

(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  
2009年5月7日 (07.05.2009)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2009/057280 A1

(51) 国際特許分類:

A23L 1/305 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)  
A23J 1/20 (2006.01) A61P 19/08 (2006.01)  
A23K 1/16 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2008/003064

(22) 国際出願日:

2008年10月28日 (28.10.2008)

(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2007-285377 2007年11月1日 (01.11.2007) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 雪印乳業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.) [JP/JP]; 〒0650043 北海道札幌市東区苗穂町六丁目1番1号 Hokkaido (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 芹澤篤 (SERIZAWA, Atsushi) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株式会社内 Saitama (JP). 森田如一 (MORITA, Yoshikazu) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株式会社内 Saitama (JP). 上辻大輔 (UETSUJI, Daisuke) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株式会社内 Saitama (JP). 小野愛子 (ONO, Aiko) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株

式会社内 Saitama (JP). 松山博昭 (MATSUBAYAMA, Hiroaki) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株式会社内 Saitama (JP). 日暮聰志 (HIGURASHI, Satoshi) [JP/JP]; 〒3501165 埼玉県川越市南台1-1-2 雪印乳業株式会社内 Saitama (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人 もえぎ特許事務所 (MOEGI PATENT OFFICE); 〒1050001 東京都港区虎ノ門二丁目7番7号 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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, 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 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 國際調査報告書

(54) Title: BONE-STRENGTHENING FOOD MATERIAL

(54) 発明の名称: 骨強化用食品素材

(57) Abstract: Disclosed is a bone-strengthening agent which comprises a milk protein fraction having the following properties (1) to (4): (1) the milk protein fraction is derived from milk; (2) the milk protein fraction is a fraction containing a protein component having a molecular weight of 6,000 to 150,000 Daltons; (3) in the constitutional amino acid composition of the milk protein fraction, the basic amino acid content is 12 to 14 wt%, and the ratio of the amount of a basic amino acid(s) to the amount of an acidic amino acid(s) is 0.5 to 0.7; and (4) the milk protein fraction has an activity of accelerating the calcification in an osteoblast.

(57) 要約: 次の(1)~(4)の特性を有する、乳タンパク質画分からなる骨強化剤。 (1) 乳由来であること。 (2) 分子量6,000~150,000ダルトンの範囲のタンパク質成分を含有する画分であること。 (3) 構成アミノ酸組成中に塩基性アミノ酸を12~14重量%含有し、かつ、塩基性アミノ酸/酸性アミノ酸比が0.5~0.7の範囲であること。 (4) 骨芽細胞における石灰化促進作用を有すること。

WO 2009/057280 A1

## 明 細 書

### 骨強化用食品素材

#### 技術分野

[0001] 本発明は、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物に関する。

本発明の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物は、骨強化作用を有するので、骨疾患の予防又は治療、骨強化等を目的とした骨強化剤として、また、骨疾患の予防又は治療用もしくは骨強化用医薬品、飲食品及び飼料の有効成分として有用である。

#### 背景技術

[0002] 近年、高齢化に伴い、骨粗鬆症、骨折、腰痛等の各種骨疾患が増加する傾向にある。骨組織においては、絶えず骨形成と骨吸収が営まれており、若い時には骨形成と骨吸収のバランスが保たれているが、加齢に伴い種々の原因でそのバランスが骨吸収に傾く（アンカップリング）。そして、この状態が長期間続くと骨組織が脆くなり、骨粗鬆症、骨折、腰痛等の各種骨疾患を生じることになる。このアンカップリングを防止することができれば、骨粗鬆症、骨折、腰痛等の各種骨疾患を予防することができると考えられている。

[0003] 従来、アンカップリングを防止し、各種骨疾患を予防あるいは治療する方法として、（1）食餌によるカルシウム補給、（2）軽い運動、（3）日光浴、（4）薬物治療等が行われている。食餌によるカルシウム補給には、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム等のカルシウム塩や卵殻、魚骨粉等の天然カルシウム剤が使用されている。しかし、これらは必ずしも経口摂取に適している素材であるとはいえない。軽い運動はジョギングや散歩等が良いとされるが、体が弱っている場合は軽い運動も厄介なものであり、まして寝たきりの老人では殆んど運動できない。日光浴は活性化ビタミンD<sub>3</sub>の補給という点では良いとされているが、これだけでは不充分である。薬物投与には、1α-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>やカルシトニン製剤等が使用されており、骨粗鬆

