(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
2023年8月3日(03.08.2023)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2023/145482 A1

(51) 国際特許分類:
A61Q 19/00 (2006.01)　*A61K 8/34* (2006.01)
A61N 1/30 (2006.01)　*A61K 8/9728* (2017.01)
C12N 5/071 (2010.01)　*A61K 8/9767* (2017.01)
C12N 15/12 (2006.01)　*A61K 8/9789* (2017.01)
C07K 14/78 (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2023/000752

(22) 国際出願日：　2023年1月13日(13.01.2023)

(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 2022-011950　2022年1月28日(28.01.2022)　JP

(71) 出願人：株式会社　資生堂 (**SHISEIDO COMPANY, LTD.**) [JP/JP]；〒1040061 東京都中央区銀座７丁目５番５号 Tokyo (JP). ヤーマン株式会社(**YA-MAN LTD.**) [JP/JP]；〒1350045 東京都江東区古石場１丁目４番４号 Tokyo (JP).

(72) 発明者：山田　みなみ (**YAMADA Minami**)；〒1040061 東京都中央区銀座７丁目５番５号 株式会社資生堂内 Tokyo (JP). 山▲崎▼ 謙太朗(**YAMAZAKI Kentaro**)；〒1350045 東京都江東区古石場１丁目４番４号 ヤーマン株式会社内 Tokyo (JP).

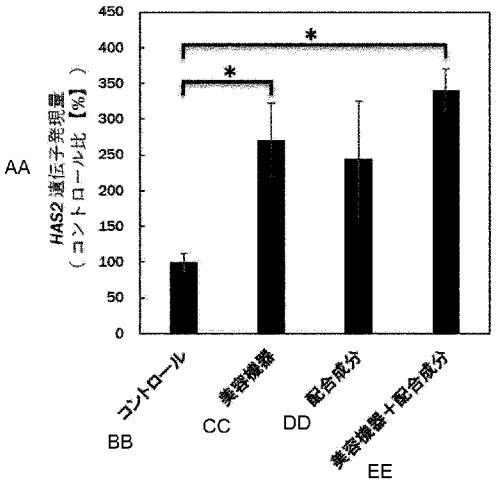
(74) 代理人：青木　篤，外 (**AOKI, Atsushi** et al.)；〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目２３番１号 虎ノ門ヒルズ森タワー 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

(54) **Title:** BEAUTY CARE METHOD USING COMBINATION OF HIGH-FREQUENCY ELECTRICAL STIMULATION AND COSMETIC

(54) 発明の名称：高周波電気刺激および化粧料の併用による美容方法

[図2]



AA HAS2 gene expression amount (control ratio (%))
BB Control
CC Beauty care device
DD Blending component
EE Beauty care device + blending component

(57) **Abstract:** The present disclosure relates to a beauty care method for applying moisture or firmness to skin. More specifically, this beauty care method includes combining a beauty care composition containing a plurality of components and high-frequency waves, and applying said combination to the skin to influence gene expression of skin cells, etc. The method of the present disclosure can be used in order to enhance the production of hyaluronic acid, collagen, and elastin.

(57) 要約：本開示は、皮膚に潤いや張りを与える美容方法に関する。より具体的には、本開示の美容方法は、複数の成分を含有する美容組成物と高周波とを組み合わせて皮膚に適用して、皮膚細胞の遺伝子発現等に影響を及ぼすことを含む。本開示の方法は、ヒアルロン酸、コラーゲン、エラスチンの産生を増強させるために使用されうる。

[続葉有]

WO 2023/145482 A1

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, 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, CV, 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, ME, 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 ： 高周波電気刺激および化粧料の併用による美容方法

