(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
2022年9月29日(29.09.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/202403 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 33/00 (2006.01)
A23L 33/125 (2016.01)
A61K 8/19 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01)
A61K 31/047 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 31/02 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2022/010902

(22) 国際出願日： 2022年3月11日(11.03.2022)

(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 2021-049259 2021年3月23日(23.03.2021) JP
特願 2021-201868 2021年12月13日(13.12.2021) JP

(71) 出願人: 花王株式会社(**KAO CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1038210 東京都中央区日本橋茅場町一丁目１４番１０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 藤井 明彦(**FUJII, Akihiko**); 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６ 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 赤津 友基(**AKATSU, Tomoki**); 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６ 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 河野 早和子(**KAWANO, Sawako**); 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６ 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 惣野 初美(**SONO, Hatsumi**); 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６ 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 峯岸 慶彦(**MINEGISHI, Yoshihiko**); 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６ 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP).

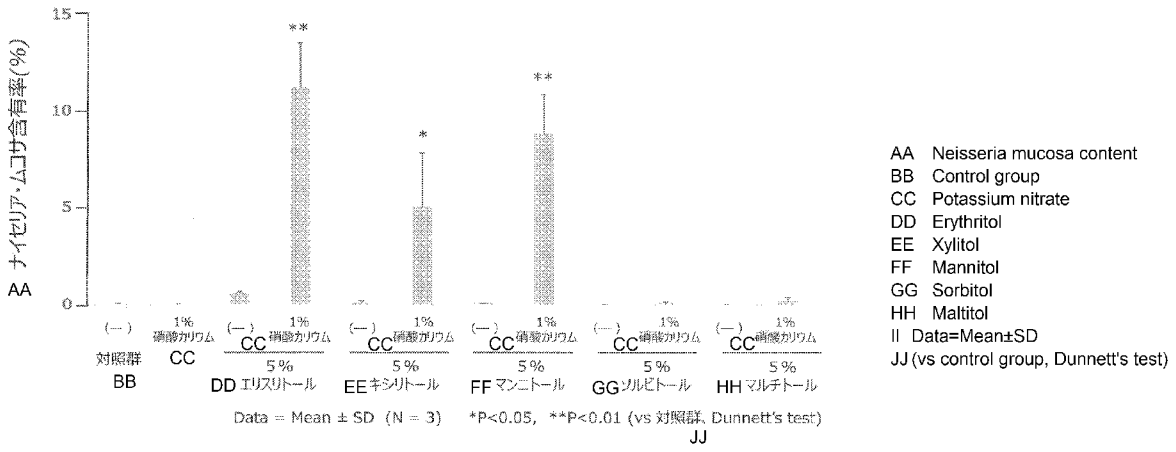
(74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所(**THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE**); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町１丁目３番８号 沢の鶴人形町ビル Tokyo (JP).

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, KE, KG, KH,

(54) **Title:** ORAL NEISSERIA-MUCOSA-INCREASING AGENT

(54) 発明の名称： 口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤

[図1]



(57) **Abstract:** Provided is a material that is useful for increasing the Neisseria mucosa content in the oral cavity. This oral Neisseria-mucosa-increasing agent has, as active ingredients, a nitrate-ion-supplying compound and one or more sugar alcohols selected from erythritol, xylitol, and mannitol.

(57) 要約：口腔内において、ナイセリア・ムコサの含有率を増加するために有用な素材を提供する。硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤。

［続葉有］

WO 2022/202403 A1

KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, ST, 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, KM, 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))

明　細　書

発明の名称 ： 口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤

技術分野

[0001] 本発明は口腔内におけるナイセリア・ムコサ増加剤に関する。

背景技術

[0002] ヒトの体内では様々な部位において、微生物が複雑な相互作用に基づく常在細菌叢（フローラ）を構築し生息している。常在フローラの構成は個体間で異なり、この個体差と宿主の健康状態との関連が近年数多く指摘され注目を集めている。

口腔も腸内と同様に、多種多数の細菌が共生する一つの微生物生態系である。齲蝕や歯周疾患に代表される口腔感染症については数種の病原性細菌が同定されているが、これらの細菌も通常生態系の一員として口腔に共生している。従って、疾患の発症においてはとりまく他の常在細菌との相互作用が大きな役割を担っているものと推測される。従来、口腔疾患の予防、治療においては、直接疾患を引き起こす病原細菌の除去が目標とされてきたが、病原細菌が繁栄しにくい常在フローラへの誘導も口腔疾患予防におけるアプローチになり得ると考えられている。

[0003] ナイセリア・ムコサ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｍｕｃｏｓａ）は、ナイセリア・シッカ、ナイセリア・フラバ、ナイセリア・サブフラバ、ナイセリア・フラベセンス、ナイセリア・エロンガータ等のナイセリア属菌と共に、口腔内における非病原性の常在菌として、その存在が知られている。本出願人は、最近、ナイセリア・ムコサの菌体又はその培養物が歯周病原菌の歯肉細胞への感染を抑制し、歯周病の予防又は治療に有用であることを見出している（特許文献１）。

また、ナイセリア属菌は、硝酸還元酵素と亜硝酸還元酵素を保有し、硝酸イオン（NO_3^-）を亜硝酸イオン（NO_2^-）や一酸化窒素（ＮＯ）に還元する能力を有することが報告されている（非特許文献１）。硝酸イオンを経口摂

取すると、体内に吸収された硝酸イオンの一部が血中から唾液中に高濃度で移行し、口腔内に常在する硝酸還元細菌により亜硝酸塩に還元された後、胃内や種々の組織において酵素的または非酵素的に、一酸化窒素（ＮＯ）を産生すると考えられている。一酸化窒素は細胞間の情報伝達、抗菌作用、病原体に対する生体防御、血管拡張作用、筋収縮性への効果などを体内各所で発揮している重要な化合物であり、特に歯周病原菌に対する抗菌作用およびその血管機能改善に基づく血圧降下やその筋収縮性の改善又は向上に基づく運動機能の改善、又は向上作用が期待されている（非特許文献２－５）。

よって、ナイセリア属菌の口腔内含有率を増加させることは有用である。

[0004] 一方、カリウムイオンは、歯髄神経の過敏性を軽減させる作用を有し、硝酸カリウム等が知覚過敏に有効であることが知られている（非特許文献６）。また、多くの糖アルコールには唾液の分泌や歯の再石灰化を促進する作用があり、エリスリトール、キシリトール及びソルビトールには、むし歯予防効果があることも報告されている（非特許文献７）。また、エリスリトール等の糖アルコールにはバイオフィルム形成阻害作用があることが報告されている（特許文献２）

しかしながら、硝酸カリウムや糖アルコールの口腔内ナイセリア属菌に対する作用は全く知られていない。

[0005] 〔特許文献１〕特願２０２０－２００５１７

〔特許文献２〕特開２００５－２９４８４号公報

〔非特許文献１〕Barth KR et al., Microbiology (2009), 155:4093-4103

〔非特許文献２〕Carlstrom M et al., Acta Physiol (Oxf). (2018), 224:e13080

〔非特許文献３〕柴田勝, 農業と科学 2019年04月, 1-8

〔非特許文献４〕Omar SA et al., J Intern Med.(2016), 279:315-336

〔非特許文献５〕C.J. Backlund et al., J Dent Res 93(11):1089-1094, 2014

〔非特許文献６〕Poulsen S et al.,Cochrane Database Syst Rev.;(2006):CD001476

〔非特許文献７〕Peter de Cock P et al.,Int J Dent.(2016), 2016:9868421.

