

明 細 書

発明の名称：

ロリクリンの減少抑制・改善剤、トランスグルタミナーゼ3活性化剤および皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤

関連出願の参照

[0001] 本願は、先行する日本国特許出願である特願2014-264578号（出願日：2014年12月26日）に基づくものであって、その優先権の利益を主張するものであり、その開示内容全体は参照することによりここに組み込まれる。

技術分野

[0002] 本発明は、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤、および皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化剤に関する。また本発明は、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤に関する。これらは、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善に有用である。

背景技術

[0003] 表皮の角層は、表皮角化細胞（ケラチノサイト）が終末分化した角層細胞と、それを取りまく角層細胞間脂質から構成されている。細胞間脂質は、セラミド、コレステロール、脂肪酸などから構成され、脂質層と水分子層とによって、ラメラ構造を形成している。

[0004] 一方、角層細胞は、保湿に関連する成分のケラチン線維やアミノ酸などの天然保湿因子を含んでいる。そして、それは、角化肥厚膜（角質肥厚膜、またはコーニファイドエンベロープ（CE）とも呼ぶ）という様々なタンパク質の架橋によって、非常に強靱な不溶性の裏打ち構造に包まれており、物理的や化学的な刺激に対して、非常に安定的である。角化肥厚膜を構成するタンパク質のうち、特に顆粒層で形成されているロリクリンは、この裏打ち構造を強化する役割を担っている。この構造では、タンパク質架橋接着酵素のトランスグルタミナーゼ3が、ロリクリン以外のタンパク質の架橋反応で形

成された未熟な角化肥厚膜に対して、ロリクリンを付着させ、角化肥厚膜の足場となる土台を形成することによって完成する。

[0005] 皮膚の紫外線による損傷（ダメージ）は、皮膚のターンオーバーの異常を誘発し、特に最外層の角層では、その影響を受け易い。角層細胞の損傷や不全角化によって、不完全な角化肥厚膜が形成されると、表皮角層のバリア機能を低下させ、角層中に保持された水分が失われることが知られている。

[0006] コーニファイドエンベロープ（角化肥厚膜）の形成・成熟促進という観点からは、例えば、特開2008-303185号公報に、特定のピロリドン誘導体の使用について開示されている。ここでは、未熟なコーニファイドエンベロープを成熟化させることが検討されている。しかしながら、本発明者らの知るかぎり、皮膚損傷などによるロリクリンの減少を抑制して、トランスグルタミナーゼ3を活性化することで、角化肥厚膜の形成を促進して、その構造を強化することについては、あまり検討が進んでいない。そして、本発明者らの知るかぎり、そのために、スフィンゴ脂質、その中でも、スフィンゴミエリンを経口摂取することについては、これまで知られていない。

[0007] 特開2009-084244号公報には、炭素数10～36の飽和遊離脂肪酸溶液の連続経口摂取によって、皮膚のバリア機能の改善効果、セラミド量の増加効果、ロリクリン遺伝子の発現増加効果が認められたことが開示されている。しかしながら、ここには、スフィンゴミエリンを経口摂取することについては、何ら記載も示唆もされていない。

[0008] 特開2007-117793号公報には、スフィンゴミエリンを有効成分として含有する医薬および飲食品が開示されており、スフィンゴミエリンによるシアロムチン分泌促進作用、抗アレルギー作用、抗酸化作用等の種々の作用が開示されている。しかしながら、ここには、スフィンゴミエリンによるロリクリンの減少抑制作用や、トランスグルタミナーゼ3の活性化作用については、何ら記載も示唆もされていない。

[0009] Hasegawaらの文献（Hasegawa T et al., “Dietary glucosylceramide enhances cornified envelope formation via transglutaminase expression an

d involucrin production” , Lipids (2011) 46, pp.529-535) には、こんにゃく由来のスフィンゴ脂質であるグルコシルセラミドをマウスに投与した際に、マウスの皮膚バリア機能の改善、トランスグルタミナーゼ 1 の発現上昇、インボルクリンの産生上昇、トランスグルタミナーゼ 1 および 3 の発現促進等の作用が観察されたことが報告されている。しかしながら、グルコシルセラミドでは、スフィンゴミエリンとは構造的に異なるものであり、また、スフィンゴミエリンの投与の場合とは作用の傾向が全く異なることが確認されている。すなわち、スフィンゴミエリンの投与の場合には、トランスグルタミナーゼ 1 およびインボルクリンの維持もしくは低下が実際に確認されており（本発明の実施例）、これは、グルコシルセラミドの投与の場合とは全く反対の結果である。

[0010] このように、スフィンゴミエリンを経口摂取することによって、ロリクリンの減少が抑制され、トランスグルタミナーゼ 3 が活性化され、それにより、角化肥厚膜の形成が促進されて、その構造が強化されることについては、本発明者らの知るかぎり、これまで知られていない。

発明の概要

[0011] 本発明者らは今般、スフィンゴ脂質、特にスフィンゴミエリンを経口摂取することによって、ロリクリンの減少が抑制され、トランスグルタミナーゼ 3 が活性化されることを予想外にも見出した。本発明者らは、ロリクリンの減少を抑制し、トランスグルタミナーゼ 3 を活性化することで、角化肥厚膜の形成が促進され、また未熟な状態の角化肥厚膜の構造が強化されることに着目した。さらに、これらによって、皮膚の悪化した状態が改善され、その中でも、紫外線の照射下における皮膚のバリア機能の低下を抑制できることも見出した。本発明は、これら知見に基づくものである。

