

明 細 書

発明の名称：

乳酸菌を含有する発毛・育毛効果を有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品

技術分野

[0001] 本発明は、ラクトバチルス・プランタラム種の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品であって、人体に対して発毛・育毛効果を有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品に関するものである。

背景技術

[0002] 毛髪は、頭部の外力からの保護や紫外線、可視光等の光線からの保護に役立っている。また、これにとどまらずファッションや美容の観点から頭部の容姿に大きな影響を与える要素である。

毛髪に関しては毛周期があり、一定の周期で成長と脱落を繰り返しており、ヘアサイクルは、成長期、退行期、休止期のサイクルに分けることもできる。

[0003] 一方、加齢等の問題から、個人の体質によっては脱毛が起こりやすくなる場合もあり、このような頭部に対する脱毛や薄毛に対する対応方法として育毛剤等の種々の医薬品、医薬部外品、化粧品等の対処方法が利用されている。

このような脱毛や薄毛に対する対処法として種々の先願特許が公開されているが、一般的には、例えば、ミノキシジルやフィナステリド等の化合物を利用する場合が多い。

一方、このような化合物を利用する以外の方法として、近年の健康維持を目的とする乳酸菌の研究が精力的に進められており、乳酸菌を利用して育毛・発毛・脱毛抑制を目的とする方法も開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2015-187171

[0005] 特許文献1は、特定のラクトコッカス属の特定の乳酸菌株を利用する方法であるが、その実験結果については、毛乳頭細胞を利用し、毛乳頭細胞から分泌される増殖因子であるFGF-7やVEGFの産生量を測定しているもので、人に対して実際に投与等して得られた結果ではない点が指摘される。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] そこで、本発明者らは新たな乳酸菌に注目し、当該乳酸菌を利用して、人体に対して育毛等の効果を得る方法を開発することを課題とした。

特に、当該乳酸菌を利用した飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品を調製し、当該飲食品、医薬部外品又は医薬品を人が実際に経口摂取することで育毛等に役立てることを確認した飲食品、医薬部外品又は医薬品を開発することを課題とした。

[0007] また、さらに当該乳酸菌を利用した化粧品、医薬部外品又は医薬品を調製し、当該化粧品、医薬部外品又は医薬品を人が実際にローション等により頭皮に塗布することで育毛等に役立てることを確認した化粧品、医薬部外品又は医薬品を開発することを課題とした。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、種々の乳酸菌をスクリーニングして、まず、発毛・育毛・養毛効果を得るには毛乳頭細胞の賦活が必要不可欠である点を利用し、毛乳頭細胞の賦活を指標として、複数の乳酸菌についてスクリーニングを行い、乳酸菌を選抜した。

さらに、当該乳酸菌を利用した飲食品を調製して、実際に人（被験者）が摂取する臨床試験を実施し、その有効性を確認することによって、高い育毛効果を有する飲食品を完成するに至ったのである。

[0009] すなわち、本願第一の発明は、

“人体における発毛又は育毛効果を有する乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0010] 次に、当該乳酸菌を含有する飲食品は、清涼菓子、乳酸菌含有食品、乳酸菌飲料及び清涼飲料水の名称からなる群より選択される名称を有することも可能である。

すなわち、本願第二の発明は、

“前記飲食品が、清涼菓子、乳酸菌含有食品、乳酸菌飲料及び清涼飲料水の名称からなる群より選択されるいずれか一つである請求項 1 に記載の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0011] 次に、本発明の乳酸菌を含有する飲食品は、一例として固形物のタブレット錠剤の形状であってもよい。

すなわち、本願第三の発明は、

“前記飲食品、医薬部外品又は医薬品がタブレット錠剤である請求項 1 又は 2 に記載する乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0012] 次に、前記乳酸菌は、ラクトバチルス・プランタラム種に属する乳酸菌であることが好ましい。

すなわち、本願第四の発明は、

“前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム種に属する請求項 1～3 のいずれかに記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0013] 次に、前記乳酸菌は、ラクトバチルス・プランタラム N 7 9 3 株 (N I T E B P - 0 3 2 3 3) 株であることが好ましい。

すなわち、本願第五の発明は、

“前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム N 7 9 3 株 (N I T E B P - 0 3 2 3 3) である乳酸菌、その培養液又は発酵産物である請求項 1～4 のいずれかに記載の飲食品、化粧品、医薬部外

品又は医薬品。”、である。

[0014] 次に、さらに当該乳酸菌を利用したローション（塗布剤）を調製して、実際に人（被験者）が頭皮に塗布する臨床試験を実施し、その有効性を確認することによって、高い育毛効果を有する化粧品、医薬部外品又は医薬品を完成するに至ったのである。

また、本発明の乳酸菌を含有する化粧品、医薬部外品又は医薬品は塗布剤であることが好ましい。

すなわち、本願第六の発明は、

“前記化粧品、医薬部外品又は医薬品が塗布剤である請求項 1 に記載の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0015] 次に、本発明の乳酸菌を含有する化粧品、医薬部外品又は医薬品は塗布剤のうち、軟膏、クリーム又はローションであることが好ましい。

すなわち、本願第七の発明は、

“前記化粧品、医薬部外品又は医薬品が軟膏、クリーム又はローションである請求項 6 に記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0016] 次に、前記乳酸菌は、ラクトバチルス・プランタラム種に属する乳酸菌であることが好ましい。

すなわち、本願第八の発明は、

“前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム種に属する請求項 6 又は 7 に記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0017] 次に、前記乳酸菌は、ラクトバチルス・プランタラム種に属するラクトバチルス・プランタラム N 7 9 3 株（N I T E B P - 0 3 2 3 3）株であることが好ましい。

すなわち、本願第九の発明は、

“前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム N 7 9 3 株（N I T E B P - 0 3 2 3 3）である乳酸菌、その培養液又は発

酵産物である請求項6～8のいずれかに記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

発明の効果

[0018] 本発明の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、医薬部外品又は医薬品を利用し、これを経口投与することで、人体において無理なく脱毛・薄毛を抑制することが可能となる。

[0019] また、本発明の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する化粧品、医薬部外品又は医薬品を利用し、これを塗布等することで、人体において無理なく脱毛・薄毛を抑制することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]実施例における毛乳頭細胞賦活能評価の結果を示す図である。

[図2]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち全体本数の結果を示す図である。

[図3]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち毛の太さの結果を示す図である。

[図4]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち非軟毛本数の結果を示す図である。

[図5]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち非軟毛率の結果を示す図である。

[図6]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち軟毛本数の結果を示す図である。

[図7]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち軟毛率の結果を示す図である。

[図8]臨床試験（タブレット）における毛髪解析のうち抜け毛解析の結果を示す図である。

[図9]VASアンケート（タブレット）における洗髪時の抜け毛感の結果を示す図である。

[図10]VASアンケート（タブレット）における整髪時の抜け毛感の結果を

示す図である。

[図11] V A S アンケート（タブレット）における毛のハリ・コシのなさ感の結果を示す図である。

[図12] V A S アンケート（タブレット）における毛の細さ感の結果を示す図である。

[図13] V A S アンケート（タブレット）における毛の丈夫さの無さ感の結果を示す図である。

[図14] V A S アンケート（タブレット）における髪のパリュームの無さ感の結果を示す図である。

[図15] V A S アンケート（タブレット）における地肌（頭皮）の目立ち具合感の結果を示す図である。

[図16] V A S アンケート（タブレット）における頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合感の結果を示す図である。

