

(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
2013 年 9 月 6 日(06.09.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/129456 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 8/64 (2006.01) A61K 31/729 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61K 31/732 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01) A61K 31/734 (2006.01)
A61K 31/717 (2006.01) A61K 31/736 (2006.01)
A61K 31/718 (2006.01) A61K 31/737 (2006.01)
A61K 31/719 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 31/721 (2006.01) A61P 17/18 (2006.01)
A61K 31/722 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/727 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2013/055084

(22) 国際出願日: 2013 年 2 月 27 日(27.02.2013)

(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 2012-043881 2012 年 2 月 29 日(29.02.2012) JP

(71) 出願人: ロート製薬株式会社(ROHTO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪生野区巽西 1 丁目 8 番 1 号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 水垂 陽子(MIZUTARE Yoko); 〒5448666 大阪府大阪生野区巽西 1 丁目 8 番 1 号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 阿部 正通(ABE Masamichi); 〒5448666 大阪府大阪生野区巽西 1 丁目 8 番 1 号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 熊澤 益徳(KUMAZAWA Masunori); 〒5448666 大阪府大阪生野区巽西 1 丁目 8 番 1 号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 松本 康助(MATSUMOTO Kosuke); 〒5448666 大阪府大阪

市生野区巽西 1 丁目 8 番 1 号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI Yusuke et al.); 〒1056232 東京都港区愛宕 2 丁目 5 番 1 号 愛宕グリーンヒルズMORIタワー32階 Tokyo (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, BN, 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, PA, 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, 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))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

(54) Title: COMPOSITION CAPABLE OF PROMOTING PROLIFERATION OF FIBROBLAST

(54) 発明の名称: 線維芽細胞増殖促進能を有する組成物

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a novel composition that can promote the proliferation of a fibroblast and can activate the proliferation ability of a fibroblast, which has been deteriorated by an external factor such as ultraviolet ray, aging or the like, and therefore is useful for improving wrinkling or sagging of the skin, recovering tension or elasticity of the skin or improving the moisture-retaining function of the skin, and can be used effectively for cosmetic purposes. A composition comprising: (A) a peptide comprising an amino acid sequence represented by formula (I) Xaa¹-Asp-Leu-Asp-Val-Xaa² (SEQ ID NO: 1) [wherein Xaa¹ and Xaa² may be present or absent and, if present, independently represent an arbitrary amino acid residue], a derivative thereof of the peptide, or a salt of the peptide or the derivative; and (B) a polysaccharide.

(57) 要約: 線維芽細胞の増殖を促進することができ、紫外線等の外的因子或いは加齢等により低下した線維芽細胞の増殖能を活性化させて、皮膚のシワやタルミを改善したり、肌のハリや弾性を回復させたり、肌の保湿機能を高めるのに役立ち、美容のために有益に用いられ得る新規組成物を提供すること。
(A) 下記の式 (I): Xaa¹-Asp-Leu-Asp-Val-Xaa² (配列番号: 1) [ここで、Xaa¹及びXaa²は存在してもしなくてもよく、存在する場合にはそれぞれ独立して任意のアミノ酸を示す] のアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩と、 (B) 多糖類、とを含有する組成物。

WO 2013/129456 A1

明 細 書

発明の名称：線維芽細胞増殖促進能を有する組成物

技術分野

[0001] 本発明は、線維芽細胞の増殖を促進するための組成物、並びにそれに関連する発明に関する。

背景技術

[0002] 真皮の主細胞である線維芽細胞は、皮膚のハリを保っているコラーゲンや、皮膚の弾力性を維持しているエラスチン、皮膚の保湿力に大きな影響を与えるムコ多糖類（例えば、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸等）等を産生する。ところが、紫外線の照射、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等のある種の外的因子の影響や加齢等により肌の内部で活性酸素が増大し、線維芽細胞自体の増殖能力が低下することが知られている。そして、線維芽細胞の増殖能が低下して、真皮内の恒常性バランスが崩れることで、様々な皮膚のトラブル（例えば、皮膚の保湿機能低下）や皮膚の老化（例えば、皮膚の弾力性もしくはハリの低下、皮膚のシワもしくはタルミ等）が加速されることが知られている。

[0003] 従って、線維芽細胞の増殖を促進することは、皮膚の保湿機能低下に対する予防及び／又は改善や、皮膚の弾力性もしくはハリの低下に対する予防及び／又は改善、皮膚のシワもしくはタルミの予防及び／又は改善に寄与すると考えられ、この観点から、線維芽細胞増殖促進作用を有する植物抽出物等を含有する化粧品や美容用飲食物が種々提案されている。

[0004] 例えば、特許文献1は、線維芽細胞増殖因子（FGF）とフコイダンの複合体を線維芽細胞増殖促進剤として用いることを記載している。また、特許文献2は、（A）ヒアルロン酸、ヒアルロン酸誘導体、及びこれらの塩からなる群より選択される一種以上と、（B）ダイズタンパク質のサーモリシン分解物とを含有する組成物が、線維芽細胞増殖を促進するために使用され得ることを記載している。

[0005] しかし、線維芽細胞増殖促進効果を発揮することができる、更なる有用な新規組成物の開発が求められている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開平10-17498号公報

特許文献2：特開2009-79043号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

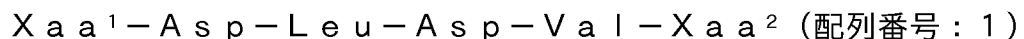
[0007] 本発明は、前記従来技術に鑑みてなされたものであり、線維芽細胞の増殖を高度に促進させることができる、有用な新規組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、前記課題を解決するために鋭意検討した結果、特定のアミノ酸配列を有する短鎖ペプチド類と多糖類とを併用することにより、線維芽細胞の増殖を高度に促進させることができることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0009] すなわち、本発明は、以下を提供する。

[0010] [1] (A) 下記の式(1)：



[ここで、 Xaa^1 及び Xaa^2 は存在してもしなくてもよく、存在する場合にはそれぞれ独立して任意のアミノ酸を示す]

のアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩と、

(B) 多糖類、

とを含有する組成物。

[0011] [2] (A) 成分のペプチドが、 $Asp-Leu-Asp-Val-Phe$ (配列番号：2)、 $Arg-Asp-Leu-Asp-Val$ (配列番号：3)、 $Arg-Asp-Leu-Asp-Val-Phe$ (配列番号：4)