[0012] よって、本発明は、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤、および皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ 3 の活性化剤の提供をその目的とする。また、本発明は、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤の提供をその目的とする。さらに本発明は、紫外線の照

射下などによる皮膚のバリア機能の低下を、安全かつ簡易で、経済的に予防、抑制または改善するための組成物、および飲食品の提供もその目的とする。

- [0013] すなわち、本発明によれば、以下の発明が提供される。
- [0014] <1> スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤。
- [0015] <2> スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化剤。
- [0016] <3> スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤。
- [0017] <4> 前記<1>の角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤において、角化肥厚膜の形成促進・構造強化が、スフィンゴミエリンによる皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善とトランスグルタミナーゼ3の活性化によるものであるのがよい。
- [0018] <5> 前記<1>～<4>のいずれかの減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤において、スフィンゴミエリンは、乳由来のスフィンゴミエリンであるのがよい。
- [0019] <6> 前記<1>または<5>のロリクリンの減少抑制・改善剤、前記<2>または<5>のトランスグルタミナーゼ3の活性化剤、または前記<3>～<5>のいずれかの角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤を含んでなる、経口摂取用または経腸投与用組成物。
- [0020] <7> 前記<6>の組成物において、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善のために用いられるのがよい。
- [0021] <8> 前記<7>の組成物において、皮膚の状態の悪化が、皮膚のバリア機能の低下であるのがよい。
- [0022] <9> 前記<7>または<8>の組成物において、皮膚のバリア機能の低下が、紫外線の照射によるものであるのがよい。
- [0023] <10> 前記<6>～<9>のいずれかの組成物において、1日当たり

0.5～1500mg摂取可能な量のスフィンゴミエリンを含むのがよい。

[0024] <11> 前記<1>または<5>のロリクリンの減少抑制・改善剤、前記<2>または<5>のトランスグルタミナーゼ3の活性化剤、または前記<3>～<5>のいずれかの角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤を含んでなる、飲食品。

[0025] <12> 前記<6>～<9>のいずれかの組成物を含んでなる、飲食品。

[0026] <13> 前記<11>または<12>の飲食品において、一包装形態当たり0.2～45000mg摂取可能な量のスフィンゴミエリンを含むのがよい。

[0027] <14> 前記<11>～<13>のいずれかの飲食品において、機能性食品、健康栄養食品、サプリメント、特定保健用食品、機能性表示食品または疾病リスク低減表示付き食品であるのがよい。

[0028] <15> スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの量が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、ロリクリンの減少抑制・改善方法。

[0029] <16> スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化方法。

[0030] <17> スフィンゴミエリンを、皮膚角層における角化肥厚膜の形成促進・構造強化が望まれる対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することによって、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制もしくは改善を行い、トランスグルタミナーゼ3を活性化することを含む、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化方法。

発明の効果

[0031] 本発明によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少を抑制・改善することができ、また皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナ

ーゼ3を活性化することができる。ロリクリンの減少を抑制し、トランスグルタミナーゼ3を活性化することで、角化肥厚膜の形成が促進され、また未熟な状態の角化肥厚膜の構造が強化されることとなる。特に、本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤、および組成物は、紫外線の照射下における皮膚のバリア機能の低下の予防、抑制または改善を効果的に行うことができる。さらに、本発明の産生促進剤および組成物は、経口または経腸ルートで摂取するものであり、また、原料は従来食品として使用経験のあるものを由来とするため、安全かつ簡易であり、経済性にも優れたものである。

図面の簡単な説明

[0032] [図1]実施例の試験の流れを示す概念図である。

[図2]実施例におけるロリクリン遺伝子の発現量の推移とトランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現量の推移を示したグラフである。このうち、図2(A)は、ロリクリン遺伝子の発現量の推移を示し、図2(B)は、トランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現量の推移を示す。また、図中、*は、対照群に対して有意差あり($P < 0.05$)を示し、#は、0日目に対して有意差あり($P < 0.05$)を示す。

[図3]実施例におけるトランスグルタミナーゼ1遺伝子の発現量の推移とインボルクリン遺伝子との発現量の推移を示したグラフである。このうち、図3(C)は、トランスグルタミナーゼ1遺伝子の発現量の推移を示し、図3(D)は、インボルクリン遺伝子の発現量の推移を示す。また、図中、*は、対照群に対して有意差あり($P < 0.05$)を示し、#は、0日目に対して有意差あり($P < 0.05$)を示す。

発明を実施するための形態

[0033] 以下、本発明の実施形態について説明する。

[0034] 皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤

本発明の皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤は、前記したように、スフィンゴミエリンを有効成分とするものである。

ここで、「有効成分とする」とは、本発明による減少抑制・改善剤が、ロリクリンの減少を抑制するか、または改善する作用を、生体内の皮膚角層角化肥厚膜において奏するのに十分な使用量（すなわち、有効量）のスフィンゴミエリンを含有することをいう。

