



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111818812 B

(45) 授权公告日 2023.09.26

(21) 申请号 201980017850.3

(72) 发明人 辻亮平 七尾宗龙 藤井敏雄

(22) 申请日 2019.03.15

小久保健

(65) 同一申请的已公布的文献号

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限公司 11219

申请公布号 CN 111818812 A

专利代理人 鲁雯雯 金龙河

(43) 申请公布日 2020.10.23

(51) Int.CI.

C12N 1/20 (2006.01)

2018-048311 2018.03.15 JP

A23L 33/135 (2016.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 35/744 (2015.01)

2020.09.08

A61P 17/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 17/16 (2006.01)

PCT/JP2019/010773 2019.03.15

(56) 对比文件

(87) PCT国际申请的公布数据

WO 2009066537 A1, 2009.05.28

W02019/177139 JA 2019.09.19

审查员 张英婧

(73) 专利权人 麒麟控股株式会社

权利要求书1页 说明书11页 附图2页

地址 日本东京都

(54) 发明名称

皮肤状态改善用组合物

(57) 摘要

本发明的目的是提供对皮肤状态的改善有效的新型食品原材料。根据本发明，可提供一种含有乳球菌属细菌作为有效成分的皮肤状态改善用组合物。作为所述乳球菌属细菌的例子，可以列举乳酸乳球菌。另外，所述皮肤状态为例如皮肤发红的增加和皮肤水分量的降低等因光暴露而变差的皮肤状态。

1. 乳球菌属细菌在制造皮肤状态的改善剂中的应用,所述乳球菌属细菌为乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805。
2. 如权利要求1所述的应用,其中,皮肤状态为因光暴露而变差的皮肤状态。
3. 如权利要求2所述的应用,其中,因光暴露而变差的皮肤状态为皮肤水分量的降低和/或皮肤发红的增加。
4. 如权利要求1~3中任一项所述的应用,其中,乳球菌属细菌为非活菌的形态。
5. 如权利要求1~3中任一项所述的应用,其中,所述改善剂的人每天的有效摄入量以干燥菌体计为 $0.5\sim 1000\text{mg}$ 。
6. 如权利要求5所述的应用,其中,人每天的有效摄入量以菌数计为 $1\times 10^8\sim 1\times 10^{14}$ 个。
7. 如权利要求1~3中任一项所述的应用,其中,所述改善剂为配合了以干燥菌体计为 $0.5\sim 1000\text{mg}$ 的乳球菌属细菌的单元包装形态。
8. 如权利要求7所述的应用,其中,所述单元包装形态中配合的乳球菌属细菌以菌数计为 $1\times 10^8\sim 1\times 10^{14}$ 个。
9. 如权利要求1~3中任一项所述的应用,其中,所述改善剂为食品组合物。
10. 一种非治疗目的的皮肤状态的改善方法,其包括如下步骤:使有需要的对象摄入有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物,所述乳球菌属细菌为乳酸乳球菌乳酸亚种 JCM5805。

## 皮肤状态改善用组合物

[0001] 相关申请的参考

[0002] 本申请享有作为在先的日本申请的日本特愿2018-48311(申请日:2018年3月15日)的优先权,其全部公开内容通过引用作为本说明书的一部分。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及用于皮肤状态的改善的组合物。

### 背景技术

[0004] 皮肤由自外侧起的表皮、真皮、皮下组织构成,起到保持体内水分、保护生物体免受物理/化学刺激、病原微生物侵害的作用。表皮从深层向表层分为基底层、有棘层、颗粒层、角质层。角质层中角质细胞层层叠数层至数十层,形成坚固的角质层屏障,保持水分,保护肌肤不受干燥和外部刺激。由于干燥以及紫外线等外在因素、以及年龄增加、老化、内脏疾病以及压力等内在因素而导致角质层的水分含量减少时,皮肤的屏障功能降低,对外部刺激的感受性提高,变为紫外线、过敏原等外部刺激容易侵入的状态,不仅导致干燥状态,还导致各种各样的皮肤状态的变差。

[0005] 紫外线根据波长可分为UVA、UVB和UVC,UVB透过表皮到达真皮上层,UVA到达真皮深部。由UVB照射引起的晒伤(Sunburn)从暴露的数小时后开始,24小时后出现高峰,轻度的情况下为轻微的灼热感和红斑,若达到重度,则会形成伴有浮肿、水疱、糜烂的暗红色斑并伴有强烈的灼热感。在产生红斑的皮肤组织中观察到真皮上皮层的毛细血管的扩张和血管内皮细胞的肿胀。从恢复正常皮肤功能和美容的观点考虑,也期望在早期改善由干燥和紫外线引起的皮肤状态的变差。

[0006] 迄今为止,已经提出了对皮肤功能的改善有效果的天然物质来源的食品原材料。例如,作为微生物来源的食品原材料,已知有具有皮肤功能改善效果的属于乳酸乳球菌的乳酸菌的乳发酵物(专利文献1)。但是,专利文献1的技术是预防、减轻由压力引起的皮肤血流减少的技术,而不是以紫外线损伤所引起的皮肤功能的改善为目的的技术。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献1:日本特开2006-69940号公报

### 发明内容

[0010] 本发明目的在于提供对皮肤状态的改善有效的新型食品原材料。

[0011] 本发明人发现作为乳球菌属细菌的一种的乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805具有对小鼠和人的皮肤状态的改善效果。本发明基于这些发现而完成。

[0012] 根据本发明,提供以下发明。

[0013] [1]一种皮肤状态改善用组合物和皮肤状态的改善剂,其含有乳球菌属细菌作为有效成分。

[0014] [2]如上述[1]所述的组合物和用剂,其中,皮肤状态为因光暴露而变差的皮肤状态。

[0015] [3]如上述[1]或[2]所述的组合物和用剂,其中,因光暴露而变差的皮肤状态为皮肤水分量的降低和/或皮肤发红的增加。

[0016] [4]如上述[1]～[3]中任一项所述的组合物和用剂,其中,以非活菌的形态含有乳球菌属细菌。

[0017] [5]如上述[1]～[4]中任一项所述的组合物和用剂,其中,乳球菌属细菌为乳酸乳球菌。

[0018] [6]如上述[1]～[5]中任一项所述的组合物和用剂,其中,乳球菌属细菌为乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805。