[図17] V A S アンケート（タブレット）における抜け毛の量の実感の結果を示す図である。

[図18] 臨床試験（ローション）における毛髪解析のうち全体本数の結果を示す図である。

[図19] 臨床試験（ローション）における毛髪解析のうち毛の太さの結果を示す図である。

[図20] 臨床試験（ローション）における毛髪解析のうち非軟毛本数の結果を示す図である。

[図21] 臨床試験（ローション）における毛髪解析のうち抜け毛解析の結果を示す図である。

[図22] V A S アンケート（ローション）における洗髪時の抜け毛感の結果を示す図である。

[図23] V A S アンケート（ローション）における毛のハリ・コシのなさ感の結果を示す図である。

[図24] V A S アンケート（ローション）における毛の細さ感の結果を示す図

である。

[図25] V A S アンケート（ローション）における毛の丈夫さの無さ感の結果を示す図である。

[図26] V A S アンケート（ローション）における髪のボリュームの無さ感の結果を示す図である。

[図27] V A S アンケート（ローション）における地肌（頭皮）の目立ち具合感の結果を示す図である。

[図28] V A S アンケート（ローション）における頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合感の結果を示す図である。

[図29] V A S アンケート（ローション）における抜け毛の量が減った実感の結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0021] 以下に本発明の内容について実施例を交えて説明する。一方、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

本願第一の発明は、“人体における発毛又は育毛効果を有する乳酸菌を含む有する飲食品、医薬部外品又は医薬品。”、である。

[0022] ○発毛又は育毛効果

本発明にいう発毛又は育毛効果とは、毛髪の本数を増加させたり、毛髪の太さを太くする効果や抜け毛を減らす効果等をいい、これらの効果のうちのいずれか又は複数をいうものとする。

[0023] ○乳酸菌

以下に本発明の実施例を記載する。本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

・乳酸菌の調製

本発明で使用する乳酸菌の一例としては、ラクトバチルス属の乳酸菌であることが好ましい。より具体的には、ラクトバチルス・プランタラム種の乳酸菌であることが好ましい。

本発明においては、ラクトバチルス・プランタラム種の乳酸菌であれば可能

であるが、この中でも特に、当該ラクトバチルス・プランタラム種の乳酸菌のうち、特に以下の株を使用することが好ましい。

[0024] 1. ラクトバチルス・プランタラムN793株 (NITE BP-03233)

本発明の乳酸菌は、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) である。特に、ラクトバチルス・プランタラムに属する乳酸菌のうち、ラクトバチルス・プランタラムN793株 (NITE BP-03233) である。本発明にいうN793の記号は日清食品ホールディングス株式会社で独自に菌株に付与した番号であり、本ラクトバチルス・プランタラムN793株は本発明者によって初めて発見されたものである。

[0025] 尚、本ラクトバチルス・プランタラムN793株は、より詳細にはラクトバチルス・プランタラム・サブスピーシーズ・プランタラム (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*) に属する乳酸菌であると同定されている。

[0026] 本発明のラクトバチルス・プランタラムN793株は、2020年6月18日に、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センターへNITE BP-03233として寄託されている。本発明のラクトバチルス・プランタラムN793株の菌学的性質は、表1及び表2に示す通りである。本菌学的性質は、*Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. 2 (1986)* に記載の方法による。表1は本菌株に関する形状等を、表2はアピ50CH及びアピCHL (ピオメリュー社製) により、糖資化性を試験した結果を示す。表2において、「+」が陽性、「-」は陰性を示す。

[0027]

[表1]

試験項目		ラクトバチルス・プランタラムN793株
培養温度		30℃
細胞形態		桿菌 (0.6-0.7×2.0-3.0 μm)
グラム染色性		+
芽胞の有無		-
運動性		-
コロニー形態	培地	MRS寒天培地
	培養時間	24時間
	直径	2~3 mm
	色調	乳白色
	形	円形
	隆起状態	レンズ状
	周縁	全縁
	表面の形状など	スムーズ
	透明度	不透明
	粘稠度	バター様
生育温度試験	37 °C	+
	45 °C	+
カタラーゼ反応		-
オキシダーゼ反応		-
グルコースからの酸/ガス産生		+ / -
O/Fテスト(酸化/発酵)		+ / -

+: 陽性、-: 陰性

[0028]

[表2]

	Sugar substrate	result		Sugar substrate	result
0	Control	—	25	Esuculin ferric citrate	+
1	Glycerol	—	26	Salicin	+
2	Erythritol	—	27	D-Cellulobiose	+
3	D-Arabinose	—	28	D-Maltose	+
4	L-Arabinose	+	29	D-Lactose	+
5	D-Ribose	+	30	D-Melibiose	+
6	D-Xylose	—	31	D-Sucrose	+
7	L-Xylose	—	32	D-Trehaloses	+
8	D-Adonitol	—	33	Inulin	—
9	Methyl-βD-Xylopyranoside	—	34	D-Melezitose	+
10	D-Galactose	+	35	D-Raffinose	+
11	D-Glucose	+	36	Starch	—
12	D-Fructose	+	37	Glycogen	—
13	D-Mannose	+	38	Xylitol	—
14	L-Sorbose	—	39	Gentiobiose	+
15	L-Rhamnose	—	40	D-Turanose	+
16	Dulcitol	—	41	D-Lyxose	—
17	Inositol	—	42	D-Tagatose	—
18	D-Mannitol	+	43	D-Fucose	—
19	D-Sorbitol	+	44	L-Fucose	—
20	Methyl-αD-Mannopyranosede	+	45	D-Arabitol	—
21	Methyl-αD-Glucopyranoside	—	46	L-Arabitol	—
22	N-Acetyl-Glucosamine	+	47	Gluconate	+
23	Amygdalin	+	48	2-keto-Gluconate	—
24	Arubutin	+	49	5-keto-Gluconate	—

[0029] ○乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物

本発明の乳酸菌は、種々の形態で利用することができる。例えば、乳酸菌粉末であると、当該菌体を凍結乾燥したタイプや当該菌体を酵素処理し凍結乾燥したもの等を利用することができる。

さらに、乳酸菌粉末の他、本発明の乳酸菌の培養液も利用することができる。具体的には、菌体を含む培養液、培養上清等のいずれも利用することができる。また、上記の菌体等に対しては必要に応じて遠心分離やプロテアー

ぜやりパーゼ等の酵素処理を施してもよいことは勿論である。

[0030] さらに、乳酸菌粉末、その培養液とともに当該乳酸菌を利用した発酵産物であってもよい。すなわち、当該乳酸菌から発酵過程で産生された化合物やペプチド等を精製した発酵産物も利用することができる。具体的には、エクオールやGABA等が挙げられる。