症の治療には有効であるということが知られている。しかし、これらの物質は医薬そのものであり、食品素材として使用可能なものではない。

[0004] 本発明者らは、食品素材として使用可能な骨強化作用を有する物質を得るために、乳中に存在する骨強化因子を探索し続けてきた。その結果、乳清タンパク質の水溶性画分から乳清由来の塩を除去したタンパク質及びペプチド混合物に骨強化作用があることを見出した（例えば、特許文献1参照）。そして、このタンパク質及びペプチド混合物の水溶液をエタノール処理、加熱処理、加塩処理、限外濾過膜処理をして得られる画分に骨芽細胞増殖促進作用及び骨強化作用があることを見出した（例えば、特許文献2、3参照）。また、乳中に存在する塩基性タンパク質に骨芽細胞増殖促進作用、骨強化作用及び骨吸収防止作用があることを見出した（例えば、特許文献4参照）。

特許文献1：特許3160862号公報

特許文献2：特許3092874号公報

特許文献3：特開平5-320066号公報

特許文献4：特許3112637号公報

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、食品素材としても使用可能な、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を見出し、この骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を含有する骨強化剤、及び、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した医薬品、飲食品又は飼料を提供することを課題とする。

### 課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、新たな骨強化素材の探索を試みた結果、従来の食品素材よりも強い骨強化作用を示す画分が得られることを見出した。そして、これらの知見に基づいてこの骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を含有する骨強化剤、及び、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した医薬品、飲食品及び飼料を得るに

至ったものである。

[0007] (A) 次の特性を有する乳タンパク質画分に関する。

(1) 乳由来であること。

(2) ソディウムドデシルサルフェート-ポリアクリルアミドゲル( SDS-PAGE )電気泳動で、分子量6,000～150,000ダルトンの範囲のタンパク質含有する画分であること。

(3) 構成アミノ酸組成中に塩基性アミノ酸は、下記の構成からなる発明である。

ミノ酸を12～14重量%含有し、かつ、塩基性アミノ酸／酸性アミノ酸比が0.5～0.7の範囲であること。

(4) 骨芽細胞における石灰化促進作用を有すること。

(B) 前記乳タンパク質画分をタンパク質分解酵素で分解して得られる乳タンパク質画分分解物。

(C) (A)又は(B)に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を含有する骨強化剤。

(D) (A)又は(B)に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用医薬品。

(E) (A)又は(B)に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用飲食品。

(F) (A)又は(B)に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用飼料。

## 発明の効果

[0008] 本発明の骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を有効成分とする骨強化剤、及び、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を含有する骨強化用医薬品、飲食品及び飼料は、経口的に摂取することにより、体内において骨芽細胞の石灰化を促進する。

従って、本発明の骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を有効成分とする骨強化剤、及び、骨強化作用を有する乳タンパ

ク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用医薬品、飲食品及び飼料は、ヒトや動物の生体内で骨芽細胞の石灰化を促進することから、骨強化作用を有し、また骨粗鬆症等の骨量減少の抑制に有効である。

### 図面の簡単な説明

[0009] [図1]乳由来タンパク質画分の石灰化促進効果を示した説明図である。（試験例1）。

[図2]骨粗鬆症ラットに本発明の実施例1で得られた乳タンパク質画分を投与した場合の大転骨骨強度増強効果を示した図である（試験例2）。

### 発明を実施するための最良の形態

[0010] 本発明は、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を有効成分とする骨強化剤、及び、骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用医薬品、飲食品及び飼料に係るものである。

