

(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
2016 年 6 月 30 日(30.06.2016)



(10) 国際公開番号

WO 2016/104524 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/375 (2006.01) A61P 1/02 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61K 31/409 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61K 38/46 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/085867
- (22) 国際出願日: 2015 年 12 月 22 日(22.12.2015)
- (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 2014-259645 2014 年 12 月 24 日(24.12.2014) JP
- (71) 出願人: ライオン株式会社(LION CORPORATION)
[JP/JP]; 〒1308644 東京都墨田区本所 1 丁目 3 番 7 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 柚島 眞里(YUTORI, Mari); 〒1308644 東京都墨田区本所 1 丁目 3 番 7 号 ライオン株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人酒井国際特許事務所
(SAKAI INTERNATIONAL PATENT OFFICE); 〒1000013 東京都千代田区霞が関 3 丁目 8 番 1 号
虎の門三井ビルディング 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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, 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, 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))

(54) Title: AGENT FOR ENHANCING ADHERENS JUNCTION FUNCTION

(54) 発明の名称: アドヘレンスジャンクション機能強化剤

(57) Abstract: Provided are an agent for enhancing adherens junction functions, an agent for enhancing E-cadherin, an agent for strengthening intracellular binding force, an agent for enhancing epithelial barrier functions and an agent for enhancing resistance, said agents each comprising at least one substance selected from the group consisting of phosphate esters of ascorbic acid and salts thereof, vitamin E and derivatives thereof, copper chlorophylls and salts thereof, and lysozyme chloride.

(57) 要約: アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミン E 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも 1 つを含有するアドヘレンスジャンクション機能強化剤、エーカドヘリン強化剤、細胞間結合力強化剤、上皮バリア機能強化剤、並びに抵抗力強化剤を提供する。



WO 2016/104524 A1

明 細 書

発明の名称： アドヘレンスジャンクション機能強化剤

技術分野

[0001] 本発明は、アドヘレンスジャンクション機能強化剤、Ｅ－カドヘリン強化剤、細胞間結合力強化剤、上皮バリア機能強化剤、抵抗力強化剤に関する。

背景技術

[0002] 上皮とは、皮膚表皮、鼻腔、気道、口腔、消化管、泌尿生殖器の粘膜など、体の内外表面を覆う細胞層をいう。上皮には水分の蒸散を防いだり、外部からの化学的刺激や物理的刺激によるダメージ、病原性微生物の体内への侵入を防いだりするバリア機能が備わっており、生体の維持に重要な役割を果たしている。上皮のバリア機能は、ストレス、紫外線、温度、湿度、感染性微生物などにより低下することが知られており、上皮のバリア機能の低下は様々な障害の発症に繋がる。このため、皮膚表皮においては、肌状態を健康に保つことを目的とし、皮膚バリア機能改善剤を含有する皮膚外用剤などの試みがなされている（特許文献１を参照）。粘膜においても同様に、腸粘膜バリア機能を維持することは、肥満によるインスリン抵抗性の発症や腸炎の進展の予防及び／又は改善に重要であることが知られており、表皮、上皮バリア機能改善剤の開発の試みがなされている（特許文献２を参照）。

[0003] 上皮バリア機能は物理的な上皮細胞間の結合によって形成されていることが知られている。この細胞間結合はタイトジャンクション、アドヘレンスジャンクション（*A d h e r e n c e j u n c t i o n*；以下、「ＡＪ」ともいう）又はギャップジャンクションと呼ばれる細胞接着装置によって形成されている。中でもＡＪは細胞接着装置の要となる役割を果たしており、ＡＪの形成はその他の細胞接着装置の形成に欠かせないことが知られている（非特許文献１、２、３を参照）。

[0004] カドヘリンは、ファミリーとして現在約２０種が知られているが、皮膚表皮に存在するカドヘリン種としてはＥ（上皮型）－カドヘリンが知られてお

り、ヒト上皮組織においても同様にEーカドヘリンが発現していることが報告されている（非特許文献4を参照）。

[0005] Eーカドヘリンは上皮バリア機能の維持に重要な役割を担っているA Jの主要構成成分であり、上皮バリア機能破綻に伴う疾患（逆流性食道炎、炎症性腸疾患、アレルギー性鼻炎、口内炎、歯周病、口渇、口臭等）においてEーカドヘリン発現低下が報告、示唆され、上皮におけるEーカドヘリンの発現を制御することが疾患の予防及び／又は治療に重要である。例えば、特許文献1には、上皮型のカドヘリンであるEーカドヘリンに着目し、ヒト皮膚におけるEーカドヘリン発現を促進することにより、肌のシワ、たるみ、肌理構造の改善するための皮膚外用剤が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2007-001914号公報

特許文献2：特開2011-178764号公報

[0007] 非特許文献1：Barry Gumbiner et al., The Journal of Cell Biology, 1988年, Vol. 107, p. 1575-1587

非特許文献2：Barry M. Gumbiner. Nature Reviews, 2005年, Vol. 6, p. 622-634

非特許文献3：Wim. F. Jongen et al., The Journal of Cell Biology, 1991年, Vol. 114, No. 3, p. 545-555

非特許文献4：Anne B. Katz et al., Journal of Investigative Dermatology, 1999年, Vol. 112, No. 5, p. 818-821

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 上皮は生体の内側と外側とを隔てている組織であり、生体の維持に重要な水分及びイオンの蒸散や病原性微生物の侵入に対して、物理的なバリア機能を有していることが知られている。このようなバリア機能の低下は様々な疾患を生じる原因となると考えられている。したがって、上皮のバリア機能を強化する新たな剤を提供することの潜在的要求が存在する。

本発明の課題は上皮バリア機能を強化する剤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

[0009] 本発明は、上記に鑑みてなされたものであって、アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームが、Eーカドヘリンの発現を強化することにより上皮バリア機能の強化作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

[0010] 本発明は、下記の〔1〕～〔21〕を提供する。

〔1〕 アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つを含有する、アドヘレンスジャンクション機能強化剤。

〔2〕 粘膜上皮用のものである、〔1〕に記載の強化剤。

〔3〕 口腔粘膜上皮用のものである、〔1〕に記載の強化剤。

〔4〕 歯肉粘膜上皮用のものである、〔1〕に記載の強化剤。

〔5〕 アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つを含有する、Eーカドヘリン強化剤。

〔6〕 粘膜上皮用のものである、〔5〕に記載の強化剤。

〔7〕 口腔粘膜上皮用のものである、〔5〕に記載の強化剤。

〔8〕 歯肉粘膜上皮用のものである、〔5〕に記載の強化剤。

〔9〕 アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つを含有する、細胞間結合力強化剤。

- [10] 粘膜上皮用のものである、[9]に記載の強化剤。
- [11] 口腔粘膜上皮用のものである、[9]に記載の強化剤。
- [12] 歯肉粘膜上皮用のものである、[9]に記載の強化剤。
- [13] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つを含有する、上皮バリア機能強化剤。
- [14] 粘膜上皮用のものである、[13]に記載の強化剤。
- [15] 口腔粘膜上皮用のものである、[13]に記載の強化剤。
- [16] 歯肉粘膜上皮用のものである、[13]に記載の強化剤。
- [17] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つを含有する、抵抗力強化剤。
- [18] 粘膜上皮用のものである、[17]に記載の強化剤。
- [19] 口腔粘膜上皮用のものである、[17]に記載の強化剤。
- [20] 歯肉粘膜上皮用のものである、[17]に記載の強化剤。
- [21] さらに、メントン、カルボン、シネオール、リモネン、アネトール、オイゲノール、メントール及びシンナミックアルデヒドから選ばれる1種又は2種以上、を含む、[1]～[20]のいずれか1つに記載の強化剤。