[0031] ○飲食品

本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物は飲食品に含有せしめて使用することができる。

まず、本発明の飲食品は、前記乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物と共に、必要に応じて適当な担体及び添加剤を添加して製剤化された形態とすることができる。具体的には、粉末、顆粒、カプセル、錠剤、散剤、コーティング錠、液体、シロップ、ジュース状等の種々の形態が可能である。

[0032] 尚、本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物を含む飲食品は、本発明の菌体、その培養液又は発酵産物を有効成分として含有していればよく、それら以外に他の成分を含有していてもよいことは勿論である。

具体的には、糖類（澱粉、デキストリン、多糖類、単糖類、二糖類等）、タンパク質、各種アミノ酸、脂質、水分、ビタミン、ミネラル、香料、各種食品添加物等が挙げられる。

[0033] さらに、本発明の乳酸菌を利用した飲料とすることも可能である。例えば、乳酸菌入り発酵乳及び乳酸菌入り乳酸菌飲料等が挙げられる。現行の乳及び乳製品の成分規格等に関する省令では、成分規格として乳酸菌数は特に規定はされていないが、発酵乳（無脂乳固形分8.0%以上のもの）や乳酸菌飲料（無脂乳固形分3.0%以上のもの）であれば 1.0×10^7 cfu/ml以上、乳酸菌飲料（無脂乳固形分3.0%未満のもの）であれば 1.0×10^6 cfu/ml以上が好ましく、乳などの発酵液中で増殖させたり、最終製品の形態で増殖させたりすることによって上記の菌数を実現することができる。また、乳酸菌入り発酵乳及び乳酸菌入り乳酸菌飲料以外にも、バター等の乳製品、マヨネーズ等の卵加工品、バターケーキ等の菓子パン類等

にも利用することができる。また、即席麺やクッキー等の加工食品にも好適に利用することができる。

[0034] さらに、本発明の乳酸菌、その培養液又は発酵産物は、一般の食品や飲料以外にも特定保健用食品、栄養補助食品、機能性表示食品等に含有させることも有用である。

尚、本発明における飲食品の名称は特に限定されるものではないが、例えば、清涼菓子、乳酸菌含有食品、乳酸菌飲料及び清涼飲料水等が挙げられる。但し、これらの限定されるものでないことは勿論である。

[0035] ○医薬部外品、医薬品（経口摂取タイプ）

本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物は、食品以外にも経口摂取する医薬部外品、医薬品に含有せしめて使用することができる。具体的には、ドリンク剤、タブレット剤等の経口摂取可能な形態が挙げられる。

すなわち、本発明の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を濃縮や分離等でエキス化又は粉末化して調製した後に、当該成分を有効成分とする医薬部外品や医薬品として使用することができる。例えば、エキス化したものを瓶等に詰めたものや、発酵液乾燥粉末を賦形剤なども用いて顆粒やカプセル化、打錠し錠剤の形態として提供が可能である。

[0036] また、医薬部外品や医薬品としては本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物を有効成分として含有していればよく、当該成分以外に他の成分（例えば、糖類、タンパク質、アミノ酸、脂質、水分、ビタミン、ミネラル等）を含有していても良いことは勿論である。

[0037] ○化粧品、医薬部外品又は医薬品（塗布剤等）

本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物は、化粧品、医薬部外品、医薬品に含有せしめて使用することができる。具体的には、塗布剤として養毛剤、育毛剤、発毛剤等の商品名を利用することができる。具体的には、軟膏、クリーム、ヘアローション、ヘアトニック、シャンプー、リンス等の形態が挙げられる。

[0038] すなわち、本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物を濃縮や分離等

でエキス化又は粉末化して調製した後に、これを所定の溶液に希釈や懸濁等を行うことで、当該成分を有効成分とする化粧品、医薬部外品、医薬品として使用することができる。

ここで、例えば、軟膏であれば、油脂性の基材に対して当該乳酸菌粉末やその懸濁液を混合して調製することが可能である。また、クリームであれば、水中油型（O/W型）や油中水型（W/O型）の液状物に混合することで製造が可能である。さらに、ローションであれば、乳液状のローションや、懸濁液状のローションがある。乳液状は乳化物であって、懸濁液状はアルコール類や水が主剤のローションとなる。

[0039] 尚、化粧品、医薬部外品、医薬品としては本発明の菌体、その培養液又は発酵産物を

有効成分として含有していればよく、当該成分以外に他の成分（例えば、糖類、タンパク質、アミノ酸、脂質、水分、ビタミン、ミネラル等）を含有していても良いことは勿論である。

実施例

[0040] 1. 乳酸菌のスクリーニング

本発明の乳酸菌粉末、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、医薬部外品又は医薬品に利用する乳酸菌について以下のようにスクリーニングした。

ヘアサイクルは、毛髪が成長期、退行期、休止期の3つのフェーズを繰り返す周期を指す。ヘアサイクルの中で最も長い期間は成長期であり、通常3年～6年ほどである。

[0041] 成長期は、ケラチノサイト増殖因子、インスリン様成長因子1、血管内皮増殖因子などの成長因子によって維持されている。これらの成長因子は、毛根の奥に存在する毛乳頭細胞から産生される。毛乳頭細胞から分泌されたケラチノサイト増殖因子は、毛髪元となる毛母細胞に直接作用し、毛母細胞の増殖と分裂を促進することで知られているため、毛髪に最も直接的に働きかける成長因子であると考えられている。以上のことから、毛乳頭細胞は発

毛に必要な細胞であり、まず、毛乳頭細胞を賦活化することができれば、発毛につながると推察される。このため、各種乳酸菌の毛乳頭細胞賦活能を評価した。

[0042] 試験した乳酸菌の菌種は、*Lactobacillus plantarum* (3種)、*Lactobacillus casei/paracasei* (3種)、*Lactobacillus rhamnosus* (3種)、*Lactobacillus fermentum* (3種)、*Lactobacillus reuteri* (3種)、*Lactobacillus lactis* (3種)とした。

[0043] 2. 毛乳頭細胞賦活試験

＜被検体（乳酸菌粉末懸濁液）の調製＞

乳酸菌を表3に示すMRS培地（ベクトン・ディッキンソン社製）で37℃・24時間培養した。次いで、遠心分離機を用いて増殖させた菌体を集菌した。集菌した菌体を滅菌水で洗浄し、遠心分離機で集菌を行った。洗浄と集菌を繰り返し3回行った。95℃・15分で加熱殺菌後、再度遠心分離機で集菌を行った。凍結乾燥機を用いて集菌した菌体を凍結乾燥し、乳酸菌粉末を得た。乳酸菌粉末をPBS（PBS（－）pH7.4 ギブコ社製）で1mg/mLになるよう懸濁し、乳酸菌粉末懸濁液とした。

[0044]

[表3]

プロテオースペプトンNo.3	10.00 g
牛肉エキス	10.00 g
酵母エキス	5.00 g
D-グルコース	20.00 g
ポリソルベート80	1.00 g
クエン酸アンモニウム	2.00 g
酢酸ナトリウム	5.00 g
硫酸マンガン	0.10 g
硫酸マグネシウム	0.05 g
リン酸2カリウム	2.00 g
蒸留水	1000 mL