[0035] また、ここで、「ロリクリンの減少抑制・改善」とは、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少を抑制するか、または改善することを意味し、減少の進行を抑えるか、または遅延させること、減少を停止させ維持すること、減少を抑え増加に転じさせることのいずれの意味を含んでいても良い。さらに、「ロリクリンの減少抑制・改善」には、減少の予防も包含されていてもよい。

[0036] 「ロリクリン」は、皮膚の角化肥厚膜の裏打ち構造の主要な構成タンパク質であり、例えば、後述する実施例に記載されているように、ロリクリン遺伝子の発現状態を指標にして、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少状態を評価することができる。

[0037] トランスグルタミナーゼ3の活性化剤

本発明の皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化剤は、前記したように、スフィンゴミエリンを有効成分とするものである。

ここで、「有効成分とする」とは、本発明による活性化剤が、トランスグルタミナーゼ3を活性化させる作用を、生体内の皮膚角層角化肥厚膜において奏するのに十分な使用量（すなわち、有効量）のスフィンゴミエリンを含有することをいう。

[0038] また、ここで、「トランスグルタミナーゼ3の活性化」とは、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の酵素活性が活性化され、活性が低下していた状態から活性が高められること、活性が高い状態を維持することを包含する意味で使用される。

[0039] 「トランスグルタミナーゼ3」は、角化肥厚膜にロリクリンを付着させ、角化肥厚膜の裏打ち構造を強化する働きを持つ酵素であり、例えば、後述する実施例に記載されているように、トランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現

状態を指標にして、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性を評価することができる。

[0040] 皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤

本発明の皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤は、前記したように、スフィンゴミエリンを有効成分とするものである。

ここで、「有効成分とする」とは、本発明による形成促進・構造強化剤が、皮膚角層角化肥厚膜の形成を促進し、および／または、その構造を強化する効果を示しうるのに十分な使用量（すなわち、有効量）のスフィンゴミエリンを含有することをいう。

[0041] また、ここで、「皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化」とは、皮膚角層角化肥厚膜の形成を促進すること、未成熟の角化肥厚膜を成熟化させること、角化肥厚膜の構造を強化することを含む意味で使用される。

[0042] 本発明の好ましい態様によれば、角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤において、角化肥厚膜の形成促進・構造強化は、スフィンゴミエリンによる皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善とトランスグルタミナーゼ3の活性化によるものである。

[0043] スフィンゴミエリン

本明細書において、スフィンゴミエリンは、スフィンゴ脂質の一つである。ここで、スフィンゴ脂質は、天然由来のものであり、例えば、牛乳、ヤギ乳、羊乳、馬乳などの乳由来のもの、卵黄由来のもの、米、トウモロコシ、穀物由来のもの、コンニャク由来、ビート由来などが挙げられ、好ましくは、乳由来のものであり、より好ましくは牛乳由来のものである。したがって、本発明において使用可能なスフィンゴミエリンは、前記したスフィンゴ脂質と同様に、天然由来のものであり、好ましくは乳由来のものであり、より好ましくは牛乳由来のものである。スフィンゴミエリンは、天然原料より慣用の方法によって調製することもできるが、市販品を使用しても良い。

[0044] 本発明の好ましい態様によれば、スフィンゴミエリンは、乳由来のスフィンゴミエリンである。

[0045] 本発明で使用可能な乳由来のスフィンゴミエリンは、好ましくは、ミリスチルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C14:0)、トリコサニルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C23:0)、パルミチルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C16:0)、トリコセノイルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C23:1)、ステアシルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C18:0)、リグノセリルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C24:0)、アラキシルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C20:0)、ネルボンシルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C24:1)、ベヘニルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C22:0)、およびセロチルスフィンゴシルホスホリルコリン (d18:1-C26:0) からなる群より選択される 1 以上の分子種を含むものである。前記乳由来のスフィンゴミエリンは、より好ましくは、前記した群から選択される 3 以上の分子種を含むものであり、さらにより好ましくは、前記した群から選択される 5 以上の分子種を含むものである。

[0046] 本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤は、好ましくは、経口摂取用（すなわち、経口摂取剤）または経腸投与用（すなわち、経腸投与剤）である。

[0047] 本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤は、好ましくは、状態の悪化した皮膚、バリア機能が低下した皮膚に用いられる。

[0048] 後述する実施例で示されているように、本発明によれば、皮膚の角化肥厚膜のロリクリンが減少したような皮膚バリア機能の低下状態において、ロリクリンの減少抑制・改善することによって、皮膚バリア機能を保つか、または改善することができる。同様に、後述する実施例で示されているように、本発明によれば、皮膚の角化肥厚膜のトランスグルタミナーゼ 3 の活性が低下したような皮膚バリア機能の低下状態において、トランスグルタミナーゼ 3 を活性化することによって、皮膚バリア機能を保つか、または改善することができる。さらに、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善とトランスグルタミナーゼ 3 の活性化により、角化肥厚膜の形成が促進・構造が強化され、それにより、状態の悪化した皮膚、バリア機能が低下し

た皮膚を改善することができる。

[0049] このため、本発明による減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤は、より好ましくは、状態の悪化した皮膚、バリア機能が低下した皮膚に用いられる。

