明　細　書

発明の名称 ： ペントシジン生成阻害剤

技術分野

[0001] 本発明は、乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤に関する。

背景技術

[0002] ペントシジンは、リジン残基とアルギニン残基が五炭糖により架橋された構造を有する終末糖化産物（Advanced Glycation End products：AGEs）である。

[0003] このペントシジンは、ヒト硬膜や皮膚コラーゲンに蓄積される。また、ペントシジンは、リウマチや、重症のアトピー性皮膚炎の患者でも高値で検出されることがあり、これらの疾患との関連も示唆されている。

[0004] そのため、ペントシジンの生成を阻害することにより、ペントシジンが関連する疾患の予防や治療を行うことができる。

[0005] しかしながら、これまでペントシジンの生成を阻害する作用を有する成分としてはエダラボン（特許文献１）等が知られているものの、効果や安全性等が十分に満足の行くものではなかった。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開２００４－３００１５３号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 従って、本発明はペントシジンの生成を阻害する作用を有する成分として、より強い作用を有し、安全性が高いものを提供することをその課題とした。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究した結果、乳酸菌発酵

物が意外にもペントシジンの生成を阻害する作用を有することを見出した。また、本発明者らは、乳酸菌発酵物の中でも乳成分やアロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させて得られる乳酸菌発酵物を有効成分とした場合にペントシジンの生成を阻害する作用が高いことを見出し、本発明を完成させた。

[0009] すなわち、本発明は、乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤である。

[0010] また、本発明は、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させて得られる乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤である。

[0011] 更に、本発明は、アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させて得られる乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤である。

[0012] また更に、本発明は、上記乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤をヒトに投与することを特徴とするヒトにおけるペントシジン生成の阻害方法である。

発明の効果

[0013] 本発明のペントシジン生成阻害剤は、低濃度でも作用が強く、しかも、天然物由来のため安全性が高いものであり、ペントシジンが関連する疾患の予防、治療を行うことができる。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明のペントシジン生成阻害剤（以下、「本発明阻害剤」という）は、乳酸菌発酵物を有効成分とするものである。本明細書において、乳酸菌発酵物は乳酸菌で発酵可能な原料を、乳酸菌で発酵させて得られるものをいう。また、乳酸菌発酵物は乳酸菌を含有していても、していなくてもよく、乳酸菌の培養物からろ過等により乳酸菌を除去した上清等も包含する。

[0015] また、本明細書において、ペントシジン生成阻害とは、生成するペントシジンの量を減少させることをいい、ペントシジン生成阻害率とは、論文（D. R. Sell and V. M. Monnier, J. Biol. Chem 264, 21597-21602, (1989)）に記載の方法に準じてリボース、リジン塩酸塩、アルギニン塩酸塩を等量で混合した基質溶液において、被験物質の存在下または非存在下で生成するペン

トシジンの量を測定、比較することにより算出する値である。より具体的には、リボース、リジン塩酸塩、アルギニン塩酸塩を等量で混合した基質溶液に被験物質を混合し６０℃で２４時間反応させた後、３３０ｎｍの励起光を照射して生じる３９０ｎｍの蛍光強度を測定し、実施例に記載の数１の式から算出される値である。

[0016] 乳酸菌発酵物の原料としては、乳酸菌で発酵可能なものであれば特に限定されず、例えば、アロエ、豆乳等の植物由来の原料や、牛乳、人乳、山羊乳等の獣乳、クリーム、脱脂粉乳等の動物由来の原料を含有する培地、ＭＲＳ（Man, Rogosa and Sharpe）培地やＭ－１７培地等の乳酸菌用培地等が挙げられる。これらの原料の中でも牛乳、人乳、山羊乳等の獣乳、クリーム、脱脂粉乳等の乳成分を含有する培地、またはアロエを含有する培地を使用することが特に好ましい。また、これらの原料としては、ろ過や遠心分離処理、溶媒による溶解や希釈処理、ミキサー等による粉砕処理、アミラーゼ、セルラーゼ、ペクチナーゼ、プロテアーゼ等による酵素処理、溶媒による抽出処理を行ってもよい。