[0045] <毛乳頭細胞賦活能評価>

上記で得た被検体（乳酸菌粉末懸濁液）の毛乳頭細胞賦活作用を評価した。すなわち、96ウェルプレートに、 1.2×10^4 cells/well の密度でヒト毛乳頭細胞を播種し、CO₂インキュベーター（5% CO₂、37℃）で6時間培養したところで、各被検体（最終濃度1%）を含む100 μLのD-MEM培地（FBS4%）を添加した。添加後、CO₂インキュベーター（5% CO₂、37℃）で72時間インキュベートした後、培養液中の毛乳頭細胞数を吸光光度法にて測定した。測定にはCell Counting Kit-8（同仁化学研究所製）を使用した。なお、コントロールとしてPBS（PBS（-） pH7.4 ギブコ社製）を用いた。コントロールを1とした毛乳頭細胞賦活率を基に毛乳頭細胞賦活能を評価した。

測定結果を表4に示すが、表4に示すように、ラクトバチルス・プランタラムは、高い毛乳頭細胞賦活能を有することが判明した。

試験結果を表4に示す。また、当該結果のグラフを図1に示す。

—試験結果—

[0046] [表4]

菌種名	菌株名	毛乳頭細胞賦活率(vs Control)
-	Control(乳酸菌無添加)	1.000
<i>Lactobacillus plantarum</i>	N793	1.836
	N792	1.801
	N807	1.651
<i>Lactobacillus casei/paracasei</i>	N10	0.416
	N32	0.357
	N33	0.299
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	N125	0.864
	N128	0.808
	N129	0.664
<i>Lactobacillus fermentum</i>	N118	0.712
	N218	0.669
	N111	0.499
<i>Lactobacillus reuteri</i>	N211	0.795
	N210	0.755
	N209	0.661
<i>Lactococcus lactis</i>	N819	1.000
	N824	0.774
	N826	0.507

[0047] 結果として、*Lactobacillus plantarum*(3種)において、高い毛乳頭細胞賦活能を有することを見出した。

[0048] 3. 臨床試験における摂取試験

上述の毛乳頭細胞賦活試験より、*Lactobacillus plantarum*が高活性を有することが明らかとなった。試験した3種のうち、最も活性の高かったN793株(NITE BP-03233)の有効性を乳酸菌含有食品を利用した臨床試験にて検証した。

[0049] ○乳酸菌の培養

乳酸菌を表3に示すMRS培地(ベクトン・ディッキンソン社製)で37℃・24時間培養した。次いで、遠心分離機を用いて増殖させた菌体を集菌

した。集菌した菌体を滅菌水で洗浄し、遠心分離機で集菌を行った。洗浄と集菌を繰り返し3回行った。95℃・15分で加熱殺菌後、再度遠心分離機で集菌を行った。凍結乾燥機を用いて集菌した菌体を凍結乾燥し、乳酸菌粉末を得た。

[0050] ○実施例の試験食（乳酸菌含有食品）の製造

乳酸菌粉末および賦形剤を配合した乳酸菌含有食品を製造した。賦形剤は、還元麦芽糖水飴、粉末セルロース、ステアリン酸カルシウム、微粒二酸化ケイ素を含有していた。原料の混合はロッキングミキサーを使用し、十分に攪拌した。打錠工程はメッシュにて篩過し、打錠機で打錠した。調製した乳酸菌含有食品は表5の成分組成となった。

[0051] [表5]

試験食 (乳酸菌含有食品)	配合量 (1錠あたり)
乳酸菌粉末	20 mg
還元麦芽糖水飴	114 mg
粉末セルロース	60 mg
ステアリン酸Ca	3 mg
微粒二酸化ケイ素	3 mg

また、当該乳酸菌含有食品の栄養成分（1錠あたり）は表6に示すものとなった。

[0052]

[表6]

栄養成分	試験食
熱量	0.76 kcal
水分	0.00 g
タンパク質	0.01 g
脂質	0.004 g
炭水化物	0.17 g

乳酸菌含有食品(タブレット)の製造を完了した。当該タブレットを試験食として臨床試験を実施した。

[0053] ・被験者

被験者は次の1)～4)の基準で選択した。

- 1) 同意取得時の年齢が20歳以上59歳以下の日本人男性及び女性
- 2) 薄毛を自覚する者
- 3) 試験期間中、これまで行っていた調髪法(髪長さ、髪型、パーマ等)及び染毛法(染毛剤)および洗髪法(洗髪剤)を変えないことに同意可能な者
- 4) 専門家による局所毛髪カット(頭部正中線と左右の耳輪最上部を結んだ線(横線)の交点から、横線上で右外側約3cmのところを約1cm×1cm範囲、約0.5mmの長さを残しバリカン処理した。)に同意可能な者

実際に被験者の人数は、13人であった。そのうち、男性は6人、女性は7人であった。また、平均年齢は50.23±1.95歳であった。

[0054] ・摂食方法

前述の試験食の摂食方法は表7のように行った。

[0055] [表7]

試験食	時間帯	時期	使用量	使用方法
乳酸菌含有食品	朝	朝食後	1錠/回	朝食後30分以内に、水またはぬるま湯と共に1錠使用。 使用を忘れた場合、当日中に使用。 使用は1日1回のみとし、当日中の使用を忘れた場合は、翌日には持ち越さない。

[0056] ・被験者の頭部毛髪の観察スケジュール

被験者の頭部毛髪の観察スケジュールについては、以下のスケジュールにて実施した。

観察回数は6回とし、観察時期として、使用前、使用2日後、使用12週後、使用12週+2日後、使用24週後、使用24週+2日とした。また、試験食の自宅摂取期間は168日間とした。

[0057] ・試験結果

被験者の頭部毛髪の観察（毛髪解析）として、デジタルマイクロスコープ（HIROX社、KH-2000）を用いて、前述した局所毛髪カット領域（1cm×1cm）の毛髪について調べた。

検査項目としては、毛髪解析として、全体本数、毛の本数、毛の太さ、非軟毛本数、抜け毛解析等の検査を実施した。摂取前と摂取12週後、摂取前と摂取24週後をDunnettの検定で統計解析を行った（+：P<0.1 *：P<0.05 **：P<0.01 ***：P<0.001）。+：P<0.1を有意傾向あり、P<0.05を有意差ありと判定した。各項目についての結果を以下に示す。

[0058] ○毛髪解析／全体本数

摂取前において163.7±10.4本、摂取12週後において169.1±10.6本、摂取24週後において175.8±11.3本であった。摂取前と比較して、摂取12週後において5.4本、摂取24週後において12.1本

増加し、摂取24週後では有意差が認められた ($P=0.006$)。結果を表8に示す。

[0059] [表8]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
全体本数	本	13	163.7 ± 10.4	169.1 ± 10.6	$P = 0.266$	175.8 ± 11.3	$P = 0.006^{**}$

