

(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
2010 年 3 月 11 日(11.03.2010)



(10) 国際公開番号
WO 2010/027014 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/7076 (2006.01) A61K 47/12 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2009/065403

(22) 国際出願日:

2009 年 9 月 3 日(03.09.2009)

(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 2008-227203 2008 年 9 月 4 日(04.09.2008) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社カネカ(KANEKA CORPORATION) [JP/JP];
〒5308288 大阪府大阪市北区中之島三丁目 2-4 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 久保 博司(KUBO, Hiroshi) [JP/JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP). 上田 真(UEDA, Makoto) [JP/JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP). 川島 唯(KAWASHIMA, Yui) [JP/JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP). 三木 隆二(MIKI, Ryuji) [JP/JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP). 松本 朱華(MATSUMOTO, Shuka) [JP/JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP).

JP]; 〒6768688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8 株式会社カネカ内 Hyogo (JP).

(74) 共通の代表者: 株式会社カネカ(KANEKA CORPORATION); 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島三丁目 2-4 Osaka (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, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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: METHOD FOR IMPROVING ABSORPTION OF S-ADENOSYL-L-METHIONINE, AND COMPOSITION HAVING IMPROVED S-ADENOSYL-L-METHIONINE ABSORPTION

(54) 発明の名称: S-アデノシル- L-メチオニンの吸収性を高める方法および S-アデノシル- L-メチオニンの吸収性が高められた組成物

(57) Abstract: The absorption of S-adenosyl-L-methionine can be improved by ingesting S-adenosyl-L-methionine concomitantly with a polycarboxylic acid. S-Adenosyl-L-methionine is mixed with a polycarboxylic acid to provide a composition which is improved in the absorption of S-adenosyl-L-methionine. The composition thus produced can be used as a food, a food with a nutrient function, a food for specified health uses, a nutritional supplement, a nutrient, a beverage, a veterinary medicine, a feed, a cosmetic, a quasi drug, a drug, a therapeutic agent, a prophylactic agent or the like without any modification, or can be processed into the above-mentioned product.

(57) 要約: S-アデノシル- L-メチオニンと多価カルボン酸を併用摂取することにより、S-アデノシル- L-メチオニンの吸収性を高めることが可能になる。S-アデノシル- L-メチオニンに多価カルボン酸を添加することにより、S-アデノシル- L-メチオニンの吸収性が高められた組成物が得られる。得られた組成物は、そのままあるいは加工して、食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、飲料、動物薬、飼料、化粧品、医薬部外品、医薬品、治療薬または予防薬等に使用できる。

WO 2010/027014 A1

明 細 書

発明の名称：

S－アデノシル－L－メチオニンの吸収性を高める方法およびS－アデノシル－L－メチオニンの吸収性が高められた組成物

技術分野

[0001] 本発明は、S－アデノシル－L－メチオニンの吸収性を高める方法およびS－アデノシル－L－メチオニンの吸収性が高められた組成物に関するものである。

背景技術

[0002] S－アデノシル－L－メチオニン（以下SAMと略す）は、生体組織に広く存在し、核酸、神経伝達物質、リン脂質、ホルモン、タンパク質などの合成・代謝におけるメチル基供与体、または、酵素活性化因子として数多くの生物反応に関与する物質である。また、SAMはアルコール性肝炎やその他の肝臓障害、鬱病、骨関節症、老人性痴呆症に対して有効であることが知られている。

[0003] このようにSAMは生体にとって重要な物質であるが、SAMを経口摂取した場合、吸収率が低く、生体利用率も低いことが明らかとなっており（非特許文献1）、効果の観点から吸収性を高めることが求められている。そこで、SAMの経口吸収性を高めるための試みがいくつかなされてきている。

[0004] 例えば、SAMの塩を腸に直接投与した場合には、顕著な程度に吸収されることを根拠に、SAMの塩を含有する経口使用のための、胃内耐性で、腸溶性の治療用組成物が開示されている（特許文献1）。また、SAMの塩とモノカルボン酸及び／またはその塩を共存させることでSAMの吸収性、生体利用率が改善されることが示されている（特許文献2）。さらには、水溶性SAM塩及び有機ナトリウム塩からなる組成物により吸収率が改善されることが開示されている（特許文献3）。

[0005] しかしながら、これらの試みは、腸溶性の付与が必要であったり、吸収性

改善のために加える添加物の安全性に問題があったり、また吸収率の改善の程度が不十分であるなどの問題があり、真に実用性のあるものとは言いがたく、SAMの吸収性向上の試みがこれまでに十分に行われている状況ではない。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開昭60－72815号公開公報
特許文献2：特開昭59－175433号公開公報
特許文献3：特開昭60－255735号公開公報