技術分野

[0001]　本発明は、高周波を利用した美容方法、美容組成物と高周波を利用した美容方法、ならびに高周波美容処理装置の作動方法に関する。

背景技術

[0002]　顔や手足などの皮膚に対して高周波（RF）電流を流すことにより、皮膚のしわやたるみなどの改善を図ることが可能な高周波美容方法が知られている。皮膚に高周波電流を流すと、真皮層や皮下組織の温度が上昇する。その加熱作用によって、血液の流れを促進させること、および、真皮層のコラーゲンに熱ダメージを与えることで真皮層のコラーゲンの再生を促進させること等の効果が期待されている。近年は、そのような高周波を利用した様々な美容処理装置が提案されている（例えば、特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2018－489号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004]　しかし、従来の高周波美容方法は、高周波による真皮層および皮下組織の加熱作用に基づく血行およびコラーゲン再生を促進するものであり、いわば一時的な処置であった。近年の健康に対する意識が高まる中、より根本的な、体質レベルでの機能の改善が望まれている。

[0005]　本発明は、高周波を皮膚に適用することに基づく美容方法を提供することを目的の一つとする。また、本発明は、複数の成分を配合した美容組成物と高周波を皮膚に適用することに基づく美容方法を提供することを目的の一つとする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有する、高周波美容処理装置が提供される。

[0007] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置が提供される。

[0008] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進する高周波電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置が提供される。

[0009] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、幹細胞の呼吸活性を促進する高周波電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置が提供される。

[0010] さらに、本発明の一つの側面によれば、高周波美容処理装置と組み合わせて使用するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物が提供される。

[0011] さらに、本発明の一つの側面によれば、高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物が提供される。

[0012] さらに、本発明の一つの側面によれば、高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物が提供される。

[0013] さらに、本発明の一つの側面によれば、高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、幹細胞の呼吸活性を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物が提供される。

[0014] さらに、本発明の一つの側面によれば、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、高周波美容処理装置と、を含む、美容キットが提供される。

[0015] さらに、本発明の一つの側面によれば、酵母エキス、イノシトール、サクラリーフエキス、カシア樹皮エキス、マツエキス、および／またはローズウォーターを含む美容組成物と、高周波美容処理装置と、を含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進に用いるための美容キットが提供される。

[0016] さらに、本発明の一つの側面によれば、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、高周波美容処理装置と、を含む、線維

芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進に用いるための美容キットが提供される。

[0017] さらに、本発明の一つの側面によれば、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、高周波美容処理装置と、を含む、幹細胞の呼吸活性を促進に用いるための美容キットが提供される。

[0018] 本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法が提供される。

また、本発明の一つの側面によれば、皮膚に高周波を適用して、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進することを含む、美容方法が提供される。

[0019] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能の促進方法が提供される。

[0020] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能の促進方法が提供される。

[0021] さらに、本発明の一つの側面によれば、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、幹細胞の呼吸活性の促進方法が提供される。

[0022] さらに、本発明の一つの側面によれば、皮膚に高周波を適用することを含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能の促進方法が提供される。

[0023] さらに、本発明の一つの側面によれば、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を印加することを含み、前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行なわれる、高周波美容処理装置の作動方法が提供される。

[0024] さらに、本発明の一つの側面によれば、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進する高周波電圧を印加することを含み、前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行われる、高周波美容処理装置の作動方法が提供される。

[0025] さらに、本発明の一つの側面によれば、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、前記制御回路により、前記一対の電極に、幹細胞の呼吸活性を促進する高周波電圧を印加することを含み、前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行われる、高周波美容処理装置の作動方法が提供される。

[0026] さらに、本発明の一つの側面によれば、一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を印加することを含み、前記高周波電圧の

印加は、皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行なわれる、高周波美容処理装置の作動方法が提供される。

[0027] （定義）

本明細書において、「高周波の適用」および「高周波を適用する」とは、互いに間隔をあけて対象物に接触して配置された一対の電極間に高周波電圧を印加することによって、対象物に高周波電流を流すことを意味する。

[0028] また、数値を示す際に用いる「約」の語は、この語が修飾する数値の前後5％の数値を含むことを表す。

発明の効果

[0029] 本発明によれば、皮膚の細胞におけるヒアルロン酸合成能の促進、コラーゲンおよびエラスチン合成能の促進、ならびに幹細胞の呼吸活性の促進による美容効果をもたらすことができる。