平均値 ± 標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) **: $P < 0.01$

また、グラフを図2に示す。

[0060] ○毛髪解析／毛の太さ

摂取前において $58.9 \pm 3.3 \mu\text{m}$ 、摂取12週後において $61.0 \pm 3.4 \mu\text{m}$ 、摂取24週後において $62.7 \pm 3.1 \mu\text{m}$ であった。摂取前と比較して、摂取12週後において2.1本、摂取24週後において3.8本増加し、摂取12週後では有意傾向が認められた ($P < 0.1$)。また、摂取24週後では有意差が認められた ($P=0.001$)。結果を表9に示す。

[0061] [表9]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
平均直径	μm	13	58.9 ± 3.3	61.0 ± 3.4	$P = 0.070^{\dagger}$	62.7 ± 3.1	$P = 0.001^{**}$

平均値 ± 標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) $\dagger$: $P < 0.10$ **: $P < 0.01$

[0062] また、グラフを図3に示す。

[0063] ○毛髪解析／非軟毛本数（しっかりとした硬い毛、毛径 $40 \mu\text{m}$ 以上） μ

毛髪のうち、毛径 $40 \mu\text{m}$ 以上のしっかりとした硬い毛の本数についての結果は、摂取前において 121.2 ± 12.3 本、摂取12週後において 131.8 ± 13.2 本、摂取24週後において 141.0 ± 12.3 本であった。摂取前と比較して、摂取12週後において10.6本 ($P=0.025$)、摂取24週後において19.8本 ($P < 0.001$) 有意に増加した。結果を表10に示す。

[0064] [表10]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
非軟毛本数	本	13	121.2 ± 12.3	131.8 ± 13.2	$P = 0.025^*$	141.0 ± 12.3	$P < 0.001^{***}$

平均値 ± 標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) *: $P < 0.05$ ***: $P < 0.001$

また、グラフを図4に示す。

[0065] ○毛髪解析／非軟毛率

毛髪のうち、毛径 $40\ \mu\text{m}$ 以上のしっかりとした硬い毛についての非軟毛率 (%) は、局所カット領域における非軟毛本数／全体本数として算出した。非軟毛率は摂取前において 74.8 ± 5.9 、摂取 12 週後において 78.3 ± 6.2 、摂取 24 週後において 80.8 ± 5.4 であった。摂取前と比較して、摂取 12 週後において 3.5 %、摂取 24 週後において 6.0 % 増加し、摂取 12 週後に有意傾向が認められた ($P < 0.1$)。また、摂取 24 週後 ($P = 0.002$) に有意差が認められた。結果を表 11 に示す。

[0066] [表11]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
非軟毛率	%	13	74.8 ± 5.9	78.3 ± 6.2	$P = 0.075$ †	80.8 ± 5.4	$P = 0.002$ **

平均値±標準誤差 Dunnett(vs 摂取前) †: $P < 0.10$ **: $P < 0.01$

また、グラフを図 5 に示す。

[0067] ○毛髪解析／軟毛本数

毛髪のうち、毛径 $40\ \mu\text{m}$ 未満の柔らかい毛 (軟毛) の本数についての結果は、摂取前において 42.5 ± 11.6 本、摂取 12 週後において 37.2 ± 11.3 本、摂取 24 週後において 34.8 ± 10.4 本であった。摂取前と比較して、摂取 12 週後において 5.3 本、摂取 24 週後において 7.7 本減少し、摂取 24 週後 ($P = 0.021$) に有意差が認められた。結果を表 12 に示す。

[0068] [表12]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
軟毛本数	本	13	42.5 ± 11.6	37.2 ± 11.3	$P = 0.130$	34.8 ± 10.4	$P = 0.021$ *

平均値±標準誤差 Dunnett(vs 摂取前) *: $P < 0.05$

また、グラフを図 6 に示す。

[0069] ○毛髪解析／軟毛率

毛髪のうち、毛径 $40\ \mu\text{m}$ 未満の柔らかい毛 (軟毛) についての軟毛率 (%) は、局所カット領域における軟毛本数／全体本数として算出した。軟毛率は摂取前において 25.2 ± 5.9 、摂取 12 週後において 21.7 ± 6.2 、摂取 24 週後において 19.2 ± 5.4 であった。摂取前と比較して、摂取 1

2週後において3.5%、摂取24週後において6.0%減少し、摂取12週後には有意傾向が認められた ($P < 0.1$)。摂取24週後 ($P = 0.002$) に有意差が認められた。結果を表13に示す。

[0070] [表13]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
軟毛率	%	13	25.2 ± 5.9	21.7 ± 6.2	$P = 0.075$ †	19.2 ± 5.4	$P = 0.002$ **

平均値 ± 標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) †: $P < 0.10$ **: $P < 0.01$

また、グラフを図7に示す。

[0071] ○毛髪解析／抜け毛解析

美容師による洗髪・乾燥の後、抜けた毛を集め、本数を測定した。摂取前において109.5 ± 15.4本、摂取12週後において78.6 ± 12.8本、摂取24週後において75.9 ± 本であった。摂取前と比較して、摂取12週後において30.9本 ($P < 0.1$)、摂取24週後において33.6本 ($P < 0.1$) 減少傾向にあった。結果を表14に示す。

[0072] [表14]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
抜け毛本数	本	13	109.5 ± 15.4	78.6 ± 12.8	$P = 0.077$ †	75.9 ± 9.6	$P = 0.053$ †

平均値 ± 標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) †: $P < 0.10$

また、グラフを図8に示す。

[0073] ○VASアンケート

洗髪時の抜け毛感、整髪時の抜け毛感、抜け毛感実感、毛の細さ、毛の丈夫さについてのVisual Analogue Scale法によるアンケート (VASアンケート) を実施した。

尚、Visual Analogue Scale法によるアンケート (VASアンケート) とは、両端を極端な状態として、表記した長さ100mmの線分上に、被験者自身に記入時の主観的な感覚を垂直な1本線で表してもらい、端からその垂線までの長さを測定してVASスコアとすることとするものである。被験者の主観的な感覚を評価した方法に関するものである。

[0074] 今回の評価では、例えば、「洗髪時の抜け毛感」の評価では、左端を「洗髪時の抜け毛感(排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など)」が全くない

という感覚」(スコア0)とし、右端を「洗髪時の抜け毛感(排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など)が著しく最悪の感覚」(スコア100)として100mmの線分上で回答してもらった。したがって、数字が小さいほど、良い評価となる。

[0075] 1) 洗髪時の抜け毛感(排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など)

摂取前において 71.5 ± 5.8 、摂取12週後において 60.2 ± 8.3 、摂取24週後において 47.8 ± 7.0 であった。摂取前と比較して、摂取12週後において11.3、摂取24週後において23.7し、摂取24週後 ($P = 0.001$) に有意差が認められた。結果を表15に示す。

[0076] [表15]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
洗髪時の抜け毛	—	13	71.5 ± 5.8	60.2 ± 8.3	$P = 0.123$	47.8 ± 7.0	$P = 0.001^{**}$