[0011] 本発明のこのような骨強化作用を有する乳タンパク質画分は、例えば、脱脂乳や乳清等の乳原料を陽イオン交換樹脂と接触させて、脱イオン水で洗浄後、この樹脂に吸着した乳タンパク質を0.2Mの食塩溶出液で溶出して得ることができる。なお、塩類としては、食塩の他カリウム塩、アンモニア塩、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩等を使用することができ、洗浄液のイオン強度を0.05以下、溶出溶液のイオン強度を0.15～0.25に適宜調整して、本発明の乳タンパク質画分を得ることができる。また、この溶出画分を回収し、逆浸透(RO)膜や電気透析(ED)法等により脱塩及び濃縮し、必要に応じて乾燥することにより得ることができる。逆浸透(RO)膜としては、Desal-3(Desalination社製)、HR-95(Dow Danmark社製)、NTR-729HF(日東電工社製)等を例示することができる。また、電気透析(ED)装置は、ユアサアイオニクス社や日本鍊水社製の電気透析装置を例示できる。

[0012] また、乳由来のタンパク質画分を得る方法としては、乳又は乳由来の原料を陽イオン交換体に接触させた後、この陽イオン交換体に吸着した塩基性タンパク質画分を、pH5を超える溶出液で溶出して得

る方法〔特開平5-202098号公報〕、アルギン酸ゲルを用いて得る方法（特開昭61-246198号公報）、無機の多孔性粒子を用いて乳清から得る方法（特開平1-86839号公報）、硫酸化エステル化合物を用いて乳から得る方法（特開昭63-255300号公報）等が知られており、本発明の骨強化作用を有する乳由來のタンパク質画分は、このような方法で得られるタンパク質画分を用いることができる。

- [0013] このようにして回収された乳タンパク質画分は、通常、凍結乾燥等により粉末化して使用することができる。
- [0014] 本発明で用いる骨強化作用を有する乳タンパク質画分は、その構成アミノ酸組成中に塩基性アミノ酸を12～14重量%含有し、かつ塩基性アミノ酸／酸性アミノ酸比が0.5～0.7の範囲であることが好ましい。この範囲を外れると本願発明の効果を発揮することができない。また、本発明品は、分子量6,000～150,000ダルトンを示す多種のタンパク質の混合物であり、等電点も6～11の広範囲に分布を示す。
- [0015] 乳タンパク質画分分解物は、乳タンパク質画分と同様のアミノ酸組成を有しており、例えば、上記の方法で得られた乳タンパク質画分にペプシン、トリプシン、キモトリプシン等のタンパク質分解酵素を作用させ、さらに必要に応じ、パンクレアチニン等のタンパク質分解酵素を作用させることにより、平均分子量4,000以下の分解物として得ることができる。なお、乳タンパク質画分分解物は、通常、凍結乾燥等により粉末化して使用することができる。
- [0016] 本発明の骨強化作用を有する乳タンパク質画分の給原となる乳又は乳由來原料としては、牛乳、人乳、山羊乳、羊乳等の乳を用いることができ、これらの乳をそのまま、あるいは、これらの乳の還元乳、脱脂乳、ホエー等を用いることができる。
- [0017] 本発明の骨強化剤を投与するに際しては、有効成分である骨強化作用を有する乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物をそのままの状態で用いることもできるが、常法に従い、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、ドリンク剤等に製剤化して用いることもできる。さらには、これらの乳タンパク

質画分又は乳タンパク質画分分解物をそのままあるいは製剤化した後、これを栄養剤や飲食品等に配合して、骨強化を図ることも可能である。なお、本発明の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物は、比較的熱に対して安定なので、通常行われるような条件で加熱殺菌することも可能である。

[0018] 本発明において、骨強化作用を発揮させるためには、体重、性別や年齢等を考慮して適宜決定すればよいが、通常成人の場合、本発明品である乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を一日当たり、1～50mg摂取できるよう配合量等を調整すればよい。このように本発明品は低用量で効果がある。本発明の骨強化作用を有する成分は、骨強化剤として、あるいはそれらを配合した医薬品、飲食品及び飼料を経口摂取することによって、骨強化作用を発揮する。

[0019] 以下に、参考例、実施例及び試験例を示して本発明を詳細に説明するが、これらは単に本発明の実施態様を例示するものであり、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

[0020] [参考例 1]