発明の効果

- [0011] 本発明によれば、上皮バリア機能を効果的に強化することができる。

発明を実施するための形態

- [0012] 本発明の剤は、アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つ（以下、「(A)成分」という）を含有する。
- [0013] <アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩>

アスコルビン酸リン酸エステルとしては、例えば、アスコルビン酸の2位、3位、5位及び6位の各ヒドロキシ基がリン酸によりエステル化されたものが挙げられる。アスコルビン酸のエステル化部位は、上記各ヒドロキシ基

から選ばれる1以上であればよい。

[0014] アスコルビン酸リン酸エステルにおけるリン酸としては、特に限定されるものではないが、例えば、リン酸；リン酸のモノアルキルエステル（例えば、リン酸が有する1つの水素が、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、及びヘキシル基等の炭素原子数1～6のアルキル基から選ばれるアルキル基で置換されているリン酸モノエステル）等のリン酸モノエステル；並びに、リン酸のジアルキルエステル（例えば、リン酸が有する2つの水素が、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、及びヘキシル基等の炭素原子数1～6のアルキル基から選ばれる2つのアルキル基で置換されているリン酸のジアルキルエステル）等のリン酸ジエステルが挙げられる。上記リン酸のジアルキルエステルにおいて、2つのアルキル基は互いに同一であってもよいし異なってもよい。

[0015] アスコルビン酸リン酸エステルの塩としては、特に限定されるものではないが、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、マグネシウム、カルシウム、及びバリウム等のアルカリ土類金属塩、及びアルミニウム等の多価金属塩などの各種の金属塩；アンモニウム、トリシクロヘキシルアンモニウム等のアンモニウム塩；モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、モノイソプロパノールアミン、ジイソプロパノールアミン、トリエタノールアミン等の各種のアルカノールアミン塩などが挙げられる。

[0016] 本発明において用いられるアスコルビン酸リン酸エステル及びその塩としては、例えば、L-アスコルビン酸リン酸エステル及びそのナトリウム塩、L-アスコルビン酸リン酸エステル及びそのマグネシウム塩が好ましく、L-アスコルビン酸リン酸マグネシウム塩がより好ましい。

[0017] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩は、化学合成などにより人工的に合成されたものを用いてもよいし、市販品を用いてもよい。アスコルビン

酸リン酸エステル及びその塩は、例えば昭和電工（株）等から入手可能である。

[0018] 本発明におけるアスコルビン酸リン酸エステル及びその塩は、1種類のみを用いてもよいし、2種類以上を組み合わせ用いてもよい。

[0019] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩の配合量は、例えば上皮バリア機能を強化する効果等の本発明の所望の効果を発現するという観点から、剤全質量に対して0.01～3質量%が好ましく、0.1～1質量%がより好ましい。

[0020] <ビタミンE及びその誘導体>

ビタミンEは、トコフェロールとも呼ばれる化合物である。ビタミンE及びその誘導体としては、特に限定されるものではないが、例えば、d α -トコフェロール、酢酸d α -トコフェロール、ニコチン酸d α -トコフェロール、コハク酸d α -トコフェロール等が挙げられる。なかでも、本発明の所望の効果を発現するという観点から、酢酸d α -トコフェロールが好ましい。酢酸d α -トコフェロールは、例えばDSMニュートリション・ジャパン（株）等から入手可能である。

[0021] ビタミンE及びその誘導体の配合量は、本発明の所望の効果を発現する観点から、剤全質量に対して、0.005～1質量%が好ましく、0.01～1質量%がより好ましい。

[0022] <銅葉緑素及びその塩>

銅葉緑素とは、銅クロロフィリンであり、例えば、植物のクロロフィル分子中のマグネシウムを銅と置換して安定化させることにより得ることができる。その塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩等のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩が挙げられる。なかでも、本発明の所望の効果を発現する観点から、銅クロロフィリンナトリウムが好ましい。銅クロロフィリンナトリウムは、例えば和光純薬工業（株）や関東化学（株）から入手可能である。

[0023] 銅葉緑素及びその塩の配合量は、本発明の所望の効果を発現する観点から

、剤全質量に対して、0.00005～0.1質量%が好ましく、0.0001～0.01質量%がより好ましい。

[0024] <塩化リゾチーム>

塩化リゾチームとしては、鶏卵より公知の方法により得られる日局（日本薬局方）又は粧原基（化粧品原料基準）記載の塩化リゾチームを使用することができる。塩化リゾチームはキューピー（株）等から入手可能である。

[0025] 塩化リゾチームの配合量は、本発明の所望の効果を発現する観点から、剤全質量に対して0.0001～1質量%が好ましく、0.001～0.1質量%がより好ましい。

[0026] 本発明の剤は、上記（A）成分に加えて、さらに、（B）成分：メントン、カルボン、シネオール、リモネン、アネトール、オイゲノール、メントール、シンナミックアルデヒドから選ばれる1種又は2種以上を、含んでもよい。（B）成分としては精油から単離したものや合成したものを使用しても良いし、これらを含む精油を使用しても良い。

[0027] （B）成分の配合量は、特に限定されないが、本発明の所望の効果の発現をより向上させるという観点から、剤全体の質量に対し、0.00001～5質量%が好ましく、0.00001～2質量%がより好ましい。

[0028] 本発明においては、（A）成分とともに（B）成分を含むのが好ましい。

（A）成分と（B）成分とを併用することにより本発明の所望の効果の発現がより向上する。（A）成分と（B）成分とを併用する場合、（B）成分の質量に対する（A）成分の質量の比（A/B）は、以下の範囲とするのが好ましい。（B）成分の質量に対する（A）アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩の質量の比（A/B）は、0.002～300000が好ましく、0.01～300000がより好ましく、0.05～300000がさらに好ましい。（B）成分の質量に対する（A）ビタミンE及びその誘導体の質量の比（A/B）は、0.001～100000が好ましく、0.01～100000がより好ましく、0.05～100000がさらに好ましい。（B）成分の質量に対する（A）銅葉緑素及びその塩の質量の比（A/B）は

、0.00001～10000が好ましく、0.00002～10000がより好ましく、0.00005～10000がさらに好ましい。(B)成分の質量に対する(A)塩化リゾチームの質量の比(A/B)は、0.00002～100000が好ましく、0.001～100000がより好ましく、0.005～100000がさらに好ましい。(B)成分の質量に対する(A)成分の質量の比(A/B)を上記のような範囲とすると、本発明の所望の効果の発現がより向上する。