[0019] [7]如上述[1]～[6]中任一项所述的组合物和用剂,其含有人每天的有效摄入量的乳球菌属细菌。

[0020] [8]如上述[7]所述的组合物和用剂,其中,人每天的有效摄入量以干燥菌体计为0.5～1000mg。

[0021] [9]如上述[7]所述的组合物和用剂,其中,人每天的有效摄入量以菌数计为 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{14}$ 个。

[0022] [10]如上述[1]～[9]中任一项所述的组合物和用剂,其为单元包装形态。

[0023] [11]如上述[1]～[10]中任一项所述的组合物和用剂,其为食品组合物。

[0024] [12]一种皮肤状态的改善方法,其包括如下步骤:使有需要的对象摄入有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物、或者对有需要的对象给药有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物。

[0025] [13]乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物在制造皮肤状态的改善剂中的应用、作为皮肤状态的改善剂的应用、或者在上述[12]的方法中的应用。

[0026] [14]一种乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物,其用于皮肤状态的改善、或者用于上述[12]的方法。

[0027] [15]一种光线性皮肤病的治疗、预防和改善用组合物以及光线性皮肤病的治疗剂、预防剂和改善剂,其含有乳球菌属细菌作为有效成分。

[0028] [16]一种光线性皮肤病的治疗、预防和改善方法,其包括如下步骤:使有需要的对象摄入有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物、或者对有需要的对象给药有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物。

[0029] [17]乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物在制造光线性皮肤病的治疗剂、预防剂和改善剂中的应用、作为光线性皮肤病的治疗剂、预防剂和改善剂的应用、或者在上述[16]所述的方法中的应用。

[0030] [18]一种乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物,其用于光线性皮肤病的治疗、预防或改善、或者用于上述[16]的方法。

[0031] 上述[1]和[15]的组合物在本说明书中有时称为“本发明的组合物”,上述[1]和[15]的用剂在本说明书中有时称为“本发明的用剂”。

[0032] 本发明的组合物和用剂以作为人类有长年食用经验的食品原材料的乳酸菌为有效成分。因此,本发明的组合物和用剂能够在皮肤状态的改善中使用同时不必担心副作用,

从能够长期摄入的观点考虑是有利的。

## 附图说明

[0033] 图1为示出乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805与跟该菌株同等的菌株(来自该菌株的菌株和该菌株来源的菌株)之间的关系的图。

[0034] 图2为示出了摄入例1中的乳酸菌(JCM5805)所带来的皮肤损伤(红斑)的改善效果的图。A:示出了紫外线照射前的红斑值的图。B:示出了紫外线照射3天后的红斑值的图。用平均士标准偏差表示.\*表示p<0.05(Tukey-Kramer检验)。

[0035] 图3为示出了摄入例1中的乳酸菌(JCM5805)所带来的皮肤损伤(皮肤干燥)的改善效果的图。A:示出了紫外线照射前的皮肤水分量的图。B:示出了紫外线照射3天后的皮肤水分量的图。用平均士标准偏差表示.\*表示p<0.05(Tukey-Kramer检验)。

[0036] 图4为示出了摄入例1中的乳酸菌(JCM5805)所带来的皮肤损伤(皮肤干燥)的改善效果的图。A:示出了紫外线照射前的皮肤水分蒸发量的图。B:示出了紫外线照射3天后的皮肤水分蒸发量的图。用平均士标准偏差表示.\*表示p<0.05(Tukey-Kramer检验)。

## 具体实施方式

[0037] 在本发明中用作有效成分的乳球菌属细菌是属于乳球菌(*Lactococcus*)属的乳酸球菌。作为乳球菌属细菌,可以列举乳酸乳球菌乳酸亚种(*Lactococcus lactis* subsp.*lactis*)、格氏乳球菌(*Lactococcus garvieae*)、乳酸乳球菌乳脂亚种(*Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*)以及乳酸乳球菌叶蝉亚种(*Lactococcus lactis* subsp.*hordniae*),优选乳酸乳球菌乳酸亚种。

[0038] 作为乳球菌属细菌的具体例子,例如,可以列举乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805、乳酸乳球菌乳酸亚种JCM20101、乳酸乳球菌乳酸亚种NBRC12007、乳酸乳球菌乳酸亚种NRIC1150、格氏乳球菌NBRC100934、乳酸乳球菌乳脂亚种JCM16167、乳酸乳球菌乳脂亚种NBRC100676、乳酸乳球菌叶蝉亚种JCM1180以及乳酸乳球菌叶蝉亚种JCM11040,优选为乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805以及乳酸乳球菌乳酸亚种JCM20101,特别优选为乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805。

[0039] 在上述的乳酸菌株中,JCM菌株可以从理化学研究所生物资源中心微生物材料开发室(<http://jcm.brc.riken.jp/ja/>)获得,NBRC菌株可以从独立行政法人产品评价技术基础机构生物遗传资源部门(<http://www.nbrc.nite.go.jp>)获得,NRIC菌株可以从东京农业大学菌株保存室(<http://nodaiweb.university.jp/nric/>)获得。另外,在本发明中,除了上述具体的菌株,还可以使用与乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805、乳酸乳球菌乳酸亚种JCM20101、乳酸乳球菌乳酸亚种NBRC12007、乳酸乳球菌乳酸亚种NRIC1150、格氏乳球菌NBRC100934、乳酸乳球菌乳脂亚种JCM16167、乳酸乳球菌乳脂亚种NBRC100676、乳酸乳球菌叶蝉亚种JCM1180以及乳酸乳球菌叶蝉亚种JCM11040同等的菌株。在此,同等菌株是指来自上述菌株的菌株、上述菌株来源的菌株或该菌株的后代菌株。同等菌株有时也保存在其它的菌株保存机构中。图1示出来自乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805的菌株和乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805来源的菌株。与图1中记载的乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805同等的菌株也可以用作本发明的有效成分,在本发明中,在表述为乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805的情况下,也包