[0017] また、発酵に用いられる乳酸菌も特に限定されず、例えば、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・クリスパータス、ラクトバチルス・プランタラム、ラクトバチルス・アミロボラス、ラクトバチルス・ブレビス、ラクトバチルス・ブフネリ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ラクトバチルス・マリ、ラクトバチルス・パラブフネリ、ラクトバチルス・パラカゼイ、ラクトバチルス・ペントサス、ラクトバチルス・ラムノサス、ラクトバチルス・ビチュリヌス、ラクトバチルス・ゼアエ等のラクトバチルス属、ラクトコッカス・ラクティス等のラクトコッカス属、ロイコノストック・メセンテロイデス、ロイコノストック・カルノサム、ロイコノストック・シトレウム、ロイコノストック・ゲリダム、ロイコノストック・ラクティス等のロイコノストック属、ペディオコッカス・ペントサセウス等のペディオコッカス属、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム等のエンテロコッカス属、ワイセラ・コンフューサ、ワイセラ・パラメセンテロイデス、

ワイセラ・ビリデスセンス等のワイセラ属、ストレプトコッカス・サーモフィルス等のストレプトコッカス属等の乳酸菌が挙げられる。これらの乳酸菌は１種または２種以上を用いてもよい。

[0018] 上記した原料を含有する培地を乳酸菌で発酵させる条件も特に限定されず、例えば、前記培地に対して乳酸菌を０．０１～１０質量％、好ましくは０．１～５質量％接種し、これを２０～４５℃、好ましくは２５～４２℃で１～９６時間、好ましくは３～９６時間培養すればよい。

[0019] 更に、上記発酵の際には、培地に、例えば、酵母エキス、クロレラエキス、ビタミン類、タンパク分解物、アミノ酸類、ミネラル類、塩類、界面活性剤、脂肪酸、金属類等を添加してもよい。

[0020] 上記のようにして得られる乳酸菌発酵物については、そのまま本発明阻害剤として用いることもできるが、更に、公知のろ過、透析、沈殿、遠心分離等の精製、分離処理や、更に、溶媒等による抽出処理、加熱処理をしたものを用いてもよい。また、凍結乾燥や濃縮乾固を施すこともできる。

[0021] 斯くして得られる乳酸菌発酵物は、ペントシジン生成阻害活性が高く、乳酸菌発酵物の濃度が乾燥固形分として０．０５質量％の時、ペントシジン生成阻害率が２５％以上、好ましくは２６～６０％である。

[0022] 本発明で用いられる乳酸菌発酵物の好ましい態様としては、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたもの、またはアロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものが挙げられる。なお、ここでいうアロエとは、アロエ自体だけではなくアロエ由来成分も包含する。乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものの中でも、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清が好ましく、特に、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の低分子画分、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の高分子画分が好ましい。また、アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものは、特にアロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清が好ましい。

[0023] 以下、本発明で用いられる乳酸菌発酵物の好ましい態様である、乳成分を

含有する培地を乳酸菌で発酵させたもの、およびアロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものについて説明する。

[0024] 乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたもの（以下、「乳酸菌発酵物（乳成分）」ということがある）に用いられる乳酸菌としては、例えば、ストレプトコッカス・サーモフィルス等のストレプトコッカス属、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・プランタラム等のラクトバチルス属等の乳酸菌が好ましい。これらの乳酸菌の中でもストレプトコッカス属の乳酸菌が好ましく、ストレプトコッカス・サーモフィルスがより好ましい。また、その中でもストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８４株（ＦＥＲＭ ＢＰ－１０８７９、寄託日：２００６年８月１８日）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８５株（ＦＥＲＭ ＢＰ－１０８８０、寄託日：２００６年８月１８日）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０２１株（ＦＥＲＭ ＢＰ－７５３７、寄託日：平成８年（１９９６年）１１月１日）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０５９株（ＦＥＲＭ ＢＰ－１０８７８、寄託日：２００６年８月１８日）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２００１株（ＦＥＲＭ ＢＰ－７５３８、寄託日：平成１３年（２００１年）１月３１日）等が好ましく、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８４株（ＦＥＲＭ ＢＰ－１０８７９、寄託日：２００６年８月１８日）が特に好ましい。なお、これらの乳酸菌は１種または２種以上を用いてもよい。また、上記寄託番号の乳酸菌株は、独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（日本国 茨城県つくば市東１丁目１番地１ 中央第６（郵便番号３０５－８５６６））に寄託されていたが、平成２５年４月１日より独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター（日本国 千葉県木更津市かずさ鎌足２丁目５番地８１２０号室（郵便番号２９２－０８１８））に承継されている。

