



岡山 福岡市西区元岡 7 4 4 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP).

- (74) 代理人: 青木 篤, 外 (AOKI, Atsushi et al.);  
〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目 2 3  
番 1 号 虎ノ門ヒルズ森タワー 青和特  
許法律事務所 Tokyo (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,  
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,  
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,  
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,  
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,  
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,  
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,  
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VC, VN, WS, 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, LR, LS,  
MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,  
TM), ヨーロッパ (AL, 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, RS,  
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト  
(規則5.2(a))

## 明 細 書

**発明の名称**：サーチュイン1活性化剤

### 技術分野

[0001] 本発明はサーチュイン1活性化剤を提供する。

### 背景技術

[0002] 近年、長寿遺伝子として、NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素であるサーチュイン (Sirtuin) 遺伝子が注目されている。サーチュイン遺伝子は、サーチュイン1からサーチュイン7まで同定されている。中でも、サーチュイン1に注目が集まっている。サーチュイン1が標的とするタンパク質は同定されており、その研究から抗老化、細胞内代謝、エネルギー消費、炎症及びストレス応答経路等に関与していると考えられている（非特許文献1）。

[0003] これまでに、サーチュイン活性化物質としては、各種ポリフェノール、レスベラトロール、トラネキサム酸、黒ウコン、分子量500～6,000のコンドロイチン硫酸オリゴ糖、ピセアタンノール、グルコサミン塩又はN-アセチルグルコサミン、プロアントシアニジン等が知られている（特許文献1～6、非特許文献1）。

### 先行技術文献

#### 特許文献

- [0004] 特許文献1：特開2019-218296号公報  
特許文献2：特開2018-48152号公報  
特許文献3：特開2018-199680号公報  
特許文献4：特開2017-66128号公報  
特許文献5：特開2014-166982号公報  
特許文献6：特開2013-241380号公報  
特許文献7：特開2012-211106号公報

#### 非特許文献

- [0005] 非特許文献1：Journal of Functional Foods Volume 54, 2019, Pages 119-1

27

非特許文献2 : Biosci Biotechnol Biochem , 82 (10), 1812-1820(2018)

非特許文献3 : Arch Biochem Biophys. 2014 December 1; 563: 94100

非特許文献4 : Cell Cycle 13:18, 2821-2826(2014)

非特許文献5 : Journal of Functional Foods, 23, 444452(2016)

非特許文献6 : PLoS ONE 14(5): e0217394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217394>, May 28, 2019

非特許文献7 : 和光純薬時報 Vol.87 No.2 (2019年6月号), p.9-11

非特許文献8 : 片倉 喜範 アンチブレインエイジング食品の探索とその機能性の分子基盤の解明, 公益財団法人アサヒビール学術振興財団, 2010年4月

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明の課題は、サーチュイン1活性化剤の提供にある。

### 課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、鋭意研究の結果、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬が、サーチュイン1活性化剤として機能することを見出した。さらに、本発明者らは、これらの物質は腸管細胞を介して皮膚細胞に作用することも見出した。以上の発見により、以下の発明を完成するに至った：

(1) コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を有効成分として含有するサーチュイン1活性化剤。

(2) 前記サーチュイン1活性化剤は、腸管細胞を介して皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する、(1)に記載のサーチュイン1活性化剤。

(3) 前記サーチュイン1活性化剤は、内服により皮膚細胞のサーチュイン

1を活性化する、(1)又は(2)に記載のサーチュイン1活性化剤。

(4) (1)～(3)のいずれか1項に記載のサーチュイン1活性化剤を含有する、美肌用食品組成物。

(5) コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬が内服によりサーチュイン1を活性化する機能を有する美肌用成分として含有される、美肌用食品組成物。

### 発明の効果

[0008] 本発明のサーチュイン1活性化剤の投与により、サーチュイン1を活性化することができる。本発明によれば、サーチュイン1活性化剤を含有する組成物や内服剤を提供することができる。

### 図面の簡単な説明

[0009] [図1]図1は、実験2で使用したTranswell法の概略図である。

[図2]図2は、実験2において各試料を添加した場合のHaCat (SIRT1p-EGFP)におけるサーチュイン1発現量を、陰性対照(DMSOのみ)を添加した場合を100とした相対値として示す。

### 発明を実施するための形態

[0010] 本発明のサーチュイン1活性化剤の投与により、サーチュイン1を活性化することができる。サーチュイン1遺伝子の活性化は、皮膚の抗老化、寿命延長、紫外線によるDNAダメージの修復、抗炎症、酸化ストレス抑制、しわ抑制、美白、メラニン抑制、メラノーマ、色素性乾皮症などの皮膚における疾患や状態に対する治療や改善に有用であることが示唆されている(非特許文献1～5)。本発明のサーチュイン1活性化剤は、とりわけ内服により腸管を介し皮膚細胞のサーチュイン1を活性化することにより美肌への寄与が期待される。

[0011] 本発明において、美肌とは、皮膚の抗老化、寿命延長、紫外線によるDNAダメージの修復、抗炎症、酸化ストレス抑制、しわ抑制、美白、メラニン抑制

といったなどの皮膚細胞におけるサーチュイン1の活性化を介する皮膚状態の改善を指す。

[0012] サーチュイン1の活性化とは、例えばサーチュイン1遺伝子の発現を亢進させること、例えば何も付与していない状態（コントロール）に比べて、サーチュイン1活性化剤を付与した場合にサーチュイン1遺伝子の発現が亢進していることを意味し得る。例えば、有意水準を5%とした統計学的有意差（例えばスチューデントのt検定）をもって亢進していることを意味することもある。あるいは、本発明におけるサーチュイン1遺伝子の活性化とは、例えば何も付与していない状態（コントロール）に比べて、サーチュイン1活性化剤を付与した場合に、サーチュイン1遺伝子の発現が、例えば5%以上、10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、100%以上、200%以上、300%以上、400%以上、又は500%以上亢進していることを意味し得る。サーチュインの発現量は、任意の公知技術、例えば、限定されないものの、非特許文献5に記載のようなSIRT1プロモーターを皮膚細胞にトランスフェクトしSIRT1p-EGFPに由来するEGFP蛍光の変化を求める方法により求めることができる。