、又はA s p - L e u - A s p - V a l（配列番号：5）で示されるアミノ酸配列からなる、[1]の組成物。

[0012] [3] (B)成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、グアガム、タラガム、ローカストビーンガム、タマリンドシードガム、サイリウムシードガム、アラビアガム、カラヤガム、ジェランガム、カードラン、カラギーナン、クインスシード、サクシノグリカン、寒天、ペクチン、ポルフィラン、キチン、キトサン、セルロース、デキストラン、デキストリン、プルラン、デンプン、及びこれらの多糖の誘導体、並びに前記の多糖及びその誘導体の塩からなる群より選択される少なくとも1種を含む、[1]又は[2]に記載の組成物。

[0013] [4] (B)成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、ペクチン、カラギーナン、ポルフィラン、カラヤガム、ジェランガム、キサンタンガム、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、及びヘパリンからなる群から選択される酸性多糖、及び該酸性多糖の誘導体、並びに前記酸性多糖及びその誘導体の塩からなる群から選択される少なくとも1種を含む、[1]～[3]のいずれかの組成物。

[0014] [5] (B)成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、デキストラン、及びそれらの誘導体、並びに前記多糖及びその誘導体の塩からなる群から選択される少なくとも1種を含む、[1]～[4]のいずれかの組成物。

[0015] [6] 美容のために用いられる、[1]～[5]のいずれかに記載の組成物。

[0016] [7] 皮膚のシワ、タルミ、ハリ低下、弾力性低下、又は保湿機能低下の改善又は予防のために用いられる、[1]～[6]のいずれかに記載の組成物。

[0017] [8] 線維芽細胞の増殖を促進するために用いられる、[1]～[7]のいずれかに記載の組成物。

[0018] 本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2012-043881号の明細書および／または図面に記載される内容を包含する。

発明の効果

[0019] 本発明により、線維芽細胞の増殖を効果的に促進することができる、有用な新規組成物が提供される。従って、本発明により、線維芽細胞の増殖を効果的に促進でき、紫外線照射等の外的因子や加齢等に起因した皮膚のシワやタルミを改善し、肌のハリや弾性を回復させ、皮膚の保湿機能を高めるために実用上有益に用いられ得る新規組成物が提供される。

発明を実施するための形態

[0020] 以下、本発明を詳細に説明する。本明細書の全体にわたって、単数形の表現は、特に他に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書中において使用される用語は、特に他に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられていることが理解されるべきである。

[0021] 本発明の組成物は、(A) 次式 (I) : $Xaa^1 - Asp - Leu - Asp - Val - Xaa^2$ (配列番号 : 1) のアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩と、(B) 多糖類とを含有する。

[0022] (A) 成分 :

本発明の組成物に (A) 成分として配合されるペプチド類は、次式 (I) : $Xaa^1 - Asp - Leu - Asp - Val - Xaa^2$ (一文字略記 : X^1DLDVX^2 、配列番号 : 1) で表されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩である。

[0023] 上記配列番号 1 における Xaa^1 及び Xaa^2 (一文字略記 : X^1 及び X^2) は、存在してもしなくてもよく、存在する場合には、それぞれ独立して、任意のアミノ酸を示す。該アミノ酸は、好ましくは α -アミノ酸であり、より好ましくは遺伝的にコードされる α -アミノ酸である。より具体的には、 Xaa^1 及び Xaa^2 は、天然に存在する Ala 、 Arg 、 Asn 、 Asp 、 Cys 、 Gln 、 Glu 、 Gly 、 His 、 Ile 、 Leu 、 Met 、 Phe

、P r o、S e r、T h r、T r p、T y r、L y s及びV a lからなる群から任意に選択される α -アミノ酸であることが好ましく、A r g又はP h eである α -アミノ酸がより好ましく、X a a¹がA r gであり、X a a²がP h eであることが特に好ましい。X a a¹及びX a a²は、存在してもしなくても良いが、X a a¹及びX a a²のうちの少なくとも一つは存在する方が好ましい。

[0024] 上述のようなペプチドのうち、より確実に高い本発明の効果を得るためには、本発明で用いるペプチドは、A s p-L e u-A s p-V a l-P h e（一文字略記：D L D V F、配列番号：2）、A r g-A s p-L e u-A s p-V a l（一文字略記：R D L D V、配列番号：3）、A r g-A s p-L e u-A s p-V a l-P h e（一文字略記：R D L D V F、配列番号：4）、又はA s p-L e u-A s p-V a l（一文字略記：D L D V、配列番号：5）であることが好ましく、A s p-L e u-A s p-V a l-P h e（一文字略記：D L D V F、配列番号：2）、又はA r g-A s p-L e u-A s p-V a l（一文字略記：R D L D V、配列番号：3）であることが特に好ましい。

[0025] 本明細書中において、「ペプチドの誘導体」とは、例えば、ペプチドをアセチル化、パルミトイル化、ミリスチル化、アミド化、アクリル化、ダンシル化、ビオチン化、リン酸化、サクシニル化、アニリド化、ベンジルオキシカルボニル化、ホルミル化、ニトロ化、スルホン化、アルデヒド化、環状化、グリコシル化、モノメチル化、ジメチル化、トリメチル化、グアニジル化、アミジン化、マレイル化、トリフルオロアセチル化、カルバミル化、トリニトロフェニル化、ニトロトロポニル化、又はアセトアセチル化した誘導体等をいう。

[0026] 本明細書中において、「塩」とは、ペプチド又はその誘導体の薬理学的に許容される任意の塩（無機塩及び有機塩を含む）をいい、例えば、ペプチド又はその誘導体のナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、有機酸塩（酢酸塩、トリフ

ルオロ酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、蟻酸塩、安息香酸塩、ピクリン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等)等が挙げられ、好ましくは、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩又はトリフルオロ酢酸塩であり、より好ましくはアンモニウム塩、酢酸塩又はトリフルオロ酢酸塩である。

[0027] 本発明で用いるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩は、水和物又は無水和物であってもよい。また、本発明で用いるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩は、溶媒和物又は無溶媒和物であってもよい。

[0028] 本発明で用いるペプチドは、当該分野で公知の方法により作製され得る。例えば、本発明で用いるペプチドは、化学合成方法（例えば、固相法（例えば、Fmoc法）、液相等）により合成されてもよく、また遺伝子組換え発現等の方法により作製されてもよい。なお本発明で用いるペプチドを構成するアミノ酸は、L-体であってもD-体であってもよいが、好ましくはL-体である。

