

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006 年 3 月 9 日 (09.03.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/025329 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 36/07, A23K 1/16, A23L 1/30, A61P 35/00, 35/02
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/015664
- (22) 国際出願日: 2005 年 8 月 29 日 (29.08.2005)
- (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2004-249838 2004 年 8 月 30 日 (30.08.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): タカラバイオ株式会社 (TAKARA BIO INC.) [JP/JP]; 〒5202193 滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号 Shiga (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 水谷 滋利 (MIZUTANI, Shigetoshi). 廣田 有花 (HIROTA, Yuka). 仲牧子 (NAKA, Makiko). 橋本 麻由 (HASHIMOTO, Mayu). 河合 高志 (KAWAI, Takashi). 酒井 武 (SAKAI, Takeshi). 加藤 郁之進 (KATO, Ikunoshin).
- (74) 代理人: 細田 芳徳 (HOSODA, Yoshinori); 〒5406591 大阪府大阪市中央区大手前一丁目 7 番 3 1 号 OMMビル 5 階 私書箱 2 6 号 細田国際特許事務所内 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, 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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANTITUMOR AGENT

(54) 発明の名称: 抗腫瘍剤

(57) Abstract: It is intended to provide an antitumor agent characterized by containing, as the active ingredient, at least one member selected from the group consisting of *Lyophyllum shimeji* and processed products thereof. Because of originating in an edible mushroom, this antitumor agent is at low risk for side effects. Thus, this antitumor agent is useful in drugs, foods or feeds for treating or preventing tumor.

(57) 要約: 本発明は、ホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも 1 つ以上を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤を提供する。本発明の抗腫瘍剤は、食用きのこ由来であるため副作用を生じる可能性が低い。よって、当該抗腫瘍剤は、腫瘍の治療用又は予防用の医薬、食品又は飼料として有用である。



WO 2006/025329 A1

明 細 書

抗腫瘍剤

技術分野

- [0001] 本発明はホンシメジ(*Lyophyllum shimeji*)を利用した抗腫瘍剤、それを含有する医薬、食品または飼料に関するものである。

背景技術

- [0002] シイタケ、マイタケ、エノキタケ等の種々の食用担子菌が抗腫瘍性を有することは広く知られており、これらの子実体又は菌糸体よりこれまでに様々な抗腫瘍性組成物が調製されてきた。また、食用担子菌の一つであるブナシメジが抗腫瘍性を有することも明らかにされてきている(例えば、特許文献1)。さらにはブナシメジを水又は親水性溶媒に懸濁後、加熱処理により得られる分子量6,000～60,000の生理活性物質EEM-Sが抗腫瘍活性を有することが明らかにされている(例えば、特許文献2)。
- [0003] ホンシメジ(*Lyophyllum shimeji*)に関しては、安定した菌株による大量生産法が確立した(例えば、特許文献3)ばかりで、その生理活性に関する報告は見当たらない。
- [0004] 各種食用担子菌の子実体が抗腫瘍性を有することは明らかとなっているが、経口的摂取により有効性が明らかになっているものはほとんどない。これまでに経口的摂取で抗腫瘍作用が報告されているのは、マイタケ由来の抽出物(例えば、非特許文献1)、シイタケ由来の抽出物(例えば、非特許文献2)、エノキタケ由来の抽出物(例えば、非特許文献3)、ブナシメジ由来の抽出物(例えば、特許文献1)およびハタケシメジ由来の抽出物(例えば、特許文献4)である。しかしながら、経口摂取による抗腫瘍作用は弱く、また、安定した作用を有するものがないのが現状である。
- [0005] 特許文献1:特開平5-306233号公報
特許文献2:国際公開第01/51070号パンフレット
特許文献3:特開2000-103752号公報
特許文献4:特開平11-302191号公報

非特許文献1:Chem Pharm Bull, 36(5), 1819-1827, 1988

非特許文献2:Chem Pharm Bull, 35(6), 2453-2458, 1987

非特許文献3:Jpn J Cancer Res(Gann), 76, 130-136, 1985

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明の課題は、経口で優れた効果を示す抗腫瘍剤、およびこれを含む医薬、食品又は飼料を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らは上記課題を解決するため、鋭意研究した結果、ホンシメジ及びその処理物が抗腫瘍活性を有することを見出し、本発明を完成した。

すなわち本発明を概説すれば、本発明の第1の発明は、ホンシメジ(Lyophyllum shimeji)及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つ以上を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤に関する。当該ホンシメジの処理物としては、例えば乾燥粉末、抽出物または抽出残渣が例示される。

- [0008] 本発明の第2の発明は、本発明の第1の発明の抗腫瘍剤を含むことを特徴とする医薬に関する。

- [0009] 本発明の第3の発明は、本発明の第1の発明の抗腫瘍剤を含むことを特徴とする腫瘍の治療用又は予防用の食品又は飼料に関する。

- [0010] 本発明の第4の発明は、被験体に、有効量のホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つを投与することを含む、腫瘍の治療方法に関する。

- [0011] 本発明の第5の発明は、本発明の第1の発明の抗腫瘍剤の製造のためのホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つの使用に関する。

発明の効果

- [0012] ホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも一つを有効成分として含有することを特徴とする、経口で効果を有する抗腫瘍剤が提供される。本発明の抗腫瘍剤は、食用きのこ由来であるため副作用を生じる可能性が低い。よって、当該抗腫瘍剤は、腫瘍の治療用又は予防用の医薬、食品又は飼料として有用である。