図面の簡単な説明

[0030] [図1]本発明に使用可能な高周波装置の一形態を示すブロック図である。

[図2]無処置（コントロール）および表示の各処置をした場合におけるHAS2遺伝子発現量の解析結果を示すグラフである。

[図3]無処置（コントロール）および表示の各処置をした場合におけるCOL1A2遺伝子発現量の解析結果を示すグラフである。

[図4]本開示に係る美容組成物と、各成分単独で処置をした場合におけるCOL1A2遺伝子発現量の解析結果を示すグラフである。

[図5]無処置（コントロール）および表示の各処置をした場合におけるElastin遺伝子発現量の解析結果を示すグラフである。

[図6]無処置（コントロール）および表示の各処置をしたヒト間葉系幹細胞1細胞あたりの呼吸活性を測定した結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0031] 本発明は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス、および／またはローズ水を含む組成物と高周波（RF）とを組み合わせた皮膚への適用が、線維芽細胞のヒアルロン

酸合成能を促進し、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進し、また、幹細胞の呼吸活性を促進することに大きく寄与するという、本発明者らの新たな知見に基づくものであり、本発明の一態様として、1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに2）皮膚に高周波を適用することを含む、美容方法が提供される。また、本発明者らは、高周波（RF）単独の皮膚への適用が線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進することも見出しており、よって、本発明の一態様は、皮膚に高周波を適用して、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進することを含む、美容方法にも関する。ヒアルロン酸、コラーゲンおよびエラスチンの増加は、皮膚の潤いや張りにも影響し、本発明に係る美容方法の適用は、皮膚に潤いと張りを与えることに寄与する。また、幹細胞の呼吸活性の促進は、幹細胞の活性化に寄与すると考えられる。さらに、本発明のいくつかの態様は、美容方法の実施に用いられる高周波美容処理装置、美容組成物、および美容キットにも関する。

[0032] 本発明において用いられる植物エキスは、例えば、当業者に公知の方法により、植物原料から抽出することができる。そのような植物エキスは、例えば、溶媒を用いた抽出法、粉砕や圧搾工程を含む方法など、当業者に公知の任意の方法を用いて取得することができる。植物の抽出部位を、必要ならば予め水洗して異物を除いた後、そのまま又は乾燥した上、必要に応じて細切又は粉砕し、抽出溶媒と接触させて抽出を行う。抽出は、浸漬法等の常法に従って抽出溶媒と接触させることで行うことが可能であるが、超臨界抽出法や水蒸気蒸留法を用いてもよい。

[0033] 抽出を行う際には、植物体をそのまま使用することもできるが、顆粒状や粉末状に粉砕して抽出に供した方が、穏和な条件で短時間に高い抽出効率で有効成分の抽出を行うことができる。抽出温度は特に限定されるものではなく、粉砕物の粒径や溶媒の種類等に応じて適宜設定すればよい。通常は、室温から溶媒の沸点までの範囲内で設定される。また、抽出時間も特に限定さ

れるものではなく、粉砕物の粒径、溶媒の種類、抽出温度等に応じて適宜設定すればよい。さらに、抽出時には、撹拌を行ってもよいし、撹拌せず静置してもよいし、超音波を加えてもよい。

[0034] 抽出溶媒としては、水；メタノール、エタノール、プロパノール等の低級アルコール類、オレイルアルコール、ステアリルアルコール、オクチルドデカノール等の高級アルコール類；エチレングリコール、1,3－プロパンジオール、1,3－ブチレングリコール、グリセリン等の多価アルコール類；酢酸エチル、酢酸ブチル、プロピオン酸メチル、トリオクタン酸グリセリル等のエステル類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；エチルエーテル、イソプロピル、エーテル等のエーテル類；n－ヘキサン、トルエン、クロロホルム等の炭化水素系溶媒等が挙げられ、それらは単独で若しくは二種以上混合して用いることができる。好ましい溶媒としては、水、低級アルコール及び液状多価アルコール等の極性溶媒であり、より好ましくは、水、あるいはメタノール、エタノール又は1,3－ブチレングリコール等の低級アルコールである。低級アルコールは、例えば、含水低級アルコールであってもよく、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。低級アルコールは、例えば、C1～C5の低級アルコールであってもよい。これらの溶媒は一種でも二種以上を混合して用いてもよい。また、溶媒に酵素を加えて抽出処理を行ってもよい。