下記の方法（特許第3112637号参照）により、骨強化が認められる市販品の乳タンパク質画分を調製した。

陽イオン交換樹脂のスルホン化キトパール（富士紡績製）0.5リットルを充填した直径10cmのカラムを脱イオン水で充分洗浄した。このカラムに未殺菌脱脂乳 50リットルを流速100 ml /minで通液した後、このカラムを脱イオン水で充分洗浄し、0.95M塩化ナトリウムを含む 0.05Mリン酸緩衝液（pH 7.0）2.5リットルを通液して樹脂に吸着したタンパク質を溶出した。そして、この溶出液を逆浸透（RO）膜処理により、脱塩し、濃縮した後、凍結乾燥して粉末状の乳タンパク質画分を得た。この操作を2回繰り返して104gのタンパク質画分を得た。このタンパク質画分の等電点は 7.0～8.5 であって、このタンパク質画分に含まれる塩基性アミノ酸は17.8%であった。

## 実施例 1

[0021] 陽イオン交換樹脂のスルホン化キトパール（富士紡績製）0.5リットルを充

填した直径10cmのカラムを脱イオン水で充分洗浄した。このカラムに未殺菌脱脂乳 50リットルを流速100ml/minで通液した後、このカラムを脱イオン水で充分洗浄し、0.15M塩化ナトリウムを含む 0.05Mリン酸緩衝液(pH 7.0) 2.5リットルを通液して樹脂に吸着したタンパク質を溶出した。そして、この溶出液を逆浸透(RO)膜処理により、脱塩し、濃縮した後、凍結乾燥して粉末状の乳タンパク質画分を得た。この操作を10回行い、乳タンパク質画分24.2gを得た。この画分は分子量が6,000~150,000ダルトン、等電点が 6.0~11.0 であって、この乳タンパク質画分に含まれる構成アミノ酸のうち、塩基性アミノ酸は12~14%であった。また、塩基性アミノ酸／酸性アミノ酸比は0.5~0.7であった。

## 実施例 2

[0022] 陽イオン交換樹脂のスルホン化キトパール(富士紡績製) 0.5リットルを充填した直径10cmのカラムを脱イオン水で充分洗浄した。このカラムに未殺菌脱脂乳 50リットルを流速100ml/minで通液した後、このカラムを0.05M塩化ナトリウムを含む0.05Mリン酸緩衝液(pH7.0)で充分洗浄し、0.25M塩化ナトリウムを含む 0.05Mリン酸緩衝液(pH 7.0) 2.5リットルを通液して樹脂に吸着したタンパク質を溶出した。そして、この溶出液を逆浸透(RO)膜処理により、脱塩し、濃縮した後、凍結乾燥して粉末状の乳タンパク質画分を得た。この操作を5回行い、乳タンパク質画分12.8gを得た。この画分は分子量6,000~150,000ダルトン、等電点は 6.0~11.0 であって、この乳タンパク質画分に含まれる構成アミノ酸のうち、塩基性アミノ酸は12~14%であった。また、塩基性アミノ酸／酸性アミノ酸比は0.5~0.7であった。

## 実施例 3

[0023] 実施例1で得られた乳タンパク質画分24.2gを蒸留水10リットルに溶解した後、ペプシン(関東化学製)を2%濃度となるよう添加し、37°Cで1時間攪拌しながら加水分解した、次いで、水酸化ナトリウム溶液でpH6.8に中和後、1%パンクレアチン(シグマ社製)を添加し、37°Cで2時間反応させた。反応後、80°Cで10分間加熱処理して酵素を失活させた後、乳タンパク質画分

分解物23.1gを得た。

## 実施例 4

[0024] 実施例2で得られた乳タンパク質画分12.8gを蒸留水8リットルに溶解した後、トリプシン（関東化学製）を2%濃度となるよう添加し、37°Cで1時間攪拌しながら加水分解した、次いで、水酸化ナトリウム溶液でpH6.6に中和後、1%パンクレアチン（シグマ社製）を添加し、37°Cで2時間反応させた。反応後、80°Cで10分間加熱処理して酵素を失活させた後、乳タンパク質画分分解物11.7gを得た。

[0025] [試験例 1]