含这些同等菌株。能够用作本发明的有效成分的其它乳酸菌株可以从理化学研究所生物资源中心微生物材料开发室(茨城县筑波市高野台3丁目1番地1号)、美国典型培养物保藏中心(American type culture collection,美国)、独立行政法人产品评价技术基础机构(千叶县木更津市かずさ鎌足2丁目5番8号)、东京农业大学菌株保存室(东京都世田谷区樱丘1丁目1番1号)等获得。

[0040] 作为本发明的有效成分的乳球菌属细菌也可以是培养物的形态。培养物是指活菌体、非活菌体、活菌体或非活菌体的破碎物、活菌体或非活菌体的冻干物、该冻干物的破碎物、培养液、培养液提取物等,也包含乳球菌属细菌的一部分、乳球菌属细菌的处理物。在此,该处理物例如包含:通过酶处理、热处理等对乳球菌属细菌进行处理后的处理物,或者对该处理后的处理物进行乙醇沉淀并回收而得到的物质。

[0041] 乳球菌属细菌的培养可以使用公知的培养基通过公知的方法进行。作为培养基,可以使用MRS培养基、GAM培养基、LM17培养基,适当添加无机盐类、维生素、氨基酸、抗生素、血清等后使用即可。培养在25~40℃下进行数小时~数天即可。

[0042] 培养后,通过离心分离、过滤来收集乳球菌属细菌菌体。以非活菌的形式使用的情况下,也可以利用高压灭菌器等杀菌灭活后使用。

[0043] 本发明的组合物和用剂可以单独提供作为有效成分的乳球菌属细菌,或者也可以将作为有效成分的乳球菌属细菌与其它成分(例如制剂添加物)混合后提供。本发明的组合物和用剂中的乳球菌属细菌的配合量可以根据其目的、用途、形态、剂型、症状、体重等而任意决定,虽然本发明不限于此,但作为其含量,可以以相对于总量为0.0005~99% (w/w)的含量配合,进一步优选以0.001~50% (w/w)的含量配合。在本发明中,本发明的用剂可以设定为含有乳球菌属细菌的用剂,本发明的组合物可以设定为含有乳球菌属细菌和其它成分的组合物。

[0044] 本发明的组合物和用剂用于皮肤状态的改善。在本发明中,“皮肤状态”以包括正常的皮肤状态和变差的皮肤状态的含义使用。皮肤状态可以以皮肤发红和皮肤水分量中的任意一者或两者作为指标进行评价。皮肤发红可以根据公知的方法(例如,红斑值的测定、色差的测定和血红蛋白量指数的测定)来测定。另外,皮肤水分量例如可以根据水分量的测定和水分蒸发量的测定等公知的方法来测定。水分量可以通过静电容量法测定。另外,水分蒸发量可以通过根据假设从皮肤、物体的表面蒸发的水分按照菲克定律扩散时通过各传感器的水分的温度差、湿度差计算蒸发量的方法来测定。

[0045] 在本发明中,“皮肤状态的改善”意味着使皮肤的状态成为更好的状态,不仅包含改善变差的皮肤状态,还包含防止变差的皮肤状态的进一步变差,此外,不仅包含改善正常的皮肤状态,还包含防止正常的皮肤状态的变差。皮肤状态的改善可以以皮肤发红和皮肤水分量中的任意一者或两者作为指标进行评价,在观察到皮肤发红减少和皮肤水分量增加中的任意一者或两者的情况下,可以评价为皮肤状态得到了改善。

[0046] 在本发明中,“变差的皮肤状态”是指由于日常生活中的刺激而使皮肤受到损伤后的状态,作为日常生活中的刺激,可以列举光暴露、干燥或湿度的变化、气温的变化、对天然物质或化学物质等异物的暴露等外部刺激、睡眠、饮食等生活习惯的紊乱。另外,变差的皮肤状态可以以皮肤发红和皮肤水分量中的任意一者或两者作为指标来进行评价,在观察到皮肤发红增加和皮肤水分量降低中的任意一者或两者的情况下,可以评价为变差的皮肤状

态。在此,皮肤发红增加和皮肤水分量降低可以以正常的皮肤状态为基准,与正常的皮肤相比发红增加、与正常的皮肤相比水分量减少表示变差的皮肤状态。即,作为变差的皮肤状态,可以列举皮肤发红增加的状态、皮肤水分量降低的状态。需要说明的是,皮肤发红增加的状态是肌肤带有红色的状态,也包含所谓的红脸、潮热的状态,皮肤水分量降低的状态是肌肤干燥的状态。另外,正常的皮肤状态可以换言之为皮肤的屏障功能正常发挥功能的状态,该状态是没有或很少有干巴巴、紧绷、潮热等自身感觉的状态。

[0047] 作为可利用本发明的组合物和用剂改善的皮肤状态的典型例子,可以列举由于光暴露而变差的皮肤状态。光暴露是日常生活中通常的光暴露或超过通常的光暴露的光暴露(例如,晒伤),光的波长没有限制,包含日常光,但是,优选为紫外线、特别是被称为UVB的波长为315~280nm的光。光暴露可以通过紫外线照射量来限定,超过日常生活中的光暴露的光暴露可以设定为超过日常生活中的紫外线照射量的光暴露。

[0048] 在本发明中,“变差的皮肤状态”可以换言之为光线性皮肤病(photodermatosis)。因此,根据本发明,可提供含有乳球菌属细菌作为有效成分的、光线性皮肤病的治疗、预防和改善用组合物、以及光线性皮肤病的治疗剂、预防剂和改善剂。本发明中的“光线性皮肤病”以包含日光性皮炎(solar dermatitis)、晒伤(sunburn)、光老化(photoaging)、光过敏(photosensitivity)的含义使用。