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：J. Pharmacol. Exp. Ther., 209, 323 (1979)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 本発明は、上記の点を鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、SAMの吸収性を高める方法、SAMの吸収性が高められた組成物ならびにその製造方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

- [0009] 本発明者等が上記課題を解決するために鋭意研究した結果、SAMと多価カルボン酸を併用摂取することでSAMの吸収性が高められることを見いだした。したがって、SAMと多価カルボン酸を併用摂取することにより、肝機能改善、鬱病、骨間接症、老人性痴呆症等のSAMが有効に作用すると考えられるあらゆる症状／病態に対して高い効果を期待することができる。
- [0010] すなわち、本発明は下記の内容に関する。
- [0011] 本発明の特徴の一つは、SAMと多価カルボン酸を併用摂取することの特徴とする、SAMの吸収性を高める方法である。
- [0012] 本発明の特徴の一つは、SAMと多価カルボン酸を含む、SAMの吸収性が高められた組成物である。

[0013] 本発明の特徴の一つは、上記組成物を含んでなる食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、飲料、動物薬、飼料、化粧品、医薬部外品、医薬品、治療薬または予防薬である。

[0014] 本発明の特徴の一つは、上記組成物を含んでなる抗鬱剤である。

[0015] 本発明の特徴の一つは、SAMに多価カルボン酸を添加することを特徴とする、SAM含有組成物の製造方法である。

発明の効果

[0016] SAMと多価カルボン酸を併用摂取することで、SAMの吸収性を高めることができる。

発明を実施するための形態

[0017] 以下、実施形態に基づいて本発明を詳細に説明する。本発明の範囲は、実施形態および実施例によって限定されるものではない。

[0018] 本発明で用いられるSAMの製造方法は、特に限定されず、化学合成による方法でも良く、また微生物を培養する方法でも良い。通常SAMは(SS)-S-アデノシル-L-メチオニン(以下(SS)-SAMと略する)、及び(RS)-S-アデノシル-L-メチオニン(以下(RS)-SAMと略する)の2種類のジアステレオ異性体の混合物からなる。しかし、2種類のジアステレオ異性体のうち(SS)-SAMのみが酵素的なメチル基転移反応の活性を有しており、この(SS)-SAMが非酵素的にエピメリ化することにより不活性な(RS)-SAMが生成することが知られている。SAMの工業的な製造に関しては、上述した化学合成方法、および微生物(例えば、サッカロマイセス属酵母など)を培養する方法が知られているが、活性型である(SS)-SAMのジアステレオマー比が高いSAMを使用する観点からは、後者の方法が望ましい。

[0019] 本発明で用いられるSAMは、特に限定されず、精製された純度の高いものであってもよく、SAMを含有する微生物の抽出物であってもよく、SAMを含有する微生物であってもよい。活性型である(SS)-SAMを安価に摂取する観点からは、(SS)-SAMを十分に含んだ微生物もしくは微

生物抽出物の摂取が好ましい。

[0020] 本発明でSAMを含有する微生物を用いる場合、SAMを含有するものであればいずれでもよいが、SAMを乾燥重量当たり1重量%以上含有する微生物であることが好ましい。また、SAMを乾燥重量当たり5重量%以上含有する微生物であることが好ましく、さらにSAMを乾燥重量当たり10重量%以上含有する微生物であることがより好ましい。また、食品やサプリメント用途に用いる観点から、食経験のある微生物であることが好ましい。

[0021] 本発明で用いられる微生物としては、特に限定されないが、例えばサッカロマイセス属、キャンディダ属、ピキア属、ムコアー属、リゾパス属、ブレビバクテリウム属、コリネバクテリウム属、エシェリヒア属、ストレプトマイセス属等に属する微生物が挙げられ、サッカロマイセス属に属する微生物が好ましい。具体的な例としては、清酒酵母、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母等の微生物が挙げられる。さらに好ましくは、サッカロマイセス・セルビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) K-6株(清酒酵母協会6号)が挙げられる。

[0022] なお、本発明に用いる微生物としては、上述した微生物の野生株であっても良いし、変異改良された変異株であってもよい。変異株は、UV照射や、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(NTG)、エチルメタンサルフォネート(EMS)等の薬剤による処理といった当業者に周知の方法で取得することができる。更に、遺伝子組換え等の方法を用いて、SAMを高生産するように作製された形質転換微生物を用いることもできる。SAMを含有する微生物は、生菌体でも、死菌体でも良く、また、湿菌体でも、乾燥菌体でも良い。

[0023] 本発明でSAMを含有する微生物抽出物を用いる場合は、上記の微生物菌体を、破碎し、必要に応じて不溶分を遠心分離、ろ過などの方法により除去することにより得ることができる。微生物菌体の破碎方法は特に限定されないが、例えば、高圧分散処理などの高圧破碎により破碎する方法、ビーズミルなどの機械的破碎により破碎する方法、酸またはアルカリを添加すること