[0029] さらに本発明で用いるペプチドは、目的のアミノ酸配列を含むタンパク質のアミノ酸配列中から、目的のアミノ酸配列からなるペプチドをプロテアーゼ処理等の公知の手段によって切り出すことによって調製してもよい。

[0030] 当業者は、プロテアーゼの配列特異性等を考慮して、目的のアミノ酸配列を含むタンパク質のアミノ酸配列中から、目的のアミノ酸配列からなるペプチドを切り出すために適切なプロテアーゼを適宜選択し得る。またタンパク質をプロテアーゼで加水分解する場合に用いられる反応条件は、特に制限されず、技術常識に従って当業者により適宜選択され得る。プロテアーゼによる加水分解処理後には、必要に応じ、当該分野で公知の手段によって精製することにより、目的のペプチドを精製することもできる。

[0031] このように、天然のタンパク質をプロテアーゼで加水分解して得られるペプチドは、化学合成方法で製造する場合よりもコスト面から有利となる。さらに、天然のタンパク質をプロテアーゼで加水分解して得られるペプチドは、生体に対してより安全であると考えられる。従って、このようにして得ら

れたペプチドは、生体への適用に対しより高い安全性が求められる内服剤、食品、敏感肌用化粧品、飼料などに好適に使用され得る。ここで、食品とは飲料品を含むすべての飲食物を含む。

[0032] 本発明で用いるペプチドの誘導体は、当該分野で公知の任意の方法により、当業者によって容易に作製され得る。

[0033] 本発明で用いるペプチドの塩もまた、当該分野で公知の任意の方法により、当業者によって容易に作製され得る。

[0034] 本発明の組成物には、上記の特定配列を有するペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩から選択されるペプチド類の中から、1種を単独で使用しても、2種以上を任意に組み合わせて使用してもよい。

[0035] また本発明の組成物には、上記の特定配列を有するペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩のいずれもが用いられ得るが、より確実に高い本願効果を得るためには、好ましくはペプチド又はその塩が用いられ、特に好ましくはペプチドが用いられる。

[0036] 本発明の組成物に配合する（A）成分の配合量は、本発明の効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は組成物全体に対して0.000001～70重量(w/w)%程度とするのがよい。とりわけ、本願組成物が外用組成物である場合には、上記配合量は少なくともよく、例えば、0.000001～5 w/w%、より好ましくは0.00001～1 w/w%、さらに好ましくは0.00001～0.1 w/w%としても十分な本願効果が得られる。

[0037] （B）成分：

本発明の組成物には、更に（B）成分として、多糖類が配合される。

[0038] 多糖類としては、医薬上又は生理学的に許容できるものであれば特に制限されず、例えば、ヒアルロン酸、フコイダン、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、グアガム、タラガム、ローカストビーンガム、タマリンドシードガム、サイリウムシードガム、アラビアガム、カラヤガム、ジェランガム、カードラン、カラギーナン、クイン

スシード、サクシノグリカン、寒天、ペクチン、ポルフィラン、キチン、キトサン、セルロース、デキストラン、デキストリン、プルラン、デンプン、及びこれらの多糖の誘導体、並びに前記の多糖又はその誘導体の塩などを含む。フコイダンには、グルクロン酸を含むU-フコイダン、硫酸化フコースのみからなるF-フコイダン、ガラクトースを含むG-フコイダン等があるが、本発明においては、フコイダンはこれらも含む。本発明において、多糖類という場合、上記の多糖、多糖の誘導体、多糖や多糖の誘導体の塩を含む。

[0039] 本発明における（B）成分の誘導体の形態としては、例えば、アセチル化、パルミトイル化、ミリスチル化、アミド化、アクリル化、ダンシル化、ビオチン化、リン酸化、サクシニル化、アニリド化、ベンジルオキシカルボニル化、ホルミル化、ニトロ化、スルホン化、アルデヒド化、環状化、グリコシル化、メチル化（モノメチル化、ジメチル化、トリメチル化等）、グアニジル化、アミジン化、マレイル化、トリフルオロアセチル化、カルバミル化、トリニトロフェニル化、ニトロトロポニル化、アセトアセチル化、カルボキシシル化、カルボキシメチル化、ヒドロキシシル化、プロピル化、ヒドロキシプロピル化、ヒドロキシエトキシシル化、メトキシシル化、ヒドロキシプロポキシシル化した誘導体等をいう。具体的には、（B）成分の誘導体として、アセチル化ヒアルロン酸、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース等を挙げることができる。

[0040] 本発明における（B）成分の塩の形態としては、薬理学的に許容されることを限度として、特に制限されないが、無機塩基との塩〔例えば、アルカリ金属（ナトリウム、カリウム等）、アルカリ土類金属（カルシウム、マグネシウム等）、アルミニウム等の金属との塩；アンモニウム塩等〕；有機塩基との塩〔例えば、メチルアミン、トリエチルアミン、トリエタノールアミン、モルホリン、ピペラジン、ピロリジン、トリピリジン、ピコリン等の有機アミンとの塩等〕；無機酸塩〔例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩等〕；有機酸塩〔例えば、モノカルボン酸塩（酢酸塩、トリ

フルオロ酢酸塩、酪酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩等）、多価カルボン酸塩（フマル酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、マロン酸塩等）、オキシカルボン酸塩（乳酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩等）、有機スルホン酸塩（メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、トシル酸塩等）等]等が挙げられる。

[0041] 本発明で用いる多糖類は多糖類を多く含む藻類や細菌等の生物材料から抽出してもよいし、市販のものを用いてもよい。

[0042] 本発明で（B）成分として用いられる多糖類の重量平均分子量は特に制限されないが、通常1000～10000000程度、好ましくは3000～7000000程度、より好ましくは5000～5000000程度、更に好ましくは10000～3000000程度、特に好ましくは100000～2000000程度のものを用いることができる。

[0043] また、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸、その誘導体又はそれらの塩等は一般に粘度平均分子量として表わされる場合が多いが、粘度平均分子量で表わす場合にも同程度のものを使用することができ、特に制限されないが、通常1000～10000000程度、好ましくは3000～7000000程度、より好ましくは5000～5000000程度、更に好ましくは10000～3000000程度、特に好ましくは100000～2000000程度である。