発明を実施するための最良の形態

[0013] 以下、本発明の好適な実施形態を詳細に説明する。ホンシメジは自然界においては秋期に、コナラ林やアカマツ・コナラ混生林内に多数かたまって、あるいは点々と発生している。古くより”においマツタケ味シメジ”といわれ、美味なきのこの代表とされる。日本をはじめとする東アジアには広く分布するといわれている。ホンシメジは、これまでは人工栽培が困難であったが、近年人工栽培が可能になったとの報告もあり(例えば、特開2000-106752、特開2001-120059)、人工栽培による大量生産により、季節に関係なく一年を通じて安定してきのこを収穫できるようになってきている。すなわち、本発明の有効成分の原料となるホンシメジは容易に入手でき、医薬、食品又は飼料の原料としても用いることができる。

[0014] 本発明において、ホンシメジ(*Lyophyllum shimeji*)として使用される菌株は天然のものでも人工栽培品でもよいが、好適には、*Lyophyllum shimeji* La01-27(FERM P-17455、寄託日:1999年7月13日)、*Lyophyllum shimeji* La01-20(FERM P-16841、寄託日:1998年6月16日)等の人工栽培可能な菌株が例示される。上記の菌株はいずれも、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(〒305-8566 日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6)に寄託されている。

なお、本発明において、ホンシメジとは分類学上、*Lyophyllum shimeji*に分類されるものをいう。従来、ブナシメジが「やまびこほんしめじ」、「ホンシメジ」と称されて流通されていたことがあるが、これは、「*Hypsizygus marmoreus*」(以前は*Lyophyllum ulmarium*と分類されていた)に分類されるものであり(きのこ栽培指標 平成元年1月、長野県、長野県農業協同組合中央会、長野県経済事業農業共同組合連合会、長野県森林組合連合会編集発行;山溪カラー名鑑 日本のきのこ 昭和63年11月10日、株式会社 山と溪谷社発行)、本発明のホンシメジとして使用されるものではない。ホンシメジ(*Lyophyllum shimeji*)は1993年、滋賀県の森林センターで初めて菌床人工栽培に成功されたことが報告されており(2004年度版 きのこ年鑑 2004年4月1日、株式会社特産情報 きのこ年鑑編集部発行)、これ以前に「ホンシメジ」として流通されていたものは、天然物を除いては「ブナシメジ」とであると類推され

る。なお、ホンシメジは菌根菌(生きた樹木の根に発生(活物寄生)して栄養を摂取する)であるのに対し、ブナシメジは木材腐朽菌(枯れた樹木に発生(死物寄生)する)であることから、これらは明らかに異なるきのこである。

[0015] 本発明に使用されるホンシメジとしては、それらの子実体または菌糸体を用いることができる。子実体は生のものでも加熱乾燥、天日乾燥、凍結乾燥等で乾燥された子実体乾燥物でもよい。また子実体は株のままでも粉砕したものでも使用することができる。菌糸体は、炭素源及び窒素源を含む培地で種菌を培養して得られる生あるいは乾燥菌糸体を利用でき、さらに乾燥したものが使用においては簡便である。

[0016] 本発明において処理物としては、ホンシメジに人為的な処理を施したものであれば特に限定はないが、例えば乾燥粉末、抽出物、抽出残渣、加熱処理物、粉砕物、搾汁液、破砕物、乾燥物、凍結物、酵素処理物、化学処理物、もしくはこれらの処理工程を組み合わせた処理物等が例示される。特に好適には、乾燥粉末、抽出物、抽出残渣が例示される。本発明の有効成分として使用され得るものであれば、処理物の形態に特に限定はない。なお、これらの処理物の原料としては、ホンシメジの子実体または菌糸体のいずれも使用することができる。

[0017] 本発明の処理物として乾燥粉末を使用する場合、その製法としては特に限定はないが、例えば上記のような処理物の原料に対して天日干し、凍結乾燥、乾熱乾燥、温風乾燥等の公知の乾燥処理を行うことにより得られた乾燥物をビーズミル、ワーリングブレンダー、ホモジナイザー等の各種粉砕混合機による粉砕処理を行うことにより得ることができる。

[0018] 本発明において、抽出物とは抽出溶媒を用いて抽出操作を行う工程を経て得られる組成物のことをいう。具体的には、水抽出物、熱水抽出物、エタノール抽出物、酢酸エチル抽出物、メタノール抽出物、アセトン抽出物、ヘキサン抽出物等が例示され、本発明においては、熱水抽出物、酢酸エチル抽出物が好適に使用される。抽出は、公知の抽出方法により以下のように行うことができる。例えば原料を粉砕もしくは細断した後、溶媒を用いてバッチ式もしくは連続式で抽出を行うことができる。また、ここで原料としては、前述のホンシメジの乾燥粉末や後述のホンシメジの化学処理物や酵素処理物を用いることも出来る。抽出物を得る際の抽出溶媒としては、特に限定は