により破碎する方法、界面活性剤を添加することにより破碎する方法、凍結融解により破碎する方法、加熱処理により破碎する方法、タンパク質分解酵素、細胞壁溶解酵素などを用いて破碎する方法、酵母中の酵素を利用して自己消化により破碎する方法などが挙げられる。

[0024] 好ましくは高压分散処理などの高压破碎により破碎する方法、酸またはアルカリを添加することにより破碎する方法、加熱処理により破碎する方法が挙げられ、さらに好ましくは、高压分散処理などの高压破碎により破碎する方法が挙げられる。言うまでもなく、これらの破碎方法を2つ以上組み合わせて用いることもできる。

[0025] 本発明で用いられるSAMを含有する微生物抽出物中のSAMの含量の上限は、99重量%以下であることが好ましく、90重量%以下であることがより好ましく、80重量%以下であることがさらに好ましい。また、本発明で用いられるSAMを含有する微生物抽出物中のSAMの含量の下限は、1重量%以上であることが好ましく、2重量%以上であることがより好ましく、5重量%以上であることがさらに好ましい。

[0026] SAMを含有する微生物抽出物の形態は、水抽出液であっても良く、アルコール等による溶媒抽出液であっても良く、さらにこれらを濃縮・乾燥して得られる濃縮体、乾燥体であっても良い。SAMを含有する微生物抽出物の例として例えば、SAM含有乾燥酵母菌体エキスが挙げられる。

[0027] 本発明で用いられるSAMの組成物中での存在様式は、特に限定されず、例えばフリー体、塩のいずれでもあっても良く、またそれらが混合した状態であってもよい。

[0028] 本発明に用いられる多価カルボン酸としては、SAMの吸収性を高める性質を有するものであれば特に限定されるわけではないが、本発明のSAMの吸収性を高める方法およびSAMの吸収性が高められた組成物を食品やサプリメント用途に用いる観点からは、食品添加物として使用可能な多価カルボン酸を用いるのが好ましく、例えば、アジピン酸、シュウ酸、クエン酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、リンゴ酸、グルタミン酸、葉酸などが挙げられ

るが、中でもフマル酸、酒石酸が好ましい。

[0029] 本発明における併用摂取とは、胃内でSAMと多価カルボン酸が共存する状態となるように摂取することを意味し、SAMと多価カルボン酸を同時に摂取してもよく、または連続摂取してもよい。SAMと多価カルボン酸を連続摂取する場合において、摂取する順序は、特に限定されない。

[0030] また、本発明におけるSAMの吸収性が高められた組成物は、液体形態でも乾燥させた固体形態であってもよい。乾燥方法としては特に限定されないが、例えば噴霧乾燥、凍結乾燥、減圧乾燥、通気乾燥等を挙げることができる。また、これらの乾燥方法を2つ以上組み合わせて用いることもできる。

[0031] 乾燥させる場合、多価カルボン酸を添加するタイミングは乾燥前、乾燥後のいずれでも良いが、不安定な物質であるSAMを安定に保持する観点からは、乾燥後に多価カルボン酸を添加するのが好ましい。ここでいう、乾燥後とは乾燥工程から実際に経口摂取するまでの間を意味し、できるだけ摂取される直前に多価カルボン酸と混合されることが好ましい。

[0032] 本発明で用いられる多価カルボン酸の量の下限は、特に限定されるわけではないが、SAM 100重量部に対して、0.5重量部以上であることが好ましく、5重量部以上であることがより好ましく、100重量部以上であることがさらに好ましい。あるいは、SAMを含有する微生物および／またはSAMを含有する微生物抽出物100重量部に対して、0.1重量部以上であることが好ましく、1重量部以上であることがより好ましく、20重量部以上であることがさらに好ましい。

[0033] また、本発明で用いられる多価カルボン酸の量の上限は、特に限定されるわけではないが、SAM 100重量部に対して、500重量部以下であることが好ましく、350重量部以下であることがより好ましく、250重量部以下であることがさらに好ましい。あるいは、SAMを含有する微生物および／またはSAMを含有する微生物抽出物100重量部に対して、100重量部以下であることが好ましく、70重量部以下であることがより好ましく、50重量部以下であることがさらに好ましい。