[0035] 混合溶媒を用いる場合の混合比は、例えば水とエチルアルコールとの混合溶媒であれば、容量比（以下同じ）で1：1～25：1の範囲；水とグリセリンとの混合溶媒であれば1：1～15：1の範囲；あるいは、水と1,3－プロパンジオール若しくは1,3－ブチレングリコールとの混合溶媒であれば、1：1～15：1の範囲とすることが好ましい。

[0036] 抽出物の調製を行う場合、pHは特に限定されないが、一般にはpH 3～9の範囲とすることが好ましい。必要であれば、前記抽出溶媒に、水酸化ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ性調整剤、又はクエン酸

、塩酸、リン酸、硫酸等の酸性調整剤を配合し、所望のpHとなるように調整してもよい。

[0037] 抽出温度や、抽出時間等の抽出条件は、用いる溶媒の種類やpHによっても異なり、限定されないが、例えば、水もしくは1,3－ブチレングリコール、又は水と1,3－ブチレングリコールとの混液を溶媒とする場合であれば、抽出温度は0℃～90℃の範囲であればよく、又抽出時間は0.5時間～7日間であればよい。

[0038] このような抽出操作により、有効成分が抽出され、溶媒に溶け込む。抽出物を含む溶媒は、そのまま使用してもよいが、滅菌、洗浄、濾過、脱色、脱臭等の慣用の精製処理を加えてから使用してもよい。また、必要により濃縮又は希釈してから使用してもよい。さらに、溶媒を全て揮発させて固体状（乾燥物）としてから使用してもよいし、該乾燥物を任意の溶媒に再溶解してから使用してもよい。

[0039] 抽出処理に先立って、又は抽出処理と並行して、必要に応じて抽出部位に加水分解処理を施してもよい。これによって、当該抽出物の皮膚刺激性、有効性又は保存安定性等を改善して抽出物をより有効に利用できる可能性がある。また、原料の植物を圧搾することにより得られる圧搾液にも抽出物と同様の有効成分が含まれているので、抽出物の代わりに圧搾液を使用することもできる。

[0040] 皮膚に適用する高周波の周波数は、0．5MHz～4MHzの範囲、例えば、0．5MHZ、1MHz、2MHZ、3MHzまたは4MHzのいずれかの周波数、または上記の任意の周波数により規定される範囲（例えば、1～4MHzの範囲）に含まれる任意の周波数が使用されてもよい。本発明の一部の形態においては、周波数は約1MHzである。

[0041] 本発明の一部の形態において、高周波と組み合わせて皮膚に適用する組成物は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む。すなわち、本発明の1つの側面は、高周波美容処理装置と組み合わせて使用するための、

加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水を含む美容組成物に関し、特に、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進するための美容組成物、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進するための美容組成物、ならびに幹細胞の呼吸活性を促進するための美容組成物に関する。本開示に係る組成物は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水からなる群より選択される成分のうち、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、または6つすべての成分を含むものでありうる。各成分を化粧料または医薬部外品に配合する場合の配合量は、例えば、それぞれ0.00001～0.5質量％とすることができる。

[0042] 例えば、加水分解酵母としては、イワキ(株)から入手可能なceravure（酵母エキス）を使用することができ、配合量は0.00001～0.0001質量％とすることができる。イノシトールとしては、築野ライスファインケミカルズ(株)から入手可能なイノシットを使用することができ、配合量は0.0005～0.005乾燥質量％とすることができる。サクラ葉エキスとしては、一丸ファルコス(株)から入手可能なサクラ葉エキスを使用することができ、配合量は0.001～0.01質量％とすることができる。カシア樹皮エキスとしては、イワキ(株)から入手可能なケイヒエキスET30を使用することができ、配合量は0.00001～0.0001質量％とすることができる。セイヨウアカマツ球果エキスとしては、一丸ファルコス(株)から入手可能なマツエキスBGを使用することができ、配合量は0.0001～0.001質量％とすることができる。ローズ水としては、豊玉香料(株)から入手可能なブルガリアローズウォーターを使用することができ、配合量は0.05～0.5質量％とすることができる。