[0013] 本発明のサーチュイン1活性化剤は、とりわけ腸管細胞を介して皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する。「腸管細胞を介して皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する」とは、本発明の有効成分を腸管細胞に投与し、腸管細胞に吸収されることにより、有効成分と同一の成分が直接皮膚細胞に到達する、あるいは有効成分が腸管細胞に吸収され分解又は修飾された状態で皮膚細胞に到達する、あるいは腸管細胞が有効成分を取り込むことにより別の異なる成分を放出し、その異なる成分が皮膚細胞に作用するといった直接的又は間接的な経路を介して最終的に皮膚細胞におけるサーチュイン1が活性化されることを指す。「腸管細胞を介して皮膚細胞のサーチュイン1を活性化すること」の一例として、内服により皮膚細胞のサーチュイン1を活性化すること等が挙げられる。「内服により皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する」とは、本発明のサーチュイン1活性化剤を経口的に摂取することにより、本発

明の有効成分が腸管を介して吸収され、腸から取り込まれた物質が直接的又は間接的に作用し最終的に皮膚細胞におけるサーチュイン1が活性化されることを指す。

[0014] 例えば、ある成分が内服により腸から取り込まれてもその物質が直接標的細胞へ到達されるわけではなく腸管細胞から分泌された別の物質が標的細胞に到達し間接的に作用することがある。例えば、非特許文献6～8に記載のように、腸から取り込まれたカルノシンが直接的に脳に作用を及ぼすのではなく、腸管細胞においてCREBを活性化し、その結果、BDNF産生が增強され、BDNFが神経細胞を活性化し脳の機能改善をもたらすというような間接的な作用が報告されている。さらには、このような脳腸相関活性化はエクソソームが介在するという示唆もされている。つまり、腸にある成分を与えてもその成分が標的とする細胞でどのような作用を及ぼすのかは不明であるため、被験物質を腸管細胞に与え、その後標的細胞においていかなる作用を奏するのか確認する必要がある。

[0015] このような腸管細胞を介した作用は、*in vivo*、*in vitro*、*ex vivo*等を含む各種方法で測定できる。例えば、被験物質を腸管細胞層に投与し、腸管細胞層を介した皮膚細胞におけるサーチュイン1の活性を求めることにより決定できる。例えば、本明細書における実施例のようにCaco-2等の腸管細胞の層の一方の側に試験物質を添加し、この層を通過して、層の逆側に存在するHaCaT等の皮膚細胞におけるサーチュイン1の活性を測定するTranswell法により決定することができる。Transwell法は当該分野で公知又は当業者が容易に実施可能である。しかしながら測定方法は上記方法に限定されず、他の任意の方法を採用してもよい。例えば、腸管細胞培養液に被験物質を投与しその上清液を皮膚細胞に添加するといった*in vitro*の方法や、ヒト等の動物に経口的に摂取させた後に、皮膚におけるサーチュイン1の活性を測定するといった*in vivo*の方法を採用してもよい。

[0016] 本発明は、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード

、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を有効成分として含有するサーチュイン1活性化剤を提供する。さらに、本発明は、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を有効成分として含有される、組成物も提供する。本発明のサーチュイン1活性化剤及び組成物は、経口剤又は経腸剤の形態であってもよく、美肌のためのものであってもよい。

[0017] 本発明で用いられるコケモモ (*Vaccinium vitis-idaea* L.) は、ツツジ科スノキ属の低木である。果実を使用することが好ましい。果実にはレスベラトロールや、アントシアニン、プロアントシアニジンなどが含まれている。

[0018] 本発明で用いられるエキナセア (*Echinacea purpurea*) はキク科ムラサキバレンギク属の多年草である。エキナセアの開花時の地上部の搾汁液を使用することが好ましい。エキナセアには、抗菌、抗ウイルス作用等が報告されている。

[0019] 本発明で用いられるビーポーレンはミツバチが集めた花粉の粒（花粉荷）である。ビタミンやミネラルなどの栄養素が含まれるという報告がある。シスタス、オーク、バラ、エキウム、キクの花粉など任意の花粉であってよい。ビーポーレンが採取される場所もスペインといったヨーロッパ、中国といったアジア等限定されない。

[0020] 本発明で用いられるクコの実はナス科の落葉低木であるクコ (*Lycium chinense* Miller又は*L. barbarum* Linne(Solanaceae) )の果実であり、ゼアキサントン、ベタイン、ポリフェノールなどが含まれている。クコの実には滋養強壮作用、血流改善作用、美白効果、DNA損傷修復作用等が報告されている（非特許文献2、特許文献7）。

[0021] 本発明で用いられるケイヒ（桂皮）はクスノキ科のトンキンニッケイ (*Cinnamomum cassia*) の樹皮を乾燥させた生薬である。フェニルプロパノイド、ケイヒアルデヒド、ケイヒ酸などが含まれている。発汗作用、解熱作用、鎮痛