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) **: $P < 0.01$

また、グラフを図9に示す。

[0077] 2) 整髪時(髪を乾かす、ブラシでとく、手櫛でとくなど)の抜け毛感

摂取前において 65.5 ± 6.1 、摂取12週後において 53.5 ± 7.9 、摂取24週後において 46.9 ± 7.4 であった。摂取前と比較して、摂取12週後において12.0、摂取24週後において18.6減少し、摂取12週後に有意傾向が認められた ($P < 0.1$)。また、摂取24週後 ($P = 0.007$) に有意差が認められた。結果を表16に示す。

[0078] [表16]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
整髪時の抜け毛	—	13	65.5 ± 6.1	53.5 ± 7.9	$P = 0.086^{\dagger}$	46.9 ± 7.4	$P = 0.007^{**}$

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前) †: $P < 0.10$ **: $P < 0.01$

また、グラフを図10に示す。

[0079] 3) 毛のハリ・コシのなさ感

摂取前において 70.8 ± 4.9 、摂取12週後において 61.3 ± 4.8 、摂取24週後において 53.4 ± 4.3 であった。摂取前と比較して、摂取12週後において9.5、摂取24週後において17.4減少し、摂取24週後 ($P = 0.029$) に有意差が認められた。結果を表17に示す。

[0080] [表17]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
毛のハリ・コシのなさ	—	13	70.8 ± 4.9	61.3 ± 4.8	P = 0.284	53.4 ± 4.3	P = 0.029 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図11に示す。

[0081] 4) 毛の細さ感

摂取前において76.4 ± 4.8、摂取12週後において67.5 ± 6.2、摂取24週後において57.2 ± 4.8であった。摂取前と比較して、摂取12週後において8.9、摂取24週後において19.2減少し、摂取24週後 (P = 0.024) に有意差が認められた。結果を表18に示す。

[0082] [表18]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
毛の細さ	—	13	76.4 ± 4.8	67.5 ± 6.2	P = 0.374	57.2 ± 4.8	P = 0.024 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図12に示す。

[0083] 5) 毛の丈夫さの無さ感

摂取前において65.0 ± 6.5、摂取12週後において60.6 ± 6.7、摂取24週後において46.5 ± 6.9であった。摂取前と比較して、摂取12週後において4.4、摂取24週後において18.5減少し、摂取24週後 (P = 0.044) に有意差が認められた。結果を表19に示す。

[0084] [表19]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
毛が丈夫でないこと	—	13	65.0 ± 6.5	60.6 ± 6.7	P = 0.794	46.5 ± 6.9	P = 0.044 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図13に示す。

[0085] 6) 髪の毛のボリュームの無さ感

摂取前において77.8 ± 5.6、摂取12週後において76.7 ± 5.0、摂取24週後において59.3 ± 6.3であった。摂取前と比較して、摂取12週後において1.1、摂取24週後において18.5減少し、摂取24週後 (P = 0.022) に有意差が認められた。結果を表20に示す。

[0086] [表20]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
髪のパリュームのなさ	—	13	77.8 ± 5.6	76.7 ± 5.0	P = 0.979	59.3 ± 6.3	P = 0.022 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図14に示す。

[0087] 7) 地肌(頭皮)の目立ち具合感

摂取前において78.0 ± 6.3、摂取12週後において77.8 ± 4.5、摂取24週後において63.4 ± 4.9であった。摂取前と比較して、摂取12週後において0.2、摂取24週後において14.6減少し、摂取24週後には有意傾向が認められた (P < 0.1)。結果を表21に示す。

[0088] [表21]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
地肌(頭皮)の目立ち具合	—	13	78.0 ± 6.3	77.8 ± 4.5	P = 1.000	63.4 ± 4.9	P = 0.057 †
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)†: P < 0.10							

また、グラフを図15に示す。

[0089] 8) 頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合感

摂取前において80.8 ± 5.0、摂取12週後において80.5 ± 4.5、摂取24週後において63.5 ± 4.3であった。摂取前と比較して、摂取12週後において0.3、摂取24週後において17.3減少し、摂取24週後 (P = 0.013) に有意差が認められた。結果を表22に示す。

[0090] [表22]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合	—	13	80.8 ± 5.0	80.5 ± 4.5	P = 0.999	63.5 ± 4.3	P = 0.013 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図16に示す。

[0091] 9) 抜け毛の量の実感

摂取前において67.3 ± 8.5、摂取12週後において60.5 ± 4.8、摂取24週後において44.4 ± 4.8であった。摂取前と比較して、摂取12週後において6.8、摂取24週後において22.9減少し、摂取24週後 (P = 0.011) に有意差が認められた。結果を表23に示す。

[0092] [表23]

項目	単位	n数	摂取前	摂取12週後	P値	摂取24週後	P値
抜け毛の量が減った実感	—	13	67.3 ± 8.5	60.5 ± 4.8	P = 0.581	44.4 ± 4.8	P = 0.011 *
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 摂取前)*: P < 0.05							

また、グラフを図17に示す。

4. 臨床試験における塗布試験

上述の毛乳頭細胞賦活試験より、*Lactobacillus plantarum*が高活性を有することが明らかとなった。試験した3種のうち、最も活性の高かったN793株 (NITE BP-03233) の有効性を乳酸菌含有ヘアローションを利用した臨床試験にて検証した。

[0093] ○乳酸菌の培養

乳酸菌を表3に示すMRS培地（ベクトン・ディッキンソン社製）で37℃・24時間培養した。次いで、遠心分離機を用いて増殖させた菌体を集菌した。集菌した菌体を滅菌水で洗浄し、遠心分離機で集菌を行った。洗浄と集菌を繰り返し3回行った。95℃・15分で加熱殺菌後、再度遠心分離機で集菌を行った。凍結乾燥機を用いて集菌した菌体を凍結乾燥し、乳酸菌粉末を得た。

[0094] ○実施例のローションの製造

乳酸菌粉末および他の成分を配合した化粧品および医薬部外品としての乳酸菌含有ヘアローション（水やアルコールを主剤とするタイプ）を製造した。尚、乳酸菌粉末以外の他の成分として、水、エタノール、DPG（ジプロピレングリコール）、カルボマー（カルボキシビニルポリマー）、水酸化カルシウム、PEG-水添ヒマシ油を利用した。

より、具体的には脂溶性原料と水溶性原料をそれぞれ加温して溶解させた後、真空乳化装置を用いて攪拌（乳化）することにより製造した。また、乳酸菌粉末を20mg/3mL配合した。

このようにして、乳酸菌含有ヘアローションの製造を完了した。当該ヘアローションを用いて次の臨床試験を実施した。

[0095] ・被験者

被験者は次の１）～４）の基準で選択した。

- １）同意取得時の年齢が２０歳以上５９歳以下の日本人男性及び女性
- ２）薄毛を自覚する者
- ３）試験期間中、これまで行っていた調髪法（髪の長さ、髪型、パーマ等）及び染毛法（染毛剤）および洗髪法（洗髪剤）を変えないことに同意可能な者
- ４）専門家による局所毛髪カット（頭部正中線と左右の耳輪最上部を結んだ線（横線）の交点から、横線上で右外側約３ｃｍのところを約１ｃｍ×１ｃｍ範囲、約０．５ｍｍの長さを残しバリカン処理した。）に同意可能な者