[0050] 用途

本発明における有効成分であるスフィンゴミエリンは、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少を抑制・改善することができ、また、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3を活性化することができる（後述する実施例）。これにより、角化肥厚膜の形成を促進し、また、未熟な状態の角化肥厚膜の構造を強化することができる。さらに、本発明における有効成分であるスフィンゴミエリンは、皮膚の状態の悪化の予防、抑制もしくは改善効果を有する。

[0051] ここで、皮膚の状態の悪化とは、例えば、皮膚のバリア機能の低下、皮膚の乾燥、皮膚のかさつき、角層の水分量の低下、アトピー性皮膚炎などが包含される。皮膚のバリア機能の低下には、バリア機能の維持も包含される。また、皮膚のバリア機能の低下は、好ましくは、紫外線の照射下における皮膚のバリア機能の低下である。

[0052] また、ここで、悪化した状態の「予防、抑制または改善」は、そのような状態の、調節、進行の遅延、緩和、発症予防、再発予防などを包含する意味で使用される。

[0053] 本発明の別の態様によれば、ロリクリンの減少を抑制・改善、またはトランスグルタミナーゼ3の活性化により、治療、予防または改善しうる状態の治療、予防または改善を図ることができる。

[0054] 本発明の好ましい別の一つの態様によれば、スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの量が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善方法が提供される。

[0055] また 本発明の好ましい別の一つの態様によれば、スフィンゴミエリンを

、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善方法が提供される。

[0056] 本発明の好ましいさらに別の一つの態様によれば、スフィンゴミエリンを、皮膚角層における角化肥厚膜の形成促進・構造強化が望まれる対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することによって、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制もしくは改善を行い、トランスグルタミナーゼ3を活性化して、皮膚角層における角化肥厚膜の形成促進・構造強化することを含む、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善方法が提供される。

[0057] 本発明の別の態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制または改善をするための、スフィンゴミエリンが提供される。

[0058] 本発明の別の態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3を活性化するための、スフィンゴミエリンが提供される。

[0059] 本発明の別の態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜の形成を促進するか、および／またはその構造を強化するための、スフィンゴミエリンが提供される。

[0060] 本発明の好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善のための、スフィンゴミエリンの使用が提供される。また本発明のさらに好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善のための経口摂取用または経腸投与用組成物の製造における、スフィンゴミエリンの使用が提供される。ここで、前記の使用は、非治療的使用であることができる。

[0061] 本発明の好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化のための、スフィンゴミエリンの使用が提供される。また本発明のさらに好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化のための経口摂取用または経腸投与用組成物の製造における、スフィンゴミエリンの使用が提供される。ここで、前記の使用は、非治療的使用であることができる。

[0062] 本発明の好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜の形成を促進するか、および／またはその構造を強化するための、スフィンゴミエリンの使用が提供される。また本発明のさらに好ましい別の一つの態様によれば、皮膚角層角化肥厚膜の形成を促進するか、および／またはその構造を強化するための経口摂取用または経腸投与用組成物医薬の製造における、スフィンゴミエリンの使用が提供される。ここで、前記の使用は、非治療的使用であることができる。

[0063] 組成物および飲食品

前記したように、本発明によれば、本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤を含んでなる、経口摂取用または経腸投与用組成物が提供される。また、本発明によれば、本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤を含んでなる、飲食品が提供される。

[0064] このような組成物および飲食品は、例えば、本発明による本発明の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤を、組成物および飲食品の材料成分に添加することを含んでなる製造方法によって製造することができる。

[0065] 本発明の経口摂取用または経腸投与用組成物は、好ましくは、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善のために用いられる。すなわち、本発明によれば、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善用組成物が提供される。

[0066] 本発明の皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善用組成物は、一つの好ましい態様としては、医薬組成物である。

[0067] 本発明において、医薬組成物とは、製剤化のために許容されうる添加剤を併用して、常法に従い、経口製剤または非経口製剤として調製したものである。簡易性の点からは、経口製剤であることが好ましい。経口製剤の場合には、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、徐放剤などの固形製剤、溶液、懸濁液、乳濁液などの液状製剤の形態をとることができる。製剤化のために許容されうる添加剤としては、例えば、賦形剤、安定剤、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、滑沢剤、甘味料、着色料、香料、緩衝剤、酸化防止剤、

pH調整剤などが挙げられる。

[0068] 本発明の飲食品には、必要に応じて、任意の成分を加えることができる。このような任意の添加可能な成分としては、特段の制限はないが、通常、飲食品に配合される成分、甘味料、酸味料、野菜や果物や種実の汁やそのエキス、ビタミン、ミネラル、アミノ酸などの栄養素、乳酸菌、ビフィズス菌、プロピオン酸菌などの有用な微生物やその培養物、オリゴ糖などの機能性をもつ糖類、ローヤルゼリー、コラーゲン、セラミド、グルコサミン、アスタキサンチン、ポリフェノールなどの既存の機能性素材、香料、pH調整剤、賦形剤、酸味料、着色料、乳化剤、保存料などを配合することができる。