作用などが知られている。

- [0022] 本発明で用いられる霊芝 (*Ganoderma lucidum*) はマンネンタケ科のキノコ (子実体) を乾燥させた生薬である。滋養強壮などに効果があると言われている。
- [0023] 本発明で用いられるナルコユリ (*Polygonatum falcatum*) はユリ科アマドコロ属に属する多年草草本である。根茎を乾燥させた生薬として使用するのが好ましい。滋養強壮などに効果があると言われている。
- [0024] 本発明で用いられるオクラはアオイ科トロロアオイ属に属する植物である。果実を用いるのが好ましい。果実にはムチンやペクチンなどが含まれており胃腸の調子を整える作用があることが報告されている。
- [0025] 本発明で用いられるヨモギ (*Artemisia princeps Pampanini*) はキク科の植物であり、ヨモギの地上部を用いることが好ましい。ヨモギにはクマリン類およびカフェ酸誘導体などが含まれ、収れん・止血・鎮痙作用などに効果があると言われている。
- [0026] 本発明で用いられるエダマメ (*Glycine max*) はマメ目マメ科ダイズ属に属する植物の種子が完熟する前に収穫された未成熟の種子を指す。イソフラボン、ビタミンB1、B2、カリウム、鉄分などが含まれている。
- [0027] 本発明で用いられる大麦若葉はイネ科オオムギ属の植物である大麦 (*Hordeum vulgare*) の出穂前の若い葉である。各種ビタミン、ミネラル類、葉酸、SOD酵素などが含まれ、栄養効果が高く、青汁等の材料として使用されている。
- [0028] 本発明で用いられるユズ (*Citrus junos*) はミカン属の常緑小高木である。果実を用いることが好ましい。ユズには、ヘスペリジン、ビタミンCが含まれており、免疫効果などが知られている。
- [0029] 本発明で用いられるチアシードはシソ科アキギリ属に属する一年草であるチア (*Salvia hispanica*) の種子である。チアシードは、 $\alpha$ -リノレン酸、オメガ3脂肪酸、各種ビタミン・ミネラルやクロロゲン酸等が含まれ、スーパーフードとして知られている。
- [0030] 本発明で用いられるキキョウはキキョウ科キキョウ属の多年草である。キキ

ヨウの根はサポニンを含み、鎮咳去痰作用や整腸作用があるといわれている。根の部分を使用することが好ましい。

[0031] 本発明で用いられるギムネマ (*Gymnema sylvestre*) はキョウチクトウ科ギムネマ属のつる性植物である。ギムネマ酸、グルクロン酸を含み、食欲抑制作用、血糖値の急激な上昇を抑制する作用が報告されている。葉の部分を使用することが好ましい。

[0032] 本発明で用いられるローズヒップ (*Rosa canina*) は、バラ科バラ属の植物である。ビタミンCはカロテノイド、ベータカロテン、ルテイン、ゼアキサントシン、リコペン等を含み、美肌、抗菌、抗ウイルス効果などが知られている。果実を用いることが好ましい。

[0033] 上述の生薬は公知の物質であり、公知の方法により容易に乾燥、精製、抽出等ができ、また市販品を容易に入手可能である。生のままでも乾燥したものでも使用することができるが、使用性、製剤化等の観点から抽出物、乾燥物、乾燥粉末、原料の粉末物、搾汁液等として用いることもできる。原料により、いずれの形態を用いるかは適宜選択することができ、必要に応じて殺菌等の処理を施してもよい。

[0034] 抽出物として用いる場合、その抽出物の抽出方法は例えば溶媒抽出により行うことができる。溶媒抽出の場合には、植物の全草あるいは各種部位（葉、花、根等）を必要に応じて乾燥させ、更に必要に応じて細断又は粉碎した後、水性抽出剤、水、例えば冷水、温水、又は沸点若しくはそれより低温の熱水、あるいは含水有機溶媒、有機溶媒、例えばエタノール、メタノール、エーテル、1, 3-ブチレングリコール等を原料の性質や組成物の用途等により好ましい溶媒を適宜選択して常温で又は加熱して用いることにより抽出される。しかしながら、抽出方法は溶媒抽出に限定されず、当業界で知られている常用の手法によってもよく、本発明で用いる抽出物の抽出方法や抽出物の形態は、本発明の効果を損なわない限り任意である。上記抽出物の形態は、抽出液自体だけでなく、常用の手法により適宜希釈又は濃縮したものであってもよく、更に、抽出液を乾燥することによって得られる粉状あるいは

塊状の固体であってもよい。

- [0035] 含水有機溶媒の例として、含水エタノール等の含水低級アルコールを用いてもよく、その場合の含水率は、例えば0~10v/v%、10~40v/v%、20~30v/v%、30~50v/v%、50~80v/v%、80~99.5v/v%等であってもよい。
- [0036] 乾燥粉末を得る方法としては、植物の全草あるいは各種部位（葉、花、根等）を細断又は粉碎しその後に乾燥する方法や、植物を乾燥した後に細断又は粉碎して乾燥粉末を得る方法がある。また、植物を細断又は粉碎し、発酵や酵素処理を施した後、乾燥し、更に必要に応じて所定の粒径にすべく粉碎する方法等を適宜採ることができる。
- [0037] 本発明のサーチイン1活性化剤は、経口又は経腸摂取が好ましいものの、経皮投与といった他の投与経路を排除するものではない。本発明のサーチイン1活性化剤を各種投与経路で投与する場合、本発明の有効成分をサーチイン1活性化の効果が発揮されるような量で適用することが好ましい。エンメイソウの植物体又はその溶媒抽出物の配合量は、それらの種類、目的、形態、利用方法などに応じて、適宜決めることができる。
- [0038] 本発明のサーチイン1活性化剤を経口剤又は経腸剤として利用する場合には、経口剤又は経腸剤全量に対して、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップの乾燥重量が、0.00001~0.5重量%程度になるように調製することが好ましく、0.0001~0.05重量%程度がより好ましく、0.001~0.005重量%程度だと更に好ましい。あるいは、腸内での濃度が0.1~100 $\mu$ g/ml程度、より好ましくは0.5~50 $\mu$ g/ml程度、更に好ましくは1~10 $\mu$ g/ml程度になるように調整してもよい。
- [0039] また、本発明のサーチイン1活性化剤を経口剤又は経腸剤として利用する場合には、成人1人当たりのコケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップの植物体又はその溶媒抽出物の摂取量は、例えば1日あたり、0.005mg~約0.5g（乾燥重量換算