発明の概要

[0006] 本発明は、以下の１）～４０）に係るものである。

１）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤。

２）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア属菌増加剤。

３）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔菌叢改善剤。

４）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病原菌感染抑制剤。

５）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病の予防又は改善剤。

６）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする一酸化窒素増加剤。

７）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする高血圧予防又は改善剤。

８）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニ

トールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする運動機能改善又は向上剤。

[0007] ９）口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１０）口腔内ナイセリア属菌増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１１）口腔菌叢改善剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１２）歯周病原菌感染抑制剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１３）歯周病の予防又は改善剤品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１４）一酸化窒素増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１５）高血圧予防又は改善剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

１６）運動機能改善又は向上剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[0008] １７）口腔内ナイセリア・ムコサの増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる

１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

１８）口腔内ナイセリア属菌の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

１９）口腔菌叢改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

２０）歯周病原菌感染抑制に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

２１）歯周病の予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

２２）一酸化窒素の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

２３）高血圧予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

２４）運動機能改善又は向上に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[0009] ２５）口腔内ナイセリア・ムコサを増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

２６）口腔内ナイセリア属菌を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

２７）口腔菌叢を改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

２８）歯周病原菌感染を抑制するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

２９）歯周病を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

３０）一酸化窒素を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

３１）高血圧を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

３２）運動機能を改善又は向上するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[0010] ３３）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア・ムコサ増加方法。

３４）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア属菌増加方法。

３５）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔菌叢改善方法。

３６）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマン

ニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病原菌感染抑制方法。

３７）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病の予防又は改善方法。

３８）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する一酸化窒素増加方法。

３９）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する高血圧予防又は改善方法。

４０）硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する運動機能改善又は向上方法。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]硝酸カリウムと各糖アルコールの併用による歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア・ムコサに及ぼす効果。

[図2]硝酸カリウムと各糖アルコールの併用による歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア属菌に及ぼす効果。

[図3]硝酸カリウムとエリスリトールの併用による歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア・ムコサに及ぼす効果（用量依存性）。

[図4]硝酸カリウムとエリスリトールの併用による歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア属菌に及ぼす効果（用量依存性）。

発明の詳細な説明

[0012] 本発明は、口腔内において、ナイセリア・ムコサの含有率を増加するために有用な素材を提供することに関する。

[0013] 本発明者らは、硝酸イオン供給化合物と特定の糖アルコールを組み合わせることにより、口腔内におけるナイセリア・ムコサの含有率及びナイセリア

属菌の含有率を増加させることができ、一酸化窒素の増加や歯周病の予防又は治療に有用であることを見出した。

[0014] 本発明によれば、口腔内におけるナイセリア・ムコサの含有率及びナイセリア属菌の含有率を増加できることから、歯周病の予防又は治療が可能となる。また、一酸化窒素の供給を介して血管機能の改善や骨格筋収縮性の向上をし、高血圧の予防又は改善や運動機能改善又は向上が可能となる。

[0015] 本発明において、硝酸イオン供給化合物としては、水と接触したときに硝酸イオンを生成可能な化合物が挙げられ、硝酸塩が好ましい。硝酸塩としては、例えば、硝酸アルカリ金属塩、硝酸アルカリ土類金属塩が挙げられ、具体例としては、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、硝酸カルシウム等を挙げることができ、好ましくは硝酸カリウムである。硝酸塩は合成起源のものが好ましいが、自然起源のものでも構わない。

[0016] 本発明において、糖アルコールとしては、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上を使用することができる。糖アルコールとしては、口腔内におけるナイセリア・ムコサの含有率増加の観点から、少なくともエリスリトールを用いるのが好ましい。

[0017] 斯かる硝酸イオン供給化合物と糖アルコールは組み合わせて使用されるが、その態様は、配合剤としてそれぞれの有効量を適当な配合比において一の剤型に製剤化したものでもよく、またそれぞれの有効量を含有する薬剤を単独に製剤化したものを同時に又は間隔を空けて別々に使用できるようにしたキットであってもよい。好ましくは、配合剤の形態である。

[0018] 本発明において、硝酸イオン供給化合物と糖アルコールの組み合わせの割合は、適宜選択することができるが、例えば硝酸イオン供給化合物１質量部に対して、糖アルコールは、好ましくは２．５質量部以上、より好ましくは５質量部以上、より好ましくは１０質量部以上であり、且つ好ましくは４０質量部以下、より好ましくは３０質量部以下、より好ましくは２０質量部以下である。また、好ましくは２．５～４０質量部、より好ましくは５～２０質量部、より好ましくは１０～２０質量部である。

[0019] 後記実施例に示すように、健常人から採取した歯垢を含む歯垢懸濁液を、硝酸カリウムと各種糖アルコール（エリスリトール、キシリトール、マンニトール）を単独又は組み合わせて含む培地で培養して歯垢バイオフィルムを作製し、ナイセリア・ムコサの含有率とナイセリア属菌の含有率を算出すると、硝酸カリウム又は各種糖アルコール単独、及び硝酸カリウムとソルビトール又はマルチトールとの併用した場合では対照群と比較してナイセリア・ムコサの含有率及びナイセリア属菌の含有率に有意な変化は示さないが、硝酸カリウムとエリスリトール、キシリトール又はマンニトールの併用では、ナイセリア・ムコサ含有率及びナイセリア属菌の含有率が顕著に増加する。

従って、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせは、口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤、口腔内ナイセリア属菌増加剤又は口腔菌叢改善剤となり得、口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤、口腔内ナイセリア属菌増加剤又は口腔菌叢改善剤を製造するために使用できる。

また、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせは、口腔内ナイセリア・ムコサの増加、口腔内ナイセリア属菌の増加又は口腔菌叢改善のために使用できる。ここで、当該使用は、ヒト若しくは非ヒト動物への投与、又はそれらに由来する検体における使用であり得、また治療的使用であっても非治療的使用であってもよい。ここで、非ヒト動物としては、非ヒト哺乳動物、例えば類人猿、その他霊長類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ハムスター、及びコンパニオン動物等が挙げられる。

[0020] 本発明において、ナイセリア・ムコサ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｍｕｃｏｓａ）とは、ナイセリア（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ）科ナイセリア属に属するグラム陰性球菌であり、非病原性の口腔常在菌である。

また、ナイセリア属菌としては、ナイセリア（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ）科ナイセリア属に属する非病原性の口腔常在菌を指し、ナイセリア・ムコサの他に、ナイセリア・シッカ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｓｉｃｃａ）、ナイセリア

・フラバ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｆｌａｖａ）、ナイセリア・サブフラバ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｓｕｂｆｌａｖａ）、ナイセリア・フラベセンス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｆｌａｖｅｓｃｅｎｓ）、ナイセリア・エロンガータ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｅｌｏｎｇａｔａ）等が包含される。

[0021] 本発明において、「口腔内ナイセリア・ムコサの増加」とは、口腔内ナイセリア属菌のうち少なくともナイセリア・ムコサの代謝を活性化する等により、ナイセリア・ムコサの口腔内における含有率が増加することを意味する。また、「口腔内ナイセリア属菌の増加」とは、口腔内ナイセリア属菌が増加することを意味する。

また、「口腔菌叢改善」とは、口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率が増加し、ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌が有する生理機能がより有効に発揮され、口腔細菌叢が宿主にとってよい方向に変動することを指す。

[0022] 尚、ナイセリア・ムコサの含有率は、例えば、後述する実施例に示すように、ナイセリア・ムコサの硝酸還元酵素遺伝子（ｎａｒＧ）を標的遺伝子として、リアルタイムＰＣＲ法により当該遺伝子のコピー数を測定し、全細菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数との比を求めることにより算出することができる。

また、ナイセリア属菌の含有率は、全ナイセリア属菌種のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子を特異的に検出するプローブを用いたリアルタイムＰＣＲ法により当該遺伝子のコピー数を測定し、全細菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数との比を求めることにより算出することができる。