- [0034] また、本発明で用いられる多価カルボン酸は、 pK_a 1の値が4以下であるものが好ましく、3.5以下であるものがさらに好ましく、3以下であるものがとりわけ好ましい。
- [0035] また、本発明によって得られる組成物中のSAMの安定性を向上させるために、SAMの化学的分解及び／又はエピメリ化の抑制効果を有する安定化剤を添加することができる。安定化剤としては、SAMの化学的な分解及び／又はエピメリ化を抑制する性質を有するものであれば特に限定されないが、本発明の組成物を食品やサプリメント用途に用いる観点からは、食品添加物として使用可能な化合物を用いるのが好ましい。
- [0036] 上記安定化剤としては、例えば、無機酸類及びそれらの塩、有機酸類及びそれらの塩、糖類及びその誘導体、アミノ酸類またはペプチド類及びそれらの塩などを挙げることができる。好ましくは2価のカチオンと酸から形成される塩であり、例えば、硫酸亜鉛、硫酸銅などを挙げることができる。さらに好ましくはマグネシウム、又はカルシウムと酸から形成される塩であり、例えば硫酸マグネシウム、硫酸カルシウムなどを挙げることができる。これらの安定化剤は単独で用いてもよいし、2種類以上の安定化剤を組み合わせ用いてもよい。
- [0037] 本発明で開示した組成物の調製において、多価カルボン酸を添加するタイミングは、特に限定されないが、上記安定化剤を用いる際には、安定化剤を添加した後に酸を添加するのが好ましい。
- [0038] 本発明によって得られる組成物中に、SAM以外の抗鬱効果があるされる成分を添加しても良い。SAM以外の抗鬱効果があるとされる成分としては、特に限定されるわけではないが、例えば、チロシン、アセチルチロシン、トリプトファン、5-ヒドロキシトリプトファン、メチオニン、フェニルアラニン、セントジョーンズワート、亜鉛、マンガン、マグネシウム、ビタミンB12、ナイアシン、葉酸などが挙げられる。
- [0039] 本発明で得られる組成物は、そのままあるいは加工して、食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、飲料、動物薬、飼料、化粧品

、医薬部外品、医薬品、治療薬または予防薬等に使用できる。本発明の組成物の加工形態としては、マイクロカプセル、ハードカプセル、ソフトカプセル等のカプセル剤（好ましくはマイクロカプセル、ソフトカプセル）、錠剤、散剤、チュアブル錠、顆粒剤、丸剤、シロップ、飲料等の経口投与形態や、クリーム、坐薬、練り歯磨き等の形態に更に加工しても使用しうる。好ましい加工形態は、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤、チュアブル錠、丸剤であり、特に好ましくは、錠剤、チュアブル錠、カプセル剤である。

[0040] カプセル剤とする場合、カプセル基材としては特に制限されず、牛骨、牛皮、豚皮、魚皮等を由来とするゼラチンをはじめとして、他の基材（例えば、食品添加物として使用しうるカラギーナン、アルギン酸等の海藻由来品、ローカストビーンガムやグアーガム等の植物種子由来品、アラビアガム等の植物分泌液由来品等の増粘安定剤やセルロース類を含む製造用剤）も使用しうる。

[0041] 本発明で得られる組成物に水を加えてSAM濃度を20mg/mLの溶液もしくは懸濁液とした時のpHの下限は、0以上であることが好ましく、1以上であることがより好ましい。また、本発明で得られる組成物に水を加えてSAM濃度を20mg/mLの溶液もしくは懸濁液とした時のpHの上限は、4以下であることが好ましく、3以下であることがより好ましい。

実施例

[0042] 以下に本発明の具体的な実施例を示すが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

[0043] （参考例1）SAM含有微生物の培養

サッカロマイセス・セルビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) K-6株をスクロース150g/L、エタノール18g/L、酵母エキス10g/L、L-メチオニン10g/L、尿素18g/L、グリシン2g/L、リン酸二水素カリウム4g/L、硫酸マグネシウム七水和物0.2g/L、ビオチン2mg/L、塩化カルシウム二水和物0.2g/L、硫酸亜鉛七水和物10mg/L、硫酸第一鉄七水和物5mg/L、硫酸マンガン四水和物5mg/L

L、塩化コバルト六水和物 0.2 mg/L、硫酸銅五水和物 0.1 mg/L、ヨウ化カリウム 0.1 mg/L からなる培地に植菌し、5 L ジャー培養器内において 30℃ にて通気攪拌して、4 日間培養した。得られた培養液から酵母菌体を遠心分離により回収した。この酵母菌体に培養液と同量の脱イオン水を加えて懸濁後、遠心分離にて酵母菌体を回収する洗浄操作を 2 回行い、SAM を含有する酵母菌体を得た。

[0044] 得られた酵母菌体中の SAM 含量は、酵母菌体の乾燥重量に対して 12 重量%であった。なお、酵母菌体中に含まれる SAM の含量は高速液体クロマトグラフィーを用いて、以下の要領にて分析した。

[0045] [HPLC 分析条件]

カラム: Develosil ODS-HG5 (4.6 mmφ × 250 mm、野村化学社製)、溶離液: 60 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 2.5)、8 mM 1-デカンスルホン酸ナトリウム/メタノール = 53/47、流速: 0.5 ml/分、カラム温度: 25℃、測定波長: 254 nm。

