图1示出在将阴性对照中的人原代毛乳头细胞 (HFDPC) 的基因表达量设为1时, 使用各浓度的RSE、RTN或RICE0进行了处理的HFDPC中的血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 基因的相对基因表达量。 $p < 0.05$ 为具有有意差。对于RSE, 以0.1%处理时, 能够确认到相较于阴性对照增加了约2倍的VEGF基因表达量, 对于RTN, 以0.01%及0.1%处理时, 能够确认到相较于阴性对照各自增加了约3倍或约6倍的VEGF基因表达量, 对于RICE0, 以0.5%处理时, 能够确认到相较于阴性对照增加了约17倍的VEGF基因表达量。

[0173] 同样地, 当分别以0.1%、0.5%的植酸或肌醇进行处理时, 对于植酸, 以0.1%处理时, 未见VEGF基因表达量的显著变化, 而以0.5%处理时, 能够确认到相较于阴性对照增加了约2倍的VEGF基因表达量。对于肌醇, 以0.1%处理时, 未见VEGF基因表达的显著变化, 而以0.5%处理时, 能够确认到相较于阴性对照增加了约1.5倍的VEGF基因表达量。对于RSE及RTN, 以比基于植酸或肌醇的单体实施处理时更低的处理浓度, 确认到VEGF基因表达量的增加。此外, 实际上, 0.5%的RICE0相当于含有约0.15%的植酸+约0.05%的肌醇的物质, 但通过0.5%的RICE0处理, 可确认到比0.5%的植酸或0.5%的肌醇的单体的处理更加显著升高的VEGF基因表达促进效果。由此暗示了, RSE、RTN及RICE0相较于植酸或肌醇的单体, 显示出优异的育毛作用, 特别是RICE0通过以植酸及肌醇为代表的其他米糠衍生成成分彼此的协同作用, 可实现显著的育毛作用。

[0174] 图2示出在将阴性对照中的HFDPC的基因表达量设为1时, 以各浓度的RSE或RICE0进行了处理的HFDPC中的胰岛素样成长因子 (IGF-1) 基因的相对基因表达量。 $p < 0.05$ 为存在有意差。对于RSE, 以0.01%及0.1%处理时, 能够确认到相较于阴性对照分别增加了约2倍或约3倍的IGF-1基因表达量, 对于RICE0, 以0.1%及0.5%处理时, 能够确认到相较于阴性对照分别增加了约4倍或约6.5倍的IGF-1基因表达量。

[0175] 同样地, 在分别以0.1%、0.5%的植酸或肌醇进行处理时, 对于植酸, 以0.1%处理时, 能够确认到虽然相较于阴性对照, IGF-1基因表达量有所增加, 但并无有意差, 而以0.5%处理时, 能够确认到相较于阴性对照增加了约6.5倍的IGF-1基因表达量, 对于肌醇, 以0.1%及0.5%处理时, IGF-1基因表达量的增加均不存在有意差。对于RSE, 能够确认到以比基于植酸或肌醇的单体的处理更低的处理浓度时IGF-1基因表达量增加。此外, 在以0.1%的RICE0 (相

当于含有约0.03%的植酸+约0.01%的肌醇的物质)进行处理时,能够确认到比基于0.1%的植酸或0.1%的肌醇的单体的处理更加显著升高的IGF-1基因表达量增加效果。由此暗示了,RSE及RICE0与植酸及肌醇相比,显示出优异的育毛作用,特别是,RICE0通过以植酸及肌醇为代表的与其他米糠衍生成分彼此的协同作用,实现显著的育毛作用。

[0176] 图3示出当将阴性对照中的人前列腺癌细胞(LNCaP)的基因表达量设为1时,以各浓度的GX-N或RTN进行了处理的LNCaP中的2型5 α -还原酶(5 α -R2)基因的相对基因表达量。 $p < 0.05$ 为存在有意差。对于GX-N,以0.01%及0.1%处理时,能够确认到相较于阴性对照分别减少了约0.85倍或约0.75倍的5 α -R2基因表达量,对于RTN,以0.1%处理时,能够确认到相较于阴性对照减少了约0.7倍的5 α -R2基因表达量。

[0177] [实施例2:毛乳头细胞增殖率的确认]

[0178] [试验方法]