[0023] 前述したとおり、ナイセリア・ムコサは、その菌体又はその培養物が歯周病原菌の歯肉細胞への感染を抑制し、歯肉炎症を抑制することから、歯周病の予防又は治療に有用である（前記特許文献１）。なお、歯周病原菌とは、歯周組織に感染し、歯肉炎、さらには歯周組織破壊を引き起こす、ポルフィロモナス・ジンジヴァリス、フソバクテリウム・ヌクレアタム等の細菌を意味する。

また、ナイセリア属菌は、硝酸イオン（NO_3^-）を亜硝酸イオン（NO_2^-）や一酸化窒素（ＮＯ）に還元する能力を有することから（前記非特許文献１）、硝酸イオン供給化合物は、ナイセリア属菌により亜硝酸塩に還元され、さらに一酸化窒素を含む窒素酸化物に変換され、血管機能改善に基づく血圧低下作用や骨格筋収縮性向上に基づく運動機能向上作用を発揮する（前記非特許文献２、３、４）と考えられる。

したがって、本発明の口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤、ナイセリア属菌増加剤又は口腔菌叢改善剤、すなわち、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせは、一酸化窒素増加剤、高血圧予防又は改善剤、運動機能向上剤、歯周病の予防又は改善剤となり、一酸化窒素増加、運動機能改善又は向上、高血圧予防又は改善、歯周病の予防又は改善のために使用できる。

ここで、歯周病の予防又は改善剤は、ナイセリア・ムコサによる歯周病原菌の歯肉細胞への感染抑制作用によりその効果を発揮することから、殺菌剤の使用量を抑制でき、より安全性の高い製剤となり得る。

[0024] ここで、「一酸化窒素の増加」とは、生体内における生来の一酸化窒素濃度を増加することを意味する。一酸化窒素増加により、一酸化窒素の欠乏によって生じる血管機能の低下（例えば、血管内皮機能低下、動脈硬化等）及びそれに伴って生じる病態（高血圧症、心筋梗塞、脳梗塞等）の予防又は改善が可能となる。また一酸化窒素増加により、骨格筋の収縮性が向上し運動機能の改善又は向上が可能となる。

「歯周病」とは、歯垢中の細菌によって歯肉に炎症がひき起こされる炎症性疾患を意味し、歯肉炎と歯周炎が包含される。

また、「予防」とは、個体における疾患若しくは症状の発症の防止又は遅延、あるいは個体の疾患若しくは症状の発症の危険性を低下させることをいう。

また、「改善」とは、疾患、症状又は状態の好転、疾患、症状又は状態の悪化の防止又は遅延、あるいは疾患又は症状の進行の逆転、防止又は遅延を

意味し、所謂「治療」の概念が包含される。

また、「向上」とは、身体機能等が現時点から、よりよい方向又はすぐれた状態に向かうことをいう。

[0025] 本発明の口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤、ナイセリア属菌増加剤、口腔菌叢改善剤、歯周病の予防又は改善剤、一酸化窒素増加剤、高血圧予防又は改善剤、運動機能の改善又は向上剤は、それ自体で、口腔内ナイセリア・ムコサの増加のため、口腔内ナイセリア属菌の増加のため、口腔菌叢改善のため、歯周病の予防又は改善のため、一酸化窒素増加のため、高血圧予防又は改善のため、又は運動機能の改善又は向上のための医薬品、医薬部外品、食品、口腔用組成物となり、また当該医薬品、医薬部外品、食品、口腔用組成物に配合して使用される素材又は製剤となり得る。

なお、食品には、口腔内ナイセリア・ムコサの増加、口腔内ナイセリア属菌の増加、口腔菌叢改善、歯周病原菌感染抑制、歯周病の予防又は改善、一酸化窒素増加、高血圧予防又は改善、運動機能の改善又は向上等をコンセプトとし、必要に応じてその旨を表示した食品、機能性表示食品、特定保健用食品、病者用食品、サプリメントが包含される。

[0026] 医薬品や医薬部外品として用いる場合の形態としては経口投与の形態が好ましく、その剤型は、例えば、液剤；錠剤、顆粒剤、細粒剤、粉剤、タブレット等の固形剤；或いは当該液剤又は固形剤を封入したカプセル剤、口腔用スプレー、トローチ等の様々な形態が挙げられる。

[0027] 食品として用いる場合の形態としては、果汁又は野菜汁飲料、炭酸飲料、茶系飲料、乳飲料、発酵乳、発酵果汁、発酵野菜汁、アルコール飲料、清涼飲料等の飲料や、ゼリー状食品や各種スナック類、焼き菓子、ケーキ類、チョコレート、ジャム、パン、ガム、飴、スープ類、漬物、佃煮等の各種食品の他、上述した経口投与製剤と同様の形態（錠剤、カプセル剤、シロップ等）のサプリメント等が挙げられる。

[0028] 口腔用組成物として用いる場合の具体的な形態としては、洗口剤、マウスウオッシュ、練歯磨、粉歯磨、水歯磨、口腔用軟膏剤、ゲル剤、錠剤、顆粒

剤、細粒剤、グミゼリー、トローチ、タブレット、カプセル、キャンディー、チューインガム等が挙げられ、好ましくは、練歯磨、洗口剤、グミゼリー、トローチが挙げられる。

[0029] 当該医薬品、医薬部外品、食品、口腔用組成物は、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを、他の有効成分、又は医薬品、食品等に許容される添加物、任意の食品材料等と適宜組み合わせて、定法に従って調製することができる。

[0030] 上記医薬品、医薬部外品、食品、口腔用組成物への硝酸イオン供給化合物及び糖アルコールの含有量は、特に限定されず、一日投与量等に合わせて適宜調節すれば良い。

[0031] 上記医薬品、医薬部外品、食品、口腔用組成物において、摂取又は投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状などの種々の条件に応じて適宜決定することができるが、成人一人、一日当たり、硝酸イオン供給化合物として６０ｍｇ以上、好ましくは２００ｍｇ以上、より好ましくは６００ｍｇ以上で、６０００ｍｇ以下、好ましくは２０００ｍｇ以下、より好ましくは１０００ｍｇ以下が挙げられる。また、糖アルコールとして、３００ｍｇ以上、好ましくは１０００ｍｇ以上、より好ましくは３０００ｍｇ以上で、３００００ｍｇ以下、好ましくは１００００ｍｇ以下、より好ましくは５０００ｍｇ以下が挙げられる。

[0032] 本発明の口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤、口腔内ナイセリア属菌増加剤、口腔菌叢改善剤、歯周病原菌感染抑制剤、歯周病の予防又は改善剤、一酸化窒素増加剤、高血圧予防又は改善剤、運動機能の改善又は向上剤の適用対象としては、好ましくは歯周病原菌に感染しているヒト、歯肉炎や歯周炎のような歯肉炎症を発症しているヒト、歯肉炎症の発症の予防を望むヒト、高血圧症のヒト、血圧低下を望むヒト、運動機能を改善又は向上させたいヒト等が挙げられる。

[0033] 上述した実施形態に関し、本発明においてはさらに以下の態様が開示され

る。

＜１＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤。

＜２＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア属菌増加剤。

＜３＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔菌叢改善剤。

＜４＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病原菌感染抑制剤。

＜５＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病の予防又は改善剤。

＜６＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする一酸化窒素増加剤。

＜７＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする高血圧予防又は改善剤。

＜８＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする運動機能改善又は向上剤。

[0034] ＜９＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア・ムコサ増加用食品。

＜１０＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア属菌増加用食品。

＜１１＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔菌叢改善用食品。

＜１２＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病原菌感染抑制用食品。

＜１３＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病の予防又は改善用食品。

＜１４＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする一酸化窒素増加用食品。

＜１５＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする高血圧予防又は改善用食品。

＜１６＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする運動機能改善又は向上用食品。

[0035] ＜１７＞口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤又は口腔内ナイセリア・ムコサ増加用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜１８＞口腔内ナイセリア属菌増加剤又は口腔内ナイセリア属菌増加用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの

使用。

＜１９＞口腔菌叢改善剤又は口腔菌叢改善用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜２０＞歯周病原菌感染抑制剤又は歯周病原菌感染抑制用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜２１＞歯周病の予防又は改善剤又は歯周病の予防又は改善用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜２２＞一酸化窒素増加剤又は一酸化窒素増加用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜２３＞高血圧予防又は改善剤又は高血圧予防又は改善用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

＜２４＞運動機能改善又は向上剤又は運動機能改善又は向上用食品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[0036] ＜２５＞口腔内ナイセリア・ムコサの増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜２６＞口腔内ナイセリア属菌の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜２７＞口腔菌叢改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜２８＞歯周病原菌感染抑制に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜２９＞歯周病の予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜３０＞一酸化窒素の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜３１＞高血圧予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

＜３２＞運動機能改善又は向上に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[0037] ＜３３＞口腔内ナイセリア・ムコサを増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３４＞口腔内ナイセリア属菌を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３５＞口腔菌叢を改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３６＞歯周病原菌感染を抑制するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３７＞歯周病を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エ

リスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３８＞一酸化窒素を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜３９＞高血圧を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

＜４０＞運動機能を改善又は向上するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[0038] ＜４１＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア・ムコサ増加方法。

＜４２＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア属菌増加方法。

＜４３＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔菌叢改善方法。

＜４４＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病原菌感染抑制方法。

＜４５＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病の予防又は改善方法。

＜４６＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に

有効量で投与又は摂取する一酸化窒素増加方法。

＜４７＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する高血圧予防又は改善方法。

＜４８＞硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する運動機能改善又は向上方法。

＜４９＞＜１＞～＜４８＞において、糖アルコールは、好ましくはエリスリトール、又はエリスリトール及びキシリトール、又はエリスリトール及びマンニトール、又はエリスリトール、キシリトール及びマンニトールである。

＜５０＞＜１＞～＜４９＞において、硝酸イオン供給化合物は、好ましくは硝酸塩であり、より好ましくは硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである。

＜５１＞＜１＞～＜５０＞において、硝酸イオン供給化合物と糖アルコールの組み合わせの割合は、硝酸イオン供給化合物１質量部に対して、糖アルコールが、好ましくは２．５質量部以上、より好ましくは５質量部以上、より好ましくは１０質量部以上であり、且つ好ましくは４０質量部以下、より好ましくは３０質量部以下、より好ましくは２０質量部以下である。また、好ましくは２．５～４０質量部、より好ましくは５～２０質量部、より好ましくは１０～２０質量部である。

＜５２＞＜１＞～＜５０＞において、硝酸イオン供給化合物と糖アルコールの摂取又は投与量は、成人一人、一日当たり、硝酸イオン供給化合物として６０ｍｇ以上、好ましくは２００ｍｇ以上、より好ましくは６００ｍｇ以上で、６０００ｍｇ以下、好ましくは２０００ｍｇ以下、より好ましくは２０００ｍｇ以下であり、糖アルコールとして、３００ｍｇ以上、好ましくは１０００ｍｇ以上、より好ましくは３０００ｍｇ以上で、３００００ｍｇ以下、好ましくは１００００ｍｇ以下、より好ましくは５０００ｍｇ以下である。

＜５３＞＜３＞、＜１１＞、＜１９＞、＜２７＞又は＜３５＞において、口腔菌叢の改善は、口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である。

実施例

[0039] 硝酸塩と糖アルコール併用が歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア・ムコサに及ぼす影響

（１）歯垢採取と前処理

２０代の健常男性から歯面に付着している歯垢を歯科用スケーラーで採取し、１．５ｍＬチューブに入れ、ＰＢＳ（－）で７，０００ｇ、２分間、室温の遠心で２回洗浄した。歯垢菌体を含むペレットをＣＥＬＬＢＡＮＫＥＲ１Ｐｌｕｓ（十慈フィールド）３００μＬで懸濁し、調製された歯垢懸濁液は使用まで－８０℃で保存した。

[0040] （２）歯垢懸濁液培養による歯垢バイオフィルムモデルの作製

硝酸カリウム（Ｗａｋｏ）、エリスリトール（Ｗａｋｏ）、キシリトール（Ｗａｋｏ）、マンニトール（Ｗａｋｏ）、ソルビトール（Ｗａｋｏ）、マルチトール（Ｗａｋｏ）の各被験化合物を溶解したＢｒａｉｎ Ｈｅａｒｔ Ｉｎｆｕｓｉｏｎ（ＢＨＩ）培地（日本ＢＤ）で歯垢懸濁液を１０００倍希釈し、歯垢菌体を含む培養液を調製した。Ｐｏｌｙ－Ｌ－Ｌｙｓｉｎｅ Ｃｏａｔ ２４Ｗｅｌｌ Ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ（ＡＧＣ ＴＥＣＨＮＯ ＧＬＡＳＳ）に調製した培養液を１ｍＬずつ添加し、温度３７℃、アネロパック・ビコウキ（三菱ガス化学）を使用した微好気条件下にて４８時間培養し、歯垢バイオフィルムを作製した。４８時間培養後、底面の歯垢バイオフィルムを崩さないよう丁寧に上清を吸引し歯垢バイオフィルムサンプルを調製した。

[0041] （３）歯垢バイオフィルムからのゲノムＤＮＡの抽出

プレート底面に付着した歯垢バイオフィルムサンプルに２０ｍｇ／ｍＬリゾチーム（ＷＡＫＯ）溶液（２０ｍＭＴｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐｈ８．０）、２ｍＭＥＤＴＡ、１．２％ＴｒｉｔｏｎＸ－１００含有）を２００μＬ／Ｗｅ

ｌｌで添加し、振盪（１６０ｒｐｍ）しながら温度３７℃でインキュベートした。ゲノムＤＮＡの抽出はＤｎｅａｓｙ　Ｂｌｏｏｄ　＆　Ｔｉｓｓｕｅ　ｋｉｔ（ＱＩＡＧＥＮ，）を用いてキットの標準プロトコールに従い行った。最終的に３００μＬの溶出液で溶出しゲノムＤＮＡサンプルを調製した。

[0042] （４）ゲノムＤＮＡサンプルにおけるナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌の定量

ナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌の定量はＴａｑｍａｎプローブを用いたリアルタイムＰＣＲ法により行った。ナイセリア・ムコサの特異的検出のために、ナイセリア属菌種の中でナイセリア・ムコサのみが硝酸還元酵素遺伝子（ｎａｒＧ）を保有している（前記非特許文献１参照）ことから、ｎａｒＧを標的遺伝子として、Ｔａｑｍａｎプローブとプライマーを作製した（表１）。また全ナイセリア属菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子を特異的に検出するＴａｑｍａｎプローブとプライマーを作製した（表１）。また全細菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子を検出するＴａｑｍａｎプローブとプライマーは既報（Nadkarni, MA, et al. Microbiology(2002) 148, 257-266）に記載の配列で作製した（表１）。リアルタイムＰＣＲの反応溶液組成と反応条件は表２に示した。

[0043] [表1]