ないが、水、ヘキサン、クロロホルム、エタノール、メタノール、イソプロピルアルコール等のアルコール類、アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類、酢酸メチル、酢酸エチル等の親水性もしくは親油性の溶媒を挙げることができ、所望により単独で、もしくは適宜混合液として用いることができる。抽出溶媒の量は適宜決定すればよいが、通常、抽出操作に供する際の原料の重量に対し、好ましくは0.1～100倍量の抽出溶媒を使用すれば良い。抽出温度も適宜、目的に応じて決定すればよいが、水抽出の場合は通常、好ましくは4～130℃、より好ましくは25～100℃である。なお、本明細書中において、50℃以上の抽出温度での水抽出を熱水抽出といい、熱水抽出により得られた抽出物を熱水抽出物という。また、溶媒中にエタノールが含まれる場合は4～60℃の範囲が好適である。抽出時間も、抽出効率を考慮し決定すればよいが、通常、好ましくは数秒間～数日間、より好ましくは5分間～24時間の範囲となるように、原料、抽出溶媒、抽出温度を設定するのが好適である。抽出時の圧力は、特に限定はなく、所望により適宜決定することができる。抽出操作は、例えば常圧下でも加圧下でも吸引濾過等による減圧下でも所望により条件を選択して行うことができる。抽出操作は、たとえば、攪拌しながら又は静置して行えばよく、また、必要に応じて数回繰り返してもよい。以上の操作により、本発明で使用するホンシメジの抽出物（以下、本発明の抽出物と称することがある。）が得られる。抽出物は必要に応じ、ろ過、遠心分離、濃縮、限外ろ過、分子ふるい等の処理を行い、目的の抗腫瘍作用を有する成分が濃縮された抽出物を調製することができる。抽出物や濃縮抽出物の抗腫瘍作用は、後述の実施例2記載の方法に準じて測定することができる。なお、本発明においては異なった抽出法で得られた抽出物を2種以上併用することもできる。このようにして得られる本発明の抽出物は減圧濃縮、殺菌、フリーズドライ、スプレードライ等の処理に供して抽出溶媒を除去し、乾燥したホンシメジの抽出物を得ることが出来る。また、本発明においては、抽出残渣から異なる溶媒により抽出される抽出物も本発明の抽出物として使用できる。例えば、後述の実施例4に記載の通り、熱水抽出残渣の酢酸エチル抽出物を使用することもできる。

[0019] また、本発明においては、本発明の抽出物を公知の方法で分画することによって得られる画分や、分画操作を複数回繰り返すことにより得られる画分も本発明の抽出物

に包含される。上記の分画手段としては、抽出、分別沈殿、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー等が挙げられる。得られた画分の精製を、抗腫瘍作用を指標としてさらに進めることにより、活性成分を単離することもできる。それらの成分も本発明の有効成分に包含される。

[0020] 本発明において、抽出残渣とは、上記のように抽出を行った後に得られる残渣のことをいい、これらも本発明の有効成分として使用することができる。例えば、実施例1に記載のような工程で得られたホンシメジの熱水抽出残渣が例示される。

[0021] また、本発明の処理物としてホンシメジの加熱処理物を使用する場合は、その製法としては特に限定はないが、例えば、ホンシメジの乾燥粉末を水に懸濁し、50～120℃、好適には60～110℃、さらに好適には70～100℃で加熱処理することにより得ることができる。加熱時間は特に限定はないが、例えば数秒間～数日間、より好ましくは5分～24時間の範囲が例示される。

[0022] また、本発明の処理物としてホンシメジの搾汁液を使用する場合は、その製法としては、公知の植物の搾汁方法と同様に行うことができ、特に限定はないが、例えばスクレーパー式、ギア式、カッター式等の搾り機やジューサーを用いる方法が挙げられる。また、前処理として原料を細断あるいはすりつぶした後、上述のジューサー又は布等で絞って搾汁液を得ることもできる。

[0023] 本発明において破碎物とは、有効成分の原料として用いられるホンシメジを碎き壊したものであり、一般には粉碎物よりも組織片が大きく、例えば、破碎機を使用することにより製造することができる。また、乾燥物とは有効成分の原料として用いられるホンシメジを天日干し、凍結乾燥、乾熱乾燥、温風乾燥等の公知の乾燥処理を行うことにより得ることができる。また、凍結物とは、公知の凍結方法により得られるものであれば、特に限定は無いが、例えば、特開平6-284858号又は特開2000-69927号記載の方法により凍結したものを使用できる。また、化学処理物とは、特に限定はないが、ホンシメジを酸処理、アルカリ処理、酸化処理、還元処理、浸透圧処理等に供して得られたものをいい、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、クエン酸、酢酸等の無機酸や有機酸、又は水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、アンモニア等の無機塩基や有機塩基を含む水溶液にホンシメジを浸漬し、必要に応じて加熱することにより製造すること

ができる。化学処理物には、前記のような化学処理を受けたホンシメジに由来するすべてのものを含む。酵素処理物とは、例えば、ペクチナーゼ、セルラーゼ、キシラナーゼ、アミラーゼ、マンナーゼ、グルコシダーゼ、ヘミセルラーゼ、キチナーゼ、 α -および β -グルクロニダーゼ、 α -および β -グルカナーゼ等による酵素処理物、微生物による酵素反応物(例えば、発酵物)をいい、例えば、ホンシメジに対して上記酵素を適当な緩衝液中で作用させることにより製造することができる。酵素処理物には、前記のような酵素処理を受けたホンシメジに由来するすべてのものが含まれる。

[0024] 本発明の有効成分には、後述するように特に毒性は認められない。また、副作用の発生の可能性も低い。それゆえ、安全かつ適切に抗腫瘍活性を発現することができる。従って、当該有効成分を含んでなる本発明の抗腫瘍剤、およびこれを含む医薬、食品又は飼料は、腫瘍の治療又は予防に有効である。