[0044] 本発明の組成物には、上記多糖類の中から、1種を単独で使用しても、2種以上を任意に組み合わせて使用してもよい。上記（B）成分のなかでも、（A）成分と一緒にあってより効果的に線維芽細胞の増殖を促進させる作用を発揮できるという観点から、好ましくは、酸性多糖類（例えば、ヒアルロン酸、フコイダン、ペクチン、カラギーナン、ポルフィラン、カラヤガム、ジェランガム、キサンタンガム、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリン及びそれらの誘導体、並びにそれらの塩等）が挙げられ、特に好ましくは、ヒアルロン酸、フコイダン、キサンタンガム、及びこれらの誘導体、並びにこれらの塩が挙げられる。また、ヒアルロン酸とフコイダンを混合して用いてもよいし、ヒアルロン酸とキサンタンガム、フコイダンとキサンタンガム、或

いはヒアルロン酸とフコイダンとキサンタンガムを混合して用いてもよい。

[0045] 本発明の組成物に配合する（B）成分の配合量は、本発明の効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は組成物全体に対して0.000001～70重量(w/w)%程度とするのがよい。とりわけ、本発明の組成物が外用組成物である場合には、上記配合量は少なくともよく、例えば、0.000001～5 w/w%、より好ましくは0.00001～1 w/w%、さらに好ましくは0.0001～0.3w/w%としても十分な本発明の効果が得られる。

[0046] 本発明の組成物において、（A）成分に対する（B）成分の配合比率は、本発明の効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は（A）成分の総量が1重量部に対して、（B）成分の総量が1～70000000重量部程度とするのがよい。より高い本願効果を発揮できるという観点から、好ましくは、（A）成分の総量が1重量部に対して、（B）成分の総量が1～5000000重量部、より好ましくは10～500000重量部、さらに好ましくは50～50000重量部とするのがよい。

[0047] 後述の実施例に示すように、上記（A）成分及び（B）成分を含有する本発明の組成物は、線維芽細胞の増殖を促進し得る。従って、本発明の組成物は、紫外線照射等の外的因子や加齢等により引き起こされる線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のシワやタルミを改善するため、肌のハリや弾性を回復させるため、或いは皮膚の保湿機能を高めるためにまた有益に使用され得る。線維芽細胞に対する増殖促進作用は、例えば、培養用プレート中で線維芽細胞を被験物と共に培養した後、プレート上の生存細胞数を計測することにより測定することができ、本発明の（A）成分と（B）成分とを添加しない場合に対して、生存細胞数が有意に多くなった場合に、線維芽細胞の増殖が促進されたと判断することができる。

[0048] 当業者ならば、このような方法により線維芽細胞の増殖を促進し得る組成物が、紫外線照射等の外的因子や加齢等により引き起こされる線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のシワやタルミを改善させ、肌のハリや弾性を回復させ、或いは肌の保湿機能を高める効果を有することを理解すること

ができる。

[0049] 本発明の組成物は、好ましくは美容組成物である。該組成物は上記の機能を有する（Ａ）成分と（Ｂ）成分の組み合わせを含むため、美容効果を奏することができる。すなわち、上記（Ａ）成分と（Ｂ）成分とを組み合わせる含有する本発明の組成物は、線維芽細胞の増殖を促進するという作用を有する。この作用により、皮膚のシワやタルミを改善し、肌のハリや弾性を回復させ、或いは肌の保湿機能を高めるという効果を発揮することができ、顕著な美容効果を奏することができる。本発明においては、顔や体つきを美しくすること（例えば、美肌等の美容）を目的として用い得る組成物を、美容組成物という。

[0050] また、本発明の組成物は、医薬組成物、化粧品組成物、食品組成物又は飼料組成物として好適に使用され得る。好ましくは、美容のために用いられる医薬組成物、化粧品組成物、食品組成物及び飼料組成物である。さらに、本発明の組成物は、線維芽細胞の増殖能に関連する生理状態解明のための研究試薬として好適に使用され得る。

[0051] 医薬組成物としては、例えば、ヒトをはじめとする哺乳動物における線維芽細胞の減少や不活性化に起因する疾患の予防剤及び／又は治療剤等が挙げられる。具体的には、本発明の医薬組成物は、例えば、紫外線等の外的因子や加齢等により生じる線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のシワ若しくはタルミの予防剤及び／又は治療剤として、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のハリ若しくは弾力性の低下に対する予防剤及び／又は治療剤として、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚の保湿機能低下に対する予防剤及び／又は治療剤等として使用され得る。

[0052] 化粧品組成物としては、例えば、ヒトをはじめとする哺乳動物における線維芽細胞の減少や不活性化に起因する状態の予防及び／又は改善のための化粧品としても用いられ得る。具体的には、本発明の化粧品組成物は、例えば、紫外線等の外的因子や加齢等により生じる線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のシワ若しくはタルミの予防及び／又は改善のための化粧品と

して、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚のハリ若しくは弾力性の低下に対する予防及び／又は改善のための化粧料として、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚の保湿機能低下に対する予防及び／又は改善のための化粧料等として使用され得る。

[0053] 食品組成物としては、例えば、ヒトをはじめとする哺乳動物における線維芽細胞の減少や不活性化に起因する状態の予防及び／又は改善のための食品としても用いられ得る。具体的には、本発明の食品組成物は、例えば、紫外線等の外的因子や加齢等により生じる線維芽細胞の減少と不活性化に起因する皮膚のシワ若しくはタルミの予防及び／又は改善のための食品として、線維芽細胞の減少と不活性化に起因する皮膚のハリ若しくは弾力性の低下に対する予防及び／又は改善のための食品として、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する皮膚の保湿機能低下に対する予防及び／又は改善のための食品等として使用され得る。

[0054] 本発明の食品組成物は、健康食品、特定保健用食品、栄養機能食品、健康補助食品等を含む。これらの組成物は美容健康食品を含む。特定保健用食品とは、食生活において特定の保健の目的で摂取をし、その摂取により当該保健の目的が期待できる旨の表示をする食品をいう。これらの食品には、特定の実施形態において、上記のような用途に用いられるものである旨の表示を付した食品として提供され得る。すなわち、美容のために用いられるものである旨の表示、美肌作用を有する旨の表示、肌質改善のために用いられるものである旨の表示、皮膚のハリや弾性を回復させるために用いられるものである旨の表示、皮膚のシワやタルミの予防又は改善のために用いられるものである旨の表示、皮膚の保湿機能を回復させるために用いられるものである旨の表示等の表示を付した食品として提供され得る。