[0043] 高周波と組み合わせて皮膚に適用する組成物は、他の薬剤や各種抽出液等をさらに含んでいてもよい。例えば、適用できる薬剤や各種抽出液として、レチノール誘導体、キシリトール、ヒアルロン酸、グリセリン、オクラエキス、イブキジャコウエキス、ワレモコウエキス、グリチルリチン酸ジカリウ

ム、イチョウ葉エキス、テンチャエキス、ヨクイニンエキス、カンゾウエキス、オタネニンジンエキス、クララエキス、スターフルーツ葉エキス、ニンジンエキス、ジュウヤクエキス、ニームリーフエキス、サフランエキス、キナエキス、コンフリーエキス、タイムエキス、フユイチゴ、ヨメナ、ムベ、リュウキュウイチゴ、インドヨメナ、マテバシイ、オウゴンエキス、ローズマリーエキス、アンズ核粒、ゲンチアナエキス、ハッカ末、タイソウエキス、ホップエキス、キウイエキス、ローマカミツレエキス、リンゴエキス、サンザシエキス、ウコンエキス、ヤマモモ、フトモモ、コナラなどが例示される。

[0044] 本開示に係る美容組成物は、乳液、クリーム、美容液、ローション、パック、洗顔料、石鹸、ボディソープ、シャンプー等であってもよく、液状、乳液状、クリーム状、固形状、シート状、スプレー状、ゲル状、泡状等の様々な形態であり得るなお、本発明のとり得る形態が、これらの形態に限定されるものではない。また、本開示に係る組成物は、添加剤として、賦形剤、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、油分、水、アルコール類、キレート剤、シリコーン類、紫外線吸収剤、保湿剤、香料、各種薬効成分、防腐剤、中和剤等を含んでいてもよい。

[0045] 上述の美容組成物と高周波の皮膚への適用は、任意の順序、時間間隔で行うことができる。例えば、高周波の適用は、組成物の適用とほぼ同時またはその直後、例えば、組成物の適用から5秒以内、10秒以内、30秒以内、1分以内、3分以内、5分以内、10分以内、15分以内、30分以内、45分以内、60分以内、2時間以内、3時間以内、または6時間以内に行うことができる。

[0046] 皮膚への高周波の適用には、高周波装置を用いることができる。高周波装置の一形態について、図1を参照して説明する。

[0047] 高周波装置1は、電極部10と制御回路20とを有する。電極部10は、制御回路20に接続された第1電極10aおよび第2電極10bを有する。ユーザの皮膚に接触する接触面を電極部10に設け、この接触面に、第1電極10aおよび第2電極10b

を互いに間隔をあけて配置することにより、第1電極10aおよび第2電極10bを容易に皮膚に互いに間隔をあけて接触させることができる。第1電極10aおよび第2電極10bを、接触面にではなく、配線ケーブルを介して制御回路20と接続してもよく、こうすることによって、第1電極10aおよび第2電極10bを自由に配置することができる。

[0048] 制制御回路20は、電源部、電圧制御部および抵抗測定部を有することができる。電源部は、第1電極10aと第2電極10bとの間に高周波電圧（高周波を示す電圧）を印加する。電源部は、高周波の電圧を生成する発振回路、および発振された電圧を昇圧する昇圧回路等を有し、例えば、0．5MHz～4MHz程度の高周波電圧を第1電極10aと第2電極10bとの間に印加するように構成される。ユーザの皮膚に第1電極10aおよび第2電極10bを接触させた状態で第1電極10aと第2電極10bとの間に高周波の電圧を印加することで、皮膚に高周波の電流を流すことができる。高周波装置による電流負荷は、例えば、1秒～5分間、皮膚に適用することができる。

[0049] 電圧制御部は、電源部を制御することで電源部が印加する高周波電圧を制御する。また、電圧制御部は、電圧の制御に抵抗測定部による測定結果を用いる。抵抗測定部は、第1電極10aと第2電極10bとがユーザの皮膚に接触した状態での第1電極10aと第2電極10bとの間の抵抗値（電気抵抗値）を測定する。