[0049] 本发明的组合物和用剂可以以药物(例如,药物组合物)、准药物(医薬部外品)、食品、饲料等形态提供,可以根据下述的记载来实施。

[0050] 作为本发明的有效成分的乳球菌属细菌由于具有皮肤状态的改善效果,因此可以使因日常生活、野外活动等而使皮肤受到损伤的对象、容易受到损伤的对象摄入、或者对这些对象给药。摄入对象和给药对象并不限于人,也可以是除人以外的哺乳动物(牛、马等家畜或狗、猫等宠物)。

[0051] 在将作为本发明的有效成分的乳球菌属细菌以食品的形式提供的情况下,可以将其直接以食品的形式提供,或者将其包含在食品中提供。这样提供的食品为含有有效量的本发明的有效成分的食品。在本说明书中,“含有有效量”的本发明的有效成分是指在摄入各个食品的通常食用的量的情况下能够摄入后述范围内的本发明的有效成分的含量。另外,“食品”以包含健康食品、功能性食品、营养辅助食品、保健功能食品(例如特定保健用食品、营养功能食品、功能声称食品)、特别用途食品(例如幼儿用食品、孕产妇用食品、病人用食品)以及补充剂的含义使用。需要说明的是,使除人以外的动物摄入作为本发明的有效成分的乳球菌属细菌的情况下,本发明中所谓的食品作为饲料使用。即,在本发明中,“食品”以包含“饲料”的含义使用。

[0052] 作为本发明有效成分的乳球菌属细菌具有皮肤状态的改善效果,因此可以包含在日常摄入的食品中,或者可以作为补充剂提供。即,本发明的组合物和用剂可以以食品的形态提供。这种情况下,本发明的组合物和用剂可以预先规定了每餐摄入的量的单元包装形态来提供。作为每餐的单元包装形态,例如可以列举用袋、包装、罐、瓶等来规定一定量的形态。为了更好地发挥出本发明的组合物和用剂的各种作用,可以按照后述的乳球菌属细菌的每次的摄入量来确定每餐的摄入量。本发明的食品可以在包装上显示与摄入量相关的说明事项,或者也可以与记载说明事项的文件等一起提供。

[0053] 单元包装形态的预先规定的每餐的摄入量可以是每天的有效摄入量,也可以是将

每天的有效摄入量分为2次或2次以上(优选2次或3次)后的摄入量。因此,在本发明的组合物和用剂的单元包装形态中,可以以后述的人每天的摄入量配合乳球菌属细菌,或者以后述的人每天的摄入量的二分之一或三分之一的量配合乳球菌属细菌。为了便于摄入,本发明的组合物和用剂优选以每餐的摄入量为每天的有效摄入量的“每餐的单元包装形态”来提供。

[0054] “食品”的形态没有特别限制,例如可以是饮料的形态、半液体或凝胶状的形态,也可以是固体或粉末状的形态。另外,作为“补充剂”,可以列举通过在本发明的有效成分中加入赋形剂、粘合剂等并捏合、然后进行压片而制造的片剂或封入胶囊等中而得到的胶囊剂。

[0055] 本发明提供的食品只要含有本发明的有效成分,就没有特别限制,例如可以例示:清涼饮料水、碳酸饮料、含果汁饮料、含蔬菜汁饮料、含果汁和蔬菜汁饮料、牛奶、豆乳、乳饮料、饮料型酸奶、饮料型果冻、咖啡、可可、茶饮料、营养饮料、运动饮料、矿泉水、近水(near water)等非酒精饮料;饭类、面类、面包类和意大利面类等含碳水化合物的饮料食品;饼干、蛋糕、巧克力等西式点心类,馒头或羊羹等日式点心类,糖果类、口香糖类、酸奶、果冻或布丁等冷点心或冰点心,零食点心等各种点心类;威士忌、波旁威士忌、烈酒、利口酒、葡萄酒、果酒、日本酒、中国酒、烧酒、啤酒、酒精度数为1%以下的非酒精啤酒、发泡酒、其他杂酒、白酒等酒精饮料;使用了鸡蛋的加工品、鱼贝类或畜肉(包含肝等内脏)的加工品(包含珍馐)、汤类等加工食品、浓厚流食(濃厚流動食)等流食等。需要说明的是,矿泉水包含发泡矿泉水和非发泡矿泉水中的任意一种。

[0056] 作为茶饮料,包含发酵茶、半发酵茶和不发酵茶中的任意一种,例如可以列举红茶、绿茶、大麦茶、玄米茶、煎茶、玉露茶、焙茶、乌龙茶、姜茶、普洱茶、路易波士茶、玫瑰茶、菊花茶、花草茶(例如薄荷茶和茉莉花茶)。

[0057] 作为含果汁饮料、含果汁和蔬菜汁饮料中使用的水果,例如可以列举苹果、桔子、葡萄、香蕉、梨、桃子、芒果、巴西莓、蓝莓和梅子。另外,作为含蔬菜汁饮料、含果汁和蔬菜汁饮料中使用的蔬菜,例如可以列举西红柿、胡萝卜、芹菜、南瓜、黄瓜和西瓜。

[0058] 作为本发明有效成分的乳球菌属细菌的摄入量可以根据摄入对象的性别、年龄和体重、症状、摄入时间、剂型、给药途径以及组合的药剂等来确定。以皮肤状态的改善为目的而摄入乳球菌属细菌的情况下,人每天的摄入量以干燥菌体计例如可以设定为0.5~1000mg,优选设定为5~500mg,更优选设定为10~300mg,进一步优选设定为10~100mg,特别优选设定为约50mg。另外,以皮肤状态的改善为目的而摄入乳球菌属细菌的情况下的人每天的摄入量以菌数计例如可以设定为 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{14}$ 个,优选设定为 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{13}$ 个,更优选设定为 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ 个,特别优选设定为约 $1 \times 10^{11}$ 个。对摄入次数没有特别限制,可以一天一次摄入上述有效摄入量,也可以分几次摄入。另外,关于摄入时间也没有特别的限制,可以在对象容易摄入的时期摄入。需要说明的是,上述乳球菌属细菌的摄入量和摄入时间以及下述的摄入期间适用于以非治疗目的和治疗目的中的任意一种目的使用作为本发明的有效成分的乳球菌属细菌的情况,在治疗目的的情况下,摄入可以理解为给药。