[0055] 飼料としては、例えば、ウシ、ブタ、ニワトリ、ヒツジ、ウマ等の家畜や、イヌ、ネコ等のペット動物における、線維芽細胞の減少や不活性化に起因する状態の予防用及び／又は改善用の飼料等が挙げられる。

[0056] 本発明の組成物は、前記（Ａ）成分及び（Ｂ）成分の他に、製剤分野や食

品分野等の分野において通常使用される担体、基剤、及び／又は添加剤等を本発明の目的を達成する範囲内で適宜配合して調製することができる。

[0057] 担体としては、例えば、架橋ビニル重合体、脂質類等が1種又は2種以上組み合わせて用いられ得る。

[0058] 基剤としては、例えば、水、油脂類、鉱物油類、ロウ類、脂肪酸類、シリコン油類、ステロール類、エステル類、金属石鹸類、アルコール等が1種又は2種以上組み合わせて用いられ得る。

[0059] 添加剤としては、例えば、界面活性剤、可溶化成分、乳化剤、油分、安定化剤、増粘剤、防腐剤、結合剤、滑沢剤、分散剤、pH調整剤、保湿剤、紫外線吸収剤、キレート剤、経皮吸収促進剤、抗酸化剤、崩壊剤、可塑剤、緩衝剤、アミノ酸類、着色剤、香料等が1種又は2種以上組み合わせて用いられ得る。

[0060] さらに本発明の組成物には、必要に応じて他の有用な作用を付加するために、美白成分、抗炎症成分、抗菌成分、細胞賦活化成分、収斂成分、抗酸化成分、ニキビ改善成分、コラーゲン等の生体成分合成促進成分、血行促進成分、保湿成分、老化防止成分等の各種成分を1種又は2種以上組み合わせて配合されてもよい。

[0061] 本発明の組成物は、内服剤（食品及び飼料を含む）又は外用剤（化粧品を含む）等の任意の剤型であり得る。

[0062] 内服剤（食品及び飼料を含む）としては、例えば、錠剤、丸剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、ドライシロップ剤、液剤（ドリンク剤、懸濁剤、シロップ剤を含む）、ゲル剤、リポソーム剤、エキス剤、チンキ剤、レモネード剤、ゼリー剤等の任意の形態で使用され得る。

[0063] また食品とする場合には、パン、麺、惣菜、食肉加工食品（例えば、ハム、ソーセージなど）、水産加工食品、調味料（例えば、ドレッシングなど）、乳製品、菓子（例えば、ビスケット、キャンディー、ゼリー、アイスクリームなど）、スープ、ジュースなどの任意の一般の食品に含有させた食品形態としても提供され得る。このような形態にする場合、前記の加水分解物は

、目的とする食品の性質等に依存して、当業者に公知の方法により適宜配合され得る。

[0064] 外用剤としては、例えば、液状、乳液状、クリーム状、ローション状、ペースト状、ムース状、ジェル状、シート状(基材担持)、エアゾール状、スプレー状等の任意の形態で使用され得る。

[0065] 化粧料としては、例えば、ローション、乳液、クリーム、オイル、パック等の基礎化粧料、またファンデーション、頬紅、口紅等のメーキャップ化粧料、さらに洗顔料、クレンジング、ボディ洗浄料等の洗浄料、入浴剤等の任意の形態で使用され得る。

[0066] 飼料としては、任意の形態で使用され得るため、特に限定は無い。

[0067] 本発明はさらに、前記(A)成分と(B)成分とを併用することを特徴とする、線維芽細胞の増殖を促進する方法、皮膚のシワ、タルミ、ハリ低下、弾力性低下、又は保湿機能低下を改善又は予防する方法、或いは美容方法を提供する。かかる方法では、より簡便には、前記(A)成分及び(B)成分を含む組成物の形態で被験体に適用するのがよい。適用は内服薬として適用してもよいし、外用剤として皮膚への塗布等により適用してもよい。

[0068] 本発明の方法においては、前記(A)成分及び(B)成分を、線維芽細胞に対する増殖促進効果が得られる有効量以上の量で用いればよい。

[0069] 具体的には、本発明の方法における前記組成物の使用量は通常、内服剤の場合には、成人1人体重約50kgあたり好ましくは約0.001~10000mg/日、より好ましくは約1~1000mg/日、さらに好ましくは約1~100mg/日である。外用剤の場合における当該使用量は通常、成人1人体重約50kgあたり好ましくは約0.1 μ g~2g/日である。

[0070] さらに外用剤として用いる場合、前記組成物の皮膚への適用量は、好ましくは約1ng~500 μ g/cm²、より好ましくは約0.01~50 μ g/cm²、さらに好ましくは約0.1~10 μ g/cm²である。

[0071] 本発明はさらに、線維芽細胞の増殖を促進するための組成物の製造のための、皮膚のシワ、タルミ、ハリ低下、弾力性低下、又は保湿機能低下の改善

又は予防のための組成物の製造のための、或いは美容のための組成物の製造のための、前記（A）成分及び（B）成分の使用を提供する。

[0072] 前記（A）成分及び（B）成分の使用量は、前記組成物中の含有量となるように使用すればよい。

実施例

[0073] 以下に、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

[0074] 実施例 1 : DLDVF (Asp—Leu—Asp—Val—Phe) ペプチドの調製 :

ペプチドの合成 :

表題のペプチドを、ペプチド自動合成装置(島津製作所社製 : PSSM8)を用いて、Fmoc法による固相合成法により合成した。具体的な手順は以下の通りである : まず固相合成用樹脂にFmoc—Phe (1—Trt)—OHのC末端を結合させてから、保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、次いでこの樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Val—OHをPheのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Asp(OtBu)—OHをValのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Leu—OHをAspのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Asp(OtBu)—OHをLeuのN末端に導入した。次いで、保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、この樹脂からペプチド鎖の切り出しを行った。TFA (トリフルオロ酢酸)により、PheのTrt基とAspのtBu基を切断することにより脱保護した。最後に、分取HPLCで未反応物を除去して精製することによりDLDVFペプチドを得た。

[0075] ペプチドの純度検定 :

得られた精製物を分析用逆相高速液体クロマトグラフィー [カラム : Inertsil ODS-3 (内径 : 2.1mm、長さ : 50mm)、GL Sciences社製、 ; 移動相 : 溶媒 I (0.05%トリフルオロ酢酸) および溶媒II (0.05%トリフルオロ酢酸、100%アセトニトリル) のグラジエント (0分 (溶媒II=0%) ~25分 (溶媒II