[0025] また、本発明において、抗腫瘍剤の対象となる疾患としては、治療に抗腫瘍作用を要する疾患であれば特に限定はないが、例えば、悪性腫瘍全般が挙げられる。本発明を特に限定するものではないが、例えば胃がん、大腸がん、食道がん、皮膚がん、子宮がん、前立腺がん、膀胱がん、肺がん等が前記の疾患として例示される。さらに白血病のような造血器官の悪性腫瘍も本願発明の抗腫瘍剤の対象疾患とすることができる。なお、本発明の抗腫瘍剤は、sarcoma細胞に対して顕著な抗腫瘍活性を発揮するため、上皮以外の組織、例えば、筋肉、脈管、軟骨、骨、造血組織、神経等に発生する腫瘍、いわゆる肉腫も本発明の抗腫瘍剤の対象となる。

[0026] 本発明の抗腫瘍剤は、上記したようなホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つを有効成分として含有することを特徴とする。なお、本明細書中において、上記したようなホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つを、本発明の有効成分と称する場合がある。本発明の抗腫瘍剤は、前記有効成分そのものであってもよく、また、前記有効成分を含む組成物であってもよい。本発明の抗腫瘍剤としては、本発明に係る前記有効成分を公知の担体と組み合わせ製剤化したものが挙げられる。また、本発明の抗腫瘍剤においては、前記有効成分を当該有効成分と同じ用途に使用可能な他の成分、例えば、公知の抗腫瘍剤

と配合したり、併用したりすることができる。

- [0027] 本発明の抗腫瘍剤の製造は、通常、前記有効成分を薬学的に許容できる液状または固体状の担体と配合することにより行われ、所望により溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を加えて、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤等の固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤とすることができる。また、使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品や、その他、外用剤とすることもできる。
- [0028] 担体は、本発明の抗腫瘍剤の投与形態および剤型に応じて選択することができる。固体組成物からなる経口剤とする場合は、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤等とすることができ、たとえば、デンプン、乳糖、白糖、マンニト、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩などが担体として利用される。また経口剤の調製に当っては、更に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、潤沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料などを配合することもできる。たとえば、錠剤または丸剤とする場合は、所望によりショ糖、ゼラチン、ハイドロキシプロピルセルロースなどの糖衣または胃溶性もしくは腸溶性物質のフィルムで被覆してもよい。液体組成物からなる経口剤とする場合は、薬理的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤などとすることができ、たとえば、精製水、エタノールなどが担体として利用される。また、さらに所望により湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、防腐剤などを添加してもよい。
- [0029] 一方、非経口剤とする場合は、常法に従い本発明の前記有効成分を希釈剤としての注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、落花生油、大豆油、トウモロコシ油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどに溶解しない懸濁させ、必要に応じ、殺菌剤、安定剤、等張化剤、無痛化剤などを加えることにより調製することができる。また、固体組成物を製造し、使用前に無菌水または無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。
- [0030] 外用剤としては、経皮投与用または経粘膜（口腔内、鼻腔内）投与用の、固体、半固体状または液状の製剤が含まれる。また、座剤なども含まれる。たとえば、乳剤、ローション剤などの乳濁剤、外用チンキ剤、経粘膜投与用液剤などの液状製剤、油性

軟膏、親水性軟膏などの軟膏剤、フィルム剤、テープ剤、パップ剤などの経皮投与用または経粘膜投与用の貼付剤などとすることができる。

- [0031] 以上の各種製剤は、それぞれ公知の医薬用担体などを利用して、適宜、常法により製造することができる。また、かかる製剤における有効成分の含有量は、その投与形態、投与方法などを考慮し、好ましくは後述の投与量範囲で当該有効成分を投与できるような量であれば特に限定されるものではない。本発明の抗腫瘍剤中の有効成分の含有量としては、0.1～100重量%程度である。
- [0032] 本発明の抗腫瘍剤は、製剤形態に応じた適当な投与経路で投与される。投与方法も特に限定はなく、内用、外用および注射によることができる。注射剤は、たとえば静脈内、筋肉内、皮下、皮内などに投与し得、外用剤では、たとえば、座剤をその適する投与方法により投与すればよい。
- [0033] 本発明の抗腫瘍剤としての投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的および当該抗腫瘍剤の投与対象である患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され一定ではない。一般には、例えば成人1日当りの投与量は、製剤中に含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算で、 $150\mu\text{g}\sim 1\text{kg}/\text{kg}$ 体重、好適には $150\mu\text{g}\sim 500\text{g}/\text{kg}$ 体重、より好適には $1.5\text{mg}\sim 500\text{g}/\text{kg}$ 体重、さらに好適には $1.5\text{mg}\sim 200\text{g}/\text{kg}$ 体重、さらにより好適には $15\text{mg}\sim 150\text{g}/\text{kg}$ 体重、さらにより好適には $15\text{mg}\sim 100\text{g}/\text{kg}$ 体重が望ましい。ここで、製剤中に含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算とは、例えば有効成分が抽出物である場合、製剤中に含有される抽出物量を、原料となったホンシメジの乾燥重量で表した値のことを言う。投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。投与は、所望の投与量範囲内において、1日内において単回で、または数回に分けて行ってもよい。投与期間も任意である。また、本発明の抗腫瘍剤はそのまま経口投与するほか、任意の食品に添加して日常的に摂取させることもできる。
- [0034] 本発明の医薬の製造方法、剤型、有効成分含有量、投与量、投与経路、投与方法等については、上記の抗腫瘍剤と同様である。本発明の医薬は、前記の抗腫瘍剤を含有することから、安全かつ適切に抗腫瘍活性を発現することができる。