[0059] 本发明的组合物和用剂可以通过长期摄入而更好地发挥其效果,例如可以持续摄入3天以上,优选持续摄入6天以上,更优选持续摄入10天以上。在此,“持续”意味着每天持续摄入。以包装形态提供本发明的组合物和用剂的情况下,为了持续摄入,可以将恒定期间

(例如,1周)的有效摄入量作为一组来提供。

[0060] 由于本发明的组合物和用剂利用作为人类有长年食用经验的食品原材料的乳酸菌作为有效成分,因此即使持续使用也不用担心副作用,安全性高。因此,将本发明的组合物和用剂与现有的皮肤状态改善剂组合使用时,可以减少现有药剂的用量,进而可以减轻或消除现有药剂的副作用。与其它药剂组合使用时,可以将其它药剂与本发明的组合物和用剂分别制备,也可以将其它药剂与本发明的组合物和用剂(或乳球菌属细菌)配合在同一组合物中。

[0061] 本发明的组合物和用剂以及食品上可以添加具有皮肤状态的改善效果的标记。在这种情况下,为了使消费者容易理解,可以在本发明的组合物和用剂以及食品上添加以下的一部分或全部标记。需要说明的是,不言而喻的是,在本发明中,“皮肤状态的改善”以包含以下的标记的含义使用。

- [0062] • 对于担心晒伤的人
- [0063] • 对于担心日常生活中肌肤受损的人
- [0064] • 对于担心肌肤干燥的人
- [0065] • 对于担心肌肤潮热的人
- [0066] • 对于担心肌肤红斑的人
- [0067] • 对于担心肌肤发红的人
- [0068] • 对于担心红脸的人
- [0069] • 对于担心手粗糙的人

[0070] 根据本发明,可提供一种皮肤状态的改善方法,其包括如下步骤:使有需要的对象摄入有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物、或者对有需要的对象给药有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物。根据本发明,还可提供一种光线性皮肤病的治疗、预防和改善方法,其包括如下步骤:使有需要的对象摄入有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物、或者对有需要的对象给药有效量的乳球菌属细菌或含有所述有效量的乳球菌属细菌的组合物。摄入或给药的对象是包含人的哺乳动物,优选为人。本发明的皮肤状态的改善方法和本发明的治疗、预防和改善方法,可以根据关于本发明的组合物和用剂以及本发明的有效成分的记载来实施。

[0071] 根据本发明,可提供乳球菌属细菌或者含有所述乳球菌属细菌的组合物在制造皮肤状态的改善用组合物中的应用、或者在制造皮肤状态的改善剂中的应用。根据本发明,还可提供乳球菌属细菌或者含有所述乳球菌属细菌的组合物在制造光线性皮肤病的治疗、预防或改善用组合物中的应用、或者在光线性皮肤病的治疗剂、预防剂或改善剂中的应用。本发明的应用可以根据关于本发明的组合物和用剂以及本发明的有效成分的记载来实施。

[0072] 根据本发明,还可提供乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物作为用于皮肤状态的改善的皮肤状态的改善剂的应用、或者在本发明的皮肤状态的改善方法中的应用。根据本发明,还可提供乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物作为用于光线性皮肤病的治疗、预防或改善的光线性皮肤病的治疗剂、预防剂或改善剂的应用、或者在本发明的治疗、预防或改善方法中的应用。本发明的使用可以根据关于本发明的组合物和用剂以及本发明的有效成分的记载来实施。

[0073] 根据本发明，可进一步提供一种乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物，其用于皮肤状态的改善、或者用于本发明的皮肤状态的改善方法。根据本发明，还可提供一种乳球菌属细菌或含有乳球菌属细菌的组合物，其用于光线性皮肤病的治疗、预防或改善、或者用于本发明的治疗、预防或改善方法。本发明的乳球菌属细菌或含有所述乳球菌属细菌的组合物可以根据关于本发明的组合物和用剂以及本发明的有效成分的记载来实施。

[0074] 本发明的皮肤状态的改善方法和本发明的应用可以在包含人的哺乳类中应用，旨在治疗性应用和非治疗性应用中的任意一种。在本说明书中，“非治疗性”是指不包括对人进行手术、治疗或诊断的行为(即，对人的医疗行为)，具体而言，不包括医生或接受医生指示的人对人进行手术、治疗或诊断的方法。

[0075] 实施例

[0076] 基于以下例子对本发明更具体地进行说明，但是本发明不限于这些例子。

[0077] 例1：摄入乳酸菌(JCM5805)所带来的皮肤损伤的改善效果

[0078] (1) 试验方法

[0079] a分组

[0080] 使4周龄的雌性无毛小鼠(HOS:HR-1,日本SLC公司)自由摄食固体饲料AIN-93G(东方酵母工业公司制造)，并驯化饲养7天。将驯化后的小鼠分为4组，将不进行紫外线照射并给予普通食物的组设为“非照射组”(6只)；将进行紫外线照射并给予普通食物的组设为“普通食物组”(6只)；将进行紫外线照射并以混合饲料方式给予乳酸乳球菌乳酸亚种JCM5805(*Lactococcus lactis* subsp.*Lactis* JCM5805)(以下称为“JCM5805”)的组设为“JCM5805组”(6只)；将进行紫外线照射并以混合饲料方式给予 $\alpha$ -生育酚的组设为“ $\alpha$ -TOC组”(6只)，开始试验。试验开始时各组的平均体重为：非照射组为 $17.86 \pm 1.67$ g、普通食物组为 $18.89 \pm 0.89$ g、JCM5805组为 $18.48 \pm 0.66$ g、 $\alpha$ -TOC组为 $18.26 \pm 1.05$ g，确认了组间无明显差异。由于维生素E具有减轻由紫外线引起的皮肤损伤的效果已被认可(J.Agric.Food Chem., 2010, 58, 7013-7020, J.Nutr.Sci.Vitaminol. 54, 117-123, 2008)，因此将作为维生素E之一的 $\alpha$ -生育酚作为阳性对照。在试验期间，小鼠在单独的笼中饲养。