[0069] 本発明において、飲食品とは、医薬組成物以外のものであって、溶液、懸濁液、乳濁液、粉末、固体成形物など、経口摂取可能な形態であればよく特に限定されない。具体的には、例えば、乳飲料、ヨーグルト類、乳酸菌飲料、発酵乳、アイスクリーム類、クリーム類、チーズ類などの乳製品；清涼飲料、果汁飲料、野菜飲料、豆乳飲料、コーヒー飲料、茶飲料、ゼリー飲料、ココア、スムージーなどの粉末飲料やスポーツ粉末飲料、栄養強化の粉末飲料、美容用の粉末食品、粉末スープ、蒸しパンのもと、濃縮飲料、アルコール飲料などの飲料類；パン、パスタ、麺、ケーキミックス、唐揚げ粉、パン粉などの小麦粉製品；チョコレート、ガム、飴、クッキー、グミ、スナック、和菓子、ゼリー、プリンなどのデザート菓子などの菓子類；加工調味料、風味調味料、調理ミックスなどの調味料；カレー、バスタソース、ポトフ、シチュー、和風食品のレトルト食品；加工油脂、バター、マーガリン、スプレッド、マヨネーズなどの油脂類；フリーズドライ食品などの即席食品類；農産缶詰、ジャム・マーマレード類、漬け物、煮豆、シリアル、雑炊などの農産加工品；水産加工品；畜産加工品；ピッツア、ドリア、グラタン、惣菜、フライなど冷凍食品；流動食、さらには動物の飼料、タブレット、口腔内に使用する化粧品などが挙げられる。

[0070] 本発明の一つの好ましい態様によれば、飲食品は、乳飲料（加工乳を含んでもよい）、発酵乳、清涼飲料、ゼリー飲料、タブレット、美容用の粉末食

品、粉末飲料、流動食、液状の調製粉乳であり、より好ましい態様によれば、飲食品は、乳飲料、発酵乳、清涼飲料、ゼリー飲料、タブレット、美容用の粉末食品であり、さらに好ましい態様によれば、飲食品は、乳飲料（加工乳を含んでもよい）、発酵乳である。

[0071] また、飲食品には、機能性食品、健康栄養食品、サプリメント、健康食品、特定保健用食品、機能性表示食品、栄養機能食品、病者用食品、乳幼児用調製粉乳、妊産婦もしくは授乳婦用粉乳、または疾病リスク低減表示を付した飲食品のような分類のものも包含される。本発明の一つの好ましい態様によれば、飲食品は、機能性食品、健康栄養食品、サプリメント、特定保健用食品、機能性表示食品、または疾病リスク低減表示付き食品である。

[0072] なお、ここで、疾病リスク低減の表示とは、疾病リスクを低減する可能性のある飲食品の表示であって、F A O / W H O 合同食品規格委員会（コーデックス委員会）の定める規格に基づいて、またはその規格を参考にして、定められた表示または認められた表示であることができる。

[0073] よって、本発明の飲食品は、例えば、皮膚状態の悪化の改善または緩和を期待する消費者に適した食品、皮膚の状態悪化の改善に適した食品、すなわち、所謂、特定保健用食品もしくは機能性表示食品として提供することができる。

[0074] 本発明の別の態様によれば、皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善をする機能が表示された飲食品が提供されうる。

[0075] 飲食品および組成物における有効成分の含有量は、組成物の種類、形態や、予防・改善の目的などによって変化させることができるため、一律に規定することは難しいが、本発明の組成物では、成人（体重：60kg）が1日当たり、スフィンゴミエリンを、0.5～1500mg、好ましくは1～1000mg、より好ましくは5～500mgで摂取可能な有効量に調整されたものであることができる。

[0076] スフィンゴミエリンの含量は、慣用の方法により測定することができるが、例えば、液体クロマトグラフィーを用い、カラムとして、AQUASIL

S P 1 0 0 (4 . 6 X 2 5 0 m m 、 センシュー科学社) を用いて測定することができる。

[0077] このとき、移動相として、例えば、0.5 mMリン酸－クエン酸緩衝液 (pH 3.0) とメタノールを5対95の割合で混合させた溶液を用いるとよい。測定時間を20分間に設定し、移動相の流速を0.6 mL / 分、カラム温度を40℃に設定し、吸光度を205 nmとして検出することができる。標準物質として、例えば、スフィンゴミエリン (乳由来、長良サイエンス社製) を用いることができ、面積比により定量することができる。

[0078] 本発明の別の態様では、飲食品および組成物における有効成分の含量は、一包装形態当たりで規定することもでき、例えば、飲食品の場合、スフィンゴミエリンの含量は5～1500 mg、好ましくは6～1000 mg、より好ましくは7～500 mgで含むものであり、また、組成物の場合、スフィンゴミエリンの含有量は0.5～1500 mg、好ましくは1～1000 mg、より好ましくは5～500 mgで含むものであることができる。また、一包装形態当たりの量 (含量) は、1回の摂取量に限らず、複数回分または複数日分 (例えば、30日分) の摂取量を包括してもよく、例えば、飲食品の場合、スフィンゴミエリンの含量は5～45000 mg、好ましくは6～30000 mg、より好ましくは7～15000 mgで含むものであり、また、組成物の場合、スフィンゴミエリンの含量は0.5～45000 mg、好ましくは1～30000 mg、より好ましくは5～15000 mgで含むものであることができる。