[0050] この抵抗値は、ユーザの皮膚の状態、および皮膚に塗布される化粧水といった皮膚外用剤の種類等によって変化する。例えば、人体の皮膚に高周波電流を流した場合、皮膚が発熱し、皮膚の温度上昇に伴って皮膚内部のインピーダンスが減少することが知られている。従って、皮膚の温度上昇に伴って、第1電極10aおよび第2電極10bの間に流れる電流が増加し、測定される抵抗値が小さくなる。抵抗測定部は、抵抗値の測定を決められた時間間隔（例えば0．5秒毎など）で行い、その度に測定した抵抗値を電圧制御部に供給する。

[0051] 電圧制御部は、抵抗測定部で測定された抵抗値に応じて、例えば、測定さ

れた抵抗値が大きいほど高周波電圧を高くする（高周波電圧の振幅を大きくする）ように高周波電圧を制御する。

[0052] 第1電極10aと第2電極10bとの間に印加される高周波電圧の下限値は、ピーク間電圧で50Vpp以上であることが好ましく、より好ましくは70Vpp以上である。また、第1電極10aと第2電極10bとの間に印加される高周波電圧の上限値は、ピーク間電圧で100V以下であることが好ましく、より好ましくは90Vpp以下である。印加される高周波電圧は、例えば88Vppとすることができる。

[0053] 高周波電圧の印加は、連続印加であってもよいしパルス印加であってもよい。パルス印加の場合、高周波電圧の印加（ON）と不印加（OFF）とが周期的に繰り返される。パルス印加の繰り返しの周期は、0．1秒～2秒であってよく、例えば0．1秒、0．2秒、0．3秒、0．5秒、0．8秒、1秒または1．2秒 とすることができる。パルス印加における高周波電圧のON時間比であるデューティー比は、10％～99 ％の範囲であることが好ましく、より好ましくは20％～80％の範囲である。デューティー比は、例えば40％とすることができる。

[0054] 高周波電圧およびデューティー比といった高周波の適用条件はユーザが設定可能であってもよい。高周波の適用条件をユーザが設定できるようにするため、高周波装置は、ユーザにより操作される入力デバイスを有することができる。入力デバイスとしては、例えばスイッチなど任意のデバイスを用いることができる。高周波の適用条件をユーザが設定可能である場合、制御回路20は、入力デバイスを通じた入力操作を受け付け、その受け付けた入力操作に従って、高周波電圧、連続印加かパルス印加か、並びにパルス印加の場合の周期およびデューティー比などのパラメータを制御する。高周波の適用条件の設定に際し、各パラメータは、それぞれ独立して設定可能であってもよいし、パルス印加における高周波電圧、周期およびデューティー比について複数の組み合わせが制御回路20にプリセットされており、そのプリセットされた組み合わせをユーザが選択するようになっていてもよい。

[0055] 以上説明したような高周波装置を用いることで、ユーザの皮膚に容易に高周波を適用することができる。高周波装置は、次のように作動させることが

できる。まず、第1電極10aと第2電極10bとを、互いに間隔をあけてユーザの皮膚に接触させて配置する。次に、制御回路20により、皮膚におけるヒアルロン酸合成の促進、コラーゲンおよびエラスチン合成の促進、ならびに幹細胞の呼吸活性の促進といった作用が得られるように、ユーザの皮膚に接触させて配置した第1電極10aと第2電極10bとの間に高周波電圧を印加する。

[0056] 本発明の1つの側面は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用することと組み合わせて使用するための高周波装置に関し、特に、皮膚のヒアルロン酸合成能の促進、コラーゲンおよびエラスチン合成能の促進、または幹細胞の呼吸活性の促進に使用するための高周波装置に関する。

[0057] 本発明の1つの側面は、本開示に係る美容組成物と、高周波美容処理装置とを含む、美容キットに関する。美容キットは、皮膚のヒアルロン酸合成能を促進するため、コラーゲンおよびエラスチン合成能を促進するため、または幹細胞の呼吸活性を促進するために使用されうる。美容組成物は例えば、ボトル等に収められている。美容キットには、組成物と高周波装置の使用方法を記載した説明書が付属していてもよい。