[0081] b被测试饲料

[0082] 在试验开始的同时，作为被测试饲料，使非照射组和普通食物组自由摄食AIN-93G，使JCM5805组和 $\alpha$ -TOC组分别每天每只自由摄食AIN-93G与1mg的JCM5805的干燥非活菌体或2.5mg的 $\alpha$ -生育酚(和光纯药公司制造)的混合饲料。被测试饲料的摄食期间设定为17天。

[0083] c紫外线照射

[0084] 在从被测试饲料的摄食开始日起算的第14天，对小鼠照射紫外线。具体而言，作为剂量，单次照射相当于 $90\text{mJ/cm}^2$ (本实验的剂量)的量的波长为312nm的紫外线(UVB)。作为照射的光源，使用烘箱型紫外线照射装置DF-312Donafix(ATTO公司制造)。鉴于札幌冬季的每天UV-B累积量( $2\text{kJ/m}^2$ :气象厅网站[http://www.data.jma.go.jp/gmd/env/uvhp/uvb\\_monthave\\_sap.html](http://www.data.jma.go.jp/gmd/env/uvhp/uvb_monthave_sap.html))，可以说作为本实验的剂量的相当于 $90\text{mJ/cm}^2$ ( $900\text{J/m}^2$ )的量与日常生活中受到的紫外线剂量的程度相同。

[0085] (2) 评价方法

[0086] 在照射紫外线前和从照射紫外线起3天后(紫外线照射3天后),将测定探针放在距小鼠尾巴根部2cm的背部正中线附近,测定小鼠背部的红斑值、皮肤水分量和皮肤水分蒸发量。具体的测定方法如后所述。需要说明的是,各探针的连接使用多探针适配器(MPA5,Courage&Khazaka公司制造)。

[0087] 关于红斑值,使用Mexameter MX18(Courage&Khazaka公司制造)测定已知作为皮肤发红/血色(气色)指标的血红蛋白浓度。Mexameter MX18测定从接触皮肤的测定探头照射波长为568nm和660nm的光时来自皮肤的反射光,测定值以相对值表示。关于红斑值的测定,对各小鼠实施7次,计算出除最大值和最小值以外的5次的值的平均值,将其作为测定值。

[0088] 皮肤水分量使用Corneometer CM825(Courage&Khazaka公司制造)进行测定。Corneometer CM825利用静电容量法以通过探针前端在皮肤上产生的电场所形成的静电容量测定距皮肤表面15μm(主要是角质层)中包含的水分量,测定值以相对值表示。关于皮肤水分量的测定,对各小鼠实施7次,计算出除最大值和最小值以外的5次的值的平均值,将其作为测定值。

[0089] 皮肤水分蒸发量使用Tevameter TM300(Courage&Khazaka公司制造)进行测定。Tevameter TM300测定通过配置在探针前端内的温度/湿度传感器的水分的温度差、湿度差,根据该值测定皮肤水分蒸发量(g/h/m<sup>2</sup>)。关于皮肤水分蒸发量的测定,将使用该Tevameter的测定自动结束时的最终值作为测定值。

#### [0090] (3) 统计学分析

[0091] 关于测定的红斑值、皮肤水分量、皮肤水分蒸发量,采用一阶段多重比较检验即Tukey-Kramer法,在4组之间进行差异显著性检验并进行评价。显著水平设定为小于5%。

#### [0092] (4) 结果

[0093] 结果如图2~4所示。如图2所示,在普通食物组中,在紫外线照射3天后,与非照射组相比观察到红斑值的显著增加,但在JCM5805组和α-TOC组中,与普通食物组相比显著抑制了红斑值的上升。如图3所示,在普通食物组中,在紫外线照射3天后,与非照射组相比观察到皮肤水分量的显著降低,但在JCM5805组和α-TOC组中,与普通食物组相比显著抑制了皮肤水分量的降低。如图4所示,在普通食物组中,在紫外线照射3天后,与非照射组相比观察到皮肤水分蒸发量的显著上升,但在JCM5805组和α-TOC组中,与普通食物组相比显著抑制了皮肤水分蒸发量的上升。

[0094] 在此,当对皮肤照射紫外线(UVB)时,引起红斑值的上升,但是已知经口摄入维生素E会改善这些症状(J.Agric.Food Chem., 2010, 58, 7013-7020, J.Nutr.Sci.Vitaminol.54, 117-123, 2008)。在本试验中,如图2所示,确认了作为对紫外线照射所导致的皮肤损伤的阳性对照的α-生育酚的改善效果。另外,尽管JCM5805干燥非活菌体的摄入量(1mg/天)小于α-生育酚的摄入量(2.5mg/天),但是对紫外线的改善效果是同等的,因此确认了JCM5805干燥非活菌体的每单位用量的对皮肤损伤的改善效果高于α-生育酚的效果。

[0095] 从以上结果可知,JCM5805干燥非活菌体对以紫外线照射所导致的皮肤损伤为代表的皮肤损伤具有改善效果,对日常生活中通常可能发生的皮肤损伤也显示出具有改善效果的可能性。

[0096] 例2:摄入乳酸菌(JCM5805)所带来的皮肤状态的改善效果

[0097] (1)含乳酸菌的食品的制备

[0098] 作为含乳酸菌的食品,制作含有JCM5805的干燥非活菌体50mg( $1.0 \times 10^{11}$ 个以上)和玉米淀粉150mg的硬胶囊。作为安慰剂食品,制作不含JCM5805而含有200mg玉米淀粉的硬胶囊。