- [0035] なお、本発明の食品又は飼料において「含有」とは、含有、添加および／または希釈を意味する。ここで、「含有」とは食品又は飼料中に本発明で使用される有効成分が含まれるという態様を、「添加」とは食品又は飼料の原料に、本発明で使用される有効成分を添加するという態様を、「希釈」とは本発明で使用される有効成分に、食品又は飼料の原料を添加するという態様をいうものである。
- [0036] 本発明の食品の製造法に特に限定はない。たとえば、配合、調理、加工などは一般の食品のものに従えばよく、それらの製造法により製造することができ、得られた食品に本発明に係る前記有効成分が含有されていれば良い。
- [0037] 本発明の食品は、特に限定するものではないが、例えば、穀物加工品（例、小麦粉加工品、デンプン類加工品、プレミックス加工品、麺類、マカロニ類、パン類、あん類、そば類、麩、ビーフン、はるさめ、包装餅等）、油脂加工品（例、可塑性油脂、てんぷら油、サラダ油、マヨネーズ類、ドレッシング等）、大豆加工品（例、豆腐類、味噌、納豆等）、食肉加工品（例、ハム、ベーコン、プレスハム、ソーセージ等）、水産製品（例、冷凍すりみ、かまぼこ、ちくわ、はんぺん、さつま揚げ、つみれ、すじ、魚肉ハム、ソーセージ、かつお節、魚卵加工品、水産缶詰、つくだ煮等）、乳製品（例、原料乳、クリーム、ヨーグルト、バター、チーズ、練乳、粉乳、アイスクリーム等）、野菜・果実加工品（例、ペースト類、ジャム類、漬物類、果実飲料、野菜飲料、ミックス飲料等）、菓子類（例、チョコレート、ビスケット類、菓子パン類、ケーキ、餅菓子、米菓類等）、アルコール類（例、日本酒、中国酒、ワイン、ウイスキー、焼酎、ウオッカ、ブランデー、ジン、ラム酒、ビール、清涼アルコール飲料、果実酒、リキュール等）、嗜好飲料（例、緑茶、紅茶、ウーロン茶、コーヒー、清涼飲料、乳酸飲料等）、調味料（例、しょうゆ、ソース、酢、みりん等）、缶詰・瓶詰・袋詰食品（例、牛飯、釜飯、赤飯、カレー、その他の各種調理済食品等）、半乾燥または濃縮食品（例、レバーペースト、その他のスプレッド、そば・うどんの汁、濃縮スープ類等）、乾燥食品（例、即席麺類、即席カレー、インスタントコーヒー、粉末ジュース、粉末スープ、即席味噌汁、調理済食品、調理済飲料、調理済スープ等）、冷凍食品（例、すき焼き、茶碗蒸し、うなぎかば焼き、ハンバーグステーキ、シュウマイ、餃子、各種スティック、フルーツカクテル等）、固形食品、液体食品（例、スープ等）、香辛料類等の農産・林産加工品、畜産加工品、水産加

工品等が挙げられる。

- [0038] 本発明の食品は、前記有効成分が単独もしくは複数含有、添加および／または希釈されており、その含有量が抗腫瘍活性を発現するための必要量に相当するものであれば特にその形状に限定はなく、タブレット状、顆粒状、カプセル状等の形状の経口的に摂取可能な形状物も包含する。また、前記有効成分にグリセリン等を添加して、有効成分が濃縮された健康食品とすることもできる。
- [0039] また、本発明の食品の一態様であるアルコール飲料としては、本発明で使用されるホンシメジの子実体を飲用のアルコール類に浸漬したものを、そのまましくは公知のアルコール飲料の製造方法に準じて得られるアルコール飲料として飲用に供することもできる。
- [0040] さらに、本発明で有効成分として使用されるホンシメジの子実体又は菌糸体の処理物、例えば、粉碎物や破砕物を公知の方法に従って錠剤や顆粒等の形態に成形したのも本発明の食品に包含される。
- [0041] 本発明の食品中の前記有効成分の含有量は特に限定されず、その官能と活性発現の観点から適宜選択できるが、食品100重量%中、前記有効成分0.01重量%以上、好ましくは0.1～95重量%、より好ましくは1～90重量%が望ましく、また本発明の食品は、好ましくはそれらに含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算で、ヒト(例えば成人)1日当たり150 μ g～1kg/kg体重、より好適には150 μ g～500g/kg体重、さらに好適には1.5mg～500g/kg体重、さらにより好適には1.5mg～200g/kg体重、さらにより好適には15mg～150g/kg体重、さらにより好適には15mg～100g/kg体重となるように摂取すればよい。ここで、食品に含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算とは、例えば有効成分が抽出物である場合、食品に含有される抽出物量を、原料となったホンシメジの乾燥重量で表した値のことを言う。摂取量は、種々の条件、例えば抽出溶媒の種類、使用した溶媒の使用量等によっても変動するので、上記摂取量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。
- [0042] 本発明の食品は、腫瘍の治療用又は予防用の食品であり、本発明の食品を摂取、喫食することにより、生体の恒常性が維持されることにおいて、特に有用である。なお