[0029] 本発明の剤には、上記各成分に加えて、本発明の効果を損なわない範囲において、本発明の分野において公知の各種薬用成分や添加成分を適宜配合することができる。

[0030] 本発明の剤の形状及び剤形は特に限定されず、例えば、液体系(液体、液状、ペースト状)、固体系(固体、固形状)などの各種形状に調製できる。なかでも、本発明の剤は、口腔に適用する組成物とすることが好ましく、歯肉に適用する組成物とするのがより好ましい。

[0031] 本発明の剤は、そのまま投与してもよい。また、飲食物(特に、機能性食品)、口腔用組成物、医薬組成物に、本発明の所望の効果を付与するために添加してもよい。

[0032] 本発明の剤を、添加しうる飲食物又は組成物には、特に制限はなく、例えば、飲料(清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、粉末飲料、果実飲料、乳飲料、ゼリー飲料等)、食品類(ガム、キャンディー、タブレット、グミ、フィルム、トローチ、クッキー、ゼリー等)などが挙げられる。

[0033] 本発明の剤は、上皮バリア機能を強化する効果を有する。上皮のバリア機能は上皮の抵抗力とも言い換える事ができる。上皮のバリア機能は物理的な上皮細胞間の結合によって形成されていることが知られている。この細胞間結合は主にタイトジャンクション及びA Jと呼ばれる細胞接装置によって形成されている。上皮の中でも粘膜上皮は、バリア機能維持におけるA Jの寄与度が大きいこと、歯肉粘膜上皮においては更にその寄与度が大きいことが報告されている。EーカドヘリンはA Jを構成する主要なタンパクである

ことから、本発明の剤は、好ましくは粘膜上皮において、より好ましくは口腔粘膜上皮において、更に好ましくは歯肉粘膜上皮において、上皮バリア機能とともに、上皮抵抗力、細胞間結合力、A J機能、及びEーカドヘリンを、顕著に強化することができる。

[0034] 本発明の剤の作用について説明する。

＜上皮バリア機能強化＞

上皮バリア機能強化とは、上皮が持つ水分や揮発成分の蒸散に対する、病原性微生物や有害物質の付着及び／又は侵入に対するバリア機能を強化すること、上皮が持つ水分や揮発成分の蒸散に対する、病原性微生物や有害物質の付着及び／又は侵入に対する抵抗力を強化することを意味する。バリア機能強化とは、バリア機能を向上させる効果、バリア機能の低下を抑制する効果、低下したバリア機能を改善及び／又は回復する効果を指す。すなわち、上皮バリア機能強化は、バリア機能低下抑制、バリア機能改善及び／又は回復と言い換えられ、バリア機能は抵抗力と置き換えることも出来る。本発明の上皮バリア機能強化剤の適用は、好ましくは粘膜上皮用であり、より好ましくは口腔粘膜上皮用であり、更に好ましくは歯肉粘膜上皮用である。

[0035] ＜細胞間結合力強化＞

細胞間結合力とは2つの細胞同士を繋ぎとめる結合力のことを意味し、上皮が有するバリア機能、及び抵抗力はこの細胞同士の物理的な繋がりによって形成されている。細胞間結合力強化とは、細胞間結合力を向上させる効果、細胞間結合力の低下を抑制する効果、細胞間結合力を改善及び／又は回復する効果を指す。すなわち、細胞間結合力強化は、細胞間結合力低下抑制、細胞間結合力改善及び／又は回復とも言いえられる。本発明の細胞間結合力強化剤の適用は、好ましくは粘膜上皮用であり、より好ましくは口腔粘膜上皮用であり、更に好ましくは歯肉粘膜上皮用である。

[0036] ＜アドヘレンスジャンクション機能強化＞

アドヘレンスジャンクション（A J）とは、上皮が細胞間結合力を発揮するための細胞接装置である。A J機能強化とは、A J機能を向上させる効

果、A J 機能の低下を抑制する効果、低下したA J 機能を改善及び／又は回復する効果を指す。すなわち、A J 機能強化は、A J 機能低下抑制、A J 機能改善及び／又は回復とも言い換えられる。本発明のA J 機能強化剤の適用は、好ましくは粘膜上皮用であり、より好ましくは口腔粘膜上皮用であり、更に好ましくは歯肉粘膜上皮用である。

[0037] ＜Eーカドヘリン強化＞

Eーカドヘリンは、上述したように、上皮型のカドヘリンである。Eーカドヘリン強化とは、Eーカドヘリンの発現を増やす効果、Eーカドヘリンの発現低下を抑制する効果、低下したEーカドヘリンの発現を改善及び／又は回復する効果を指す。すなわち、Eーカドヘリン強化は、Eーカドヘリン低下抑制、Eーカドヘリン発現改善及び／又は回復とも言い換えられる。本発明のEーカドヘリン強化剤の適用は、好ましくは粘膜上皮用であり、より好ましくは口腔粘膜上皮用であり、更に好ましくは歯肉粘膜上皮用である。

[0038] 本発明の上皮バリア機能強化剤、抵抗力強化剤、細胞間結合力強化剤、アドヘレンスジャンクション機能強化剤、及びEーカドヘリン強化剤は、正常な状態が異常な状態になるのを防ぐために使用されてもよいし、異常な状態を正常な状態に回復させるために使用されてもよい。

[0039] また、本発明の剤は、上皮バリア機能強化作用、抵抗力強化作用、細胞間結合力強化作用、アドヘレンスジャンクション機能強化作用、Eーカドヘリン強化作用を有することから、皮膚、眼粘膜、鼻粘膜、胃腸粘膜、口腔粘膜を健康的な状態に保つ又は回復するのに有用であり、特に粘膜上皮の健康状態を保つのに有用である。本発明の剤は、より好ましくは口腔粘膜上皮において、更に好ましくは歯肉粘膜上皮において有用である。

実施例

[0040] 以下に、実施例を参照して本発明をより詳細に説明するが、本発明は、これらの実施例の態様に限定されるものではない。

[0041] [評価試験例1] Eーカドヘリン強化効果の評価

96ウェルプレートに、ヒト歯肉上皮細胞を播種し、培地H u m e d i a

ーK G 2（クラボウ株式会社）でコンフルエントまで培養して、上皮バリア機能を発現させた上皮細胞膜を作製した。その後、*Porphyromonas gingivalis*（Pg菌）由来のリポポリサッカライド（Pg-LPS）を0.01質量%または*Escherichia coli*（E. coli菌）由来LPS（E. coli-LPS）を0.01質量%とともに、（A）成分（酢酸トコフェロール、銅クロロフィリンナトリウム、塩化リゾチーム及びアスコルビン酸リン酸エステルマグネシウムから選ばれる一種以上）、（B）成分（メントン、カルボン、シネオール、リモネン、アネオール、オイゲノール、メントール及びシンナミックアルデヒドから選ばれる一種以上）、ならびに、表5に記載の比較の化合物（アスコルビン酸ナトリウム、ヒアルロン酸ナトリウム、アズレンスルホン酸ナトリウム及びメントールから選ばれる一種）から選ばれる一種以上を、表に記載した量、同時に添加したHumedia-K G 2で、3日間培養し評価サンプルを作製した。ここで、Pg-LPSは、歯肉上皮や全身の上皮への影響が報告されているPg菌由来LPSであり、E. coli-LPSは腸粘膜上皮への影響も報告されているE. coli菌由来のLPSであり、これらLPSは菌由来の病原性物質として知られており、E-カドヘリン破壊を促す作用がある。