[0025] 乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させるには、公知の培養条件に従えばよく、例えば、乳成分が１～２０質量％となるように水で調整したものを培地とし、これに乳酸菌を０．０１質量％～１０質量％、好ましくは０．１質

量％～５質量％で接種し、２０℃～４５℃、好ましくは３７℃～４２℃で、１時間～４８時間、好ましくは４時間～３０時間培養すればよい。なお、この時の他の培養条件としては、静置、攪拌、振盪、通気等が挙げられ、これらから培養に適した方法を適宜選択して行えばよい。

[0026] また、乳成分を含有する培地には乳酸菌の培養において栄養源を補う目的で、一般的に用いられる成分を別途配合してもよい。このような成分としては、酵母エキス、クロレラエキス、ビタミンＡ、ビタミンＢ類、ビタミンＣ、ビタミンＥ等のビタミン類や、各種ペプチド類を含むタンパク分解物、アミノ酸類、カルシウム、マグネシウム等の塩類、ポリソルベート８０等の界面活性剤、オレイン酸等の脂肪酸、カルシウム、マグネシウム、マンガン等の金属類が挙げられる。

[0027] 斯くして得られる乳酸菌発酵物（乳成分）は、公知のろ過、透析、沈殿、遠心分離等の精製、分離処理や、更に、溶媒等による抽出処理、加熱処理、凍結乾燥や濃縮乾固を施すこともできる。

[0028] 本発明阻害剤は、乳酸菌発酵物（乳成分）のなかでも、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清が好ましく、特に、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の低分子画分、または乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の高分子画分が好ましい。

[0029] 乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清（以下、「乳酸菌発酵物（乳成分）上清」ということがある）は、上記のようにして得られる乳酸菌発酵物（乳成分）から遠心分離、ろ過等の常法に従って固形物を除去することにより製造することができる。

[0030] また、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の低分子画分（以下、「乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分」ということがある）は、上記乳酸菌発酵物（乳成分）上清の分子量２０，０００Ｄａ以下の画分をさす。分子量２０，０００Ｄａ以下の画分は、乳酸菌発酵物（乳成分）上清に限外ろ過、ゲルろ過、透析等の処理を行うことで採取すること

ができる。

[0031] 斯くして得られる乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分は、その濃度が乾燥固形分として０．０５質量％の時、ペントシジン生成阻害率が２５％以上、好ましくは２６～４０％である。

[0032] また、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の高分子画分（以下、「乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分」ということがある）は、上記乳酸菌発酵物（乳成分）上清の分子量が３，５００Ｄａ以上の画分をさす。分子量が３，５００Ｄａ以上の画分は、乳酸菌発酵物（乳成分）上清に限外ろ過、ゲルろ過、透析等の処理を行うことで採取することができる。なお、この場合には固形物の除去の際に、乳酸菌発酵物に含まれるカゼイン等のタンパク質を、予めトリクロロ酢酸、エタノール等で沈殿させておくことが好ましい。こうしておくことにより乳酸菌発酵物の上清の高分子画分には多糖類が多く含まれるようになる。なお、多糖類をより多く含む高分子画分を使用したい場合は、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させる際に、ｐＨ６～８の条件下で、３７～４０℃で培養することが特に好ましい。培地のｐＨの調整には水酸化ナトリウム等を使用することができる。