[0058] ［高周波の適用による真皮幹細胞の安定性改善の確認］

以下、発明者らが行った高周波の適用による細胞への効果の確認実験について説明する。

[0059] ［ヒアルロン酸合成能促進効果の確認］

継代9代目で凍結保存された正常成人ヒト皮膚線維芽細胞（36歳女性、非露光部）100万個を100 mm培養デッシュ（cat. no.353003, CORNING）に播種し、10% FBSを含有したDMEM培地（cat. no. 11885084, Invitrogen）で前培養を行った。培養4日後、常法に従い細胞を剥離して電流負荷用の35 mm 培養皿に1.6万個を播種した。なお、培地は同じく10% FBSを含有したDMEM培地を使用、電流負荷用35 mm培養皿は使用する直前に70%エタノール消毒とDPBS(-)によるリンスを2回行った。電流負荷用の培養皿に播種した1日後、無添加群、

配合成分（加水分解酵母、イノシトール、葉リーフエキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水を含む組成物；表1）添加群、高周波電流30秒負荷群、高周波電流30秒負荷および配合成分添加群を用意し、それぞれ処置を行った。

[0060] 高周波の適用には、1MHzの高周波電流を発生させる美容機器（YAMAN社製）を使用した。出力のON/OFFを各0.4/0.6 [sec]で繰り返し、電極間に印加する交流電圧は88 [Vpp: Voltage peak to peak]とした。

[0061] 細胞は、CO_2インキュベーターに戻してさらに一晩培養を行った後、total RNAをRNeasy Mini Kit（cat. no.74106, Qiagen）を用いて回収した。NanoDropにてRNA濃度を測定し、1μg量のRNAからSuperScript VILO cDNA Synthesis Kit（cat. no.11754, Invitrogen）を使用してcDNAを合成した。HAS2の遺伝子発現量をSYBR Green（cat. no.11733046, Invitrogen）によりStepOne（Applied Bioscience）を使用して定量解析を実施した。反応に用いたプライマーを表2に示す。ハウスキーピング遺伝子としてGAPDHを使用した。

[0062] [表1]

原料名	メーカー名	配合量[%]
ceravure（酵母エキス）	イワキ(株)	0.01
イノシット	築野ライスファインケミカルズ㈱	0.001
サクラリーフエキス	一丸ファルコス㈱	0.1
ケイヒエキスET30	イワキ（株）	0.01
マツエキスBG	一丸ファルコス㈱	0.1
ブルガリアローズウォーター	豊玉香料（株）	0.1

[0063] [表2]

遺伝子（ヒト）	方向	配列（5’から3’）	配列番号
HAS2	Fwd	TCAGAGCACTGGGACGAAG	1
HAS2	Rev	CCCAACACCTCCAACCAT	2
GAPDH	Fwd	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	3
GAPDH	Rev	TGGGATTTCCATTGATGACA	4

[0064] 無処置（コントロール）および各処置をした場合におけるHAS2遺伝子発現量の解析を行った。ハウスキーピング遺伝子のGAPDHを用いて遺伝子量の標準化を行い、コントロールに対するHAS2遺伝子発現量を表3および図2に示す。各処置群でヒト線維芽細胞のHAS2遺伝子発現量がコントロールと比較して増

加傾向を示し、中でも高周波美容機器単独処置あるいは配合成分および高周波美容機器の同時適用は、ヒト線維芽細胞におけるHAS2遺伝子の発現を統計学的に有意な差をもって増加させた。

[0065] [表3]

	#1	#2	#3	平均	S.D.	コントロール比 (%)
コントロール	1.17	0.88	0.95	1.00	0.13	100.0
美容機器	2.69	3.35	2.11	2.72	0.51	271.5
配合成分	1.31	2.95	3.07	2.45	0.80	244.5
美容機器＋配合成分	3.18	3.21	3.83	3.41	0.30	340.6