[0042] 得られた各評価サンプルにつき、ヒト歯肉上皮細胞に発現しているE-カドヘリンを免疫蛍光染色し、健常バリアモデル（無処置）の蛍光強度を100%として各評価サンプルにおける蛍光強度をE-カドヘリン発現率として算出した。また、健常バリアモデルにHumedia-K G 2と、0.01質量%のPg-LPSまたは0.01質量%のE. coli-LPSとを加えて3日間培養し、E-カドヘリンの発現を低下させた細胞をコントロール（LPS単独処置時）として、下記式（1）によりE-カドヘリン発現低下抑制率を求め、表1～表5に示した。

[0043]

[数1]

$$\text{E-カドヘリン発現低下抑制率} = \{ (\text{各評価サンプルのE-カドヘリン発現率}) - (\text{LPS単独処置時のE-カドヘリン発現率}) / (\text{無処置時のE-カドヘリン発現率}) - (\text{LPS単独処置時のE-カドヘリン発現率}) \} \times 100$$
 式(1)

[0044] なお、LPSとしてPg-LPSを用いた評価サンプルにつきE-カドヘリン発現低下抑制率を算出する場合にはPg-LPSを単独で添加したときのコントロールのE-カドヘリン発現率を用い、LPSとしてE. coli-LPSを用いた評価サンプルにつきE-カドヘリン発現低下抑制率を算出する場合にはE. coli-LPSを単独で添加したコントロールのE-カドヘリン発現率を用いた。

[0045] 表1～表4の添加成分の欄には、各処置例にて用いた、添加成分とその量を記載した。詳しくは、添加成分の欄には、LPSの種類と量、(A)成分として用いた化合物とそのサンプル中濃度(質量%)、及び(B)成分として用いた化合物とそのサンプル中濃度(質量%)を併せて示し、表5の添加成分の欄には、LPSの種類と量、(A)成分及び(B)成分の代わりに用いた比較の化合物(アスコルビン酸ナトリウム、ヒアルロン酸ナトリウム、アズレンスルホン酸ナトリウム及びメントール)とそのサンプル中濃度(質量%)を示した。

[0046] [評価試験例2] バリア機能評価試験

カルチャーインサート(Millipore)の上層にヒト歯肉上皮細胞株を播種し、基本培地Humedia-KG2でコンフルエントまで培養して上皮バリア機能を発現させた上皮細胞膜を作製後、培地を除去し、Pg-LPSを0.01質量%添加した単独培地、及び、0.01質量%のPg-LPSに加えて、(A)成分(酢酸トコフェロール、銅クロロフィリンナトリウム、塩化リゾチーム及びアスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩から選ばれる一種以上)、(B)成分(メントン、カルボン、シネオール、リモネン、アネトール、オイゲノール、メントール及びシンナミックアルデヒドから選ばれる一種以上)、並びに、表5に記載の化合物(アスコルビ

ン酸ナトリウム、ヒアルロン酸ナトリウム、アズレンスルホン酸ナトリウム及びメントールから選ばれる一種）から選ばれる一種以上を表に記載した量、添加した培地で、それぞれ3日間培養した。培養後、上層と下層の培地を除去・洗浄し、上皮細胞膜のバリア機能評価を行った。バリア機能評価として、細菌由来の毒素であるLPS（P. g-LPS）の透過実験、菌（*Streptococcus mitis*（S. m菌））の透過実験、上皮細胞膜の電気抵抗値（TER）測定アッセイを行った。

ここで、LPSは菌由来の病原性物質であり、水溶液中でコロイドを形成し巨大分子として存在することが知られている。S. m菌は口腔粘膜に常在する菌として知られており、一般的に病原性は低いが上皮バリア機能が低下している場合に化膿性炎症を惹起することが知られている。TERは細胞層のバリア機能と強い相関があることが知られており主に水分やイオンの透過性に関連が深く、化粧品分野においてTERの値が高くなると肌のうるおい実感が高まることなどが報告されている。

[0047]（P g-LPSの透過実験）

3日間培養後の上皮細胞膜について、P g-LPSを添加し0.01%に調整したHumedia-KG2を上層に0.2mL、Humedia-KG2を下層に0.9mL、それぞれ添加した。4時間後、下層中のP. g-LPS濃度をPyrochrome（生化学工業）で定量し、該定量値を用いて下記式（2）よりバリア機能を算出し、結果を表1～5に示した（下層中LPS濃度、LPSに対するバリア機能）。

[0048]（S. m菌の透過実験）

3日間培養後の上皮細胞膜について、Humedia-KG2培地から抗生物質を除いた培地中にS. m菌を懸濁させて 10^7 cells/mLに調整した培地を上層に0.2mL、S. m菌フリーの培地を下層に0.9mL添加し、4時間後の下層中から20μLを採取し適宜希釈してtryptic soy寒天培地に播種した。播種後の培地を37℃好気条件で48時間培養し、培地のコロニー数と希釈率から下層中菌濃度（CFU/mL）を算出

し表1～表5に示した。さらにこの下層中菌濃度を用いて下記式(2)より菌に対するバリア機能を算出し、表1～表5に示した。

[0049] (TER測定)

MilliCell-ERS Volt-Ohm Meterを用いて測定した値(Ω)に細胞層面積(cm^2)を乗じてTER($\Omega \cdot \text{cm}^2$)を算出した。さらにこのTER値を用いて下記式(2)よりイオン・水分に対するバリア機能を算出し、結果を表1～表5に示した。

[0050] [数2]

$$\text{各バリア機能} = \{ (\text{Pg-LPS単独処置時の値}) - (\text{評価サンプル処置時の値}) / (\text{Pg-LPS単独処置時の値}) - (\text{無処置時の値}) \} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

[0051] なお、本評価試験例は、評価サンプルの作製方法が評価試験例1とは相違するが、培地に添加する添加成分とその量が評価試験例1の添加成分と対応しているので、評価試験例1と添加成分が同じものについては、対応する処置例のところに、本評価試験例の結果を並べて記載した。

[0052]

[表1]