[0046] (参考例 2)

参考例 1 で得られた酵母菌体を培養液の 6 分の 1 容量の脱イオン水に懸濁し、圧力破碎 (HOMOGENIZER Rannie 2000 型使用) にて菌体を破碎後、pH を 4 に調整し、遠心分離により不溶分を除去して、酵母菌体エキスを得た。得られた酵母菌体エキスを、SAM の 1 モルあたり 3 モルの硫酸マグネシウムと、酵母菌体エキス乾燥重量の 20 重量% のデキストリンを添加し、-80℃ にて凍結後、凍結乾燥した。これを SAM 含有乾燥酵母菌体エキスとした。

[0047] (実施例 1)

参考例 2 で得られた SAM 含有乾燥酵母菌体エキス 100 重量部に対し、50 重量部となるようにクエン酸を添加、混合し、クエン酸と SAM 含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0048] (実施例 2)

参考例 2 で得られた SAM 含有乾燥酵母菌体エキス 100 重量部に対し、

50重量部となるように酒石酸を添加、混合し、酒石酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0049] (実施例3)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、50重量部となるようにフマル酸を添加、混合し、フマル酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0050] (実施例4)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、50重量部となるようにコハク酸を添加、混合し、コハク酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0051] (実施例5)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、50重量部となるようにリンゴ酸を添加、混合し、リンゴ酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0052] (実施例6)

実施例1～5で得られた組成物に、SAMの濃度が20mg/mLとなるよう蒸留水を加えて溶解又は懸濁し、SDラット（雄、10週齢）に体重1kgあたり5mLの投与量で経口投与した。また、比較対照例として、参考例2にて得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキスをSAMが同濃度になるよう蒸留水に溶解したものを同様に経口投与した。なお、本実施例では、各組成物について3匹のラットを使用した。投与後1、2、3、および5時間目に無麻酔下で抗凝固剤としてヘパリンを用いて頸静脈より血液を採取し、遠心分離により血漿成分を取得した。得られた血漿200μLに0.4g/Lのトリクロロ酢酸水溶液40μLを添加、混合後、遠心分離を行い、得られた上清中のSAM濃度をHPLCを用いて測定し、結果を表1に示した。

[0053]

[表1]

	血漿中濃度(μg/mL)			
	1時間後	2時間後	3時間後	5時間後
参考例2 酵母菌体エキス	0.60±0.06	0.61±0.08	0.44±0.08	0.26±0.02
実施例1 酵母菌体エキス+クエン酸	1.03±0.02	0.69±0.11	0.52±0.09	0.29±0.07
実施例2 酵母菌体エキス+酒石酸	1.17±0.34	0.92±0.07	0.78±0.18	0.45±0.18
実施例3 酵母菌体エキス+フマル酸	1.81±0.95	0.72±0.04	0.45±0.08	0.24±0.04
実施例4 酵母菌体エキス+コハク酸	1.07±0.33	0.80±0.17	0.65±0.22	0.40±0.10
実施例5 酵母菌体エキス+リンゴ酸	1.04±0.26	0.68±0.17	0.49±0.07	0.28±0.07

値は、平均±標準偏差

[0054] 表1に示したように、投与1時間後の血漿中濃度は、参考例2にて得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス投与群では $0.6 \mu\text{g/mL}$ 程度であるのに対して、実施例1～5にて得られた組成物投与群では $1.0 \mu\text{g/mL}$ 以上であり、高い値を示した。

[0055] また、各投与液のpHを市販のpH試験紙により確認した結果、実施例1～5の組成物から調製した投与液は、pH2～3であり、すなわちpH3.5以下であった。参考例2から調製した投与液のpHは4であった。

[0056] (実施例7)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、20重量部となるようにクエン酸を添加、混合し、クエン酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0057] (実施例8)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、20重量部となるように酒石酸を添加、混合し、酒石酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0058] (実施例9)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、20重量部となるようにフマル酸を添加、混合し、フマル酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0059] (実施例10)

実施例7～9で得られた組成物に、SAMの濃度が 20mg/mL となる

よう蒸留水を加えて溶解又は懸濁し、SDラット（雄、10週齢）に体重1kgあたり5mLの投与量で経口投与した。また、比較対照例として、参考例2にて得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキスをSAMが同濃度になるよう蒸留水に溶解したものを同様に経口投与した。なお、本実施例では、各組成物について3匹のラットを使用した。投与後0.5、1、2、3、および5時間目に無麻酔下で抗凝固剤としてヘパリンを用いて頸静脈より血液を採取し、遠心分離により血漿成分を取得した。得られた血漿200 μ Lに0.4g/Lのトリクロロ酢酸水溶液40 μ Lを添加、混合後、遠心分離を行い、得られた上清中のSAM濃度をHPLCを用いて測定し、結果を表2に示した。