実際に被験者の人数は、１２人であった。そのうち、男性は７人、女性は５人であった。また、平均年齢は４８．８３±１．９１歳であった。

[0096] ・使用方法

前述の試験品の頭皮への使用方法は表２４のように行った。

[0097] [表24]

試験品	時間帯	時期	使用量	使用方法
乳酸菌含有ヘアローション)	朝又は夜	洗髪後または就寝前	１目盛り（３ｍＬ）／回	朝の洗髪後３０分以内に、１目盛り（３ｍＬ）使用。朝に洗髪しない場合または使用を忘れた場合は、夜の洗髪後３０分以内に使用。夜の洗髪時にも忘れた場合は、就寝前に使用。使用は１日１回のみとし、当日中の使用を忘れた場合は、翌日には持ち越さない。

[0098] ・被験者の頭部毛髪の観察スケジュール

被験者の頭部毛髪の観察スケジュールについては、以下のスケジュールにて実施した。

観察回数は６回とし、観察時期として、使用前、使用２日後、使用１２週後、使用１２週＋２日後、使用２４週後、使用２４週＋２日とした。また、乳酸菌含有ヘアローションの自宅使用期間は１６８日間とした。

[0099] ・試験結果

被験者の頭部毛髪の観察（毛髪解析）として、デジタルマイクロスコープ（ＨＩＲＯＸ社、ＫＨ－２０００）を用いて、前述した局所毛髪カット領域

(1 cm × 1 cm) の毛髪について調べた。

検査項目としては、毛髪解析として、全体本数、毛の本数、毛の太さ、非軟毛本数、抜け毛解析等の検査を実施した。使用前と使用12週後、使用前と使用24週後をDunnettの検定で統計解析を行った(+: $P < 0.1$ *: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$ ***: $P < 0.001$)。+: $P < 0.1$ を有意傾向あり、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。各項目についての結果を以下に示す。

[0100] ○毛髪解析／全体本数

使用前において179.2 ± 6.9本、使用12週後において182.6 ± 7.8本、使用24週後において193.3 ± 7.2本であった。使用前と比較して、使用12週後において+3.4、使用24週後において+14.1であり、使用24週後 ($P = 0.002$) に有意差が認められた。結果を表25に示す。

[0101] [表25]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
全体本数	本	12	179.2 ± 6.9	182.6 ± 7.8	$P = 0.557$	193.3 ± 7.2	$P = 0.002$ **

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) **: $P < 0.01$

[0102] また、グラフを図18に示す。

[0103] ○毛髪解析／毛の太さ

使用前において60.4 ± 3.1 μm、使用12週後において60.6 ± 3.1 μm、使用24週後において62.9 ± 3.4 μmであった。使用前と比較して、使用12週後において+0.2、使用24週後において+2.5であり、使用24週後 ($P = 0.051$) に有意傾向が認められた。結果を表26に示す。

[0104] [表26]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
平均直径	μm	12	60.4 ± 3.1	60.6 ± 3.1	$P = 0.962$	62.9 ± 3.4	$P = 0.051$ †

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) †: $P < 0.10$

また、グラフを図19に示す

[0105] ○毛髪解析／非軟毛本数 (しっかりとした硬い毛、毛径40 μm以上)

毛髪のうち、毛径 $40\text{ }\mu\text{m}$ 以上のしっかりとした硬い毛の本数についての結果は、使用前において 145.8 ± 8.8 本、使用 12 週後において 146.9 ± 8.6 本、使用 24 週後において 162.1 ± 9.5 本であった。使用前と比較して、使用 12 週後において $+1.1$ 、使用 24 週後において $+16.3$ であり、使用 24 週後 ($P < 0.001$) に有意差が認められた。結果を表 27 に示す。

[0106] [表27]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
非軟毛本数	本	12	145.8 ± 8.8	146.9 ± 8.6	$P = 0.945$	162.1 ± 9.5	$P < 0.001$ ***

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) ***: $P < 0.001$

[0107] また、グラフを図 20 に示す。

[0108] ○毛髪解析／抜け毛解析

美容師による洗髪・乾燥の後、抜けた毛を集め、本数を測定した。使用前において 152.3 ± 31.5 本、使用 12 週後において 95.1 ± 20.4 本、使用 24 週後において 84.5 ± 24.3 本であった。使用前と比較して、使用 12 週後において -57.2 、使用 24 週後において -67.8 であり、使用 12 週後 ($P = 0.002$)、使用 24 週後 ($P < 0.001$) に有意差が認められた。結果を表 28 に示す。

[0109] [表28]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
抜け毛本数	本	12	152.3 ± 31.5	95.1 ± 20.4	$P = 0.002$ **	84.5 ± 24.3	$P < 0.001$ ***

平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) **: $P < 0.01$ ***: $P < 0.001$

また、グラフを図 21 に示す。

[0110] ○VAS アンケート (ローション)

洗髪時の抜け毛感、毛のハリ・コシのなさ、毛の細さ、毛の丈夫さ (毛が丈夫でないこと)、髪のボリュームのなさ、地肌 (頭皮) の目立ち具合、頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合、抜け毛の量が減った実感、についての Visual Analogue Scale 法によるアンケート (VAS アンケート) を実施した。

[0111] 尚、Visual Analogue Scale 法によるアンケート (

VAS アンケート) とは、両端を極端な状態として、表記した長さ 100 mm の線分上に、被験者自身に記入時の主観的な感覚を垂直な 1 本線で表してもらい、端からその垂線までの長さを測定して VAS スコアとすることとするものである。被験者の主観的な感覚を評価した方法に関するものである。

[0112] 今回の評価では、例えば、「洗髪時の抜け毛感」の評価では、左端を「洗髪時の抜け毛感（排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など）が全くないという感覚」（スコア 0）とし、右端を「洗髪時の抜け毛感（排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など）が著しく最悪の感覚」（スコア 100）として 100 mm の線分上で回答してもらった。したがって、数字が小さいほど、良い評価となる。

[0113] 1) 洗髪時の抜け毛感（排水口の毛、髪を拭いたタオルについた毛など）

使用前において 65.8 ± 7.8 、使用 12 週後において 55.0 ± 7.1 、使用 24 週後において 50.7 ± 4.6 であった。使用前と比較して、使用 12 週後において -10.8 、使用 24 週後において -15.1 であり、使用 24 週後 ($P < 0.10$) に有意傾向が認められた。結果を表 29 に示す。

[0114] [表29]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
洗髪時の抜け毛	—	12	65.8 ± 7.8	55.0 ± 7.1	$P = 0.185$	50.7 ± 4.6	$P = 0.051$ †
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) †: $P < 0.10$							

また、グラフを図 22 に示す。

[0115] 2) 毛のハリ・コシのなさ感

使用前において 78.5 ± 4.0 、使用 12 週後において 63.4 ± 4.5 、使用 24 週後において 58.8 ± 6.2 であった。使用前と比較して、使用 12 週後において -15.1 、使用 24 週後において -19.7 であり、使用 12 週後 ($P = 0.015$)、使用 24 週後 ($P = 0.002$) に有意差が認められた。結果を表 30 に示す。