表1	<処置条件>	無処置	P.g-LPS 単独処置	E.coli-LPS 単独処置	処置例									
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	
添加成分	P.g-LPS	—	0.01	—	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	E.coli-LPS	—	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	(A)成分:酢酸トコフェロール	—	—	—	0.005	0.01	0.1	0.5	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	(B)成分	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.00001	0.0001	0.01	2
<評価結果>														
E-カドヘリン発現率(%)	E-カドヘリン発現低下抑制率(%)	100	67	63	70	77	84	78	75	102	105	107	105	105
	E-カドヘリン発現低下抑制率(%)	—	—	—	9.1	30.3	51.5	33.3	24.2	106.1	115.2	121.2	115.2	115.2
	下層中LPS濃度(EU/mL)	7171.7	8346.4	—	7161.8	7010.3	6785.1	6812.2	7043.2	6490	6492	6404	6487	6487
	LPSに対するバリア機能	100.0	0.0	—	100.8	113.7	132.9	130.6	110.9	158.0	157.9	165.4	158.3	158.3
	下層中菌濃度(CFU/mL)	997	2164	—	892.0	789.0	634.0	643.0	779.0	448.0	443.0	430.0	440.0	440.0
	菌に対するバリア機能	100.0	0.0	—	109.0	117.8	131.1	130.3	118.7	147.0	147.5	148.6	147.7	147.7
	電気抵抗値($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	250	148	—	253.0	262.0	264.0	264.0	261.0	283.0	280.0	282.0	281.0	281.0
	イオン・水分に対するバリア機能	100	0	—	102.9	111.8	113.7	113.7	110.8	132.4	129.4	131.4	130.4	130.4
処置例														
<処置条件>	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19				
	P.g-LPS	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	—				
	E.coli-LPS	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	0.01			
	(A)成分:酢酸トコフェロール	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
(B)成分	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
<評価結果>														
E-カドヘリン発現率(%)	E-カドヘリン発現低下抑制率(%)	90	102	104	100	101	100	105	102	78	103			
	E-カドヘリン発現低下抑制率(%)	69.7	106.1	112.1	100.0	103.0	100.0	115.2	106.1	33.3	109.1			
	下層中LPS濃度(EU/mL)	6600	6489	6421	6435	6380	6402	6489	6321					
	LPSに対するバリア機能	148.7	158.1	163.9	162.7	167.4	165.5	158.1	172.4					
	下層中菌濃度(CFU/mL)	548.0	442	438	444	439	433	448	443					
	菌に対するバリア機能	138.5	147.6	147.9	147.4	147.8	148.3	147.0	147.5					
	電気抵抗値($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	271.0	281	283	286	284	281	281	282					
	イオン・水分に対するバリア機能	120.6	130.4	132.4	135.3	133.3	130.4	130.4	131.4					

[0053]

[表2]

表2

<処置条件>		無処置		P.g-LPS 単独処置		E.coli-LPS 単独処置		処置例															
								20	21	22	23	24	25	26	27	28							
添加成分	P.g-LPS	—	—	0.01	—	—	—	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01							
	E.coli-LPS	—	—	—	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
	(A)成分:銅クロロフィルナトリウム	—	—	—	—	—	—	0.00005	0.0001	0.005	0.01	0.1	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001							
	(B)成分	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.00001	0.0001	0.01	2							
<評価結果>																							
E-カドヘリン発現率(%)	—	100	67	63	73	86	80	75	72	101	105	110	103										
	—	—	—	—	18.2	57.6	39.4	24.2	15.2	103.0	115.2	130.3	109.1										
	下層中LPS濃度(EU/mL)	7171.7	8346.4	—	7069.4	6680.2	6789.9	6872.1	7087.5	6489	6479	6443	6488										
	LPSに対するバリア機能	100.0	0.0	—	108.7	141.8	132.5	125.5	107.2	158.1	159.0	162.0	158.2										
	下層中菌濃度(CFU/mL)	997	2164	—	803.0	630.0	641.0	664.0	823.0	445.0	445.0	421.0	432.0										
	菌に対するバリア機能	100.0	0.0	—	116.6	131.4	130.5	128.5	114.9	147.3	147.3	149.4	148.4										
	電気抵抗値(Ω・cm ²)	250	148	—	254.0	267.0	261.0	261.0	251.0	283.0	284.0	281.0	282.0										
	イオン・水分に対するバリア機能	100	0	—	103.9	116.7	110.8	110.8	101.0	132.4	133.3	130.4	131.4										
処置例																							
<処置条件>		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38												
		0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	—	—												
添加成分	P.g-LPS	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	0.01												
	E.coli-LPS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—												
	(A)成分:銅クロロフィルナトリウム	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001						
	(B)成分	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001						
処置例																							
E-カドヘリン発現率(%)	—	98	101	102	105	105	110	102	100	82	103												
	—	93.9	103.0	106.1	115.2	115.2	130.3	106.1	100.0	45.5	109.1												
	下層中LPS濃度(EU/mL)	6648	6498	6434	6321	6489	6348	6444	6487														
	LPSに対するバリア機能	144.6	157.4	162.8	172.4	158.1	170.1	161.9	158.3														
	下層中菌濃度(CFU/mL)	573.0	442	441	442	448	423	431	444														
	菌に対するバリア機能	136.3	147.6	147.6	147.6	147.0	149.2	148.5	147.4														
	電気抵抗値(Ω・cm ²)	271.0	281	284	288	291	282	289	281														
	イオン・水分に対するバリア機能	120.6	130.4	133.3	137.3	140.2	131.4	138.2	130.4														
<評価結果>																							

[0054]

[表3]

表3		<処置条件>		無処置		P.g-LPS		E.coli-LPS		処置例											
				単独処置		単独処置		単独処置		39	40	41	42	43	44	45	46	47			
添 加 成 分	P.g-LPS	—	—	0.01	—	—	—	—	—	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01		
	E.coli-LPS	—	—	—	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	(A)成分:塩化リゾチーム	—	—	—	—	—	—	0.0001	0.001	0.01	0.01	0.1	1	—	—	0.01	0.01	0.01	0.01		
	(B)成分	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.00001	0.0001	0.01	0.01	2		
<評価結果>																					
E-カドヘリン発現率(%)																					
E-カドヘリン発現低下抑制率(%)																					
下層中LPS濃度(EU/mL)																					
LPSに対するバリア機能																					
下層中菌濃度(CFU/mL)																					
菌に対するバリア機能																					
電気抵抗値($\Omega \cdot \text{cm}^2$)																					
イオン・水分に対するバリア機能																					
処置例																					
<処置条件>																					
添 加 成 分	P.g-LPS	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	—	—	—	—	—	—	—	—		
	E.coli-LPS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	(A)成分:塩化リゾチーム	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01		
	(B)成分	5	0.1	0.15	0.1	0.04	0.1	0.01	0.01	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
<評価結果>																					
E-カドヘリン発現率(%)																					
E-カドヘリン発現低下抑制率(%)																					
下層中LPS濃度(EU/mL)																					
LPSに対するバリア機能																					
下層中菌濃度(CFU/mL)																					
菌に対するバリア機能																					
電気抵抗値($\Omega \cdot \text{cm}^2$)																					
イオン・水分に対するバリア機能																					

[0055]

[表4]