、当該食品としては、例えば、抗腫瘍活性による所望の効果の発現のために用いられるものである旨の表示を付した健康食品(特定保健用食品)とすることもできる。

[0043] また、本発明は、前記有効成分を含有してなる生物用の飼料を提供するものであり、さらに、別の一態様として、前記有効成分を生物に投与することを特徴とする生物の飼育方法をも提供する。また、本発明の別の一様態として、前記有効成分を含有することを特徴とする生物飼育用剤が提供される。ここで、「含有」とは、前記の含有、添加および／または希釈を意味する。

[0044] これらの発明において、生物とは例えば養殖動物、ペット動物などであり、養殖動物としてはウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ、ラマなどの家畜、マウス、ラット、モルモット、ウサギなどの実験動物、ニワトリ、アヒル、七面鳥、駝鳥などの家禽、魚類、甲殻類または貝類が例示され、ペット動物としてはイヌ、ネコなどが例示される。飼料としては腫瘍の治療および／または予防用飼料が例示される。生物飼育用剤としては、浸漬用剤、飼料添加剤、飲料用添加剤が例示される。

[0045] これらの発明によれば、それらを適用する前記に例示するような生物において、本発明に使用される前記有効成分の抗腫瘍作用に基づき、前述の本発明の医薬によるのと同様の効果の発現が期待できる。

[0046] 本発明の飼料に使用される前記有効成分は通常、例えばホンシメジの子実体の乾燥粉末を有効成分とした場合、ホンシメジの乾燥重量換算で、飼料100重量%中、前記有効成分0.01重量%以上、好ましくは0.1~95重量%、より好ましくは1~90重量%が望ましく、また本発明の飼料は、好ましくはそれらに含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算で、対象生物1日当り150 μ g~1kg/kg体重、より好適には150 μ g~500g/kg体重、さらに好適には1.5mg~500g/kg体重、さらにより好適には1.5mg~200g/kg体重、さらにより好適には15mg~150g/kg体重、さらにより好適には15mg~100g/kg体重となるように投与すればよい。ここで、飼料に含有される有効成分のホンシメジの乾燥重量換算とは、例えば有効成分が抽出物である場合、飼料に含有される抽出物量を、原料となったホンシメジの乾燥重量で表した値のことを言う。投与量は、種々の条件、例えば抽出溶媒の種類、使用した溶媒の使用量等によっても変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあ

るし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。

- [0047] 本発明の飼料の製造法に特に限定はなく、また配合も一般の飼料に準ずるものであればよく、製造された飼料中に前述の本発明の抗腫瘍剤が含まれていればよい。生物飼育用剤は、前記飼料の場合に準じて、製造、使用等すればよい。
- [0048] 本発明の抗腫瘍剤を含んでなる飼料を投与すること、または抗腫瘍剤含有液に対象生物を浸漬させることにより、家畜、実験動物、家禽、ペット動物などの腫瘍の治療または予防を行うことが出来る。なお、これらの態様は、本発明により提供される生物の飼育方法の一態様をなす。
- [0049] 本発明はまた、被験体に、有効量のホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つを投与することを含む、腫瘍の治療方法を提供する。
- [0050] 本明細書中において被験体とは、好ましくは抗腫瘍作用を必要とするヒトであるが、上記のような養殖動物、ペット動物等であってもよい。
- [0051] また、本明細書中において有効量とは、ホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つ(有効成分)を上記被験体に投与した場合に、該有効成分を投与していない被験体と比較して、抗腫瘍作用を発揮する該成分の量である。具体的な有効量としては、投与形態、投与方法、使用目的および被験体の年齢、体重、症状等によって適宜設定され一定ではないが、好ましくは、上記の医薬と同様に、前記有効成分の量で、ヒト(例えば成人)1日当り $150\mu\text{g}\sim 1\text{kg}/\text{kg}$ 体重、より好ましくは $150\mu\text{g}\sim 500\text{g}/\text{kg}$ 体重である。
- [0052] 本発明の腫瘍の治療方法においては、有効量のホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つをそのまま上記被験体に投与してもよく、また、上記のような医薬、食品、又は飼料として投与してもよい。また、投与方法にも限定はなく、例えば、上記の医薬と同様に、経口投与や注射等により投与すればよい。
- [0053] 本発明の治療方法によれば、前記の本発明の医薬、食品又は飼料の対象となる疾患を治療することができ、例えば、癌の治療や進行、転移を抑える効果が発揮され得る。
- [0054] 本発明で使用される前記有効成分は、その作用発現にとっての有効量の投与を生物に対して行っても毒性は認められない。例えば、ホンシメジ熱水抽出残渣の酢酸

エチル抽出画分を1g／マウス／日で経口投与しても毒性は認められない。

実施例

[0055] 以下、本発明について実施例をもって詳細に説明するが本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。尚、実施例の記載において、用語「腫瘍抑制活性」は、抗腫瘍活性と同義の用語として用いられる。

[0056] 実施例1

生鮮ホンシメジ子実体(ホンシメジ La01-27:タカラバイオにて栽培)16.7kgを、60℃・2日間、乾熱乾燥し、1,377gの乾燥ホンシメジを得た。該乾燥ホンシメジをワーリングブレンダーにより粉碎し、ホンシメジ乾燥粉末1,365gを調製した。つぎに、ホンシメジの乾燥粉末500gを10Lの水に懸濁し、95℃・3時間加熱抽出、1晩放置後、遠心分離により、抽出物8.9Lおよび抽出残渣を得た。抽出物はエバポレーターで濃縮後、凍結乾燥し、ホンシメジ熱水抽出物243gを調製した。抽出残渣はそのまま凍結乾燥し、ホンシメジ熱水抽出残渣245gを調製した。