[0033] 斯くして得られる乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分は、その濃度が乾燥固形分として０．０５質量％の時、ペントシジン生成阻害率が２５％以上、好ましくは３５～６０％である。

[0034] 一方、アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたもの（以下、「乳酸菌発酵物（アロエ）」ということがある）は、上記のとおり、例えば、乳酸菌を、アロエを含有する培地で培養することにより得られる。

[0035] 培地に含有されるアロエは、アフリカ原産のユリ科植物の総称であり、キダチアロエやアロエベラ等、３００種以上の品種を有する。このアロエはムチンやアロエマンナン等の多糖類を多く含むほか、アロインやアロエニン、アロエチン、アロチミン、アロエウルシン等の成分を含有することが知られている。本発明で使用するアロエは、アロエの仲間であれば特に限定するものではないが、特に入手の容易性や、コストの点等から、キダチアロエまた

はアロエベラを用いることが好ましい。上記アロエの使用部位としては特に限定されないが、葉、葉肉、芽、根の他に、繊維成分がないため後の製造工程が簡便になる前記部位の汁液、ドリップ液、そこから得られる各種成分等も用いることができる。

[0036] ところで、乳酸菌は上記アロエ中の繊維成分やタンパク成分等を資化することができないので、常法に従い、アロエには発酵処理前にセルラーゼ処理、プロテアーゼ処理等の分解処理等を行うことが好ましい。セルラーゼ処理を行うことにより、資化性が向上して発酵が進行し、乳酸菌発酵物中に資化できなかったセルロース等が残存せず、後の製造工程が簡便となる。また、プロテアーゼ処理を行うことにより、乳酸菌発酵物にタンパク成分等が残留しないため濁りを生じず、発酵後に清澄化工程を行う必要がなくなる。更に、アミラーゼ処理を併用することで、より乳酸菌の資化性が向上する。酵素分解処理には、セルラーゼ、ペクチナーゼ等の繊維質分解酵素（セルラーゼ類）や、酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ、アルカリ性プロテアーゼ、パパイン、フィシン、プロメライン等のプロティナーゼ、ペプチダーゼ、マンナナーゼ等のタンパク分解酵素等（プロテアーゼ類）、α－アミラーゼ、グルコアミラーゼ等のデンプン分解酵素（アミラーゼ類）から１種または２種以上を適宜選択して使用すればよい。また、乳酸菌発酵物の嗜好性を損なわないためおよびアロエを十分に資化させるためにアロエには糖類を添加しないことが好ましい。

[0037] 上記発酵に用いられる乳酸菌としては、ラクトバチルス属の乳酸菌が好ましく、ラクトバチルス・プランタラムがより好ましい。なお、これらの乳酸菌は１種または２種以上を用いてもよい。

[0038] アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させるには、公知の培養条件に従えばよく、例えば、Ｂｒｉｘを３．０以上、ｐＨを４．２以下に調整したアロエの抽出物に、乳酸菌を０．０１質量％～１０質量％、好ましくは０．１質量％～５質量％で接種し、これを２０℃～４０℃、好ましくは２５℃～４０℃で、６時間～９６時間、好ましくは２４時間～９６時間培養すればよい。なお

、このときの他の培養条件としては、静置、攪拌、振盪、通気等が挙げられ、これらから培養に適した方法を適宜選択して行えばよい。

[0039] なお、アロエを含有する培地には乳酸菌の培養において栄養源を補う目的で、糖類以外の一般的に用いられる成分を別途配合してもよい。このような成分としては、酵母エキス、クロレラエキス、ビタミンＡ、ビタミンＢ類、ビタミンＣ、ビタミンＥ等のビタミン類や、各種ペプチド類を含むタンパク分解物、アミノ酸類、カルシウム、マグネシウム等の塩類、ポリソルベート８０等の界面活性剤、オレイン酸等の脂肪酸、カルシウム、マグネシウム、マンガン等の金属類が挙げられる。