[0079] 従来一般的な乳飲料、発酵乳では、脂質の1 g当たり、リン脂質が20 mgで含まれるが、本発明の乳飲料、発酵乳では、脂質の1 g当たり、リン脂質が25～3000 mgで含まれ、好ましくは30～2500 mg、より好ましくは40～2000 mg、さらに好ましくは、50～1500 mgで含まれるものであることができる。また、従来一般的な乳飲料、発酵乳では、脂質の1 g当たり、スフィンゴミエリンが6 mgで含まれるが、本発明の乳飲料、発酵乳では、脂質の1 g当たり、スフィンゴミエリンが7～15

00mgで含まれ、好ましくは8～1250mg、より好ましくは9～1000mg、さらに好ましくは、10～750mgで含まれるものであることができる。

[0080] すなわち、本発明の一つの好ましい態様において、スフィンゴミエリン含量が意図的に高められた乳飲料や発酵乳を使用することができる。

[0081] 本発明の乳飲料、発酵乳では、脂質を通常量で含む（例えば、脂質を3重量%で含む）、スフィンゴミエリンが0.2～60mg/gで含まれ、好ましくは0.25～50mg/g、より好ましくは0.3～40mg/g、さらに好ましくは、0.35～30mg/gで含まれるものであることができる。

[0082] 一方、本発明の乳飲料、発酵乳では、脂質を少量で含む（例えば、脂質を1重量%で含む低脂肪の）場合、スフィンゴミエリンが0.05～60mg/gで含まれ、好ましくは0.1～50mg/g、より好ましくは0.15～40mg/g、さらに好ましくは、0.2～30mg/gで含まれるものであることができる。

[0083] そして、本発明の乳飲料、発酵乳、清涼飲料、ゼリー飲料、タブレット、美容用の粉末食品では、脂質を殆ど含まない（無脂肪の）場合、スフィンゴミエリンが0.02～60mg/gで含まれ、好ましくは0.04～50mg/g、より好ましくは0.06～40mg/g、さらに好ましくは、0.08～30mg/gで含まれるものであることができる。

[0084] 従って、本発明の一つのさらに好ましい態様によれば、追加的なスフィンゴミエリンを含む、乳飲料や発酵乳が提供され、さらに、このような乳飲料や発酵乳を含む組成物もしくは飲食品が提供される。このような組成物もしくは飲食品としては、例えば、ヨーグルトが挙げられる。

[0085] 例えば、ヨーグルトの場合、追加的なスフィンゴミエリンを含むヨーグルトが提供されることができ、これは、ヨーグルトに本来的に含まれるスフィンゴミエリンのみではなく、ヨーグルトに対してスフィンゴミエリンを別途加えて、意図的にスフィンゴミエリンの濃度を高めたヨーグルトを意味す

る。このとき、ここでいう「追加的なスフィンゴミエリン」とは、ヨーグルトに本来的に含まれうるスフィンゴミエリンではなく、意図的にスフィンゴミエリンの濃度を高めたヨーグルトを作る際に加えられる、別途加えるスフィンゴミエリンをいう。

[0086] よって、本発明の別の好ましい態様によれば、本発明によるロリクリンの減少抑制・改善剤、本発明によるトランスグルタミナーゼ3の活性化剤、または本発明による角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤を含んでなる、ヨーグルトが提供される。

[0087] また本発明の別の一つの好ましい態様によれば、追加的なスフィンゴミエリンを含む、ロリクリンの減少抑制・改善作用を有するヨーグルトが提供される。

本発明の別の一つの好ましい態様によれば、追加的なスフィンゴミエリンを含む、トランスグルタミナーゼ3の活性化作用を有するヨーグルトが提供される。

本発明の別の一つの好ましい態様によれば、追加的なスフィンゴミエリンを含む、角化肥厚膜の形成促進・構造強化作用を有するヨーグルトが提供される。

[0088] 本発明の別の態様によれば、スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの量が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、ロリクリンの減少抑制・改善方法が提供される。

ここで、ロリクリンの量とは、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの存在量を意味し、例えば、ロリクリン遺伝子の発現量で評価することができる。

[0089] 本発明の別の態様によれば、スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化方法が提供される。

ここで、トランスグルタミナーゼ3の活性は、例えば、トランスグルタミ

ナーゼ3遺伝子の発現量で評価することができる。

[0090] 本発明の別の態様によれば、スフィンゴミエリンを、皮膚角層における角化肥厚膜の形成促進・構造強化が望まれる対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することによって、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制および改善を行い、トランスグルタミナーゼ3を活性化することを含む、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化方法が提供される。

[0091] なお、ここで、好ましくは、前記方法は、医療用途を除いたものである。また、前記の対象とは、好ましくは、ヒト、またはヒト以外の哺乳類である。

[0092] そして、前記方法は、好ましくはスフィンゴミエリンを2日以上で継続して経口摂取させるか、または経腸投与する、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの量が低下した対象のためのロリクリンの減少抑制・改善方法、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性が低下した対象のための皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化方法、または皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化方法であることができる。