標的菌種（標的遺伝子）	Primer/Probe	Sequence(5'→3')	配列番号
ナイセリア・ムコサ（NarG, 硝酸還元酵素遺伝子）	Forward	CTACGATTGGTATTGCGACC	1
	Reverse	GTTATACCAATCGGCGGATTC	2
	Probe	FAM-TTCACCGCAGACTTGGGGTGAG-TAMRA	3
ナイセリア属菌（rRNA、16S）	Forward	ATTCACCGCAGTATGCTGAC	4
	Reverse	AAACCGATCGTAGTCCGG	5
	Probe	FAM-CATGCACTCGAGTTGCAGAGTGC-TAMRA	6
全細菌種（rRNA、16S）	Forward	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	7
	Reverse	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT	8
	Probe	VIC-CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-TAMRA	9

[0044]

[表2]

リアルタイムPCR反応溶液組成

TaqMan(TM) Fast Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific)	5 μL
Forward Primer(100uM)	0.09 μL(0.9μM)
Reverse Primer(100uM)	0.09 μL(0.9μM)
TaqmanProbe(10uM)	0.25 μL(0.25μM)
DNA sample	4.57 μL

リアルタイムPCR条件

95℃	20sec	
98℃	3sec	40 cycles
60℃	1 min	

[0045] コピー数が明らかなＰＣＲ産物を標品として検量線を作成し、ナイセリア・ムコサ硝酸還元酵素遺伝子（ｎａｒＧ）とナイセリア属菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数及び全細菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数を算出し、次式によりナイセリア・ムコサ含有率及びナイセリア属菌含有率を算出した。

[0046] [数1]

$$\text{ナイセリア・ムコサ含有率}(\%) = \frac{\text{ナイセリア・ムコサの硝酸還元酵素遺伝子(narG)コピー数}}{\text{全細菌のrRNA 16S 遺伝子コピー数}} \times 100$$

$$\text{ナイセリア属菌含有率}(\%) = \frac{\text{全ナイセリア属菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数}}{\text{全細菌のｒＲＮＡ１６Ｓ遺伝子のコピー数}} \times 100$$

[0047] （５）結果

１％（Ｗ／Ｖ）硝酸カリウムと５％（Ｗ／Ｖ）各糖アルコール（エリスリトール、キシリトール、マンニトール、ソルビトール、マルチトール）が歯垢バイオフィルム菌叢中のナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌に及ぼす効果を図１及び図２に示す。

図１、２より、硝酸カリウム、エリスリトール、キシリトール、マンニトール、ソルビトール、マルチトール単独では対照群と比較してナイセリア・ムコサ含有率及びナイセリア属菌の含有率に有意な効果を示さず、また硝酸カリウムとソルビトール及びマルチトールとの併用でも有意な効果を示さなかったが、硝酸カリウムとエリスリトール、キシリトール又はマンニトールの併用では、著明なナイセリア・ムコサ含有率及びナイセリア属菌含有率の

増加作用が認められた。

さらに硝酸カリウムとエリスリトール併用によるナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌含有率増加効果の用量依存性を図３及び図４に示す。

図３、４より硝酸カリウム単独では０．２％硝酸カリウムでのみ弱いナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌含有率増加効果が認められたが、エリスリトールとの併用ではエリスリトール用量依存的に著明なナイセリア・ムコサ及びナイセリア属菌含有率の増加作用が認められた。

請求の範囲

[請求項1] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤。

[請求項2] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔内ナイセリア属菌増加剤。

[請求項3] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする口腔菌叢改善剤。

[請求項4] 口腔菌叢改善が口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である、請求項３記載の口腔菌叢改善剤。

[請求項5] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病原菌感染抑制剤。

[請求項6] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする歯周病の予防又は改善剤。

[請求項7] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする一酸化窒素増加剤。

[請求項8] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする高血圧予防又は改善剤。

[請求項9] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールを有効成分とする運動機能改善又は向上剤。

[請求項10] 硝酸イオン供給化合物が硝酸塩である、請求項１～９のいずれか１

項記載の剤。

[請求項11] 硝酸塩が硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである、請求項１０記載の剤。

[請求項12] 口腔内ナイセリア・ムコサ増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項13] 口腔内ナイセリア属菌増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項14] 口腔菌叢改善剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項15] 口腔菌叢改善が口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である、請求項１４記載の使用。

[請求項16] 歯周病原菌感染抑制剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項17] 歯周病の予防又は改善剤品を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項18] 一酸化窒素増加剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項19] 高血圧予防又は改善剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項20] 運動機能改善又は向上剤を製造するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１

種以上の糖アルコールの組み合わせの使用。

[請求項21] 硝酸イオン供給化合物が硝酸塩である、請求項１２～２０のいずれか１項記載の使用。

[請求項22] 硝酸塩が硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである、請求項２１記載の使用。

[請求項23] 口腔内ナイセリア・ムコサの増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項24] 口腔内ナイセリア属菌の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項25] 口腔菌叢改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項26] 口腔菌叢改善が口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である、請求項２５記載の組み合わせ。

[請求項27] 歯周病原菌感染抑制に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項28] 歯周病の予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項29] 一酸化窒素の増加に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項30] 高血圧予防又は改善に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項31] 運動機能改善又は向上に使用するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせ。

[請求項32] 硝酸イオン供給化合物が硝酸塩である、請求項２３～３１のいずれか１項記載の組み合わせ。

[請求項33] 硝酸塩が硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである、請求項３２記載の組み合わせ。

[請求項34] 口腔内ナイセリア・ムコサを増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項35] 口腔内ナイセリア属菌を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項36] 口腔菌叢を改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項37] 口腔菌叢改善が口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である、請求項３６記載の非治療的使用。

[請求項38] 歯周病原菌感染を抑制するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項39] 歯周病を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項40] 一酸化窒素を増加するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項41] 高血圧を予防又は改善するための、硝酸イオン供給化合物と、エリ

スリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項42] 運動機能を改善又は向上するための、硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールの組み合わせの非治療的使用。

[請求項43] 硝酸イオン供給化合物が硝酸塩である、請求項３４～４２のいずれか１項記載の非治療的使用。

[請求項44] 硝酸塩が硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである、請求項４３記載の非治療的使用。