[0057] 実施例2

ICRマウス(日本エスエルシー社)は、5週齢の雌を購入し6週齢で使用した。Sarcoma-180(以下S-180)腫瘍細胞は、ICRマウスの腹腔に移植して腹水をつくり、7日毎に別のマウスに移植して継代した。継代して7日目の腹水を採取し、リン酸緩衝液で遠心洗浄後、同緩衝液に懸濁して細胞数カウント後、 5×10^7 個／mLとなるように調整した。この0.1mLをICRマウスの右側腹部皮下に移植し、7日後の固形腫瘍の大きさを測定した。腫瘍の大きさの平均が各群で均等になり、1群10匹となるようにマウスを群分けした。ホンシメジ乾燥粉末は、実施例1で調製したものを混合比率10%となるように通常の粉末飼料CE-2(日本クレア社)に混ぜてマウスに与えた。また、実施例1で調製した熱水抽出物と熱水抽出残渣についても、凍結乾燥後粉末にし、同様に粉末飼料CE-2に混ぜて与えた。投与量はホンシメジ子実体粉末に換算して、粉末試料CE-2に対して体積比で10%混ぜて与えた場合と同等になるように用いた。実際の投与量は、ホンシメジ子実体粉末を投与したマウスでは約15g／kg／日、熱水抽出物を投与したマウス及び熱水抽出残渣を投与したマウスでは約7.5g／kg／日となる。コントロール群にはCE-2のみを与えた。腫瘍の大きさは、S-1

80移植後5週目に測定した。また、腫瘍の大きさは長径と短径を測定し、以下の計算式にしたがって体積を算出して比較した。

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = (\text{長径}) \times (\text{短径})^2 / 2$$

腫瘍抑制活性は、以下の計算式にしたがって算出した。

$$\text{腫瘍抑制活性 (\%)} = (\text{コントロール群の腫瘍体積} - \text{ホンシメジ処理物投与群の腫瘍体積}) / \text{コントロール群の腫瘍体積} \times 100$$

[0058] [表1]

マウス	腫瘍体積 (平均±標準誤差)	腫瘍抑制活性 (%)
CE-2 (コントロール)	2633±471	
ホンシメジ子実体粉末10%	1891±428	28.2
熱水抽出物 (子実体粉末10%相当)	739±174	71.9
熱水抽出残渣 (子実体粉末10%相当)	1131±227	57.0

[0059] 結果を表1に示した。ホンシメジ子実体粉末を10%混餌投与したところ、腫瘍を抑制する作用が認められた。また、熱水抽出を行ったところ、熱水抽出物だけでなく熱水抽出残渣にも、この抑制作用が認められた。

[0060] 実施例3

実施例1と同様に調製したホンシメジ子実体乾燥粉末250gを5Lの水に懸濁し、95℃で3時間加熱抽出、一晩放置後、遠心分離(4200rpm、30分間、25℃)により、残渣624gを得た。これに全量が5Lになるまで酢酸エチルを加え、室温で3時間攪拌した。No. 2のろ紙(アドバンテック社製)を用いて吸引ろ過して抽出物を得た。これを40℃で加温しながら減圧濃縮し乾固させ、抽出物9.4gを得た。さらに100%エタノールに溶解後、乾固する操作を2回繰り返えし、酢酸エチルを除去した。

[0061] 実施例4

実施例2と同様にS-180を移植して1週間後のICRマウス(日本エスエルシー社)に、実施例3で調製した酢酸エチル抽出物を粉末飼料CE-2に混ぜて与えた。実験は1群10匹で行った。投与量はホンシメジ子実体粉末に換算して、粉末試料CE-2に対して体積比で10%混ぜて与えた場合と同等になるように用いた。実際の投

与量は、約628mg/kg/日となる。コントロール群にはCE-2のみを与えた。腫瘍の大きさや腫瘍抑制活性(%)は、実施例2と同様に算出した。

[0062] [表2]

マウス	腫瘍体積 (平均±標準誤差)	腫瘍抑制活性 (%)
CE-2 (コントロール)	3591±491	
ホンシメジ熱水抽出残渣の酢酸エチル抽出画分 (約628mg/kg)	2047±370	43.0

[0063] 結果を表2に示した。ホンシメジ熱水抽出残渣の酢酸エチル抽出画分は、コントロール群に比べて、S-180固形腫瘍増殖の抑制がみられた。すなわち、熱水抽出残渣に移行した腫瘍抑制活性は、酢酸エチル抽出画分に移行した。

[0064] 実施例5

PGY寒天プレート培地(組成:グルコース2.0%、ペプトン0.2%、酵母エキス0.2%、 KH_2PO_4 0.05%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%、Agar1.5%)で培養したホンシメジ菌株La01-27株を200mlのPGY液体培地(組成:グルコース2.0%、ペプトン0.2%、酵母エキス0.2%、 KH_2PO_4 0.05%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%)の入った500ml容三角フラスコ4本に接種し、25℃、10日間、100rpmの培養条件で振とう培養を行った。さらに120LのPGY液体培地の入った200Lジャーファーマンターに上記液体培養物を接種し、25℃、5日間、100rpmの培養条件で振とう培養を行うことにより、ホンシメジ菌糸体培養液120Lを得た。得られた菌糸体培養液36Lに対し遠心分離(6500g、30分、4℃)を行うことにより、沈殿画分に菌糸体を得た。得られた菌糸体に脱イオン水6Lを加え、攪拌後、再度遠心分離(6500g、30分、4℃)を行うことにより、沈殿画分に培地成分が除去されたホンシメジ菌糸体約3.4kgを得た。該菌糸体を凍結乾燥することにより、ホンシメジ菌糸体凍結乾燥物215gを得た。