=50%)) ; 流速 : 0.2 ml / 分 ; 検出法 : 波長 220nmにおける吸光度] に付したところ、14.8分に単一の鋭いピークが示され、純度は99.5%であった。

[0076] 実施例 2 : RDLDV (Arg—Asp—Leu—Asp—Val) ペプチドの調製 :

ペプチドの合成 :

表題のペプチドを、ペプチド自動合成装置(島津製作所社製 : PSSM8)を用いて、Fmoc法による固相合成法により合成した。具体的な手順は以下の通りである : まず固相合成用樹脂にFmoc—Val (1—Trt) —OHのC末端を結合させてから、保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、次いでこの樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Asp(OtBu)—OHをValのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Leu—OHをAspのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Asp(OtBu)—OHをLeuのN末端に導入した。次いで保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、再度この樹脂を中和・洗浄後、Fmoc—Arg(Pmc)—OHをAspのN末端に導入した。次いで、保護基(Fmoc)をピペリジン処理で除去し、この樹脂からペプチド鎖の切り出しを行った。TFA(トリフルオロ酢酸)により、ValのTrt基とAspのtBu基、ArgのPmc基を切断することにより脱保護した。最後に、分取HPLCで未反応物を除去して精製することによりRDLDVを得た。

[0077] ペプチドの純度検定 :

得られた精製物を分析用逆相高速液体クロマトグラフィー [カラム : Inertsil ODS—3 (内径 : 2.1mm、長さ : 50mm)、GL Sciences社製、 ; 移動相 : 溶媒 I (0.05%トリフルオロ酢酸) および溶媒II (0.05%トリフルオロ酢酸、100%アセトニトリル) のグラジエント (0分 (溶媒II=0%) ~30分 (溶媒II=70%)) ; 流速 : 0.2 ml / 分 ; 検出法 : 波長 220nmにおける吸光度] に付したところ、11.2分に単一の鋭いピークが示され、純度は99.2%であった。

[0078] 実施例 3 : 線維芽細胞増殖促進作用の評価 (1)

上記実施例 1 で調製したDLDFVペプチドと、各種多糖類 (ヒアルロン酸、フコイダン) とを用いて、線維芽細胞に対する増殖促進効果について評価を行

った。

[0079] 具体的には、先ず、96ウェルプレートの各ウェルに、被験ペプチドを所定濃度となるように希釈した無血清DMEM培地又は被験ペプチドを含まない無血清DMEM培地を50 μ Lずつ添加し、37℃、5%炭酸ガス及び95%空気の環境下で1時間保温した。次いで、ヒト正常皮膚線維芽細胞を細胞数が約5,000 cells/wellとなる割合で播種し、液量150 μ Lとなるように調整し、同条件下で6時間培養した（被験ペプチド含有群の最終ペプチド濃度 5×10^{-5} w/w%）。その後、各種多糖類を所定濃度で溶解させた同培地又は多糖類を含まない同培地を添加し、さらに48時間培養した（最終液量200 μ L/well）。その後、各ウェルの上清を除去し、MTT（3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide）試薬を用いて生存細胞数を測定した。測定結果より、無血清DMEM培地のみ（コントロール）の場合の平均生存細胞数を100としたときの、各比較例群及び実施例群の平均生存細胞数の割合から、細胞増殖率を算出した。この結果を下記の表1に示す。

[表1]

	実施例 1	実施例 2	実施例 3	実施例 4	比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4	比較例 5
DLDVF ペプチド	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	—	—	—	—
ヒアルロン酸 ナトリウム ¹⁾	0.065 %	0.125 %	0.1875 %	0.25 %	—	0.065 %	0.125 %	0.1875 %	0.25 %
細胞増殖率 (% of control)	117.42	142.58	140.00	123.23	86.59	109.03	118.71	127.10	120.65

1)ヒアルロンサン HA-LQ(キューピー(株)製):粘度平均分子量約 120 万

	実施例 5	実施例 6	実施例 7	比較例 6	比較例 7	比較例 8
DLDVF ペプチド	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	—	—	—
フコイダン ²⁾	0.0025 %	0.025 %	0.25 %	0.0025 %	0.025 %	0.25 %
細胞増殖率 (% of control)	93.95	116.08	192.36	90.13	106.85	170.22

2)理研メカブフコイダン K(理研ビタミン(株)製):重量平均分子量約 90 万

[0080] 上記結果に示されるように、DLDFVペプチド自体には線維芽細胞の増殖を促進する効果は認められなかった（比較例1）。一方、ヒアルロン酸やフコイダン等の多糖類は単独で線維芽細胞を増殖する効果が認められたが、さらにDLDFVペプチドを併用することによって、これらの多糖類の線維芽細胞増殖促進作用が相乗効果的に増強されることが明らかとなった。

[0081] 実施例4：線維芽細胞増殖促進作用の評価（2）

上記実施例2で調製したRDLDVペプチドと、各種多糖類（ヒアルロン酸、フコイダン）とを用いて、線維芽細胞に対する増殖促進効果について評価を行った。試験方法は、試験に用いたペプチドが異なる以外は、上記実施例3と実質的に同じ方法で行った。

[0082] 上記実施例3と同様に、コントロールの平均生存細胞数を100とした場合の、各比較例群及び実施例群の平均生存細胞数の割合から細胞増殖率を算出した。この結果を下記の表2に示す。

[表2]

	実施例 8	実施例 9	比較例 9	比較例 10	比較例 11
RDLDV ペプチド	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	—	—
ヒアルロン酸 ナトリウム ¹⁾	0.0125 %	0.25 %	—	0.0125 %	0.25 %
細胞増殖率 (% of control)	125.81	145.16	97.95	118.71	120.65

1)ヒアルロンサン HA-LQ(キューピー(株)製):粘度平均分子量約 120 万

	実施例 10	実施例 11	比較例 12	比較例 13
RDLDV ペプチド	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	—	—
フコイダン ²⁾	0.025 %	0.25 %	0.025 %	0.25 %
細胞増殖率 (% of control)	114.81	193.15	106.85	170.22

2)理研メカブフコイダン K(理研ビタミン(株)製):重量平均分子量約 90 万

[0083] 上記結果に示されるように、DLDFVペプチドに替えてRDLDVペプチドを用いた場合でも、ヒアルロン酸やフコイダンといった多糖類にRDLDVペプチドを併用することによって、相乗効果的に線維芽細胞増殖促進効果が発揮されることが明らかとなった。