[0040] 斯くして得られる乳酸菌発酵物（アロエ）は、公知のろ過、透析、沈殿、遠心分離等の精製、分離処理や、更に、溶媒等で抽出処理、加熱処理、凍結乾燥や濃縮乾固を施すこともできる。

[0041] 本発明阻害剤は、乳酸菌発酵物（アロエ）のなかでも、アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清が特に好ましい。

[0042] アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清（以下、「乳酸菌発酵物（アロエ）上清」ということがある）は、上記のようにして得られる乳酸菌発酵物（アロエ）から遠心分離、ろ過等の常法に従って固形物を除去することにより製造することができる。

[0043] 斯くして得られるアロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清は、その濃度が乾燥固形分として０．０５質量％の時、ペントシジン生成阻害率が２５％以上、好ましくは２８～５０％である。

[0044] 以上説明した本発明阻害剤は、化粧品、医薬品、医薬部外品等の皮膚外用剤組成物に配合することができ、例えば、化粧水、乳液、各種クリーム、パック、美容液等の基礎化粧料、シャンプー、リンス、トリートメント、ヘアトニック、ヘアリキッド、ヘアクリーム、ヘアミルク等の頭髪用製品、入浴剤等の浴用化粧品、ファンデーション、口紅、マスカラ、アイシャドウ等のメーキャップ化粧品、日焼け止め等の特殊化粧品等とすることができる。本発明のペントシジン生成阻害剤としての乳酸菌培養上清の配合量は、特に限

定されるわけではなく、皮膚外用剤組成物の形態等によって適宜設定すればよく、好ましくは乾燥固形分換算で０．００３質量％～１質量％、好ましくは０．０１５質量％～０．６質量％、特に好ましくは０．０３質量％～０．３質量％である。

[0045] 上記皮膚外用剤組成物は、化粧品、医薬品、医薬部外品等の分野で使用される公知成分を、本発明の効果を妨げない範囲で配合することができる。これらの公知成分としては、例えば水、アルコール類、油成分、界面活性剤、防腐剤、香料、色素、保湿剤、増粘剤、酸化防止剤、キレート剤、ｐＨ調整剤、発泡剤、紫外線吸収・散乱剤、粉体、ビタミン類、アミノ酸類、抗菌剤、植物抽出物、海藻抽出物、各種薬剤等を挙げることができる。

[0046] 本発明阻害剤は、上記乳酸菌発酵物をそのままあるいは公知の医薬品担体と組合せ、製剤化することにより調製することができる。

[0047] 更に、本発明阻害剤は、食経験のある乳酸菌発酵物を有効成分としていることから、各種飲食品にも配合することができる。例えば乳酸菌発酵物に、適当な助剤を添加した後、慣用の手段を用いて食用に適した形態、例えば、顆粒状、粒状、錠剤、カプセル、ペーストなどに成形して食用に供してもよく、また各種の食品、例えば、ハム、ソーセージなどの食肉加工食品、かまぼこ、ちくわなどの水産加工食品、パン、菓子などに添加して使用したり、水、果汁、牛乳、清涼飲料などの飲料に添加して使用してもよい。

[0048] 以上説明した本発明阻害剤は、ヒトに投与することによりヒトにおけるペントシジン生成の阻害をすることができるため、ペントシジンが関連する疾患の予防や治療をすることができる。本発明阻害剤のヒトへの投与方法は特に限定されず、例えば、ヒトにおいてペントシジンが生成する部位に、それに適した投与経路で、上記予防や治療ができる量を投与すればよい。ペントシジンが生成する部位としては、例えば、皮膚、硬膜等が挙げられる。また、前記部位に適した投与経路としては、例えば、上記部位への塗布、経口投与、注射等が挙げられる。