[0060] [表2]

	血漿中濃度(μ g/mL)				
	0.5時間後	1時間後	2時間後	3時間後	5時間後
参考例2 酵母菌体エキス	0.65 $\pm$ 0.07	0.97 $\pm$ 0.15	1.06 $\pm$ 0.39	0.82 $\pm$ 0.34	0.36 $\pm$ 0.02
実施例7 酵母菌体エキス+クエン酸	0.82 $\pm$ 0.25	1.14 $\pm$ 0.08	1.34 $\pm$ 0.42	1.17 $\pm$ 0.57	0.58 $\pm$ 0.46
実施例8 酵母菌体エキス+酒石酸	0.93 $\pm$ 0.10	1.30 $\pm$ 0.25	1.59 $\pm$ 0.52	1.43 $\pm$ 0.44	0.59 $\pm$ 0.06
実施例9 酵母菌体エキス+フマル酸	0.76 $\pm$ 0.27	1.02 $\pm$ 0.19	1.38 $\pm$ 0.17	1.19 $\pm$ 0.17	0.46 $\pm$ 0.15

値は、平均 $\pm$ 標準偏差

[0061] 表2に示したように、投与0.5時間後から5時間後まで、参考例2にて得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス投与群よりも、実施例7～9にて得られた組成物投与群において、高い濃度推移を示した。

[0062] また、各投与液のpHを市販のpH試験紙により確認した結果、実施例7～9の組成物から調製した投与液は、pH2.5～3.5であり、参考例2から調製した投与液のpHは4であった。

[0063] (実施例11)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、50重量部となるように葉酸を添加、混合し、葉酸とSAM含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0064] (実施例12)

参考例2で得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス100重量部に対し、20重量部となるように葉酸を添加、混合し、葉酸とSAM含有乾燥酵母菌

体エキスを含む組成物を得た。

[0065] (実施例 13)

実施例 11、12 で得られた組成物に、SAM の濃度が 20 mg/mL となるよう蒸留水を加えて溶解又は懸濁し、SD ラット（雄、9 週齢）に体重 1 kg あたり 5 mL の投与量で経口投与した。また、比較対照例として、参考例 2 にて得られた SAM 含有乾燥酵母菌体エキスを SAM が同濃度になるよう蒸留水に溶解したものを同様に経口投与した。なお、本実施例では、各組成物について 3 匹のラットを使用した。投与から 1 時間後に無麻酔下で抗凝固剤としてヘパリンを用いて頸静脈より血液を採取し、遠心分離により血漿成分を取得した。得られた血漿 $200 \mu\text{L}$ に 0.4 g/L のトリクロロ酢酸水溶液 $40 \mu\text{L}$ を添加、混合後、遠心分離を行い、得られた上清中の SAM 濃度を HPLC を用いて測定し、結果を表 3 に示した。

[0066] [表3]

	投与1時間後の血漿中SAM濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
実施例11	0.96 ± 0.16
実施例12	0.99 ± 0.16
参考例2	0.82 ± 0.16

値は、平均値±標準偏差

[0067] 表 3 に示したように、投与 1 時間後の血漿中濃度は、参考例 2 にて得られた SAM 含有乾燥酵母菌体エキス投与群では $0.8 \mu\text{g/mL}$ 程度であるのに対して、実施例 11、12 にて得られた組成物投与群では $1.0 \mu\text{g/mL}$ 程度であり、高い値を示した。

[0068] (参考例 3)

参考例 2 で得られた SAM 含有乾燥酵母菌体エキス 100 重量部に対し、50 重量部となるようにアスコルビン酸を添加、混合し、アスコルビン酸と SAM 含有乾燥酵母菌体エキスを含む組成物を得た。

[0069] (参考例 4)

参考例 3 で得られた組成物に、SAM の濃度が 20 mg/mL となるよう蒸留水を加えて溶解し、SD ラット（雄、10 週齢）に体重 1 kg あたり 5 mL の投与量で経口投与した。また、比較対照例として、参考例 2 にて得ら

れたSAM含有乾燥酵母菌体エキスをSAMが同濃度になるよう蒸留水に溶解したものを同様に経口投与した。なお、本参考例では、各組成物について3匹のラットを使用した。投与後1、2、3、および5時間目に無麻酔下で抗凝固剤としてヘパリンを用いて頸静脈より血液を採取し、遠心分離により血漿成分を取得した。得られた血漿200 μ Lに0.4g/Lのトリクロロ酢酸水溶液40 μ Lを添加、混合後、遠心分離を行い、得られた上清中のSAM濃度をHPLCを用いて測定し、結果を表4に示した。

[0070] [表4]