[0084] 実施例 5：線維芽細胞増殖促進作用の評価（3）

上記実施例 1 及び 2 で調製したDLDFVペプチド又はRDLDVペプチドと、多糖類の一種であるキサンタンガムとを用いて、線維芽細胞に対する増殖促進効果について評価を行った。試験方法は、試験に用いたペプチド及び多糖類の種類、並びに添加濃度が異なる以外は、上記実施例 3 と実質的に同じ方法で行った。

[0085] 上記実施例 3 と同様に、コントロールの平均生存細胞数を100とした場合の、各比較例群及び実施例群の平均生存細胞数の割合から細胞増殖率を算出した。この結果を下記の表 3 に示す。

[表3]

	実施例 12	実施例 13	実施例 14	実施例 15	実施例 16	実施例 17	実施例 18	比較例 14	比較例 15
DLDFV ペプチド	1×10^{-6} %	1×10^{-6} %	—	—	1×10^{-5} %	—	—	—	—
RDLDV ペプチド	—	—	1×10^{-6} %	1×10^{-6} %	—	1×10^{-5} %	1×10^{-5} %	—	—
キサンタン ガム ³⁾	0.1 %	1 %	0.1 %	1 %	0.1 %	0.1 %	1 %	0.1 %	1 %
細胞増殖率 (% of control)	111.32	130.90	112.19	126.88	119.57	121.01	139.03	101.63	125.57

3)エコーガム(大日本住友製薬(株)製):重量平均分子量約 200 万

[0086] 上記結果に示されるように、多糖類としてキサンタンガムを用いた場合でも、ヒアルロン酸やフコイダンといった多糖類を用いた場合と同様に、DLDFVペプチド又はRDLDVペプチドを併用することによって、相乗効果的に線維芽細胞増殖促進効果が発揮されることが明らかとなった。

[0087] 実施例 6：線維芽細胞増殖促進作用の評価（4）

上記実施例 1 及び 2 で調製したDLDFVペプチド又はRDLDVペプチドと、多糖類の一種であるスクレロチウムガム（INCI名：Sclerotium gum）とを用いて

、線維芽細胞に対する増殖促進効果について評価を行った。試験方法は、試験に用いたペプチド及び多糖類の種類、並びに添加濃度が異なる以外は、上記実施例 3 と実質的に同じ方法で行った。

[0088] 上記実施例 3 と同様に、コントロールの平均生存細胞数を 100 とした場合の、各比較例群及び実施例群の平均生存細胞数の割合から細胞増殖率を算出した。この結果を下記の表 4 に示す。

[表4]

	実施例 19	実施例 20	実施例 21	実施例 22	比較例 16	比較例 17
DLDVF ペプチド	1×10^{-5} %	1×10^{-5} %	1×10^{-6} %	—	—	—
RDLDV ペプチド	—	—	—	1×10^{-6} %	—	—
スクレロチウム ガム ⁴⁾	0.1 %	1 %	1 %	1 %	0.1 %	1 %
細胞増殖率 (% of control)	102.34	111.95	108.95	111.58	98.03	101.05

4)AMIGEL (Albam Muller International 製) : 重量平均分子量約 500 万～600 万

[0089] 上記結果に示されるように、多糖類としてスクレロチウムガムを用いた場合でも、他の多糖類を用いた場合と同様に、DLDVFペプチド又はRDLDVペプチドを併用することによって、相乗効果的に線維芽細胞増殖促進効果が発揮されることが明らかとなった。

[0090] 実施例 7 : 線維芽細胞増殖促進作用の評価 (5)

上記実施例 1 で調製したDLDVFペプチドと、多糖類の一種であるデキストランとを用いて、線維芽細胞に対する増殖促進効果について評価を行った。試験方法は、試験に用いた多糖類の種類及び添加濃度が異なる以外は、上記実施例 3 と実質的に同じ方法で行った。

[0091] 上記実施例 3 と同様に、コントロールの平均生存細胞数を 100 とした場合の、各比較例群及び実施例群の平均生存細胞数の割合から細胞増殖率を算出した。この結果を下記の表 5 に示す。

[表5]

	実施例 23	実施例 24	比較例 18	比較例 19
DLDVF ペプチド	5×10^{-5} %	5×10^{-5} %	—	—
デキストラン ⁵⁾	0.001 %	0.1 %	0.001 %	0.1 %
細胞増殖率 (% of control)	103.3	103.9	95.4	99.5

5)MP バイオメディカル製:重量平均分子量 36000~50000

[0092] 上記結果に示されるように、多糖類としてデキストランを用いた場合でも、他の多糖類を用いた場合と同様に、DLDVFペプチドを併用することによって、相乗効果的に線維芽細胞増殖促進効果が発揮されることが明らかとなった。

[0093] 総合考察：

実施例3～7に示されるように、DLDVFペプチドとRDLDVペプチドのいずれのペプチドを用いた場合でも、各種多糖類と組み合わせることにより相乗効果的に線維芽細胞増殖促進効果が発揮されることが認められた。両ペプチドは、DLDV配列をコア配列として共有し、そのN末端又はC末端に任意の1アミノ酸を付加したペプチドという点で共通する。よってこれらの結果から、DLDVというコア配列を有しN末端又はC末端に任意に1個のアミノ酸を付加してもよいペプチドを用いることにより、各種多糖類と併用することで線維芽細胞の増殖を効果的に促進し得ることが示された。また多糖類も、ヒアルロン酸やフコイダン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、デキストラン等の種々の多糖類で効果が発揮されることが認められた。

産業上の利用可能性

[0094] 本発明の特定ペプチド類と多糖類とを含む組成物は、線維芽細胞の増殖を促進することができるので、紫外線等の外的因子或いは加齢等により低下した線維芽細胞の増殖能を活性化させ、皮膚のシワやタルミを改善し、肌のハリや弾性を回復させ、肌の保湿機能を高めることができるので、美容のため

に有益に利用できる。

[0095] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

配列表フリーテキスト

[0096] 配列番号 1 ～ 5 合成

請求の範囲

[請求項1]

(A) 下記の式 (I) :

$Xaa^1 - Asp - Leu - Asp - Val - Xaa^2$ (配列番号 : 1)

[ここで、 Xaa^1 及び Xaa^2 は存在してもしなくてもよく、存在する場合にはそれぞれ独立して任意のアミノ酸を示す]

のアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、又はそれらの塩と、

(B) 多糖類、

とを含有する組成物。

[請求項2]