[0179] 除了将所使用的细胞设为人原代毛乳头细胞(HFDPC)以外,以与实施例1相同的方法制备 1.0×10^5 细胞/mL的细胞悬浊液。将所得到的细胞悬浊液,以达到 1.0×10^4 细胞/孔的方式将细胞播种到96孔培养板(VIOLAMO公司)中,并使用CO₂培养箱在37℃、5%CO₂气氛下培养一晚。分别对每孔添加0.1mL的含有0.005%、0.01%、0.05%、0.1%RICE0的培养基或1%FBS培养基(阴性对照),并使用CO₂培养箱在37℃、5%CO₂气氛下培养24小时。各组使用5孔(n=5)。在进行培养之后,去除培养基,将包含10%四唑盐试剂(CCK-8)的培养基(0%FBS)以100 μ L/孔的方式进行添加,在CO₂培养箱中培养2小时。使用微量酶标仪(TECAN公司),测定在450nm下的吸光度。计算出将阴性对照中的细胞数设为100%时的相对细胞比例。统计分析采用大阪大学遗传信息实验中心提供的医药学数据用统计分析程序MEPHAS,实施Dunnett的多重检验。

[0180] 除了将含有RICE0的培养基变更为含有植酸的培养基(0.016%、0.06%、0.25%、1%)或含有肌醇的培养基(0.016%、0.06%、0.25%、1%)以外,以相同的方式进行培养。

[0181] [结果]

[0182] 图4示出将HFDPC以各浓度的RICE0进行了处理时的细胞增殖率。 $p < 0.05$ 为存在有意差。能够确认到以0.01%、0.05%及0.1%RICE0进行了处理时,细胞数显著增加,特别是以0.1%RICE0处理时显示出约150~160%的显著的细胞增殖。

[0183] 同样地,分别以0.016%、0.06%、0.25%、1%的植酸或肌醇进行处理时,对于植酸,能够确认到在以0.016%、0.06%、0.25%处理时显示出约120~130%的细胞增殖,而通过1%处理显示出直至约70%的细胞数的减少。此外,对于肌醇,能够确认到在以0.06%、0.25%、1%处理时,细胞数以依赖浓度的方式阶段性地显著增加至约120%~约150%。以0.1%的RICE0(相当于含有约0.03%的植酸+约0.01%的肌醇)处理时,能够确认到相较于以基于0.06%的植酸或0.016%的肌醇的单体的处理时更显著的细胞增殖效果。由此暗示了RICE0通过以植酸及肌醇为代表的与其他米糠衍生成分的协同作用,实现显著的育毛作用。

[0184] [实施例3:肌醇及植酸的混合物所带来的对VEGF基因表达量的影响的验证]

[0185] [试验材料]

[0186] 使用以下两种经提纯的肌醇及经提纯的植酸。

[0187] • 植酸(产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0188] • 肌醇(产品名称,TSUNO CO., LTD.制造)

[0189] 进行肌醇(IN)与植酸(PA)的掺合比(IN:PA=约1:3)所带来的对VEGF基因表达量的

影响的验证。将含有0.5%肌醇的培养基及含有0.5%植酸的培养基以1:3的比例进行混合,得到含有0.5% IN/PA混合物的培养基。使用1%FBS培养基将该培养基稀释5倍或10倍,得到含有0.1% IN/PA混合物的培养基及含有0.05% IN/PA混合物的培养基。将各含有IN/PA混合物的培养基中的肌醇与植酸的含有比例示于表3。

[0190] [表3]

[0191]	IN/PA混合物(%)	0.05	0.1	0.5
	IN (%)	0.0125	0.025	0.125
	PA (%)	0.0375	0.075	0.375

[0192] 除了针对人原代毛乳头细胞(HFDPC),每孔添加1mL的含有植酸的培养基(0.1%、0.5%)、含有肌醇的培养基(0.1%、0.5%)、含有IN/PA混合物的培养基(0.05%、0.1%、0.5%)或1%FBS培养基(阴性对照)以外,以与实施例1相同的方式进行细胞培养及VEGF基因表达量分析。

[0193] [结果]