)程度、より好ましくは0.05mg～約50mg、更に好ましくは0.5mg～約5mg(乾燥重量換算)程度になるように調製するのが好ましい。また、摂取頻度は、限定されないものの、1回の摂取でもよいが、一例によれば、例えば2週間に1回、1週間に1回、3日に1回、2日に1回、1日1回、1日2回、1日3回、1日4回等の頻度で摂取することができる。また、都度摂取するものであっても、継続的に摂取するものであっても、例えば数か月の間隔を空け断続的に摂取するものであってもよい。

[0040] また、本発明のサーチェイン1活性化剤は、経口又は経腸摂取用の組成物、例えば、食品組成物に含有できる。本発明のサーチェイン1活性化剤及び組成物の形態としては、例えば、粉末状、液体状、錠剤等の固形、顆粒、粒状、ペースト状、ゲル状など任意に選択することができる。

[0041] 本発明のサーチェイン1活性化剤及び組成物には、必要に応じて添加剤を任意に選択し併用することができる。添加剤としては賦形剤等を含ませることができる。賦形剤としては、所望の剤型としたときに通常用いられるものであれば何でも良く、例えば、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、デキストリン、シクロデキストリンなどのでんぷん類、結晶セルロース類、乳糖、ブドウ糖、砂糖、還元麦芽糖、水飴、フラクトオリゴ糖、乳化オリゴ糖などの糖類、ソルビトール、エリスリトール、キシリトール、ラクチトール、マンニトールなどの糖アルコール類が挙げられる。これら賦形剤は、単独で又は二種以上組み合わせて使用できる。

[0042] その他の着色剤、保存剤、増粘剤、結合剤、崩壊剤、分散剤、安定化剤、ゲル化剤、酸化防止剤、界面活性剤、保存剤、pH調整剤等については、公知のものを適宜選択して使用できる。

[0043] 本発明は、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、霊芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を例えば経口又は経腸経路で投与することにより皮膚のサーチ

ユイン1を活性化する方法も提供する。また、本発明は、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を例えば経口又は経腸経路で投与することにより皮膚のサーチュイン1活性化を介する皮膚の抗老化のための方法も提供する。本発明の方法は、美容を目的とする方法であり、医師や医療従事者による治療ではないことがある。

[0044] さらに、本発明は、皮膚の抗老化のための経口剤又は経腸剤といった医薬の製造におけるコケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬の使用も提供する。本発明は、例えば経口又は経腸投与により、皮膚のサーチュイン1を活性化することによる、皮膚の抗老化のための方法に使用するためのコケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬も提供する。

## 実施例

[0045] 次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。

### [0046] 実験1：試料の調製

サーチュイン1活性化剤の候補試料として、コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップを、以下の表のように調製した。

[0047]

[表1]

コケモモ	コケモモの果実を水で抽出したエキス
エキナセア	エキナセアの開花時の地上部の搾汁液
ビーポーレン	ミツバチが花々より集めて作った花粉ダンゴ花粉荷をそのままパウダー化したもの
クコの実	クコの果実を含水エタノールで抽出してエタノールを除去した軟エキス
ケイヒ	ケイヒ（桂皮）を99.5%エタノール抽出して溶媒を除去し、マルトデキストリンを添加したものでエキス末とマルトデキストリンの重量比は2:1
霊芝	霊芝の子実体の乾燥物から、20vol%エタノールを用いて抽出した抽出液
ナルコユリ	ナルコユリの根茎を蒸した後乾燥させたものから、30vol%エタノールを用いて抽出した抽出液
オクラ	国産オクラの果実の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
ヨモギ	国産ヨモギの地上部の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
エダマメ	国産枝豆（大豆）の種子の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
大麦若葉	大麦若葉の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
ユズ	国産ゆずの果実の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
チアシード	チアの種子の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
キキョウ	キキョウの根の乾燥物を、殺菌粉末化したもの
ギムネマ	ギムネマシルベスタの葉の乾燥物から、水を用いて抽出した乾燥エキス
ローズヒップ	ローズヒップの果実の乾燥物から、水を用いて抽出した乾燥エキス

[0048] その他動植物の抽出物といった天然由来成分や合成成分を含め、合計152種類の候補試料を調製した。試料はDMSOを用いて10mg/mlとして調整し、適宜、培養液で希釈して評価検体として10 $\mu$ g/mlとなるように調整した。陽性対照として10 $\mu$ g/mlのレスベラトロールを含むDMSO、陰性対照として何も含まないDMSOおよび10 $\mu$ g/mlのアスタキサンチンを含むDMSOを用いた。