表4	＜処置条件＞	無処置	P.g-LPS単 独処置	E.coli-LPS 単独処置	処置例											
					58	59	60	61	62	63	64	65	66			
添 加 成 分	P.g-LPS	—	0.01	—	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01		
	E.coli-LPS	—	—	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	(A)成分:アスコルビン酸/シ酸エステルMg	—	—	—	0.01	0.1	0.3	1	3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		
	(B)成分	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.00001	0.0001	0.01	2		
＜評価結果＞																
E-カドヘリン発現率 (%)	E-カドヘリン発現低下抑制率 (%)	100	67	63	73	103	102	78	73	115	115	121	116	116		
	下層中LPS濃度 (EU/mL)	7171.7	8346.4	—	7062.7	6687.8	6746	6862.4	7062.3	6486	6436	6329	6342	148.5		
	LPSに対するバリア機能	100.0	0.0	—	109.3	141.2	136.2	126.3	109.3	158.4	162.6	171.7	170.6	378.0		
	下層中菌濃度 (CFU/mL)	997	2164	—	839.0	632.0	703.0	724.0	844.0	391.0	378.0	311.0	158.8	153.0		
	菌に対するバリア機能	100.0	0.0	—	113.5	131.3	125.2	123.4	113.1	151.9	153.0	158.8	153.0	281.0		
	電気抵抗値 (Ω・cm ²)	250	148	—	258.0	264.0	270.0	268.0	259.0	281.0	284.0	285.0	281.0	130.4		
	イオン・水分に対するバリア機能	100	0	—	107.8	113.7	119.6	117.6	108.8	130.4	133.3	134.3	130.4	130.4		
処置例																
＜処置条件＞		67	68	69	70	71	72	73	74	75	76					
	P.g-LPS	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	—	—					
	E.coli-LPS	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	0.01					
	(A)成分:アスコルビン酸/シ酸エステルMg	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1				
メトリル		メトリル	メトリル	カルボン	システール	リモノン	アトール	オイゲノール	シグミックアルデヒド	—	—					
	5	0.1	0.15	0.1	0.04	0.1	0.1	0.01	0.05	0.01	0.01					
＜評価結果＞																
E-カドヘリン発現率 (%)	E-カドヘリン発現低下抑制率 (%)	109	115	118	115	120	115	117	117	102	118					
	下層中LPS濃度 (EU/mL)	127.3	145.5	154.5	145.5	160.6	145.5	151.5	151.5	106.1	154.5					
	LPSに対するバリア機能	6620	6489	6483	6490	6498	6482	6391	6429							
	下層中菌濃度 (CFU/mL)	147.0	158.1	158.6	158.0	157.4	158.7	166.5	163.2							
	菌に対するバリア機能	531.0	381	399	378	381	396	349	376							
	電気抵抗値 (Ω・cm ²)	139.9	152.8	151.2	153.0	152.8	151.5	155.5	153.2							
	イオン・水分に対するバリア機能	271.0	291	284	284	281	284	294	287							
	120.6	140.2	133.3	133.3	130.4	133.3	143.1	136.3								

[表5]

表5

<処置条件>		無処置	P.g-LPS 単独処置	処置例			
				77	78	79	80
添 加 成 分	P.g-LPS	—	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	アスコルビン酸ナトリウム	—	—	0.1	—	—	—
	ヒアルロン酸ナトリウム	—	—	—	0.01	—	—
	アズレンスルホン酸ナトリウム	—	—	—	—	0.005	—
	メントール	—	—	—	—	—	0.01
<評価結果>							
E-カドヘリン発現率(%)		100	67	65	62	60	64
E-カドヘリン発現低下抑制率(%)		—	—	-6.1	-15.2	-21.2	-9.1
下層中LPS濃度(EU/mL)		7171.7	8346.4	8355	8398.2	8423.9	8348
LPSに対するバリア機能		100.0	0.0	-0.7	-4.4	-6.6	-0.14
下層中菌濃度(CFU/mL)		997	2164	2005.0	2214.0	1985.0	2045
菌に対するバリア機能		100.0	0.0	13.6	-4.3	15.3	11.4
電気抵抗値($\Omega \cdot \text{cm}^2$)		250	148	147.0	135.0	143.0	142
イオン・水分に対するバリア機能		100	0	-1.0	-12.7	-4.9	-5.6

[0057] [結果と考察]

(カドヘリン発現率について)

表に示すように、(A)成分(アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、酢酸トコフェロール、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つ)を添加成分として含む処置例1~76では、LPSのみを添加したサンプルよりもE-カドヘリン発現率が高く、E-カドヘリン発現低下抑制率が9.1%以上であった。特に(A)成分に加えて(B)成分をさらに含む処置例6~17、19、25~36、38、44~55、57、63~74、76では、E-カドヘリン発現率が90%以上であり、E-カドヘリン発現低下抑制率が69.7%以上であった。

一方、(A)成分を含まない添加成分にて処置を行った処置例77~80では、LPSのみを添加したサンプルよりもE-カドヘリン発現率が低く、E-カドヘリン発現低下抑制率はマイナスとなり、発現低下を抑制することができなかった。

このことから、本発明によれば、E-カドヘリン発現率を高めるのでE-

カドヘリン強化効果が発現することがわかった。また、(A)成分とともに(B)成分を含むものでは、Eーカドヘリン発現率が高くなるのでEーカドヘリン強化効果の発現において、好ましいということがわかった。

[0058] (バリア機能について)

表に示すように、

(A)成分(アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、酢酸トコフェロール、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1つ)を添加成分として含む処置例1~76では、無処置のサンプルよりもLPS、菌、イオン水分に対するバリア機能が高かった。特に(A)成分に加えて(B)成分をさらに含む処置例6~17、19、25~36、38、44~55、57、63~74、76では、LPS、菌、イオン水分に対するバリア機能が高かった。

一方、(A)成分を含まない添加成分にて処置を行った処置例77~80では、LPS、菌、イオン水分に対するバリア機能がすべて無処置のものよりも低かった。

このことから、本発明によれば、LPS、菌、イオン、水分に対するバリア機能が高いことがわかった。また、(A)成分とともに(B)成分を含むものでは、特にLPS、菌、イオン、水分に対するバリア機能が高いので、好ましいということがわかった。

[0059] [処方例]

下記に示す処方においても実施例と同様にバリア機能の強化効果を確認している。

[0060] 処方例1

(1) 皮膚用(質量%)

a)	酢酸トコフェロール	0.5
b)	モノラウロイル酸デカグリセリル	0.2
c)	モノイソステアリン酸ジグリセリル	0.1
d)	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(60EO)	1.0

e)	濃グリセリン	8. 0
f)	メチルパラベン	0. 3
g)	プロピルパラベン	0. 1
h)	ヒドロキシエチルセルロース	0. 1
i)	エタノール	12. 0
j)	精製水	残部
合計		100. 0