	血漿中濃度(μ g/mL)			
	1時間後	2時間後	3時間後	5時間後
参考例2 酵母菌体エキス	0.64 $\pm$ 0.05	0.70 $\pm$ 0.14	0.49 $\pm$ 0.11	0.25 $\pm$ 0.04
参考例3 酵母菌体エキス+アスコルビン酸	0.46 $\pm$ 0.14	0.40 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.07	0.26 $\pm$ 0.04

値は、平均 $\pm$ 標準偏差

[0071] 表4に示したように、投与1時間後から5時間後まで、参考例3にて得られた組成物投与群では、参考例2にて得られたSAM含有乾燥酵母菌体エキス投与群よりも、低い濃度推移を示した。

請求の範囲

- [請求項1] S－アデノシル－L－メチオニンと多価カルボン酸を併用摂取することを特徴とする、S－アデノシル－L－メチオニンの吸収性を高める方法。
- [請求項2] 多価カルボン酸が、アジピン酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸、グルタミン酸、葉酸から選ばれる少なくとも一つである、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 多価カルボン酸が、 pK_a 値4以下の多価カルボン酸である、請求項1または2に記載の方法。
- [請求項4] S－アデノシル－L－メチオニンが、S－アデノシル－L－メチオニンを含む微生物及び／又は微生物抽出物である、請求項1ないし3のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項5] S－アデノシル－L－メチオニンが、乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニンである、請求項1ないし4のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項6] 乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニン100重量部当たり、多価カルボン酸0.5重量部以上を併用摂取することを特徴とする、請求項5に記載の方法。
- [請求項7] 乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニンを含む微生物及び／又は微生物抽出物100重量部当たり、多価カルボン酸0.1重量部以上を併用摂取することを特徴とする、請求項5に記載の方法。
- [請求項8] S－アデノシル－L－メチオニンと多価カルボン酸を含む、S－アデノシル－L－メチオニンの吸収性が高められた組成物。
- [請求項9] 多価カルボン酸が、アジピン酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸、グルタミン酸、葉酸から選ばれる少なくとも一つである、請求項8記載の組成物。
- [請求項10] 多価カルボン酸が、 pK_a 値4以下の多価カルボン酸である、請求項8または9に記載の組成物。

- [請求項11] S－アデノシル－L－メチオニンが、S－アデノシル－L－メチオニンを含む微生物及び／又は微生物抽出物である、請求項8ないし10のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項12] S－アデノシル－L－メチオニンが、乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニンである、請求項8ないし11のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項13] 乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニン100重量部当たり、多価カルボン酸0.5重量部以上を含むことを特徴とする、請求項12に記載の組成物。
- [請求項14] 乾燥後のS－アデノシル－L－メチオニンを含む微生物及び／又は微生物抽出物100重量部当たり、多価カルボン酸0.1重量部以上を含むことを特徴とする、請求項12に記載の組成物。
- [請求項15] 水を加えてS－アデノシル－L－メチオニン濃度20mg/mLの溶液または懸濁液としたときのpHが4以下であることを特徴とする、請求項8ないし14のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項16] 経口投与形態とした、請求項8ないし15のいずれか一項に記載の組成物。
- [請求項17] 請求項8ないし16のいずれか一項に記載の組成物を含んでなる食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、飲料、動物薬、飼料、化粧品、医薬部外品、医薬品、治療薬または予防薬。
- [請求項18] 請求項8ないし16のいずれか一項に記載の組成物を含んでなる抗鬱剤。
- [請求項19] さらに、チロシン、アセチルチロシン、トリプトファン、5－ヒドロキシトリプトファン、メチオニン、フェニルアラニン、セントジョーンズワート、亜鉛、マンガン、マグネシウム、ビタミンB12、ナイアシン、および、葉酸からなる群から選ばれる1以上の剤を含んでなる、請求項18に記載の抗鬱剤。
- [請求項20] S－アデノシル－L－メチオニンに多価カルボン酸を添加すること

を特徴とする、S-アデノシル-ル-メチオニン含有組成物の製造方法。

[請求項21] 多価カルボン酸が、アジピン酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸、グルタミン酸、葉酸から選ばれる少なくとも一つである、請求項20に記載の製造方法。

[請求項22] 多価カルボン酸が、 pK_a 値4以下の多価カルボン酸である、請求項20または21に記載の製造方法。

[請求項23] S-アデノシル-ル-メチオニンが、S-アデノシル-ル-メチオニンを含有する微生物及び／又は微生物抽出物である、請求項20ないし22のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項24] S-アデノシル-ル-メチオニンが、乾燥後のS-アデノシル-ル-メチオニンである、請求項20ないし23のいずれか一項に記載の製造方法。