[0099] (2)试验方法

[0100] 以容易出现皮肤问题的70名年龄在30岁以上且小于60岁的日本男性和女性作为受试者。将受试者以不对性别、年龄、BMI和医生对肌肤症状的评价(纹理目视评价、肌肤质量评价、挫伤相关评价)等显示偏见的方式随机分为两组,将摄入含乳酸菌的食品的组作为“试验组”(男性9名,女性26名,合计35名),将摄入安慰剂的组作为“对照组”(男性10名,女性25名,合计35名)。

[0101] 在安慰剂对照的随机双盲试验设计中,作为被测试食品,使试验组摄入上述(1)中制备的含乳酸菌食品,使对照组摄入安慰剂食品,分别1天1次1胶囊地持续摄入8周(56天)。在试验期间,受试者继续试验前的生活习惯。

[0102] 本试验由东方上野健诊中心伦理审查委员会审查并在获得批准后实施。以基于赫尔辛基宣言的伦理原则和“以人为对象的医学类研究相关的伦理指南”(文部科学省厚生劳动省)为基准实施。

[0103] (3)评价方法

[0104] 作为被测试食品摄入前后的肌肤状态,以皮肤发红的变化为指标进行了评价。具体而言,在被测试食品的摄入期间(8周)开始前(以下有时称为“被测试食品摄入前”)以及被测试食品的摄入期间结束时(以下有时称为“被测试食品摄入后”),将测定探针放在连接受试者的左脸耳垂下部和唇端的中心部,测定色差以及血红蛋白量指数(以下,有时称为“Hb指数”)。色差和Hb指数使用分光测色仪(CM-2600d,柯尼卡美能达公司制造)测定,并通过分析软件(CM-SA,柯尼卡美能达公司制造)进行分析。在各受试者的相同位置实施5次,得到L\*值、a\*值、b\*值和Hb指数。计算在5次的测定中除L\*值为最大值或最小值的测定次数以外的3次各值的平均值,并将其作为测定值。通过相应的t检验评价被测试食物摄入前后的测定值。在此,已知L\*值为表示亮度的参数,测定值高时表示接近白色(亮),测定值低时表示接近黑色(暗),a\*值为表示红色~绿色的参数。测定值高时表示接近红色,测定值低时表示接近绿色,b\*值为表示黄色~蓝色的参数,测定值高时表示接近黄色,测定值低时表示接近蓝色。另外,已知Hb指数为表示肌肤发红的指标。

[0105] (4)结果

[0106] 由于测试期间两名受试者退出,因此将测试组中的33名受试者和对照组中的35名受试者作为分析对象。结果如表1所示。

[0107] 表1

[0108] 表1:色差以及Hb指数的测定结果

测定项目	组	测定值(平均值±标准偏差)		p 值
		被测试食品摄入前 (试验 0 周时)	被测试食品摄入后 (试验 8 周时)	
[0109] L*值	试验组	64.46±3.46	64.81±2.93	
	对照组	64.79±2.89	64.93±2.51	
a*值	试验组	7.38±1.46	6.83±1.44	P<0.01
	对照组	7.00±1.71	6.64±1.29	
b*值	试验组	17.20±2.28	17.03±2.33	
	对照组	16.62±2.55	16.22±2.44	
Hb 指数	试验组	1.03±0.23	0.95±0.25	P<0.01
	对照组	1.01±0.28	0.97±0.22	

[0110] 如表1所示,在摄入前后的比较中,L\*值和b\*值在试验组和对照组中没有显著的变化。a\*值(表示红色～绿色的参数)和Hb指数虽然在对照组中没有变化,但在试验组中确认到了显著的降低(p<0.01)。由这些结果确认了:通过摄入含有JCM5805乳酸菌的食品,皮肤发红得到降低和改善。即,确认了含乳酸菌(JCM5805)的食品的摄入具有改善肌肤状态的效果。