[0061] 処方例2

(2) 皮膚用 (質量%)

a)	アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム	0. 1
b)	モノラウロイル酸デカグリセリル	0. 2
c)	モノイソステアリン酸ジグリセリル	0. 1
d)	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (60EO)	1. 0
e)	濃グリセリン	8. 0
f)	メチルパラベン	0. 3
g)	プロピルパラベン	0. 1
h)	ヒドロキシエチルセルロース	0. 1
i)	エタノール	12. 0
j)	精製水	残部
合計		100. 0

[0062] 処方例3

(3) 粘膜上皮用 (質量%)

a)	酢酸トコフェロール	0. 1
b)	スクワラン	10. 0
c)	セトステアリルアルコール	4. 0
d)	メチルポリシロキサン	3. 0
e)	パルミチン酸セチル	2. 0
f)	モノステアリン酸グリセリン	1. 5

g)	濃グリセリン	12.0
h)	1, 3-ブチレングリコール	2.0
i)	カルボキシビニルポリマー	0.15
j)	メチルパラベン	0.3
k)	水酸化ナトリウム	適量
l)	精製水	残部
合計		100.0

[0063] 処方例4

(4) 粘膜上皮用 (質量%)

a)	アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム	0.3
b)	スクワラン	10.0
c)	セトステアリルアルコール	4.0
d)	メチルポリシロキサン	3.0
e)	パルミチン酸セチル	2.0
f)	モノステアリン酸グリセリン	1.5
g)	濃グリセリン	12.0
h)	1, 3-ブチレングリコール	2.0
i)	カルボキシビニルポリマー	0.15
j)	メチルパラベン	0.3
k)	水酸化ナトリウム	適量
l)	精製水	残部
合計		100.0

[0064] 処方例5

(5) 口腔上皮用 (質量%)

a)	酢酸トコフェロール	0.5
b)	エタノール	20.0
c)	ポリビニルピロリドン	10.0
d)	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.3

e)	カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.5
f)	グリセリン	25.0
g)	ステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン	0.2
h)	水酸化ナトリウム	適量
i)	香料	適量
j)	精製水	残部
合計		100.0

[0065] 処方例6

(6) 口腔上皮用 (質量%)

a)	アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム	1.0
b)	エタノール	20.0
c)	ポリビニルピロリドン	10.0
d)	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.3
e)	カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.5
f)	グリセリン	25.0
g)	ステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン	0.2
h)	水酸化ナトリウム	適量
i)	香料	適量
j)	精製水	残部
合計		100.0

[0066] 処方例7

(7) 歯肉上皮用 (質量%)

a)	酢酸トコフェロール	0.1
b)	カルボキシビニルポリマー	2.2
c)	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.3
d)	グリセリン	23.0
e)	エタノール	12.0
f)	メチルパラベン	3.0

g)	ポリソルベート60	0.15
h)	モノステアリン酸ソルビタン	0.1
i)	ショ糖脂肪酸エステル	0.5
j)	軽質流動パラフィン	0.5
k)	香料	適量
l)	水酸化ナトリウム	適量
m)	水酸化カリウム	適量
n)	クエン酸	適量
o)	精製水	残部
合計		100.0

[0067] 処方例8

(8) 歯肉上皮用 (質量%)

a)	アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム	0.3
b)	カルボキシビニルポリマー	2.2
c)	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.3
d)	グリセリン	23.0
e)	エタノール	12.0
f)	メチルパラベン	3.0
g)	ポリソルベート60	0.15
h)	モノステアリン酸ソルビタン	0.1
i)	ショ糖脂肪酸エステル	0.5
j)	軽質流動パラフィン	0.5
k)	香料	適量
l)	水酸化ナトリウム	適量
m)	水酸化カリウム	適量
n)	クエン酸	適量
o)	精製水	残部
合計		100.0

[0068] 処方例 9

(9) 歯肉上皮用 (質量%)

a)	酢酸トコフェロール	0.6
b)	カルボキシビニルポリマー	2.2
c)	ヒドロキシプロピルメチルセルロース	0.3
d)	グリセリン	23.0
e)	エタノール	12.0
f)	メチルパラベン	3.0
g)	ポリソルベート60	0.15
h)	モノステアリン酸ソルビタン	0.1
i)	シヨ糖脂肪酸エステル	0.5
j)	軽質流動パラフィン	0.5
k)	香料	適量
l)	水酸化ナトリウム	適量
m)	水酸化カリウム	適量
n)	クエン酸	適量
o)	精製水	残部
合計		100.0

請求の範囲

- [請求項1] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1 つを含有する、アドヘレンスジャンクション機能強化剤。
- [請求項2] 粘膜上皮用のものである、請求項1 に記載の強化剤。
- [請求項3] 口腔上皮用のものである、請求項1 に記載の強化剤。
- [請求項4] 歯肉上皮用のものである、請求項1 に記載の強化剤。
- [請求項5] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1 つを含有する、E－カドヘリン強化剤。
- [請求項6] 粘膜上皮用のものである、請求項5 に記載の強化剤。
- [請求項7] 口腔上皮用のものである、請求項5 に記載の強化剤。
- [請求項8] 歯肉上皮用のものである、請求項5 に記載の強化剤。
- [請求項9] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1 つを含有する、細胞間結合力強化剤。
- [請求項10] 粘膜上皮用のものである、請求項9 に記載の強化剤。
- [請求項11] 口腔上皮用のものである、請求項9 に記載の強化剤。
- [請求項12] 歯肉上皮用のものである、請求項9 に記載の強化剤。
- [請求項13] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選ばれる少なくとも1 つを含有する、上皮バリア機能強化剤。
- [請求項14] 粘膜上皮用のものである、請求項1 3 に記載の強化剤。
- [請求項15] 口腔上皮用のものである、請求項1 3 に記載の強化剤。
- [請求項16] 歯肉上皮用のものである、請求項1 3 に記載の強化剤。
- [請求項17] アスコルビン酸リン酸エステル及びその塩、ビタミンE 及びその誘導体、銅葉緑素及びその塩、並びに塩化リゾチームからなる群から選

ばれる少なくとも1つを含有する、抵抗力強化剤。

[請求項18] 粘膜上皮用のものである、請求項17に記載の強化剤。

[請求項19] 口腔上皮用のものである、請求項17に記載の強化剤。

[請求項20] 歯肉上皮用のものである、請求項17に記載の強化剤。

[請求項21] さらに、メントン、カルボン、シネオール、リモネン、アネトール、オイゲノール、メントール及びシンナミックアルデヒドから選ばれる1種又は2種以上、

を含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の強化剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/085867

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/375(2006.01)i, A61K31/355(2006.01)i, A61K31/409(2006.01)i,
A61K38/46(2006.01)i, A61P1/02(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P31/00
(2006.01)i, A61P43/00(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)

A61K31/375, A61K31/355, A61K31/409, A61K38/46, A61P1/02, A61P17/00,
A61P31/00, 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	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