[0194] 图5示出在将阴性对照中的人原代毛乳头细胞(HFDPC)的基因表达量设为1时,以各浓度的植酸(PA)、肌醇(IN)、或肌醇与植酸的混合物(IN/PA混合物)进行了处理的HFDPC中的血管内皮细胞生长因子(VEGF)基因的相对基因表达量。 $p < 0.05$ 为存在有意差。当分别以0.1%、0.5%的植酸或肌醇进行处理时,对于植酸,以0.1%处理时,未见VEGF基因表达量的显著变化,而以0.5%处理时,能够确认到相较于阴性对照增加了约2倍的VEGF基因表达量。对于肌醇,以0.1%处理时,未见VEGF基因表达量的显著变化,以0.5%处理时,能够确认到相较于阴性对照增加了约1.5倍的VEGF基因表达量。对于肌醇与植酸的混合物,能够确认到以比基于植酸或肌醇的单体的处理更低的处理浓度的0.05%处理及0.1%处理,增加了约2.5倍或约4倍的VEGF基因表达量。由此能够确认通过混合使用肌醇与植酸,与使用植酸或肌醇的单体的情况相比,由于肌醇及植酸的协同作用,可以以低浓度得到显著提高的VEGF基因表达的促进效果。

[0195] 另外,本发明并不限于上述各实施方案及实施例,能够在权利要求的范围内进行各种变更,将不同实施方案中分别公开的技术手段适当组合所得到的实施方案,也涵盖在本发明的技术范围内。此外,本说明书中记载的学术文献及专利文献均作为参考引用至本说明书中。