[請求項25] 乾燥後のS-アデノシル-ル-メチオニン100重量部当たり、多価カルボン酸を0.5重量部以上添加することを特徴とする、請求項24に記載の製造方法。

[請求項26] 乾燥後のS-アデノシル-ル-メチオニンを含有する微生物及び／又は微生物抽出物100重量部当たり、多価カルボン酸を0.1重量部以上添加することを特徴とする、請求項24に記載の製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/065403

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/7076(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i, A61K9/10(2006.01)i, A61K35/74(2006.01)i, A61K47/12(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i, A61P25/28(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)

A61K31/7076, A23L1/30, A61K9/08, A61K9/10, A61K35/74, A61K47/12, A61P1/16, A61P19/02, A61P25/24, A61P25/28

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 1996-2009

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2009/081833 A1 (Kaneka Corp.), 02 July, 2009 (02.07.09), Full text (Family: none)	8-26
X Y A	JP 2005-229812 A (Kohjin Co., Ltd.), 02 September, 2005 (02.09.05), Claims 1 to 8; Par. Nos. [0002], [0010], [0011], [0034] (Family: none)	8-18, 20-23 19, 26 25
X Y A	JP 60-181095 A (Nippon Zeon Co., Ltd.), 14 September, 1985 (14.09.85), Claim 1; page 1, right column, 2nd paragraph; page 2, upper right column, 4th paragraph; lower left column, 2nd paragraph; examples (Family: none)	8-18, 20-23 19, 26 25



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
28 September, 2009 (28.09.09)

Date of mailing of the international search report
06 October, 2009 (06.10.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/065403

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2003-535126 A (The Procter & Gamble Co.), 25 November, 2003 (25.11.03), Claims 1, 3, 7, 8; Par. Nos. [0038], [0046], [0080] to [0082], [0086], [0104]	8-10, 12, 13, 15-17, 20-22, 24, 25
Y	& US 2003/0069202 A1 & EP 1289510 A & WO 2001/093847 A2	11, 14, 18, 19, 23, 26
Y	JP 2002-509111 A (Rexall Sundown, Inc.), 26 March, 2002 (26.03.02), Claims 1, 3, 6 to 8	8-19 20-26
A	& US 6096317 A & EP 1047440 A & WO 1999/036080 A1	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/065403

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1 to 7 include the methods for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The Inventions of claims 8-18 and 20-25 are not novel, as disclosed in Documents 1-3 shown below. Therefore, these inventions have no special technical feature.

Document 1: JP 2005-229812 A

Document 2: JP 60-181095 A

Document 3: JP 2003-535126 A

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/7076(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i, A61K9/10(2006.01)i,
A61K35/74(2006.01)i, A61K47/12(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i,
A61P25/24(2006.01)i, A61P25/28(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. A61K31/7076, A23L1/30, A61K9/08, A61K9/10, A61K35/74, A61K47/12, A61P1/16, A61P19/02, A61P25/24,
A61P25/28

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

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
P, X	WO 2009/081833 A1 (株式会社カネカ) 2009.07.02 全文 (ファミリーなし)	8-26
X	JP 2005-229812 A (株式会社興人) 2005.09.02	8-18, 20-23
Y	請求項 1 - 8, 【0002】, 【0010】, 【0011】, 【0034】 (ファミリーなし)	19, 26
A		25

☒ 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 8 . 0 9 . 2 0 0 9

国際調査報告の発送日

0 6 . 1 0 . 2 0 0 9

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)

辰己 雅夫

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

4 4 9 8

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	JP 60-181095 A (日本ゼオン株式会社) 1985. 09. 14	8-18, 20-23
Y	請求項 1, 第 1 頁右欄第 2 段, 第 2 頁右上欄第 4 段, 左下欄第 2 段, 実施例	19, 26
A	(ファミリーなし)	25
X	JP 2003-535126 A (ザ プロクター アンド ギャンブル カンパ ニー) 2003. 11. 25,	8-10, 12, 13, 15-17, 20-22,
Y	請求項 1, 3, 7, 8, 【0038】, 【0046】, 【0080】-【0 082】, 【0086】, 【0104】 & US 2003/0069202 A1 & EP 1289510 A & WO 2001/093847 A2	24, 25 11, 14, 18, 19, 23, 26
Y	JP 2002-509111 A (レクソール サンダウン インコーポレイテッ ド) 2002. 03. 26	8-19
A	請求項 1, 3, 6-8 & US 6096317 A & EP 1047440 A & WO 1999/036080 A1	20-26

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 1-7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲1-7は「手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法」を包含するものである。
2. ☐ 請求項 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 は、従属請求の範囲であってP C T規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲8-18, 20-25に係る発明は、以下の文献1－3に記載されており、新規性が認められないから、特別な技術的特徴を有しない。

文献1：JP 2005-229812 A

文献2：JP 60-181095 A

文献3：JP 2003-535126 A

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。