実施例

[0093] 以下において、本発明を下記の実施例によって詳細に説明するが、本発明は、これらに限定されるものではない。

[0094] 試験： 紫外線の照射下における皮膚のバリア機能の悪化におけるスフィンゴミエリンの影響

ヘアレスマウスに、紫外線（GL20SE、三共電気株式会社製）を照射して、皮膚のバリア機能を悪化させ、スフィンゴミエリンの連続経口摂取の影響を評価した。

[0095] <実験方法>

（1）紫外線の照射による皮膚のバリア機能の悪化

ヘアレスマウス（Hos：HR-1、雌、8週齢）を群分けしてから、1週間後に、20mJ/cm²の条件で、紫外線（UV-B）を照射した。

試験では、各測定と皮膚の採取に個体が必要となるため、合計で48匹のマウスを用い、各群のマウスを8匹ずつとし、群わけした。

[0096] (2) 群構成および試験手順

前記(1)で作成した紫外線照射モデル動物の試験系を用いて、スフィンゴミエリン(純度98%、長良サイエンス社製)の経口摂取(経口投与)による皮膚の遺伝子発現への影響を評価した。

[0097] 試験に供した各群は、下記のような条件とした。

群分けの日から9日間で経口投与した。

- (i) 対照0日目群
- (ii) 対照1日目群
- (iii) 対照2日目群
- (iv) スフィンゴミエリン摂取0日目群
- (v) スフィンゴミエリン摂取1日目群
- (vi) スフィンゴミエリン摂取2日目群

[0098] 対照0、1、2日目群では、通常飼料を摂取し、溶媒(エタノールの5%水溶液)を10mL/kg-BW/dayで経口投与した。また、スフィンゴミエリン摂取0、1、2日目群では、スフィンゴミエリン(純度:98%、長良サイエンス社):146mg/10mL-溶媒(エタノール5%水溶液)を10mL/kg-BW/dayで経口投与した。

[0099] 試験は、具体的には、図1の流れに沿って、照射前(0日目)、照射1日目、および照射2日目に、所定の群について、ロリクリン遺伝子とトランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現量を定量した。このとき、トランスグルタミナーゼ1遺伝子とインボルクリン遺伝子の発現量も定量した。

[0100] (ロリクリン、トランスグルタミナーゼ3、トランスグルタミナーゼ1およびインボルクリンの各遺伝子の発現量の定量法)

各個体から採取した皮膚サンプルよりRNeasy Fibrous Tissue Mini kit (QIAGEN社)を用いて総RNAの抽出を行い、皮膚から抽出した1.5μg当量の総RNAから、RivertAi

d First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo SCIENTIFIC社) を用いて、相補的DNA (cDNA) 合成と逆転写反応を行った。

[0101] 合成したcDNAは、RT-PCR法により、プライマーはTaqman Gene Expression Assay (Applied Biosystems社) を用いて、7500リアルタイムPCR System (Applied Biosystems社製) により、各サンプルのターゲット遺伝子であるロリクリン (Loricrin) (Assay ID: Mm01962650__s1)、トランスグルタミナーゼ3 (Transglutaminase 3) (Assay ID: Mm00436999__m1)、トランスグルタミナーゼ1 (Transglutaminase 1) (Assay ID: Mm00498375__m1)、および、インボルクリン (Involucrin) (Mm00515219__s1) のmRNA発現量の測定を行った。

[0102] 同時に、内部標準として、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)) (Assay ID: Mm99999915__g1) のmRNA発現量の測定をした。

[0103] 定量化は $\Delta\Delta C_t$ 法にて行い、各群の皮膚サンプルのターゲット遺伝子発現量を対照0日目群のターゲット遺伝子発現量に対する、各群のターゲット遺伝子発現量の比率を相対発現量として算出した。

[0104] 具体的には、下記のような計算式を使用して、相対発現量を算出した。

$$\Delta C_t = (\text{各個体サンプルのターゲット遺伝子の } C_t \text{ 値}) - (\text{各個体サンプルの GAPDH 遺伝子の } C_t \text{ 値})$$
$$\Delta\Delta C_t = (\text{各個体サンプルのターゲット遺伝子の } \Delta C_t \text{ 値}) - (\text{対照0日目群の } \Delta C_t \text{ 平均値})$$

$$\text{遺伝子発現量} = 2 - \Delta \Delta C_t$$

$$\text{相対発現量} = (\text{各個体サンプルのターゲット遺伝子の } 2 - \Delta \Delta C_t) / (\text{対照0日目群の } 2 - \Delta \Delta C_t \text{ 平均値})$$

[0105] (3) 試験結果

ロリクリン遺伝子とトランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現量により、角化肥厚膜の形成の促進や構造の強化に関連した遺伝子の発現の変化を評価した。

[0106] ここで対照0、1、2日目群に比べて、スフィンゴミエリン摂取0、1、2日目群において、ロリクリン遺伝子の発現量が高値であれば、ロリクリンの発現の低下が抑制されたことを意味する。また、対照0、1、2日目群に比べて、スフィンゴミエリン摂取0、1、2日目群において、トランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現量が高値であれば、トランスグルタミナーゼ3遺伝子の発現の上昇が促進されたことを意味する。