[請求項45] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア・ムコサ増加方法。

[請求項46] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔内ナイセリア属菌増加方法。

[請求項47] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する口腔菌叢改善方法。

[請求項48] 口腔菌叢改善が口腔内ナイセリア・ムコサ又は口腔内ナイセリア属菌の含有率の増加である、請求項４７記載の方法。

[請求項49] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病原菌感染抑制方法。

[請求項50] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する歯周病の予防又は改善方法。

[請求項51] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対

象に有効量で投与又は摂取する一酸化窒素増加方法。

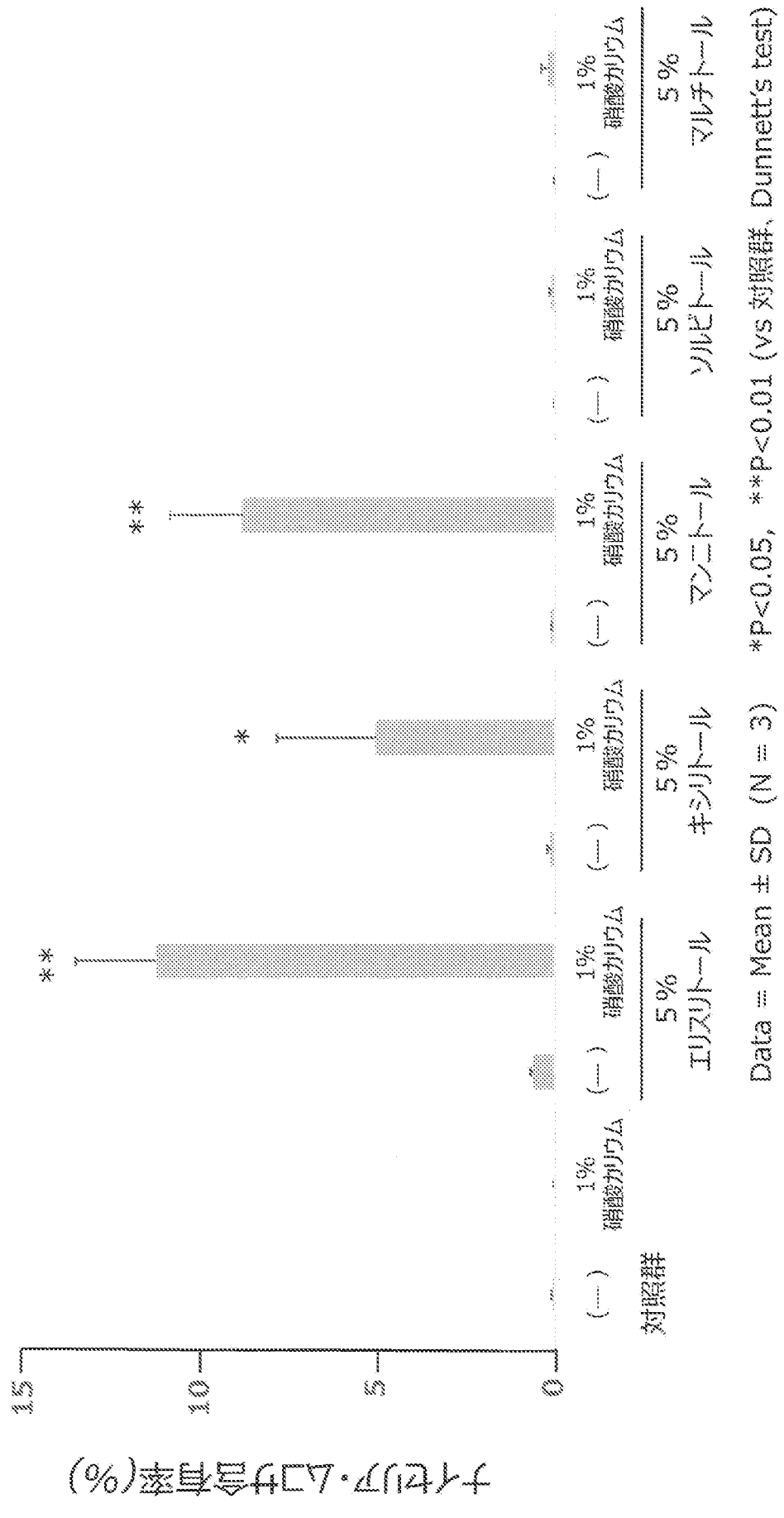
[請求項52] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する高血圧予防又は改善方法。

[請求項53] 硝酸イオン供給化合物と、エリスリトール、キシリトール及びマンニトールから選ばれる１種以上の糖アルコールをそれを必要とする対象に有効量で投与又は摂取する運動機能改善又は向上方法。

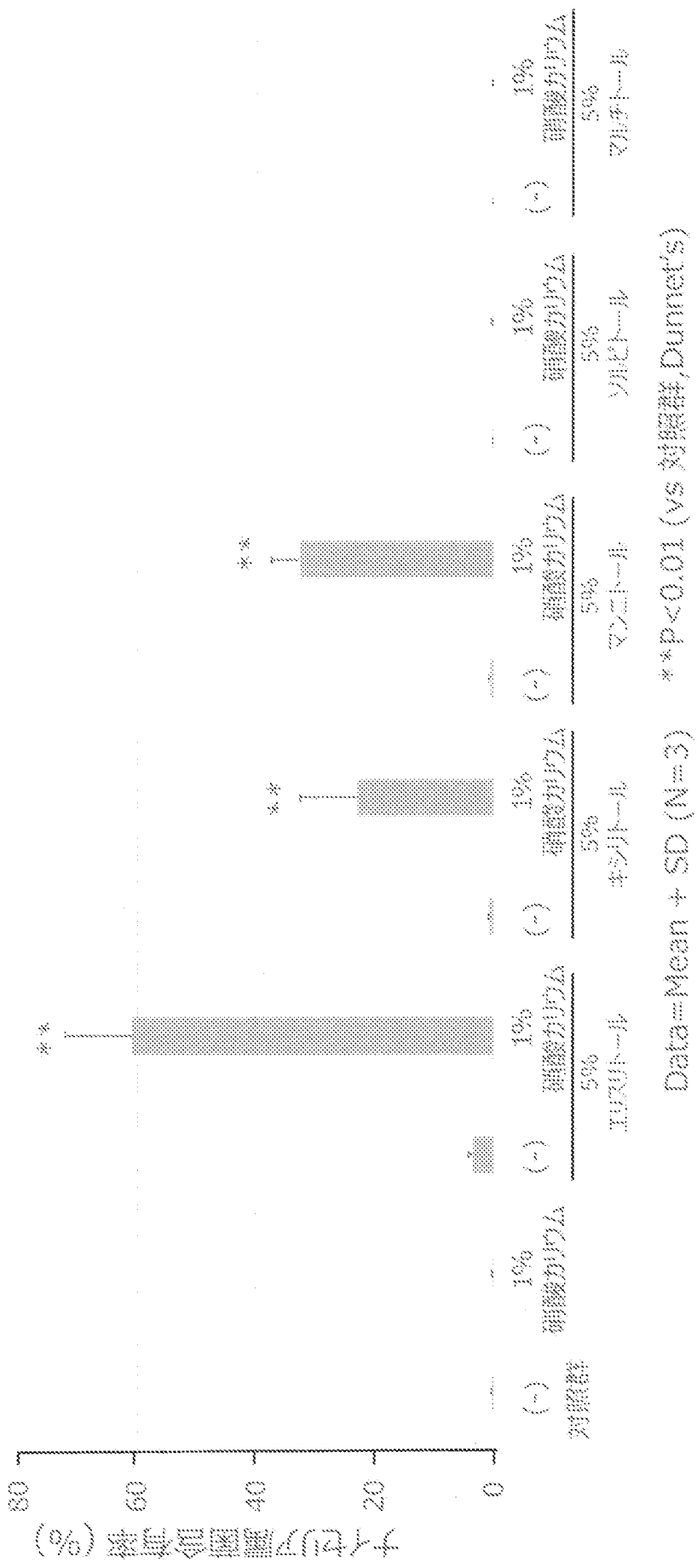
[請求項54] 硝酸イオン供給化合物が硝酸塩である、請求項４５～５３のいずれか１項記載の方法。