[0065] 実施例6

実施例5で得られたホンシメジ菌糸体を60℃で6日間乾燥し、菌糸体粉末160gを得た。これに3.2Lの水を加えて懸濁し、95℃3時間抽出を行った。25℃で4200rp

m30分間遠心分離を行い、抽出物と抽出残渣に分けた。熱水抽出物は40℃で減圧濃縮を行い、その後凍結乾燥して100.1gの粉末を得た。実施例2と同様にS-180を移植して1週間後のICRマウス(日本エスエルシー社)に、ここで調製した菌糸体粉末、あるいは熱水抽出物を粉末飼料CE-2に混ぜて与えた。実験は1群10匹で行った。投与量はホンシメジ菌糸体粉末に換算して、粉末試料CE-2に対して体積比で10%混ぜて与えた場合と同等になるように用いた。実際の投与量は、ホンシメジ菌糸体粉末を投与したマウスでは約15g/kg/日、ホンシメジ菌糸体熱水抽出物を投与したマウスでは約9g/kg/日となる。コントロール群にはCE-2のみを与えた。腫瘍の大きさや腫瘍抑制活性(%)は、実施例2と同様に算出した。その結果を表3に示す。

[0066] [表3]

マウス	腫瘍体積 (平均±標準誤差)	腫瘍抑制活性 (%)
CE-2 (コントロール)	299.4±38.8	
ホンシメジ菌糸体粉末10%	184.4±30.2	38.4
ホンシメジ菌糸体熱水抽出物 (菌糸体粉末10%相当)	129.7±25.9	56.7

[0067] ホンシメジ菌糸体粉末10%を混餌投与したところ、腫瘍の増殖は抑制された。また、この活性は熱水抽出物にも認められた。

産業上の利用可能性

[0068] 本発明により、ホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも一つを有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤が提供される。当該抗腫瘍剤は、腫瘍の治療用又は予防用の医薬、食品又は飼料として有用である。

請求の範囲

- [1] ホンシメジ(Lyophyllum shimeji) 及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つ以上を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。
- [2] 処理物が乾燥粉末、抽出物、または抽出残渣である請求項1に記載の抗腫瘍剤。
- [3] 請求項1又は2に記載の抗腫瘍剤を含有することを特徴とする医薬。
- [4] 請求項1又は2に記載の抗腫瘍剤を含有することを特徴とする腫瘍の治療用又は予防用の食品又は飼料。
- [5] 被験体に、有効量のホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つを投与することを含む、腫瘍の治療方法。
- [6] 請求項1に記載の抗腫瘍剤の製造のためのホンシメジ及びその処理物からなる群より選択される少なくとも1つの使用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015664

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K36/07, A23K1/16, A23L1/30, A61P35/00, 35/02

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)

Int.Cl.⁷ A61K36/07, A23K1/16, A23L1/30, A61P35/00, 35/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), JMEDPLUS (JOIS), JSTPLUS (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chieko KAZUNO, "Lyophyllum aggregatum (Honshimeji) Tatotai no Kozo Kaiseki Oyobi Koshuyo Kassei ni Kansuru Kenkyu", The Jissen Women's University Kasei Gakubu Kiyo, 1981, No.18, pages 47 to 53	1-4, 6
X	Yang, Xiaotong et al., The Quantification of (1, 3)- β -glucan in edible and medicinal mushroom polysaccharides by using Limulus G test, Junwu Xitong (Mycosystema), 2003, 22(2), pages 296 to 302	1-4, 6

☐ 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
29 September, 2005 (29.09.05)Date of mailing of the international search report
18 October, 2005 (18.10.05)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015664

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.: 5
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The invention as set forth in claim 5 pertains to methods for treatment of the human body by 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:

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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 additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ 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 (IPC)) Int.Cl. ⁷ A61K36/07, A23K1/16, A23L1/30, A61P35/00, 35/02		
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 (IPC)) Int.Cl. ⁷ A61K36/07, A23K1/16, A23L1/30, A61P35/00, 35/02		
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		
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) BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), CAlus(STN), EMBASE(STN), JMEDPlus(JOIS), JSTPlus(JOIS)		
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 請求の範囲の番号
X	数野千恵子, Lyophyllum aggregatum(ほんしめじ)多糖体の構造解析 および抗腫瘍活性に関する研究, 実践女子大学家政学部紀要, 1981, No. 18, pp. 47-53	1-4, 6
X	Yang, Xiaotong et al, The Quantification of (1,3)- β -glucan in edible and medicinal mushroom polysaccharides by using Limulus G test, Junwu Xitong (Mycosystema), 2003, 22(2), pp. 296-302	1-4, 6
☐ 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 29.09.2005		国際調査報告の発送日 18.10.2005
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 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) 鶴見 秀紀 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

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（PCT17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. ☒ 請求の範囲 5 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 5 の発明は、治療による人体の処置方法に関するものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ 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. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT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きの国際調査機関は認めた。

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の範囲について作成した。
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の範囲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の範囲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の範囲について作成した。

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なかった。