[0107] 一方、トランスグルタミナーゼ1遺伝子の発現量は、対照0、1、2日目群に比べて、スフィンゴミエリン摂取0、1、2日目群において、トランスグルタミナーゼ1遺伝子の発現量が低値であれば、トランスグルタミナーゼ1遺伝子の発現の上昇が抑制されたことを意味する。また、対照0、1、2日目群に比べて、スフィンゴミエリン摂取0、1、2日目群において、インボルクリン遺伝子の発現量が低値であれば、インボルクリン遺伝子の発現の上昇が抑制されたことを意味する。

[0108] 結果は、図2および3に示されたとおりであった。

[0109] 図2(A)から分かるとおり、対照1日目群（紫外線の照射1日後）に比べて、スフィンゴミエリン摂取1日目群において、ロリクリン遺伝子の発現量は高値であった。

図2(B)から分かるとおり、対照1日目群（紫外線の照射1日後）と

対照 2 日目群（紫外線の照射 2 日後）に比べて、スフィンゴミエリン群摂取 1 日目群と スフィンゴミエリン群摂取 2 日目群において、トランスグルタミナーゼ 3 遺伝子の発現量は高値であった。

[0110] 図 3（A）から分かるとおり、対照 1・2・3 日目群（control 群）（紫外線の照射 1・2・3 日後）に比べて、スフィンゴミエリン摂取 1・2・3 日目群において、それぞれトランスグルタミナーゼ 1 遺伝子の発現量は低値であった。

図 3（B）から分かるとおり、対照 1・2・3 日目群（SM 群）（紫外線の照射 1・2・3 日後）に比べて、スフィンゴミエリン摂取 1・2・3 日目群において、それぞれインボルクリン遺伝子の発現量は低値であった。

[0111] これらの結果から、スフィンゴミエリンを経口摂取することにより、紫外線照射によるロリクリン遺伝子の発現の低下が抑制されると共に、トランスグルタミナーゼ 3 遺伝子の発現の上昇が促進され、角化肥厚膜の形成の促進や構造の強化がなされることが示唆された。

[0112] また、スフィンゴミエリンを経口摂取することにより、トランスグルタミナーゼ 1 遺伝子やインボルクリン遺伝子の発現の上昇は促進されなかったことから、スフィンゴミエリンの経口摂取が、角化肥厚膜の形成の促進や構造の強化に関連した特異的な遺伝子（ここではロリクリン遺伝子やトランスグルタミナーゼ 3 遺伝子）の発現促進に特異的に寄与することが示唆された。

請求の範囲

- [請求項1] スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善剤。
- [請求項2] スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ3の活性化剤。
- [請求項3] スフィンゴミエリンを有効成分とする、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤。
- [請求項4] 角化肥厚膜の形成促進・構造強化が、スフィンゴミエリンによる皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制・改善とトランスグルタミナーゼ3の活性化によるものである、請求項3に記載の角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤。
- [請求項5] スフィンゴミエリンが、乳由来のスフィンゴミエリンである、請求項1～4のいずれか一項に記載の減少抑制・改善剤、活性化剤または形成促進・構造強化剤。
- [請求項6] 請求項1または5に記載のロリクリンの減少抑制・改善剤、請求項2または5に記載のトランスグルタミナーゼ3の活性化剤、または請求項3～5のいずれか一項に記載の角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤を含んでなる、経口摂取用または経腸投与用組成物。
- [請求項7] 皮膚の状態の悪化の予防、抑制または改善のために用いられる、請求項6に記載の組成物。
- [請求項8] 皮膚の状態の悪化が、皮膚のバリア機能の低下である、請求項7に記載の組成物。
- [請求項9] 皮膚のバリア機能の低下が、紫外線の照射によるものである、請求項7または8に記載の組成物。
- [請求項10] 1日当たり0.5～1500mg摂取可能な量のスフィンゴミエリンを含む、請求項6～9のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項11] 請求項1または5に記載のロリクリンの減少抑制・改善剤、請求項2または5に記載のトランスグルタミナーゼ3の活性化剤、または請

求項 3～5 のいずれか一項に記載の角化肥厚膜の形成促進・構造強化剤を含んでなる、飲食品。

[請求項12] 請求項 6～9 のいずれか一項に記載の組成物を含んでなる、飲食品。

[請求項13] 一包装形態当たり 0.2～45000mg 摂取可能な量のスフィンゴミエリンを含む、請求項 11 または 12 に記載の飲食品。

[請求項14] 機能性食品、健康栄養食品、サプリメント、特定保健用食品、機能性表示食品または疾病リスク低減表示付き食品である、請求項 11～13 のいずれか一項に記載の飲食品。

[請求項15] スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの量が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、ロリクリンの減少抑制・改善方法。

[請求項16] スフィンゴミエリンを、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ 3 の活性が低下した対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することを含む、皮膚角層角化肥厚膜におけるトランスグルタミナーゼ 3 の活性化方法。

[請求項17] スフィンゴミエリンを、皮膚角層における角化肥厚膜の形成促進・構造強化が望まれる対象に、経口摂取させるか、または経腸投与することによって、皮膚角層角化肥厚膜におけるロリクリンの減少抑制もしくは改善を行い、トランスグルタミナーゼ 3 を活性化することを含む、皮膚角層角化肥厚膜の形成促進・構造強化方法。