[請求項55] 硝酸塩が硝酸ナトリウム又は硝酸カリウムである、請求項５４記載の方法。

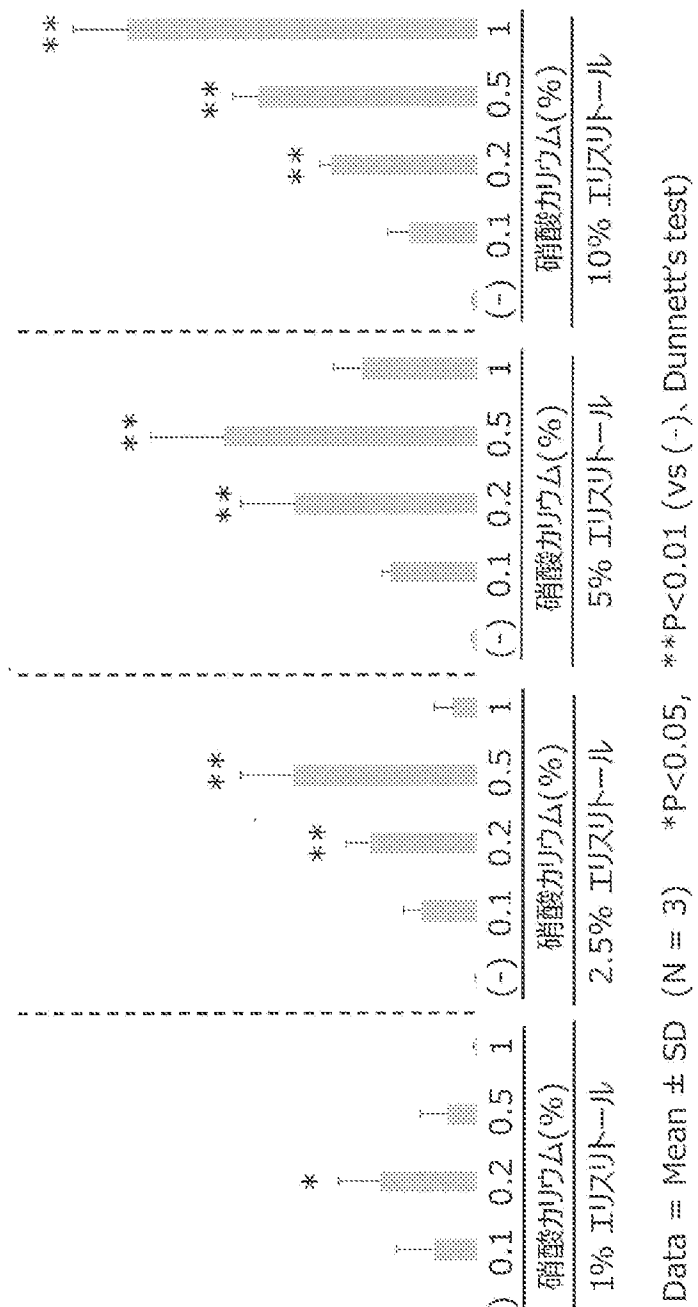
[図1]


ナイセリア・ムコサ含有率(%)
15
10
5
0
**
*
**
(—)
1%
硝酸カリウム
(—)
1%
硝酸カリウム
(—)
1%
硝酸カリウム
(—)
1%
硝酸カリウム
対照群
5%
エリスリトール
5%
キシリトール
5%
マンニトール
5%
ソルビトール
5%
マルチトール
Data = Mean ± SD (N = 3) *P<0.05, **P<0.01 (vs 対照群, Dunnett's test)

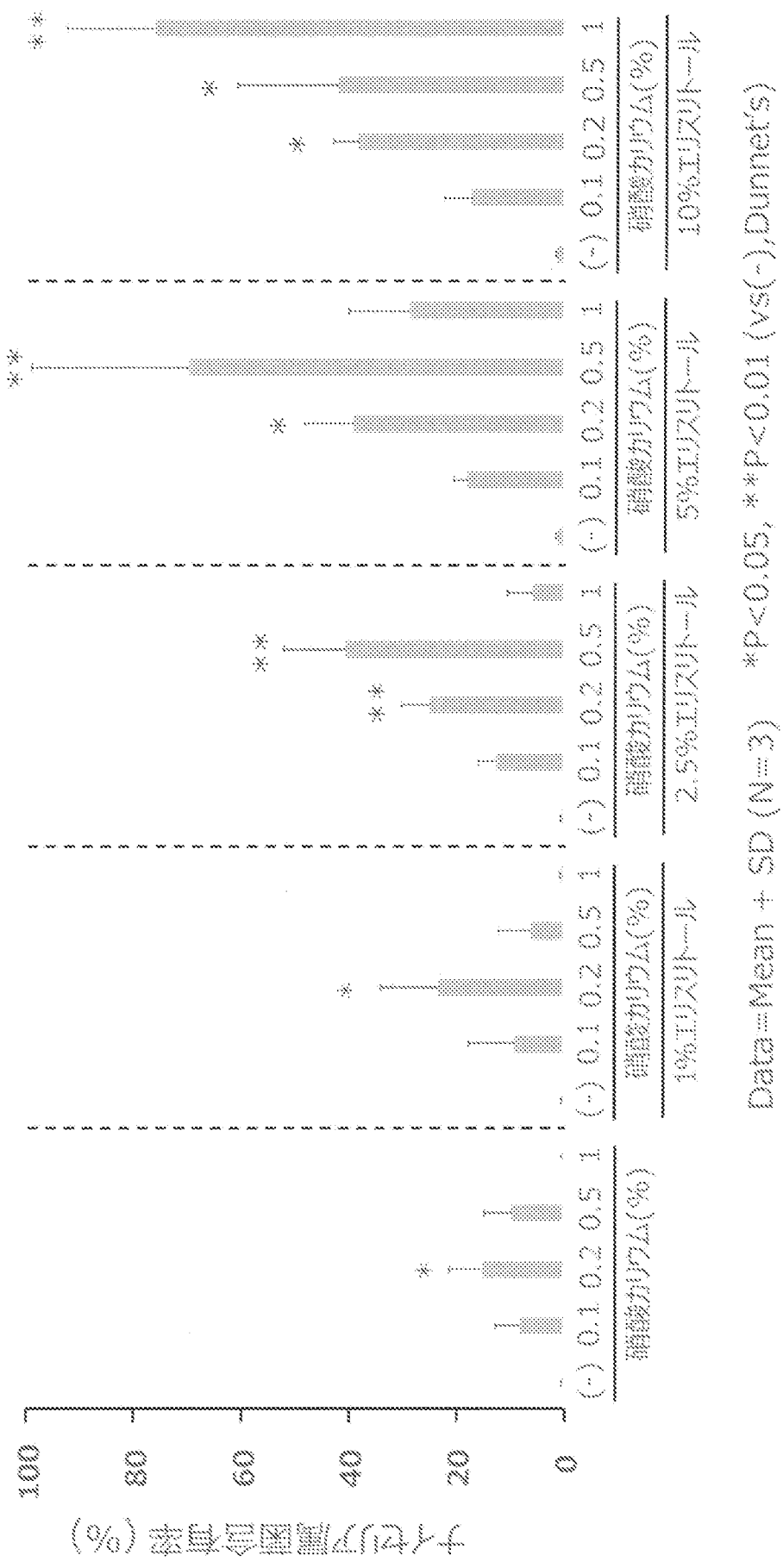
[図2]


ナイセリア属菌含有率（%）
0
20
40
60
80
対照区
(-)
枯草菌
1%
ビフィズス菌
1%
ラクトバチルス
5%
(-)
ビフィズス菌
1%
ラクトバチルス
5%
(-)
枯草菌
1%
ビフィズス菌
5%
(-)
枯草菌
1%
ラクトバチルス
5%
**
**
**
**
Data=Mean + SD (N=3)
**P<0.01 vs 対照区 Dunnet's

[図3]


ナイセリア・ムコサ含有率(%)
25
20
15
10
5
0
(-) 0.1 0.2 0.5 1
硝酸カリウム(%)
1% ITZソトール
2.5% ITZソトール
5% ITZソトール
10% ITZソトール
Data = Mean ± SD (N = 3) *P<0.05, **P<0.01 (vs (-), Dunnett's test)

[図4]


ナイセリア属菌含有率（%）
100
80
60
40
20
0
(-) 0.1 0.2 0.5 1
補酸カリウム(%)
テトラゾリウム1%
(-) 0.1 0.2 0.5 1
補酸カリウム(%)
2.5%ヒドロキシエチルセルロース
(-) 0.1 0.2 0.5 1
補酸カリウム(%)
テトラゾリウム1%
(-) 0.1 0.2 0.5 1
補酸カリウム(%)
テトラゾリウム5%
(-) 0.1 0.2 0.5 1
補酸カリウム(%)
テトラゾリウム10%
data=mean + SD (N=3) *p<0.05, **p<0.01 (vs(-) Dunnet's)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/010902