[0049] 実験2：SIRT1プロモーターを活性化する成分のスクリーニングシステムの構築

実験2-1：ヒト皮膚表皮由来細胞株HaCaT細胞の培養

本実験ではヒト皮膚のモデル細胞として、HaCaT細胞を用いた。細胞は非働化した10% Fetal bovine serum (FBS; Life Technologies, CA, USA) 添加DMEM培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Nissui, Tokyo, Japan) を用いて、細胞培養ディッシュ (Greiner bio-one, Tokyo, Japan) にて、37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>存在下で継代培養した。DMEM培地としては、1 LのMilli-Q水に対して、DMEM粉末10.0gを溶解し、硫酸ストレプトマイシン0.1g力価 (Meiji, Tokyo, Japan)、ペニシリンGカリウム10万U (Meiji)、1M HEPES 2.38g (DOJINDO, Kumamoto, Japan)、10% NaHCO<sub>3</sub> (Wako, Osaka, Japan) 2.0gを添加し、0.2

2 $\mu$ mフィルター滅菌 (Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan) したものをを用いた。

[0050] 実験2-2 : ヒト結腸ガン由来細胞株Caco-2細胞の培養

本研究では、ヒト腸管上皮モデルとしてヒト結腸ガン由来Caco-2細胞を用いた。Caco-2細胞は、非働化した10% Fetal Bovine Serum (FBS)(Life Technologies, CA, USA) を含むDulbecco' s Modified Eagle Medium (DMEM) (Nissui, Tokyo, Japan)を用いて、細胞培養ディッシュ (Greiner bio-one, Tokyo, Japan) にて、37°C、5% CO<sub>2</sub>条件下で継代培養した。DMEM培地としては、1LのMilli-Q水に対して、DMEM粉末10.0gを溶解し、100U/mL ペニシリン(Meiji)、0.1mg/mLストレプトマイシン(Meiji)、1M HEPES 2.38g(DOJINDO, Kumamoto, Japan)、10% NaHCO<sub>3</sub> 2.0g(Wako, Osaka, Japan)を添加し、0.22 $\mu$ mフィルター滅菌(Tokyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan) したものをを用いた。

[0051] 実験2-3 : プラスミド(SIRT1p-EGFP)の調製

非特許文献1に記載の方法に従いHaCat(SIRT1p-EGFP)を調製した。具体的には、非特許文献1に記載の以下のプライマーを用いるPCR法によりヒトSIRT1プロモーター (-1159~-1) を増幅した。増幅断片を、制限酵素AseIおよびNheI消化によりCMVプロモーターを除去したpEGFP-C3 (TaKaRa, 日本) にクローニングし、得られたプラスミドをSIRT1p-EGFPとした。非特許文献5に記載の方法に従い、このプラスミドをヒト皮膚角化細胞株HaCaTに安定的にトランスフェクトし、HaCat (SIRT1p-EGFP) とし、ヒトSIRT1プロモーター活性の評価に使用した。

Homo sapiens sirtuin1 (hSIRT1) , mRNA

HA044263-F: 5' -GCCTCACATGCAAGCTCTAGTGAC-3' (配列番号1)

HA044263-R: 5' -TTCGAGGATCTGTGCCAATCATAA-3' (配列番号2)

[0052] 実験2-4 : Transwell法の設定

実験2-2で調整したCaco-2細胞をTranswell (メルク社製のミリセル (Millicell) セルカルチャーインサート) のカップのメンブレン上に2.0 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/mlで播種し、TEER/経上皮電位測定を測定した。2, 3日おきに培地交換

をして14日間分化を誘導した。14日目、TEER/経上皮電位測定を測定し、数値が1日目より上昇していることを確認した。Caco-2細胞に実験1で調製した各試料を10  $\mu$ g/mlになるように添加した。次に、ブラックプレートにHaCaT (SIRT1p-EGFP)を $6.0 \times 10^5$  cells/mlで播種した。24時間後、HaCaT (SIRT1p-EGFP)の培地を取り除き、Caco-2透過液を100  $\mu$ L添加した。48時間後、HaCaT (SIRT1p-EGFP)に添加したCaco-2透過液を取り除き、PBSで洗浄した後、Hoechst33342で染色した。

その後、IN Cell Analyzer2000でHaCaT (SIRT1p-EGFP)の蛍光強度を測定した。

[0053] 結果：

結果を図2に示す。図2に示すように、本発明の生薬を投与すると、陰性対照（DMSOのみ及びアスタキサンチンを含むDMSO）と比べてサーチュイン1の発現量が有意に増加した。この発現量は、陽性対照（レスベラトロールを含むDMSO）と比較しても本発明の生薬は、優れたサーチュイン1活性化効果があることがわかる。