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

WPI, JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),
CAplus/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 Y	WO 2014/104171 A1 (Hayashibara Co., Ltd.), 03 July 2014 (03.07.2014), claims; paragraphs [0012], [0015], [0023] & US 2015/0342854 A1 claims; paragraphs [0018], [0021], [0029] & WO 2014/103475 A1 & EP 2939657 A1 & CA 2895387 A & CN 104918603 A & KR 10-2015-0103138 A & TW 201438756 A & TW 201438757 A & CA 2896646 A	1-20 21
Y	JP 2001-55318 A (Lion Corp.), 27 February 2001 (27.02.2001), paragraphs [0004], [0020] (Family: none)	21

☒ 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
24 February 2016 (24.02.16)

Date of mailing of the international search report
08 March 2016 (08.03.16)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/085867

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	IMAI K. et al, Cell-cell junctions between cultured hepatic stellate cells., Cell Structure and Function, 2002, 27(4), p.251, PC1-52, lines 7 to 18	1,9
X	IMAI K. et al, Development of cell-cell junctions in different types of extracellular matrices- An analysis in cultured hepatic stellate cells in the presence of a long-acting vitamin C derivative-, Japan Matrix Club Taikai, 2002, Vol.49th, Page.67,FP-50, lines 1 to 4, 14 to 16	1,9
X	MORIGUCHI S.et al, Vitamin E Enhances T Cell Differentiation Through Increased Epithelial Cell Function in Rat Thymus., Nutr. Res., 1997, Vol.17 No.5, Page.873-883, ABSTRACT	1,9
X	WANG Q.L.et al, Salvianolic acid B prevents epithelial-to-mesenchymal transition through the TGF-β1 signal transduction pathway in vivo and in vitro., BMC cell biology, 2010, Vol.11, pp. 31., Abstract	1,5,9
X	THAMILSELVAN S. et al, Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: Effect of antioxidants., Urological Research, 2003, Vol. 31,No. 1, pp. 3-9, Abstract	13,17
X	Kenji SHIMIZU et al., "Effects of Lysozyme Chloride(Acdeam®) on Foreign Materials Excretion by Tracheal Mucociliary Transport", Basic Pharmacology & Therapeutics, 1997, 25(9), pages 2347 to 2358, table 1	1,2,5,6,9,10,13,14,17,18
A	MANGERA A. et al, A novel tissue engineering approach for creating prostheses for the treatment of stress urinary incontinence (SUI) & pelvic organ prolapse(POP)., European Urology, Supplements, 2010, 9(2), p.328,1049	1-21
A	Mitsuo NAKAMA et al., "Issanka Chisso ni yoru Keratinocyte no Melanin Torikomi to Magnesium Ascorbyl Phosphate no Yokusei Sayo", Abstracts of Annual Meeting of Pharmaceutical Society of Japan, 2006, 126th(3), page 58, P28[R]am-157	1-21
A	Mistuo NAKAMA et al., "Magnesium ascorbyl phosphate inhibits the transfer of melanin granules from melanocytes to keratinocytes", Fragrance Journal, 2008, 36(9), pages 53 to 58	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/085867

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DASHWOOD R.H., Adherins junction remodeling - a novel target for cancer chemoprevention and chemotherapy?, International Journal of Cancer Prevention, 2004, Vol.1, No.1, Page 15-18	1-21
A	CARVALHO E.B. et al, Goat milk with and without increased concentrations of lysozyme improves repair of intestinal cell damage induced by enteroaggregative Escherichia coli., BMC Gastroenterology, 2012, Vol.12, Page.106	1-21

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/375(2006.01)i, A61K31/355(2006.01)i, A61K31/409(2006.01)i, A61K38/46(2006.01)i, A61P1/02(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P31/00(2006.01)i, A61P43/00(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 (I P C))

Int.Cl. A61K31/375, A61K31/355, A61K31/409, A61K38/46, A61P1/02, A61P17/00, A61P31/00, A61P43/00

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

WPI, JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/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 Y	WO 2014/104171 A1 (株式会社林原) 2014.07.03, 特許請求の範囲, 段落 0012, 0015, 0023 & US 2015/0342854 A1, Claims, [0018], [0021], [0029] & WO 2014/103475 A1 & EP 2939657 A1 & CA 2895387 A & CN 104918603 A & KR 10-2015-0103138 A & TW 201438756 A & TW 201438757 A & CA 2896646 A	1-20 21
Y	JP 2001-55318 A (ライオン株式会社) 2001.02.27, 段落 0004, 0020 (ファミリーなし)	21

☑ 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

2 4 . 0 2 . 2 0 1 6

国際調査報告の発送日

0 8 . 0 3 . 2 0 1 6

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)

六 笠 紀 子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

4 U

9 7 3 5

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
X	IMAI K. et al, Cell-cell junctions between cultured hepatic stellate cells., Cell Structure and Function, 2002, 27(4), p. 251, PC1-52, 第7～18行	1, 9
X	IMAI K. et al, Development of cell-cell junctions in different types of extracellular matrices- An analysis in cultured hepatic stellate cells in the presence of a long-acting vitamin C derivative-, マトリックス研究会大会, 2002, Vol. 49th, Page. 67, FP-50, 第1～4, 14～16行	1, 9
X	MORIGUCHI S. et al, Vitamin E Enhances T Cell Differentiation Through Increased Epithelial Cell Function in Rat Thymus., Nutr. Res., 1997, Vol. 17 No. 5, Page. 873-883, ABSTRACT	1, 9
X	WANG Q.L. et al, Salvianolic acid B prevents epithelial-to-mesenchymal transition through the TGF- β 1 signal transduction pathway in vivo and in vitro., BMC cell biology, 2010, Vol. 11, pp. 31., Abstract	1, 5, 9
X	THAMILSELVAN S. et al, Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: Effect of antioxidants., Urological Research, 2003, Vol. 31, No. 1, pp. 3-9, Abstract	13, 17
X	清水賢治ほか, 塩化リゾチーム(アクディーム®)の気管粘膜上皮線毛運動における異物排せつ促進作用, 薬理と治療, 1997, 25(9), p. 2347-2358, Table1	1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 17, 18
A	MANGERA A. et al, A novel tissue engineering approach for creating prostheses for the treatment of stress urinary incontinence (SUI) & pelvic organ prolapse (POP)., European Urology, Supplements, 2010, 9(2), p. 328, 1049	1-21
A	中間満雄ほか, 一酸化窒素によるケラチノサイトのメラニン取り込みとアスコルビン酸リン酸マグネシウムの抑制作用, 日本薬学会年会要旨集, 2006, 126th(3), p. 58, P28[R]am-157	1-21
A	中間満雄, アスコルビン酸リン酸マグネシウムのメラニン受け渡し抑制効果, Fragrance Journal, 2008, 36(9), p. 53-58	1-21

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	DASHWOOD R. H. , Adherins junction remodeling - a novel target for cancer chemoprevention and chemotherapy?, International Journal of Cancer Prevention, 2004, Vol.1, No.1, Page 15-18	1-21
A	CARVALHO E.B. et al, Goat milk with and without increased concentrations of lysozyme improves repair of intestinal cell damage induced by enteroaggregative Escherichia coli., BMC Gastroenterology, 2012, Vol.12, Page.106	1-21