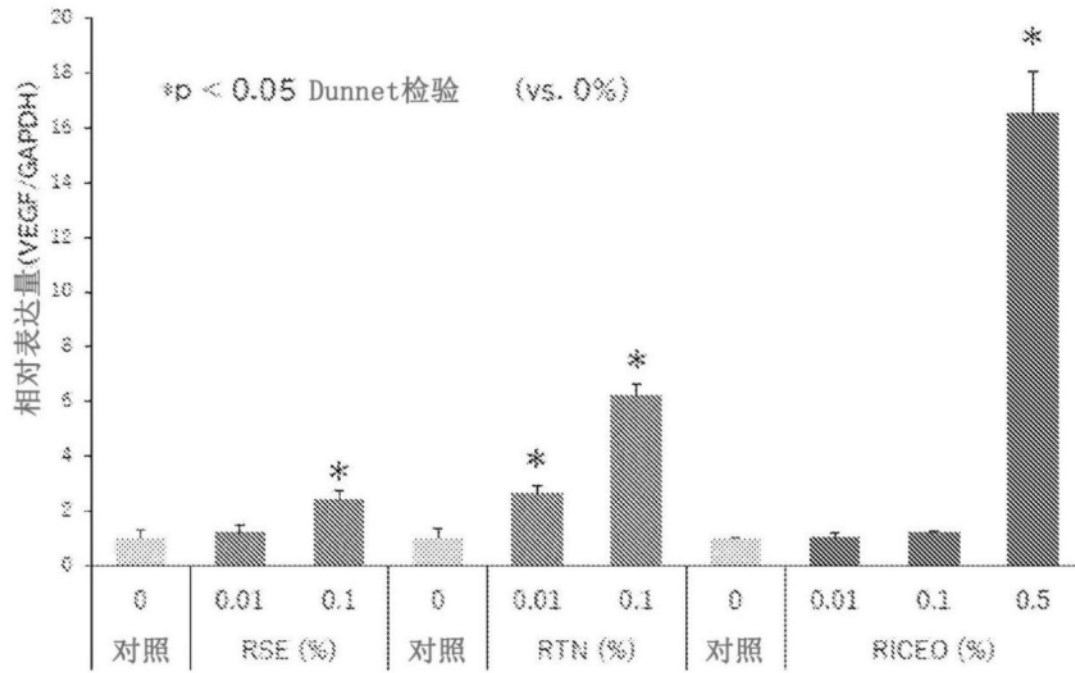


图1

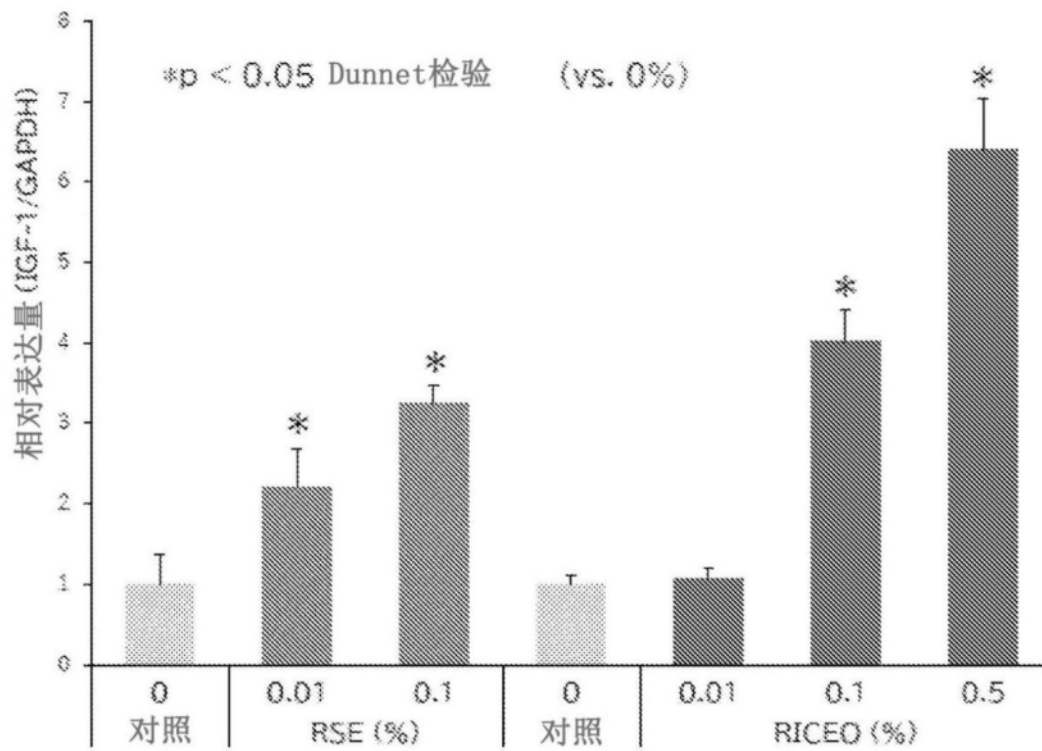


图2

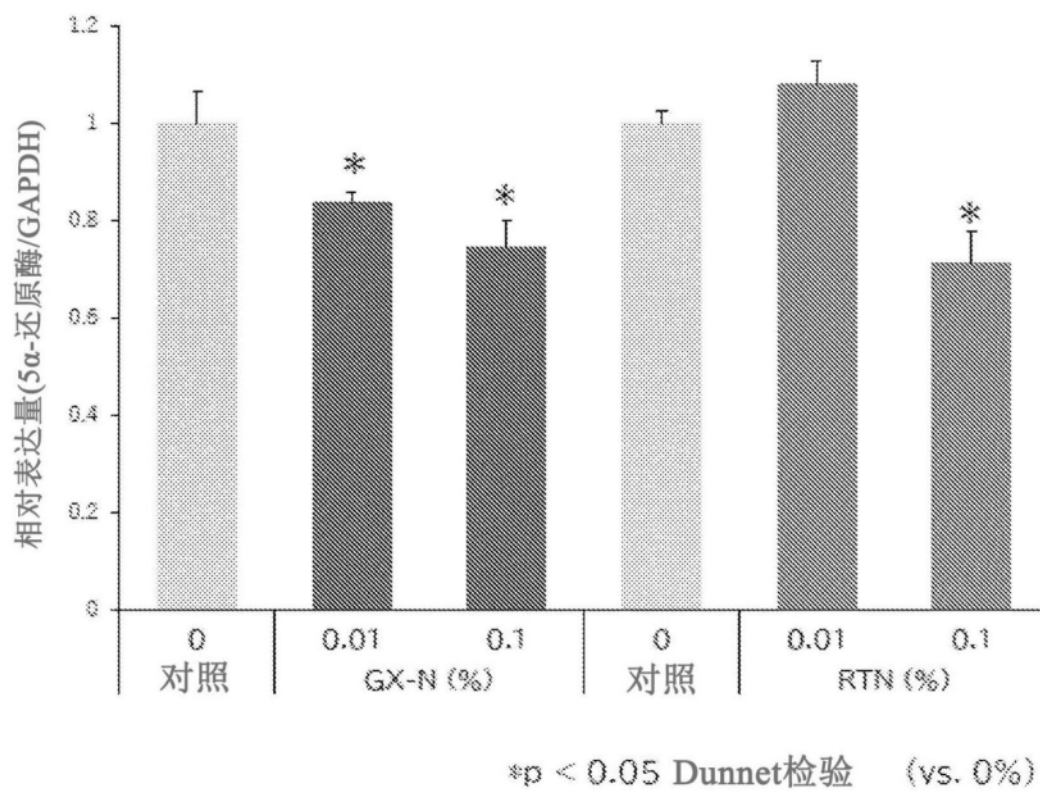