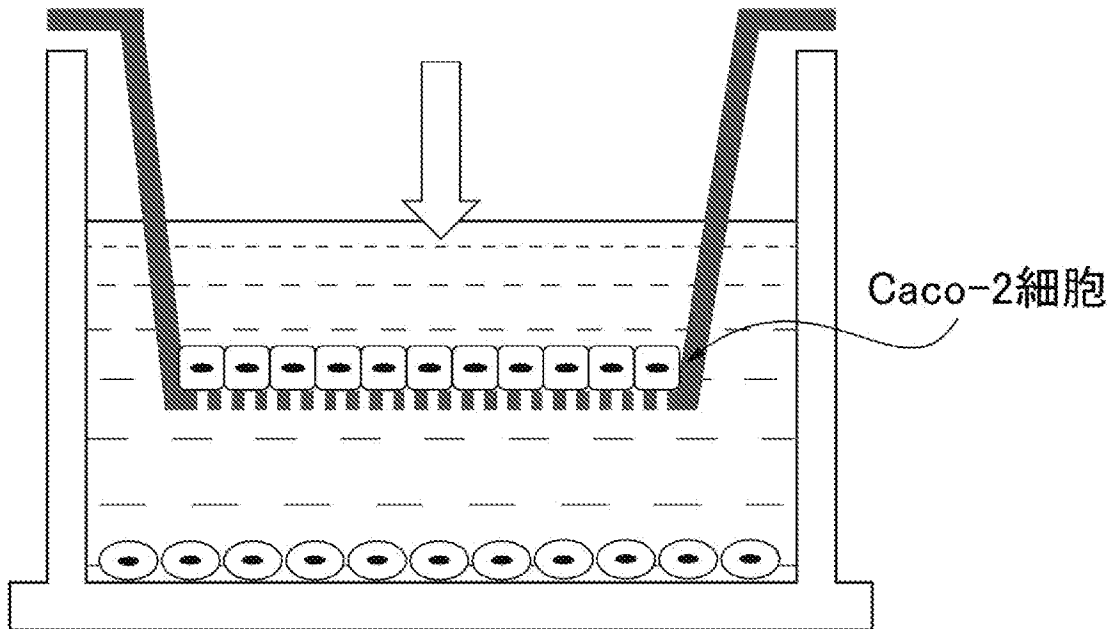
## 請求の範囲

- [請求項1] コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬を有効成分として含有するサーチュイン1活性化剤。
- [請求項2] 前記サーチュイン1活性化剤は、腸管細胞を介して皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する、請求項1に記載のサーチュイン1活性化剤。
- [請求項3] 前記サーチュイン1活性化剤は、内服により皮膚細胞のサーチュイン1を活性化する、請求項1又は2に記載のサーチュイン1活性化剤。
- [請求項4] 請求項1～3のいずれか1項に記載のサーチュイン1活性化剤を含有する、美肌用食品組成物。
- [請求項5] コケモモ、エキナセア、ビーポーレン、クコの実、ケイヒ、靈芝、ナルコユリ、オクラ、ヨモギ、エダマメ、大麦若葉、ユズ、チアシード、キキョウ、ギムネマ、及びローズヒップからなる群より選択される1つまたは複数の生薬が内服によりサーチュイン1を活性化する機能を有する美肌用成分として含有される、美肌用食品組成物。

[図1]

図1

10  $\mu$ g/ml 試料をCaco-2細胞の  
バリア形成後に添加





## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/034628

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

**A61K 36/45**(2006.01)i; **A23L 33/105**(2016.01)i; **A61K 36/074**(2006.01)i; **A61K 36/18**(2006.01)i; **A61K 36/185**(2006.01)i; **A61K 36/24**(2006.01)i; **A61K 36/28**(2006.01)i; **A61K 36/282**(2006.01)i; **A61K 36/346**(2006.01)i; **A61K 36/48**(2006.01)i; **A61K 36/537**(2006.01)i; **A61K 36/54**(2006.01)i; **A61K 36/738**(2006.01)i; **A61K 36/752**(2006.01)i; **A61K 36/815**(2006.01)i; **A61K 36/8969**(2006.01)i; **A61K 36/8998**(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i

FI: A61K36/45 ZNA; A61K36/28; A61K36/18; A61K36/815; A61K36/54; A61K36/185; A61K36/8969; A61K36/282; A61K36/48; A61K36/8998; A61K36/752; A61K36/537; A61K36/346; A61K36/24; A61K36/738; A61P17/00; A61P43/00 111; A23L33/105; A61K36/074

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)

A61K36/45; A23L33/105; A61K36/074; A61K36/18; A61K36/185; A61K36/24; A61K36/28; A61K36/282; A61K36/346; A61K36/48; A61K36/537; A61K36/54; A61K36/738; A61K36/752; A61K36/815; A61K36/8969; A61K36/8998; A61P17/00; A61P43/00

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996  
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021  
Registered utility model specifications of Japan 1996-2021  
Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08 May 2014 (2014-05-08) claims, pp. 1-2, examples 1-16	1
Y		1-5
X	内山太郎 ほか, アムラ果実およびリンゴンベリーエキスの併用による皮膚弾力改善効果, Pharmacometrics, 2016, vol. 91, pp. 85-91, non-official translation (UCHIYAMA, Taro et al. Skin Elasticity Improvement Effect of Combined Use of Amla Fruit and Lingonberry Extract) abstract, pp. 86-87, left column, p. 89, right column	1-5
Y		1-5

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

**09 December 2021**

Date of mailing of the international search report

**21 December 2021**

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)  
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915  
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	内山太郎 ほか, リンゴンベリーおよびアムラ果実配合飲料の美容効果, COSMETIC STAGE, 2016, vol. 10, no. 4, pp. 71-76, non-official translation (UCHIYAMA, Taro et al. Beauty Effect of Beverage Containing Lingonberry and Amla Fruit ) p. 71, right column, the last paragraph, p. 73, right column to p. 75, fig. 7	1-5
Y		1-5
Y	JP 2015-007016 A (UHA MIKAKUTO CO LTD) 15 January 2015 (2015-01-15) paragraph [0020]	1-5
Y	JP 2018-048152 A (ABURADA, Masaki) 29 March 2018 (2018-03-29) claims, paragraphs [0002]-[0006], example 3	1-5
Y	JP 2019-218296 A (NIPPON FINE CHEMICAL CO., LTD.) 26 December 2019 (2019-12-26) paragraph [0004]	1-5
Y	片倉喜範, サクロポリフェノールの長寿遺伝子活性化作用, 別冊 BIO Clinica, supplementary vol., 2015, vol. 4, no. 2, pp.143-146, non-official translation (KATAKURA, Yoshinori, Longevity Gene Activating Action of Pomegranate Polyphenol ) p. 143, left column, p 144, right column to p. 146, left column	1-5

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - on paper or in the form of an image file.
  - b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**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:

Document 1: WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08 May 2014 (2014-05-08)

claims, pp. 1-2, examples 1-16

Document 5: JP 2018-048152 A (ABURADA, Masaki) 29 March 2018 (2018-03-29)

claims, paragraphs [0002]-[0006], example 3

Document 7: 片倉喜範, サクロポリフェノールの長寿遺伝子活性化作用, BIO Clinica, supplementary vol., 2015, vol. 4, no. 2, pp.143-146, non-official translation (KATAKURA, Yoshinori, Longevity Gene Activating Action of Pomegranate Polyphenol )

p. 143, left column, p. 144, right column to p. 146, left column

The claims are classified into the following 16 inventions.