参考例1及び実施例1で得られた各タンパク質画分について、Danjoらの方法 [Danjo, A. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 360, pp. 199–204, 2007]にしたがって調べた。すなわち、マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞MC3T3-E1を $5 \times 10^3$  cell/cm<sup>2</sup>の細胞密度となるように、 $\alpha$ MEM+10% FBS培地に懸濁し、24 ウエルの培養皿へ播種した。12時間静置後、石灰化誘導培地 ( $\alpha$ MEM+10 % FBS 50 μg/ml+5 mM  $\beta$ -glycerophosphoacid) に交換するとともに、参考例1で得られた乳タンパク質及び実施例1で得られた本発明品をそれぞれ $10^{-10}$ ~ $10^{-5}$ Mの濃度で添加した。培地を3日毎に交換し、28日間培養を続けた。

培養14、21、28 日目に、4%パラフォルムアルデヒド含有0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で10分間、室温で固定した。0.01M PBS で洗浄後、2% アリザリンレッドS水溶液で15分、室温で反応させ、カルシウム染色を行った。骨の無機成分の一つであるリン酸を染色するために、固定後、蒸留水で洗浄し、5% 硝酸銀水溶液で1時間、室温で反応させてvon Kossa 染色を行った。石灰化小結節内のカルシウムイオン量の定量にはカルシウムCキット（和光純薬工業社製）を用いた。

[0026] 図1に培養28日目のカルシウム濃度測定結果を示す。試料無添加の培地のみで培養した群を対照とした。

実施例1で得られた本発明品は、用量依存的に骨芽細胞の石灰化を促進す

る特性が認められた。参考例 1 で得られた乳タンパク質にも同様の作用が認められるものの、本発明品と比較するとその作用は弱いことが判明した。

[0027] [試験例 2]

参考例 1 及び実施例 1 で得られた各タンパク質画分について、動物実験により骨強化作用を調べた。動物実験には 4 週齢の Wistar 系雌ラットを用いた。1 週間の予備飼育後、卵巣摘出手術を施し、その後、カルシウム欠乏食で 5 週間飼育して動物実験に供した。なお、卵巣を摘出し、カルシウム欠乏食で 5 週間飼育したラットは、明らかに骨粗鬆症状態にあった。この骨粗鬆症状態を惹起したラットを 1 群 6 匹ずつ、乳タンパク質画分無添加の対照群（A 群）、参考例 1 で得られた乳タンパク質画分 0.5 重量% 投与群（B 群）、実施例 1 で得られた乳タンパク質画分 0.1 重量% 投与群（C 群）、実施例 1 で得られた乳タンパク質画分 0.5 重量% 投与群（D 群）、実施例 1 で得られた乳タンパク質画分 1.0 重量% 投与群（E 群）の 5 試験群に分け、それぞれ表 1 に示す試験飼料で 4 ヶ月飼育した。なお、各試験飼料の窒素含量(17.06%)が同様となるようカゼインで調整した。また、各試験飼料については、100g当たり、カルシウム 300mg、リン 230mg 及びマグネシウム 50mg を配合した。

[0028]

[表1]

	A 群	B 群	C 群	D 群	E 群
カゼイン	20.0	19.5	19.9	19.5	19.0
コーンスターク	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
セルロース	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
コーン油	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ミネラル混合	2.65	2.65	2.65	2.65	2.65
ショ糖	51.05	51.05	51.05	51.05	51.05
DL-メチオニン	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
参考例 1 で得られた乳タンパク質画分	—	0.5	—	—	—
実施例 1 で得られた乳タンパク質画分	—	—	0.1	0.5	1.0

(重量%)

[0029] 飼育 4 ヶ月後、各試験群のラットの両側大腿骨を摘出し、骨破断力測定装置（レオメータ・マックス RX-1 600 型、アイテクノ製）で骨強度を測定した。その結果を図 2 に示す。これによると、大腿骨破断応力は、対照群（A 群：乳タンパク質画分無添加）に比べ、参考例 1 で得られた乳タンパク質画分投与群（B 群）、実施例 1 で得られた乳タンパク質画分投与群（C 群、D 群、E 群）で高い値を示した。また、実施例 1 で得られた乳タンパク質画分の濃度が増加するに従い、大腿骨破断応力は高い値を示した。参考例 1 で得られた乳タンパク質画分にも大腿骨破断応力を増加させる作用が認められるものの、実施例 1 で得られた本発明品の方がその作用は強いことが明らかとなった。