実施例

[0049] 以下、実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に何ら限定されるものではない。

[0050] 実 施 例 1

乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分のペントシジン生成阻害活性：

ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８４株（ＦＥＲＭ ＢＰ－１０８７９）の－８０℃保存菌株を、２ｍＬ試験管中の１０ｇ／Ｌのラクトースを含むＭ－１７培地（Ｄｉｆｃｏ社製）中に１白金耳植菌し、４０℃で一晩静置培養した。次に、この培養物を、２ｍＬの１０質量％脱脂粉乳水溶液（Ｄｉｆｃｏ社製）中に１質量％となるよう植菌した後、４０℃で一晩静置培養を行い、前培養とした。前培養物を本培養培地（３質量％脱脂粉乳水溶液）１００ｍＬに１質量％で植菌し、４０℃で２４時間静置培養した。培養後の菌液を、４℃、８，０００×ｇで１５分間遠心分離し、沈殿物を除去した。得られた沈殿物除去液（上清）を、分画分子量２０，０００Ｄａの遠心分離方式限外濾過フィルター（セントリカットミニＶ－２０：倉敷紡績社製）を用い、４℃、３，０００×ｇで１時間限外ろ過を行って、低分子画分を１０ｍＬ得た。この低分子画分中には、乾燥固形分が２％（２０，０００μg／ｍＬ）含まれていた。また、この乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分の平均分子量は３００Ｄａ程度であった。

[0051] なお、平均分子量は、上記低分子画分を５０ｍＭ塩化ナトリウム溶液に溶解後、下記条件でＨＰＬＣを行うことにより測定された値である。

［ ＨＰＬＣ条件 ］

装 置：Ｗａｔｅｒｓ－６００Ｅ

検出器：ＩＳＩ ＲＩ－９８０

カラム：ＳｈｏｄｅｘＳＵＧＡＲＫＳ－８０４

カラム温度：８０℃

移動相：５０ｍＭ ＮａＣｌ

フローレート：１ｍＬ／分

注入量：１０μＬ

[0052] 上記で得られた低分子画分のペントシジン生成阻害率（％）をペントシジンの生成量から算出した。まず、基質溶液として、５０ｍＭリボース、５０ｍＭリジン塩酸塩、５０ｍＭアルギニン塩酸塩および１００ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．４）を、各等量で混合したものを用意した。次に、この基質溶液に、上記で得られた低分子画分を１００ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ７．４）で希釈した被験試料溶液を、基質溶液：被験試料溶液が５：１となるように混合し、６０℃の恒温槽中で２４時間反応させた。コントロールとしては低分子画分の代わりに水を用いて同様に反応を行った。なお、ブランクとしては、リボース、リジン、アルギニンを含まない緩衝液を用いた。加熱終了後、各検体に３３０ｎｍの励起光を照射して、生じる３９０ｎｍの蛍光強度を測定し、ペントシジンの生成量を蛍光量として算出した。この蛍光強度から、以下の式によってペントシジン生成阻害率を計算した。これらの結果を表１に示した。

[0053] [数１]

ペントシジン生成阻害率（％）＝（（Ｅｃ－Ｅｂ）－（Ｅｓ－Ｅｂ））／（Ｅｃ－Ｅｂ）×１００

Ｅｓ：試料の蛍光強度

Ｅｃ：コントロールの蛍光強度

Ｅｂ：ブランクの蛍光強度

[0054] [表1]

乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分の濃度（乾燥固形分に換算）	ペントシジン生成阻害率
０．０５質量％	２６．６％
０．２質量％	３８．３％

[0055] 以上の結果から、乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分については０．０５質量％という低い濃度で高いペントシジン生成阻害率であることが分かった。また、濃度依存的にペントシジン生成阻害率が上がることも確認された。