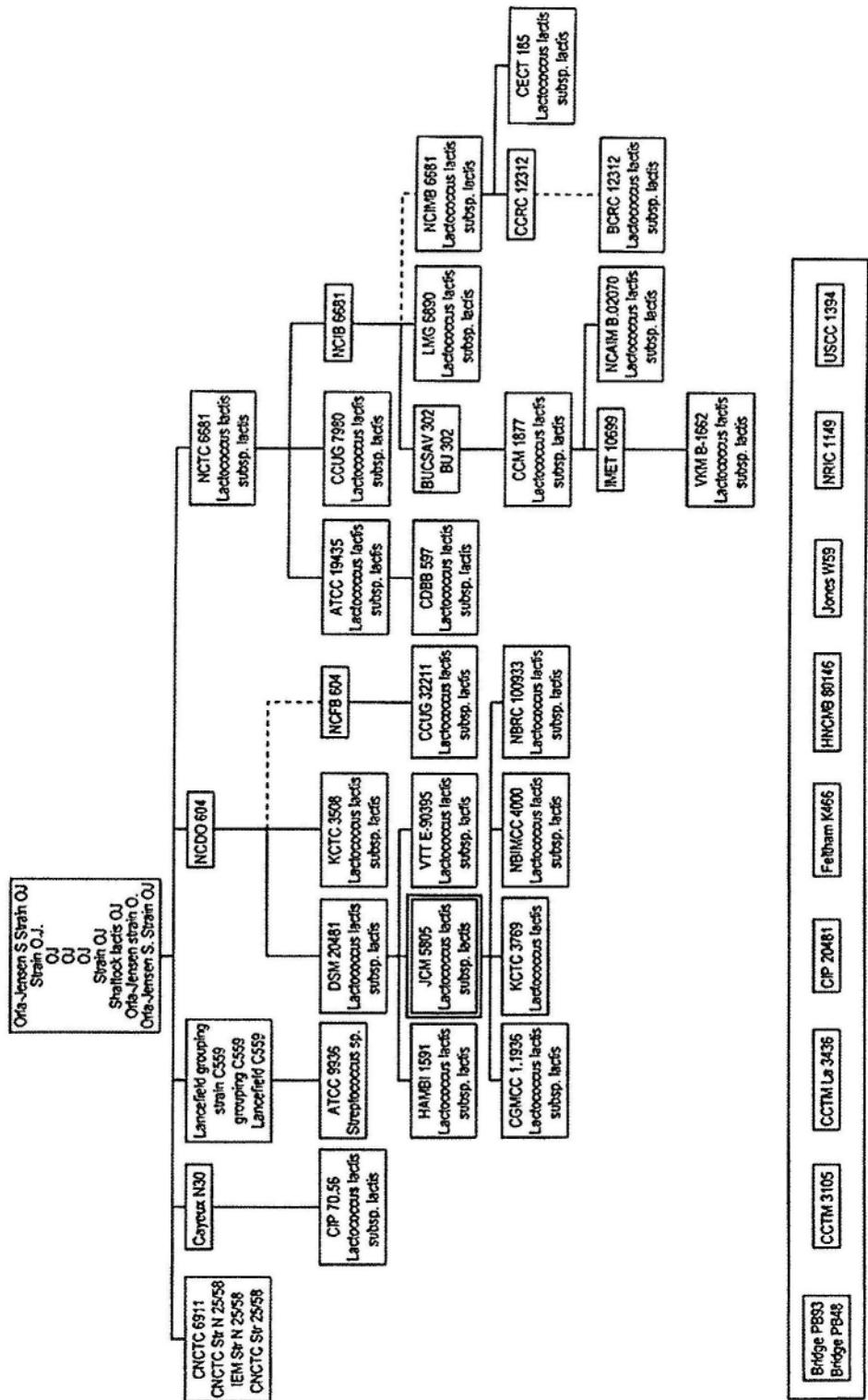


图1

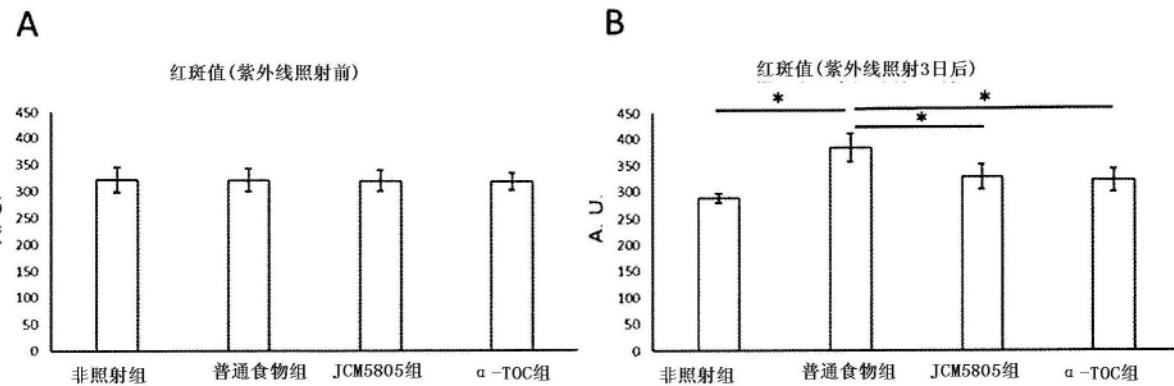


图2

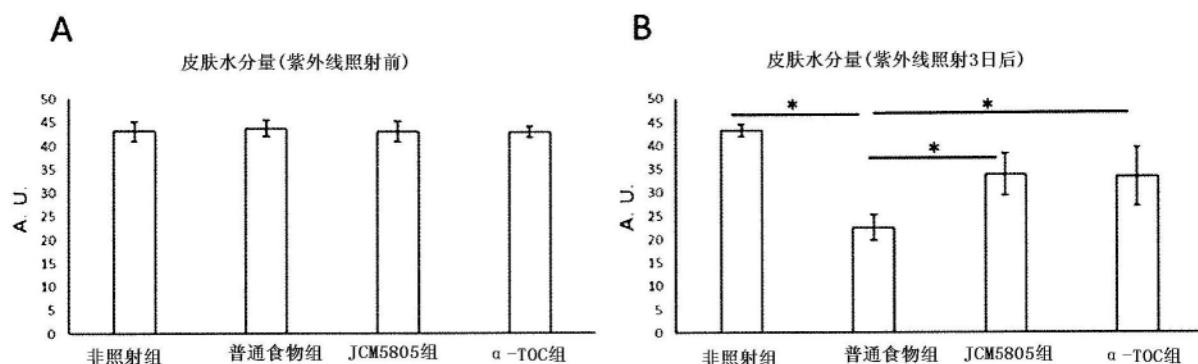


图3

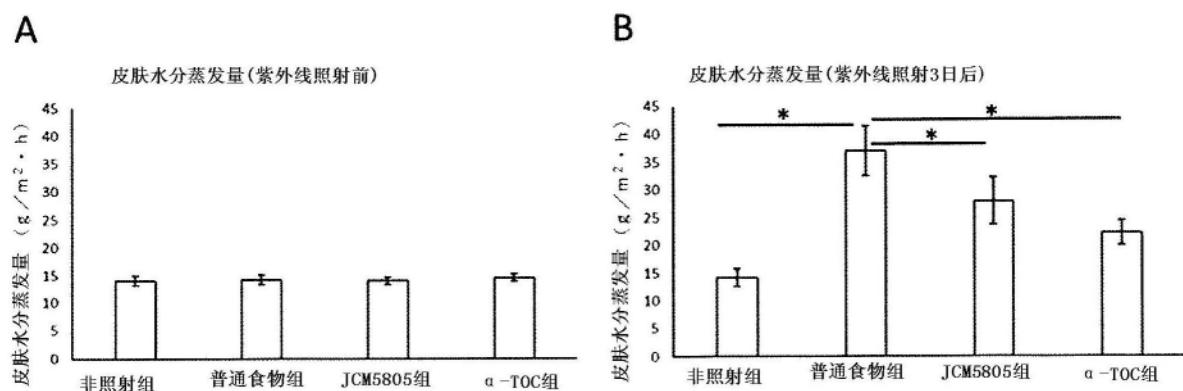


图4