なお、実験結果は示さなかったが、実施例 3 及び実施例 4 で得られた乳タンパク質画分分解物を用いた場合も同様の効果が認められた。

## 実施例 5

[0030] 実施例 1 で得られた乳タンパク質画分100mg に、含水結晶ぶどう糖93.4g、炭酸カルシウム5g、シュガーエステル1g、香料0.5gを加え、混和した後、タブレット状に打錠して、本発明の骨強化剤を製造した。

### 実施例 6

[0031] 表2に示した組成で各成分を混合してドウを作成し、成型した後、ばい焼して、骨粗鬆症等の各種骨疾患の予防及び改善用のビスケットを製造した。

[0032] [表2]

小麦粉	50.0 (重量%)
砂糖	20.0
食塩	0.5
マーガリン	12.5
卵	12.1
水	4.0
炭酸水素ナトリウム	0.1
重炭酸アンモニウム	0.2
炭酸カルシウム	0.5
乳タンパク質画分粉末（実施例 1）	0.1

### 実施例 7

[0033] 表3に示す組成の骨強化用果汁飲料を製造した。

[0034]

[表3]

混合異性化糖	15.0 (重量%)
果汁	10.0
クエン酸	0.5
乳タンパク質画分粉末（実施例1）	0.5
香料	0.1
カルシウム	0.1
水	73.8

### 実施例 8

[0035] 表4に示した配合により原料を混合し、骨強化用イヌ飼育飼料を製造した。  
。

[0036] [表4]

乳タンパク質画分粉末（実施例1）	2.5 (重量%)
脱脂粉乳	13.5
大豆粕	12.0
大豆油	4.0
コーン油	2.0
パーム油	27.0
トウモロコシでんぷん	14.0
小麦粉	9.0
ふすま	2.0
ビタミン混合物	9.0
ミネラル混合物	2.0
セルロース	3.0

## 実施例 9

- [0037] 表5に示した組成で各成分を混合し、加圧成型して、実施例3で得られた乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用錠剤を調製した。
- [0038] [表5]

含水結晶ブドウ糖	59.4 (重量%)
乳タンパク質画分分解物（実施例3）	16.0
コーンスターク	12.0
セルロース	4.0
トウモロコシ油	4.0
ビタミン混合物（コリン含む）	1.0
ミネラル混合物	3.6

## 実施例 10

- [0039] 表6に示した組成で各成分を混合し、乳化温度85°Cで乳化して、実施例4で得られた乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用プロセスチーズを調製した。

- [0040] [表6]

ゴーダチーズ	43.0 (重量%)
チェダーチーズ	43.0
クエン酸ナトリウム	2.0
乳タンパク質画分分解物（実施例4）	0.5
乳由来カルシウム	1.0
水	10.5