[0056] 実　施　例　２

乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分のペントシジン生成阻害活性：

ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８４株（ＦＥＲＭ　ＢＰ－１０８７９）の－８０℃保存菌株を、２ｍＬ試験管中の１０ｇ／Ｌのラクトースを含むＭ－１７培地（Ｄｉｆｃｏ社製）中に１白金耳植菌し、４０℃で一晩静置培養した。次に、この培養物を、２ｍＬの１０質量％脱脂粉乳水溶液（Ｄｉｆｃｏ社製）中に１質量％となるよう植菌した後、４０℃で一晩静置培養を行い、前培養とした。この前培養物をジャーファーメンターに用意した本培養培地（１％の大豆ペプチドを含む１０質量％脱脂粉乳水溶液）１Ｌに０．１質量％で植菌し、４０℃で２４時間、培地を８Ｎの水酸化ナトリウム溶液を用いてｐＨ７に保ちながら、回転数１００ｒｐｍの条件下で培養した。次いで、氷中で冷却後、終濃度が１０％ｗ／ｖになるようにトリクロロ酢酸（ＴＣＡ）を加え、４℃で２時間静置した。これを１８，３００×ｇで３０分間遠心して、上澄み液に等量の９９質量％冷エタノールを加え、更に４℃で一晩静置した。これを透析チューブ（Ｓｐｅｃｔｒａ／Ｐｏｒ　Ｍｅｍｂｒａｎｅ（ＭＷ３，５００）：スペクトラム・メディカル社製）にて透析し、得られた高分子画分を常法に従って凍結乾燥した。なお、この乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分の平均分子量は９０万Ｄａ程度であった。平均分子量の測定方法は乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分と同様である。

[0057] 上記で得られた乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分について、実施例１と同様にしてペントシジン生成阻害率（％）を算出した。その結果を表２に示した。

[0058] [表2]

乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分の濃度（乾燥固形分に換算）	ペントシジン生成阻害率
０．０２５質量％	２３．８％
０．０５質量％	４５．４％

[0059] 以上の結果から、乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分についても０．０５質量％という低い濃度で高いペントシジン生成阻害率であることが分かった。また、濃度依存的にペントシジン生成阻害率が上がることも確認された。

[0060] 実 施 例 ３

乳酸菌発酵物（アロエ）上清のペントシジン生成阻害活性：

アロエベラ（学名：Aloe barbadensis Miller）の凍結葉を解凍後破砕し、２倍量の水およびクエン酸０．０５質量％を加え、４０℃にてセルラーゼ（セルラーゼ“オノズカ”３Ｓ：ヤクルト薬品工業社製）を３時間作用させた。その後、一旦９０℃まで加熱した後、室温まで冷却してろ過し、Ｂｒｉｘ３．５になるまで減圧濃縮を行ってアロエベラ抽出液を得た。得られたアロエベラ抽出液（ｐＨ３．７）を１００℃で１００分間加熱滅菌した。これに、ラクトバチルス・プランタラムの標準株（ＡＴＣＣ１４９１７）の前培養菌液を１％接種した後、３０℃で７２時間静置培養した。培養後、ろ過にてろ液を採取して乳酸菌発酵物（アロエ）上清を得た。この乳酸菌発酵物（アロエ）上清には、乾燥固形分が２．９％（２９，０００μg／ｍＬ）含まれていた。

[0061] 上記で得られた乳酸菌発酵物（アロエ）上清について、実施例１と同様にしてペントシジン生成阻害率（％）を算出した。また、ラクトバチルス・プランタラムで発酵させないアロエベラ抽出液についても同様にペントシジン生成阻害率（％）を算出した。それらの結果を表３および４に示した。

[0062] [表3]

乳酸菌発酵物（アロエ）上清の濃度（乾燥固形分に換算）	ペントシジン生成阻害率
０．０５質量％	２９．２％
０．０７２５質量％	４４．４％
０．１４５質量％	６０．７％
０．２９質量％	８１．８％

[0063]

[表4]

アロエベラ抽出液の濃度（乾燥固形分に換算）	ペントシジン生成阻害率
０．０５質量％	２０．３％
０．０７２５質量％	２２．０％

[0064] 以上の結果から、乳酸菌発酵物（アロエ）上清は、乳酸菌で発酵させていないアロエベラ抽出液と比較して０．０５質量％という低い濃度で１．４倍以上の高いペントシジン生成阻害率を有することが分かった。また、濃度依存的にペントシジン生成阻害率が上がることも確認された。