(Invention 1) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to lingonberry

Document 1 indicates that a lingonberry (corresponding to the lingonberry of the present application) extraction fraction has a Sirtuin 1 gene expression-enhancing action (claims, pages 1-2, examples 1-16). Thus, claim 1 of the present application lacks novelty in light of document 1 and therefore does not have a special technical feature. However, claims 2-4 depending from claim 1 and the section of independent claim 5 relating to lingonberry have the special technical feature of activating Sirtuin "through intestinal tract cells" and "by orally taken."

Therefore, the sections of claims 1-5 relating to lingonberry are classified as invention 1.

(Invention 2) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to echinacea

The inventions in the sections of claims 1-5 relating to echinacea share, with the sections of claims 1-5 relating to lingonberry classified as invention 1, the feature of "a Sirtuin 1 activation agent containing one or a plurality of herbal medicines as an active component." However, said feature is disclosed in documents 1, 5, and 7, and does not make a contribution over the prior art in light of the content disclosed in these documents. Therefore, this feature cannot be said to be a special technical feature. Furthermore, there is no other identical or corresponding special technical feature among the inventions.

Additionally, the inventions in the sections of claims 1-5 relating to echinacea are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as invention 1.

Therefore, the inventions in the sections of claims 1-5 relating to echinacea cannot be classified as invention 1.

The inventions in the sections of claims 1-5 relating to echinacea is classified as invention 2 as a result of having the special technical feature of a Sirtuin 1 activation agent containing echinacea as an active ingredient.

Similarly, the inventions are classified as follows.

(Invention 3) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to bee pollen

(Invention 4) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to goji berry

(Invention 5) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to cinnamon

(Invention 6) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to reishi mushroom

(Invention 7) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to polygonatum falcatum

(Invention 8) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to okra

(Invention 9) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to yomogi

(Invention 10) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to edamame

(Invention 11) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to young barley leaf

(Invention 12) The invention as in the sections of claims 1-5 relating to yuzu

(Invention 13) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to chia seed

(Invention 14) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to balloon flower

(Invention 15) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to gurmar

(Invention 16) The inventions in the sections of claims 1-5 relating to rose hip

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

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.: **The inventions in the sections of claims 1-5 relating to lingonberry**

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/JP2021/034628**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2014/068190	A2	08 May 2014	EP 2914242 A2 claims, examples 1-16	
JP	2015-007016	A	15 January 2015	(Family: none)	
JP	2018-048152	A	29 March 2018	US 2014/0348961 A1 claims, paragraphs [0002]-[0006], example 3	
				EP 2799081 A1	
				WO 2013/100111 A1	
JP	2019-218296	A	26 December 2019	(Family: none)	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>A61K 36/45(2006.01)i; A23L 33/105(2016.01)i; A61K 36/074(2006.01)i; A61K 36/18(2006.01)i;                  A61K 36/185(2006.01)i; A61K 36/24(2006.01)i; A61K 36/28(2006.01)i; A61K 36/282(2006.01)i;                  A61K 36/346(2006.01)i; A61K 36/48(2006.01)i; A61K 36/537(2006.01)i; A61K 36/54(2006.01)i;                  A61K 36/738(2006.01)i; A61K 36/752(2006.01)i; A61K 36/815(2006.01)i; A61K 36/8969(2006.01)i;                  A61K 36/8998(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i                  FI: A61K36/45 ZNA; A61K36/28; A61K36/18; A61K36/815; A61K36/54; A61K36/185; A61K36/8969; A61K36/282;                  A61K36/48; A61K36/8998; A61K36/752; A61K36/537; A61K36/346; A61K36/24; A61K36/738; A61P17/00;                  A61P43/00 111; A23L33/105; A61K36/074</p>																	
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>A61K36/45; A23L33/105; A61K36/074; A61K36/18; A61K36/185; A61K36/24; A61K36/28; A61K36/282;                  A61K36/346; A61K36/48; A61K36/537; A61K36/54; A61K36/738; A61K36/752; A61K36/815; A61K36/8969;                  A61K36/8998; A61P17/00; A61P43/00</p> <p>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</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table> <p>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）</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年							
日本国実用新案公報	1922-1996年																
日本国公開実用新案公報	1971-2021年																
日本国実用新案登録公報	1996-2021年																
日本国登録実用新案公報	1994-2021年																
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>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</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08.05.2014 (2014-05-08) Claims、第1-2頁、Example 1-16</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>1-5</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>内山太郎 ほか、アムラ果実およびリンゴンベリーエキスの併用による皮膚弾力改善 効果、応用薬理、2016, Vol.91, pp.85-91 Abstract、第86頁-第87頁左欄、第89頁右欄</td> <td>1-5</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>1-5</td> </tr> </tbody> </table>			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	WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08.05.2014 (2014-05-08) Claims、第1-2頁、Example 1-16	1	Y		1-5	X	内山太郎 ほか、アムラ果実およびリンゴンベリーエキスの併用による皮膚弾力改善 効果、応用薬理、2016, Vol.91, pp.85-91 Abstract、第86頁-第87頁左欄、第89頁右欄	1-5	Y		1-5
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	WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08.05.2014 (2014-05-08) Claims、第1-2頁、Example 1-16	1															
Y		1-5															
X	内山太郎 ほか、アムラ果実およびリンゴンベリーエキスの併用による皮膚弾力改善 効果、応用薬理、2016, Vol.91, pp.85-91 Abstract、第86頁-第87頁左欄、第89頁右欄	1-5															
Y		1-5															
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>																	
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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）</td> <td>"&amp;" 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"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	"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	"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	"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）	"&" 同一パテントファミリー文献	"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				
* 引用文献のカテゴリー	"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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの																
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"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																
"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	"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																
"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）	"&" 同一パテントファミリー文献																
"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																	
<p>国際調査を完了した日</p> <p>09.12.2021</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>21.12.2021</p>																
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>佐々木 大輔 4U 3962</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3452</p>																