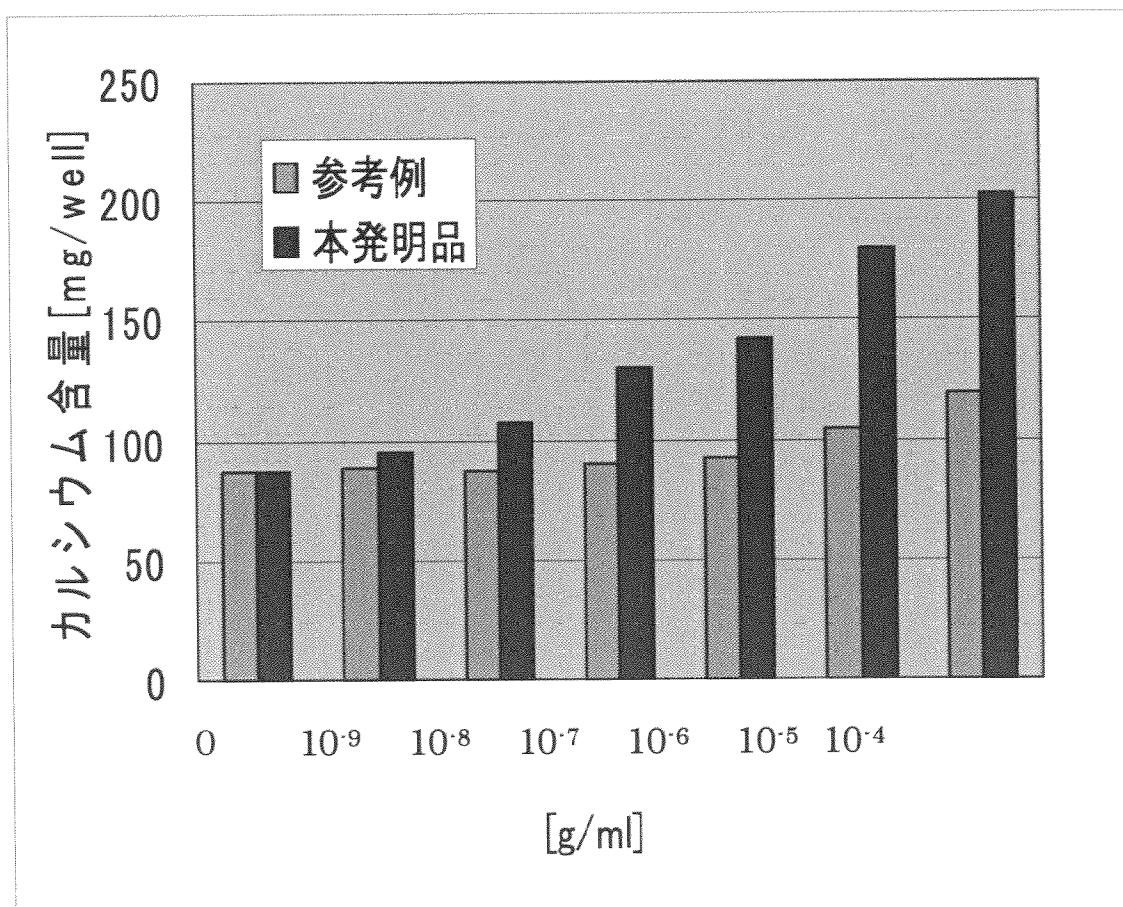
## 産業上の利用可能性

- [0041] 本発明の乳タンパク質画分は、骨強化作用を有するので、骨強化等を目的とした骨強化剤として骨疾患の予防又は治療に有用である。また、本発明品は安全性が高く、この骨強化剤を配合した骨疾患の予防又は治療用医薬品、飲食品及び飼料として利用することが出来る。