[0116]

[表30]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
毛のハリ・コシのなさ	—	12	78.5 ± 4.0	63.4 ± 4.5	P = 0.015 *	58.8 ± 6.2	P = 0.002 **
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前)*: P < 0.05 **: P < 0.01							

[0117] また、グラフを図23に示す。

[0118] 3) 毛の細さ感

使用前において78.0 ± 3.8、使用12週後において66.0 ± 5.3、使用24週後において61.3 ± 5.8であった。使用前と比較して、使用12週後において-12.0、使用24週後において-16.7であり、使用12週後 (P = 0.026)、使用24週後 (P = 0.002) に有意差が認められた。結果を表31に示す。

[0119] [表31]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
毛の細さ	—	12	78.0 ± 3.8	66.0 ± 5.3	P = 0.026 *	61.3 ± 5.8	P = 0.002 **
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前)*: P < 0.05 **: P < 0.01							

また、グラフを図24に示す。

[0120] 4) 毛の丈夫さの無さ感

使用前において77.1 ± 3.7、使用12週後において62.4 ± 4.6、使用24週後において56.3 ± 5.5であった。使用前と比較して、使用12週後において-14.7、使用24週後において-20.8であり、使用12週後 (P = 0.008)、使用24週後 (P < 0.001) に有意差が認められた。結果を表32に示す。

[0121] [表32]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
毛が丈夫でないこと	—	12	77.1 ± 3.7	62.4 ± 4.6	P = 0.008 **	56.3 ± 5.5	P < 0.001 ***
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前)*: P < 0.05 **: P < 0.01 ***: P < 0.001							

また、グラフを図25に示す。

[0122] 5) 髪のパリュームの無さ感

使用前において83.3 ± 3.5、使用12週後において72.6 ± 6.5、使用24週後において66.3 ± 4.9であった。使用前と比較して、

使用12週後において -10.7 、使用24週後において -17.0 であり、使用24週後 ($P = 0.006$) に有意差が認められた。結果を表33に示す。

[0123] [表33]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
髪のパリュームのなさ	—	12	83.3 ± 3.5	72.6 ± 6.5	$P = 0.083$	66.3 ± 4.9	$P = 0.006^{**}$
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) **: $P < 0.01$							

また、グラフを図26に示す。

[0124] 6) 地肌(頭皮)の目立ち具合感

使用前において 84.6 ± 4.0 、使用12週後において 68.3 ± 8.0 、使用24週後において 64.5 ± 5.3 であった。使用前と比較して、使用12週後において -16.3 、使用24週後において -20.1 であり、使用12週後 ($P = 0.024$)、使用24週後 ($P = 0.006$) に有意差が認められた。結果を表34に示す。

[0125] [表34]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
地肌(頭皮)の目立ち具合	—	12	84.6 ± 4.0	68.3 ± 8.0	$P = 0.024^{*}$	64.5 ± 5.3	$P = 0.006^{**}$
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) *: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$							

また、グラフを図27に示す。

[0126] 7) 頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合感

使用前において 82.8 ± 4.2 、使用12週後において 69.3 ± 8.3 、使用24週後において 65.8 ± 5.2 であった。使用前と比較して、使用12週後において -13.5 、使用24週後において -17.0 であり、使用24週後 ($P = 0.030$) に有意差が認められた。結果を表35に示す。

[0127] [表35]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
頭頂部や生え際・分け目の目立ち具合	—	12	82.8 ± 4.2	69.3 ± 8.3	$P = 0.088$	65.8 ± 5.2	$P = 0.030^{*}$
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) *: $P < 0.05$							

また、グラフを図28に示す。

[0128] 8) 抜け毛の量が減った実感

使用前において 83.1 ± 5.7 、使用12週後において 61.9 ± 6.7 、使用24週後において 44.7 ± 5.3 であった。使用前と比較して、使用12週後において -21.2 、使用24週後において -38.4 であり、使用12週後 ($P = 0.028$)、使用24週後 ($P < 0.001$) に有意差が認められた。結果を表36に示す。

[0129] [表36]

項目	単位	n数	使用前	使用12週後	P値	使用24週後	P値
抜け毛の量が減った実感	—	12	83.1 ± 5.7	61.9 ± 6.7	$P = 0.028$ *	44.7 ± 5.3	$P < 0.001$ ***
平均値±標準誤差 Dunnett (vs 使用前) *: $P < 0.05$ ***: $P < 0.001$							

また、グラフを図29に示す。

[0130] 本出願は、2020年10月21日出願の日本特許出願・出願番号2020-176970、2021年10月20日出願の日本特許出願・出願番号2021-171280及び出願番号2021-171281に基づくものであり、その内容はここに参照として取り込まれる。

[0131]

0-1	様式 PCT/RO/134 この寄託された微生物又はその他の生物材料に関する表示 (PCT規則13の2)は、 右記によって作成された。	JPO-PAS i430
0-1-1		
0-2	国際出願番号	PCT/JP2021/038824
0-3	出願人又は代理人の書類記号	PNSH-00685W0

1	下記の表示は発明の詳細な説明中に記載された微生物又は生物材料に関連している。	
1-1	段落番号	0013
1-3	寄託の表示	
1-3-1	寄託機関の名称	NPMD (独)製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(NPMD)
1-3-2	寄託機関のあて名	日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室
1-3-3	寄託の日付	2020年 07月 31日 (31.07.2020)
1-3-4	受託番号	NPMD NITE BP-03233
1-5	この表示を行うための指定国	すべての指定国

受理官庁記入欄

0-4	この用紙は国際出願とともに受理した (はい/いいえ)	✓
0-4-1	権限のある職員	永井 恒男

国際事務局記入欄

0-5	この用紙が国際事務局に受理された日	
0-5-1	権限のある職員	

差替え用紙(規則26)

請求の範囲

- [請求項1] 人体における発毛又は育毛効果を有する乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項2] 前記飲食品が、清涼菓子、乳酸菌含有食品、乳酸菌飲料及び清涼飲料水の名称からなる群より選択されるいずれか一つである請求項1に記載の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項3] 前記飲食品、医薬部外品又は医薬品がタブレット錠剤である請求項1又は2に記載する乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項4] 前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム種に属する請求項1～3のいずれかに記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項5] 前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラムN793株（N I T E B P - 0 3 2 3 3）である乳酸菌、その培養液又は発酵産物である請求項1～4のいずれかに記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項6] 前記化粧品、医薬部外品又は医薬品が塗布剤である請求項1に記載の乳酸菌、その培養液又は発酵産物を含有する飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項7] 前記化粧品、医薬部外品又は医薬品が軟膏、クリーム又はローションである請求項6に記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項8] 前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラム種に属する請求項6又は7に記載の飲食品、化粧品、医薬部外品又は医薬品。
- [請求項9] 前記乳酸菌、その培養液又は発酵産物がラクトバチルス・プランタラムN793株（N I T E B P - 0 3 2 3 3）である乳酸菌、その培養液又は発酵産物である請求項6～8のいずれかに記載の飲食品、

化粧品、医薬部外品又は医薬品。