(A) 成分のペプチドが、 $Asp - Leu - Asp - Val - Phe$ (配列番号 : 2)、 $Arg - Asp - Leu - Asp - Val$ (配列番号 : 3)、 $Arg - Asp - Leu - Asp - Val - Phe$ (配列番号 : 4)、又は $Asp - Leu - Asp - Val$ (配列番号 : 5) で示されるアミノ酸配列からなる、請求項1に記載の組成物。

[請求項3]

(B) 成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、グアガム、タラガム、ローカストビーンガム、タマリンドシードガム、サイリウムシードガム、アラビアガム、カラヤガム、ジェランガム、カードラン、カラギーナン、クインスシード、サクシノグリカン、寒天、ペクチン、ポルフィラン、キチン、キトサン、セルロース、デキストラン、デキストリン、プルラン、デンプン、及びこれらの多糖の誘導体、並びに前記の多糖及びその誘導体の塩からなる群より選択される少なくとも1種を含む、請求項1又は2に記載の組成物。

[請求項4]

(B) 成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、ペクチン、カラギーナン、ポルフィラン、カラヤガム、ジェランガム、キサンタンガム、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、アルギン酸、ケラタン

硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、及びヘパリンからなる群から選択される酸性多糖、及び該酸性多糖の誘導体、並びに前記酸性多糖及びその誘導体の塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の組成物。

[請求項5] (B) 成分の多糖類が、ヒアルロン酸、フコイダン、キサンタンガム、スクレロチウムガム、デキストラン、及びそれらの誘導体、並びに前記多糖及びその誘導体の塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の組成物。

[請求項6] 美容のために用いられる、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の組成物。

[請求項7] 皮膚のシワ、タルミ、ハリ低下、弾力性低下、又は保湿機能低下の改善又は予防のために用いられる、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の組成物。

[請求項8] 線維芽細胞の増殖を促進するために用いられる、請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載の組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/055084

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

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)

A61K8/64, A23L1/30, A61K8/73, A61K31/717, A61K31/718, A61K31/719,
A61K31/721, A61K31/722, A61K31/727, A61K31/728, A61K31/729, A61K31/732,
A61K31/734, A61K31/736, A61K31/737, A61K38/00, A61P17/18, A61P43/00,

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	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HASHIMOTO, Y. et al., Identification of an Autoinhibitory Domain in Calcineurin, J. Biol. Chem., 1990, Vol.265, No.4, p.1924-1927	1-8
A	US 7402407 B1 (HATHAWAY, G. M.), 22 July 2008 (22.07.2008), claims; columns 29 to 30 (Family: none)	1-8
A	JP 60-500673 A (Commonwealth Serum Laboratories Commission), 09 May 1985 (09.05.1985), claim 5 & US 4708871 A & EP 138854 A1 & WO 1984/003506 A1	1-8

☒ 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
09 May, 2013 (09.05.13)Date of mailing of the international search report
21 May, 2013 (21.05.13)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/055084

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-79043 A (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.), 16 April 2009 (16.04.2009), claims; examples (Family: none)	1-8
A	JP 2006-143605 A (Shunsuke MIYAO), 08 June 2006 (08.06.2006), claims; examples (Family: none)	1-8
A	JP 2010-077046 A (Nikko Seiyaku Kabushiki Kaisha), 08 April 2010 (08.04.2010), claims; paragraph [0003]; examples (Family: none)	1-8
P,A	WO 2012/144546 A1 (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.), 26 October 2012 (26.10.2012), entire text; all drawings (Family: none)	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/055084

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

A61K8/64(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K8/73(2006.01)i,
A61K31/717(2006.01)i, A61K31/718(2006.01)i, A61K31/719(2006.01)i,
A61K31/721(2006.01)i, A61K31/722(2006.01)i, A61K31/727(2006.01)i,
A61K31/728(2006.01)i, A61K31/729(2006.01)i, A61K31/732(2006.01)i,
A61K31/734(2006.01)i, A61K31/736(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i,
A61K38/00(2006.01)i, A61P17/18(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i,
A61Q19/08(2006.01)i, C07K7/06(2006.01)i

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

Continuation of B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (International Patent Classification (IPC))

A61Q19/08, C07K7/06

Minimum documentation searched (classification system followed by
classification symbols)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. 特別ページ参照

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. A61K8/64, A23L1/30, A61K8/73, A61K31/717, A61K31/718, A61K31/719, A61K31/721, A61K31/722, A61K31/727, A61K31/728, A61K31/729, A61K31/732, A61K31/734, A61K31/736, A61K31/737, A61K38/00, A61P17/18, A61P43/00, A61Q19/08, C07K7/06

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 3 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 3 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 3 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)

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
A	HASHIMOTO, Y. et al., Identification of an Autoinhibitory Domain in Calcineurin, J. Biol. Chem., 1990, Vol. 265, No. 4, p. 1924-1927	1-8
A	US 7402407 B1 (HATHAWAY, G. M.) 2008. 07. 22, 請求の範囲, 29-30 欄 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 60-500673 A (コモンウェルス セラム ラボラトリーズ コミツシ ョン) 1985. 05. 09, 請求項 5 & US 4708871 A & EP 138854 A1 & WO 1984/003506 A1	1-8

☒ 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

0 9 . 0 5 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

2 1 . 0 5 . 2 0 1 3

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)

松本 直子

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

4 D

9 5 4 6

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
A	JP 2009-79043 A (ロート製薬株式会社) 2009.04.16, 特許請求の範囲, 実施例 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 2006-143605 A (宮尾俊輔) 2006.06.08, 特許請求の範囲, 実施例 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 2010-077046 A (日興製薬株式会社) 2010.04.08, 特許請求の範囲, 段落【0003】, 実施例 (ファミリーなし)	1-8
P, A	WO 2012/144546 A1 (ロート製薬株式会社) 2012.10.26, 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-8

発明の属する分野の分類

A61K8/64(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K8/73(2006.01)i, A61K31/717(2006.01)i,
A61K31/718(2006.01)i, A61K31/719(2006.01)i, A61K31/721(2006.01)i,
A61K31/722(2006.01)i, A61K31/727(2006.01)i, A61K31/728(2006.01)i,
A61K31/729(2006.01)i, A61K31/732(2006.01)i, A61K31/734(2006.01)i,
A61K31/736(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i,
A61P17/18(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/08(2006.01)i, C07K7/06(2006.01)i