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 33/00(2006.01)i; ***A23L 33/125***(2016.01)i; ***A61K 8/19***(2006.01)i; ***A61K 8/34***(2006.01)i; ***A61K 31/047***(2006.01)i; ***A61K 47/26***(2006.01)i; ***A61P 1/02***(2006.01)i; ***A61P 9/12***(2006.01)i; ***A61P 21/00***(2006.01)i; ***A61P 31/02***(2006.01)i; ***A61P 31/04***(2006.01)i; ***A61P 43/00***(2006.01)i; ***A61Q 11/00***(2006.01)i

FI: A61K33/00; A61P1/02; A61P43/00 121; A61P31/02; A61P31/04; A61P43/00 111; A61P9/12; A61P21/00; A61K31/047; A61Q11/00; A61K8/34; A61K8/19; A61K47/26; A23L33/125 ZNA

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)

A61K33/00; A23L33/125; A61K8/19; A61K8/34; A61K31/047; A61K47/26; A61P1/02; A61P9/12; A61P21/00; A61P31/02; A61P31/04; A61P43/00; A61Q11/00

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2012-188377 A (KAO CORPORATION) 04 October 2012 (2012-10-04) example 8, comparative example 7	1-55
X	JP 2011-105690 A (LION CORPORATION) 02 June 2011 (2011-06-02) examples 1-27	1-55
X	JP 2004-26816 A (SUNSTAR INCORPORATED) 29 January 2004 (2004-01-29) claims 3, 7, example 6	1-55
X	WO 2017/002891 A1 (NOF CORPORATION) 05 January 2017 (2017-01-05) paragraph [0053], examples 3-4	1-55
Y	US 2016/0151428 A1 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 02 June 2016 (2016-06-02) paragraphs [0011], [0043], [0047]-[0055], [0060], [0063], [0101]-[0120], claims 1, 17, 40	1-55

☑ 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	Date of mailing of the international search report
12 April 2022	**26 April 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ONYANGO, Stanley O. et al. Oral Microbiota Display Profound Differential Metabolic Kinetics and Community Shifts upon Incubation with Sucrose, Trehalose, Kojibiose, and Xylitol. Applied and Environmental Microbiology. 2020, vol. 86, issue 16, e01170-20, pages 1-14 particularly, abstract, fig. 3	1-55
Y	JP 2021-20869 A (LION CORPORATION) 18 February 2021 (2021-02-18) paragraphs [0008]-[0009], [0023]-[0024]	1-55
Y	JP 2015-157768 A (OSAKA DENTAL UNIVERSITY) 03 September 2015 (2015-09-03) paragraph [0015]	1-55
Y	JP 2018-530517 A (NATURE'S SUNSHINE PRODUCTS, INCORPORATED) 18 October 2018 (2018-10-18) claim 58	1-55
A	BARTH, Kenneth R. et al. Biochemical and genomic analysis of the denitrification pathway within the genus Neisseria. Microbiology. 2009, vol. 155, pages 4093-4103 whole document	1-55
A	HYDE, Embriette R. et al. Metagenomic Analysis of Nitrate-Reducing Bacteria in the Oral Cavity: Implications for Nitric Oxide Homeostasis. PLoS ONE. 2014, vol. 9(3): e88645, pages 1-13 whole document	1-55

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2022/010902

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2022/010902

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2012-188377 A	04 October 2012	(Family: none)	
JP 2011-105690 A	02 June 2011	(Family: none)	
JP 2004-26816 A	29 January 2004	(Family: none)	
WO 2017/002891 A1	05 January 2017	US 2018/0168987 A1 paragraph [0080], examples 3-4	
US 2016/0151428 A1	02 June 2016	EP 2991660 A1	
JP 2021-20869 A	18 February 2021	(Family: none)	
JP 2015-157768 A	03 September 2015	(Family: none)	
JP 2018-530517 A	18 October 2018	US 2018/0263944 A1 claim 58 EP 3341003 A1 KR 10-2018-0043251 A CN 108778306 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/010902

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 33/00(2006.01)i; A23L 33/125(2016.01)i; A61K 8/19(2006.01)i; A61K 8/34(2006.01)i; A61K 31/047(2006.01)i; A61K 47/26(2006.01)i; A61P 1/02(2006.01)i; A61P 9/12(2006.01)i; A61P 21/00(2006.01)i; A61P 31/02(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61Q 11/00(2006.01)i

FI: A61K33/00; A61P1/02; A61P43/00 121; A61P31/02; A61P31/04; A61P43/00 111; A61P9/12; A61P21/00; A61K31/047; A61Q11/00; A61K8/34; A61K8/19; A61K47/26; A23L33/125 ZNA

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））

A61K33/00; A23L33/125; A61K8/19; A61K8/34; A61K31/047; A61K47/26; A61P1/02; A61P9/12; A61P21/00; A61P31/02; A61P31/04; A61P43/00; 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	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２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/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

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 2012-188377 A (花王株式会社) 04.10.2012 (2012-10-04) 実施例８、比較例７	1-55
X	JP 2011-105690 A (ライオン株式会社) 02.06.2011 (2011-06-02) 実施例１～２７	1-55
X	JP 2004-26816 A (サンスター株式会社) 29.01.2004 (2004-01-29) 請求項３，７、実施例６	1-55
X	WO 2017/002891 A1 (日油株式会社) 05.01.2017 (2017-01-05) 段落００５３、実施例３－４	1-55
Y	US 2016/0151428 A1 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 02.06.2016 (2016-06-02) 段落００１１、００４３、００４７～００５５、００６０、００６３、０１０１～０１２０、請求項１、１７、４０	1-55

☑ 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抵触するものではなく、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	国際調査報告の発送日
12.04.2022	26.04.2022

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
参鍋　祐子 4C 6112
電話番号 03-3581-1101 内線 3439

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
Y	ONYANGO, Stanley O. et al., Oral Microbiota Display Profound Differential Metabolic Kinetics and Community Shifts upon Incubation with Sucrose, Trehalose, Kojibiose, and Xylitol, Applied and Environmental Microbiology, 2020, Vol.86, Issue 16, e01170-20, pp.1-14 特に、アブストラクト、図３	1-55
Y	JP 2021-20869 A (ライオン株式会社) 18.02.2021 (2021-02-18) 段落０００８～０００９、００２３～００２４	1-55
Y	JP 2015-157768 A (学校法人大阪歯科大学) 03.09.2015 (2015-09-03) 段落００１５	1-55
Y	JP 2018-530517 A (ネイチャーズ サンシャイン プロダクツ、インク.) 18.10.2018 (2018-10-18) 請求項５８	1-55
A	BARTH, Kenneth R. et al., Biochemical and genomic analysis of the denitrification pathway within the genus Neisseria, Microbiology, 2009, Vol.155, pp.4093-4103 Whole document	1-55
A	HYDE, Embriette R. et al., Metagenomic Analysis of Nitrate-Reducing Bacteria in the Oral Cavity: Implications for Nitric Oxide Homeostasis, PLoS ONE, 2014, Vol.9(3): e88645, pp.1-13 Whole document	1-55

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2022/010902

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2022/010902

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2012-188377 A	04.10.2012	（ファミリーなし）	
JP 2011-105690 A	02.06.2011	（ファミリーなし）	
JP 2004-26816 A	29.01.2004	（ファミリーなし）	
WO 2017/002891 A1	05.01.2017	US 2018/0168987 A1 [0080], Ex. 3-4	
US 2016/0151428 A1	02.06.2016	EP 2991660 A1	
JP 2021-20869 A	18.02.2021	（ファミリーなし）	
JP 2015-157768 A	03.09.2015	（ファミリーなし）	
JP 2018-530517 A	18.10.2018	US 2018/0263944 A1 Claim 58 EP 3341003 A1 KR 10-2018-0043251 A CN 108778306 A	