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
X	内山太郎 ほか, リンゴンベリーおよびアマラ果実配合飲料の美容効果, COSMETIC STAGE, 2016, Vol.10, No.4, pp.71-76 第71頁右欄最終段落、第73頁右欄-第75頁、図7	1-5
Y		1-5
Y	JP 2015-007016 A (ユーハ味覚糖株式会社) 15.01.2015 (2015 - 01 - 15) [0020]	1-5
Y	JP 2018-048152 A (油田正樹) 29.03.2018 (2018 - 03 - 29) 特許請求の範囲、[0002]-[0006]、実施例3	1-5
Y	JP 2019-218296 A (日本精化株式会社) 26.12.2019 (2019 - 12 - 26) [0004]	1-5
Y	片倉喜範, ザクロポリフェノールの長寿遺伝子活性化作用, 別冊 BIO Clinica, 2015, Vol.4, No.2, pp.143-146 第143頁左欄、第144頁右欄-第146頁左欄	1-5

## 第 I 欄      ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
- a.  出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- 紙形式又はイメージファイル形式
- b.  国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c.  国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)
2.  さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:

## 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の国際調査機関は認めた。

文献1：WO 2014/068190 A2 (LUMENE OY) 08.05.2014 (2014 - 05 - 08)  
Claims、第1-2頁、Example 1-16

文献5：JP 2018-048152 A (油田正樹) 29.03.2018 (2018 - 03 - 29)  
特許請求の範囲、[0002]-[0006]、実施例3

文献7：片倉喜範，ザクロポリフェノールの長寿遺伝子活性化作用，別冊 B10 Clinica，2015，Vol.4，No.2，pp.143-146  
第143頁左欄、第144頁右欄-第146頁左欄

請求の範囲は、以下の16個の発明に区分される。

(発明1) 請求項1-5のうちコケモモに関する部分に係る発明

文献1には、Lingonberry (本願のコケモモに相当) 抽出画分にサーチユイン1遺伝子の発現増強作用があることが記載されており (Claims、第1-2頁、Example 1-16)、本願請求項1は文献1により新規性が欠如しているため、特別な技術的特徴を有しない。しかしながら、請求項1の従属請求項である2-4及び独立請求項である請求項5のうちコケモモに関する部分は、「腸管細胞を介して」や「内服により」サーチユインを活性化するという特別な技術的特徴を有している。

したがって、請求項1-5のうちコケモモに関する部分を発明1に区分する。

(発明2) 請求項1-5のうちエキナセアに関する部分に係る発明

請求項1-5のうちエキナセアに関する部分に係る発明は、発明1に区分された請求項1-5のうちのコケモモに関する部分と「1つまたは複数の生薬を有効成分として含有するサーチユイン1活性化剤」という共通の技術的特徴を有している。しかし、当該技術的特徴は文献1、5、7に開示されており、該文献の開示内容に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、特別の技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項1-5のうちエキナセアに関する部分に係る発明は、発明1に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項1-5のうちエキナセアに関する部分に係る発明は、発明1に区分できない。

そして、請求項1-5のうちエキナセアに関する部分に係る発明は、エキナセアを有効成分として含有するサーチユイン1活性化剤という特別な技術的特徴を有しているため、発明2に区分する。

同様に、以下のように区分する。

(発明3) 請求項1-5のうちビーポーレンに関する部分に係る発明

(発明4) 請求項1-5のうちクコの実に関する部分に係る発明

(発明5) 請求項1-5のうちケイヒに関する部分に係る発明

(発明6) 請求項1-5のうち霊芝に関する部分に係る発明

(発明7) 請求項1-5のうちナルコユリに関する部分に係る発明

(発明8) 請求項1-5のうちオクラに関する部分に係る発明

(発明9) 請求項1-5のうちヨモギに関する部分に係る発明

(発明10) 請求項1-5のうちエダマメに関する部分に係る発明

(発明11) 請求項1-5のうち大麦若葉に関する部分に係る発明

(発明12) 請求項1-5のうちユズに関する部分に係る発明

(発明13) 請求項1-5のうちチアシードに関する部分に係る発明

(発明14) 請求項1-5のうちキキョウに関する部分に係る発明

(発明15) 請求項1-5のうちギムネマに関する部分に係る発明

(発明16) 請求項1-5のうちローズヒップに関する部分に係る発明

## 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）

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。  
請求項1-5のうちコケモモに関する部分に係る発明

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。

国際調査報告  
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/034628

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2014/068190	A2	08.05.2014	EP	2914242	A2	
				Claims, Example 1-16			
-----							
JP	2015-007016	A	15.01.2015	(ファミリーなし)			
-----							
JP	2018-048152	A	29.03.2018	US	2014/0348961	A1	
				Claims, [0002] - [0006], Example 3			
				EP	2799081	A1	
				WO	2013/100111	A1	
-----							
JP	2019-218296	A	26.12.2019	(ファミリーなし)			
-----							