[0065] 実 施 例 ４

化粧水の調製：

以下の表５に記載の組成の化粧水を調製した。なお、化粧水は、成分７に成分１～６を加えて十分に撹拌することで調製した。

[0066] [表5]

成分	原料	使用量（質量％）
1	エタノール	５．０
2	1,3－ブチレングリコール	２．０
3	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	０．０５
4	パラオキシ安息香酸メチル	０．１
5	香料	０．１
6	乳酸菌発酵物※	１０．０
7	蒸留水	全体で１００となる量

※実施例１で得られた乳酸菌発酵物（乳成分）上清の低分子画分をそのまま使用した。

[0067] 実 施 例 ５

乳液の調製：

以下の表６に記載の組成の乳液を調製した。なお、乳液は、成分１１に成分７、８および１０を加えて加温し、８０℃で成分１～６を加えて乳化し、その後、成分９を加えて撹拌し、室温まで冷却することで調製した。

[0068]

[表6]

成分	原料	使用量（質量%）
1	ステアリン酸	2.0
2	流動パラフィン	5.0
3	スクワラン	2.0
4	ソルビタンモノステアレート	0.05
5	ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート	2.0
6	パラオキシ安息香酸ブチル	0.05
7	グリセリン	2.0
8	パラオキシ安息香酸メチル	0.1
9	香料	0.15
10	乳酸菌発酵物※	0.1
11	蒸留水	全体で100となる量

※実施例2で得られた乳酸菌発酵物（乳成分）上清の高分子画分をそのまま使用した。

[0069] 実 施 例 6

クリームの調製：

以下の表7に記載の組成のクリームを調製した。なお、クリームは、成分13に成分9、10、12を加えて加温し、80℃で成分1～8を加えて乳化し、その後、成分11を加えて攪拌し、室温まで冷却することで調製した。

[0070] [表7]

成分	原料	使用量（質量%）
1	流動パラフィン	23.0
2	ワセリン	7.0
3	セタノール	1.0
4	ステアリン酸	2.0
5	ミツロウ	2.0
6	ソルビタンモノステアレート	3.5
7	ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート	2.5
8	パラオキシ安息香酸ブチル	0.05
9	1,3－ブチレングリコール	1.0
10	パラオキシ安息香酸メチル	0.1
11	香料	0.15
12	乳酸菌発酵物※	5.0
13	蒸留水	全体で100となる量

※実施例3で得られた乳酸菌発酵物（アロエ）上清をそのまま使用した。

産業上の利用可能性

[0071] 本発明のペントシジン生成阻害剤は、ペントシジンが関連する疾患の予防や治療に利用することができる。

請求の範囲

[請求項1] 乳酸菌発酵物を有効成分とするペントシジン生成阻害剤。

[請求項2] 乳酸菌発酵物の濃度が乾燥固形分として０．０５質量％の時、ペントシジン生成阻害率が２５％以上である請求項１に記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項3] 乳酸菌発酵物として、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものを用いる請求項１または２記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項4] 乳酸菌発酵物として、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清を用いる請求項１または２記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項5] 乳酸菌発酵物として、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の低分子画分を用いる請求項１または２記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項6] 乳酸菌発酵物として、乳成分を含有する培地を乳酸菌で発酵させたものから得られる上清の高分子画分を用いる請求項１または２記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項7] 乳酸菌が、ストレプトコッカス・サーモフィルスである請求項３～６の何れか１項に記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項8] 乳酸菌が、ストレプトコッカス・サーモフィルスＹＩＴ２０８４株（ＦＥＲＭ　ＢＰ－１０８７９）である請求項３～６の何れか１項に記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項9] 乳酸菌発酵物として、アロエを含有する培地を乳酸菌で発酵させたものを用いる請求項１または２記載のペントシジン生成阻害剤。

[請求項10] 乳酸菌が、ラクトバチルス・プランタラムである請求項９記載のペントシジン生成阻害剤。