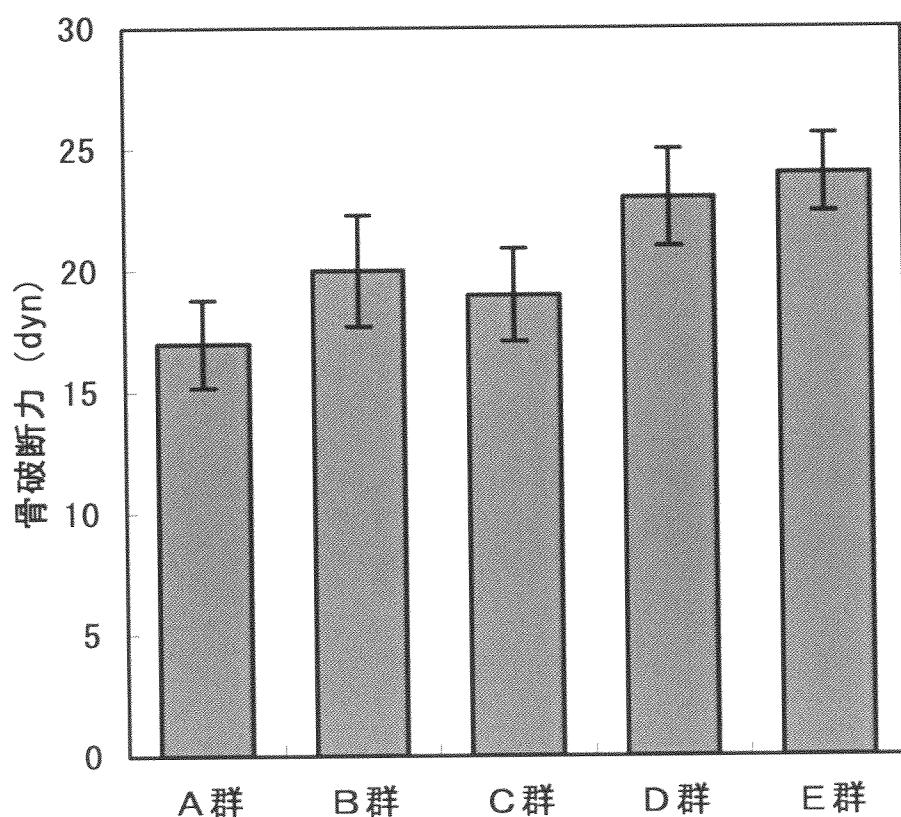
## 請求の範囲

- [1] 次の(1)～(4)の特性を有する乳タンパク質画分。
- (1) 乳由来であること。
- (2) ソディウムドデシルサルフェート-ポリアクリルアミドゲル( SDS-PAGE )電気泳動で、分子量6,000～150,000ダルトンの範囲のタンパク質を含有する画分であること。
- (3) 構成アミノ酸組成中に塩基性アミノ酸を12～14重量%含有し、かつ、塩基性アミノ酸／酸性アミノ酸比が0.5～0.7の範囲であること。
- (4) 骨芽細胞における石灰化促進作用を有すること。
- [2] 請求項1に記載の乳タンパク質画分をタンパク質分解酵素で分解して得られる乳タンパク質画分分解物。
- [3] 請求項1又は2に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を含有する骨強化剤。
- [4] 請求項1又は2に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用医薬品。
- [5] 請求項1又は2に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用飲食品。
- [6] 請求項1又は2に記載の乳タンパク質画分又は乳タンパク質画分分解物を配合した骨強化用飼料。

[図1]



[図2]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/003064

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

*A23L1/305 (2006.01)i, A23J1/20 (2006.01)i, A23K1/16 (2006.01)i, A61K38/00 (2006.01)i, A61P19/08 (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)

*A23L1/305, A23J1/20, A23K1/16, A61K38/00, A61P19/08*

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

<i>Jitsuyo Shinan Koho</i>	<i>1922-1996</i>	<i>Jitsuyo Shinan Toroku Koho</i>	<i>1996-2008</i>
<i>Kokai Jitsuyo Shinan Koho</i>	<i>1971-2008</i>	<i>Toroku Jitsuyo Shinan Koho</i>	<i>1994-2008</i>

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

*JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)*

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 3112637 B2 (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 22 September, 2000 (22.09.00), & JP 8-151331 A & US 5932259 A & EP 704218 A2 & DE 69529873 D & DE 69529873 T	1-6
A	JP 2974604 B2 (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 03 September, 1999 (03.09.99), & JP 9-191858 A & US 5976597 A & EP 786473 A2 & DE 69732871 D & DE 69732871 T & AU 1226297 A & NZ 314097 A & AU 718253 B	1-6

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  
**13 November, 2008 (13.11.08)**

Date of mailing of the international search report  
**25 November, 2008 (25.11.08)**

Name and mailing address of the ISA/  
**Japanese Patent Office**

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. A23L1/305 (2006.01)i, A23J1/20 (2006.01)i, A23K1/16 (2006.01)i, A61K38/00 (2006.01)i, A61P19/08 (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（IPC））

Int.Cl. A23L1/305, A23J1/20, A23K1/16, A61K38/00, A61P19/08

## 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	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2008年
日本国実用新案登録公報	1996-2008年
日本国登録実用新案公報	1994-2008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）

JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), 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 請求の範囲の番号
A	JP 3112637 B2 (雪印乳業株式会社) 2000.09.22, & JP 8-151331 A & US 5932259 A & EP 704218 A2 & DE 69529873 D & DE 69529873 T	1-6
A	JP 2974604 B2 (雪印乳業株式会社) 1999.09.03, & JP 9-191858 A & US 5976597 A & EP 786473 A2 & DE 69732871 D & DE 69732871 T & AU 1226297 A & NZ 314097 A & AU 718253 B	1-6

□ 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

13. 11. 2008

## 国際調査報告の発送日

25. 11. 2008

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

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）

4B	2936
----	------

飯室 里美

電話番号 03-3581-1101 内線 3448