图3

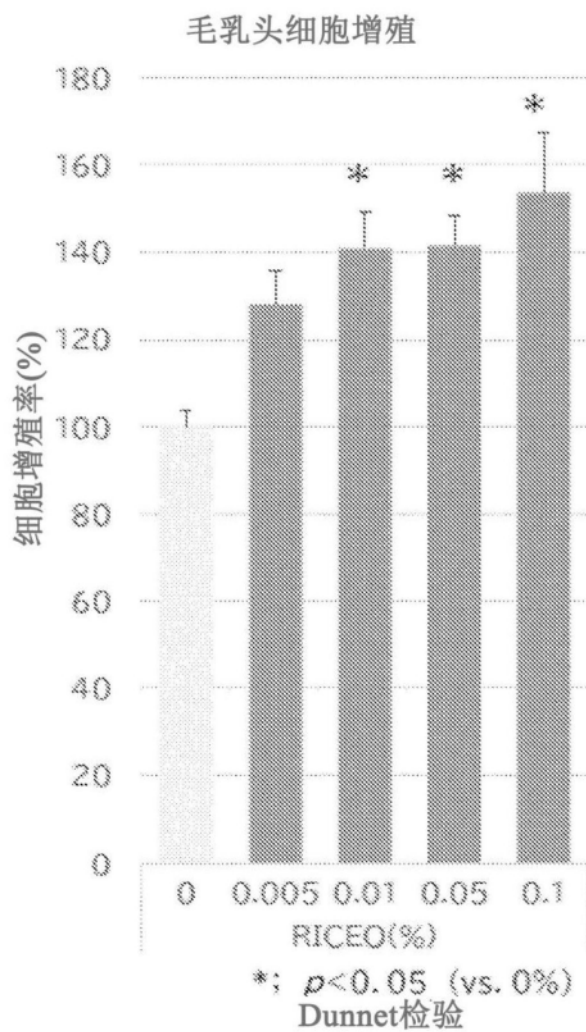


图4

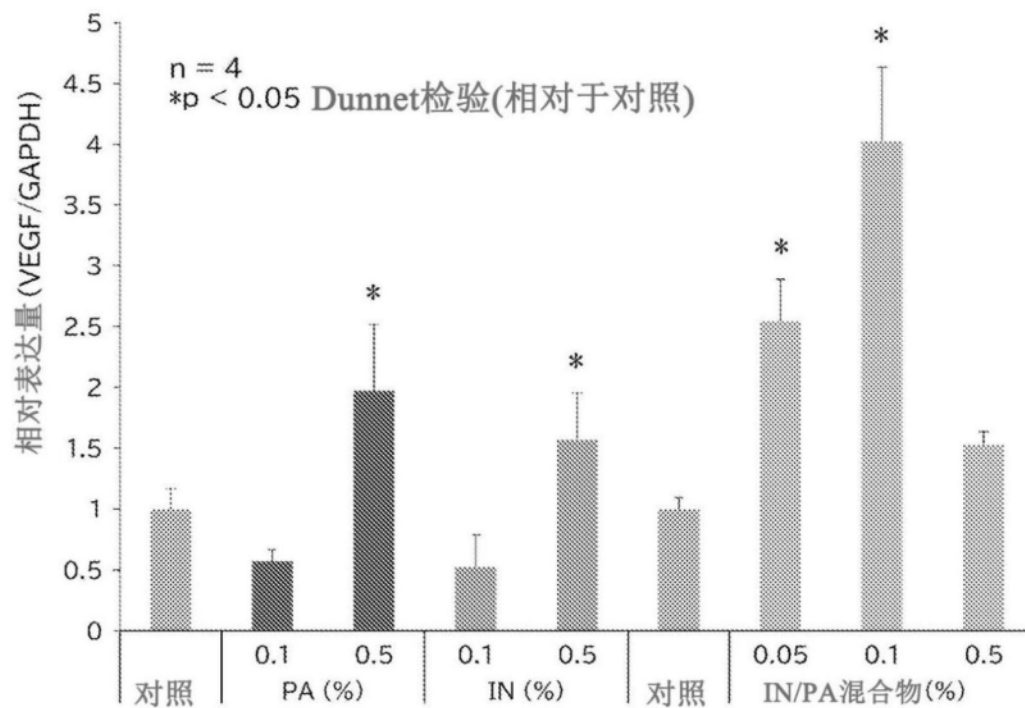


图5