[0066] 以上の結果より、高周波美容機器単独適用あるいは本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、有意にヒト線維芽細胞のHAS2遺伝子の発現を増加させる効果があることがわかった。ヒト真皮線維芽細胞においてヒアルロン酸合成を調節する合成酵素遺伝子は主にHAS2であることから、高周波美容機器単独適用あるいは本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、ヒト真皮線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進させる効果があることが示された。

[0067] [コラーゲン合成能促進効果の確認]

継代6代目で凍結保存された正常ヒト皮膚線維芽細胞（cat. no.KF-4009, lot no.05884, KURABO）100万個を100 mm培養デッシュ（cat. no.353003, CORNING）に播種し、10% FBSを含有したDMEM培地（cat. no. 11885084, Invitrogen）で前培養を行った。培養1日後、常法に従い細胞を剥離して電流負荷用の35 mm培養皿に3万個を播種した。なお、培地は同じく10% FBSを含有したDMEM培地を使用、電流負荷用35 mm培養皿は使用する直前に70%エタノール消毒とDPBS(-)によるリンスを2回行った。電流負荷用の培養皿に播種した1日後、無添加群、配合成分（加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水を含む組成物；表1）添加群、高周波電流3分負荷群、高周波電流3分負荷および配合成分添加群を用意し、それぞれ処置を行った。

[0068] 高周波の適用には、1MHzの高周波電流を発生させる美容機器（YA-MAN社製）を使用した。出力のON/OFFを各0.4/0.6 [sec]で繰り返し、電極間に印加す

る交流電圧は88 [Vpp: Voltage peak to peak]とした。

[0069] 細胞はCO_2インキュベーターに戻してさらに72時間培養を行った後、total RNAをRNeasy Mini Kit (cat. no.74106, Qiagen) を用いて回収した。 NanoDropにてRNA濃度を測定し、1μ量のRNAからSuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (cat. no.11754, Invitrogen) を使用してcDNAを合成した。Collagen type I alpha 2 chain (COL1A2)の遺伝子発現量をSYBR Green (cat. no.11733046, Invitrogen) によりStepOne (Applied Bioscience) を使用して定量解析を実施した。反応に用いたプライマーを表2に示す。ハウスキーピング遺伝子としてGAPDHを使用した。

[0070] [表4]

遺伝子（ヒト）	方向	配列（5’から3’）	配列番号
COL1A2	Fwd	TTGCCAGTCTCCTCATCCAT	5
COL1A2	Rev	GTGGTTACTACTGGATTGACC	6
GAPDH	Fwd	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	7
GAPDH	Rev	TGGGATTTCCATTGATGACA	8

[0071] 無処置（コントロール）および各処置をした場合におけるCOL1A2遺伝子発現量の解析を行った。ハウスキーピング遺伝子のGAPDHを用いて遺伝子量の標準化を行い、コントロールに対するCOL1A2遺伝子発現量を表5および図3に示す。各処置群でヒト線維芽細胞のCOL1A2遺伝子発現量がコントロールと比較して増加傾向を示したが、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器を同時に適用した場合のみ、統計学的に有意な差をもって増加した。

[0072] [表5]

	#1	#2	#3	平均	S.D.	コントロール比 (%)
コントロール	1.16	1.07	0.77	1.00	0.16	100.0
美容機器	2.30	1.48	2.09	1.95	0.35	195.5
配合成分	1.97	1.41	0.83	1.40	0.47	140.4
美容機器＋配合成分	1.83	3.21	1.97	2.33	0.62	233.3

[0073] 図4にはさらに、本開示に係る美容組成物（配合成分）と、各成分単独（加水分解酵母、サクラ葉エキス、ブルガリアローズ水、イノシトール、セイヨウアカマツ球果エキス、カシア樹皮エキス）で処置をした場合におけるCOL1A2遺伝子発現量の解析結果が示されている。この結果は、本開示に係る美容組

成物（配合成分）が、各成分単独に勝る効果を有することを示している。

[0074] 以上の結果より、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、有意にヒト線維芽細胞のCOL1A2遺伝子の発現を増加させる効果があることがわかった。COL1A2遺伝子は、ヒト真皮中で多くの割合を占めるI型コラーゲンの構成要素の一つをコードする遺伝子であることから、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、ヒト真皮線維芽細胞のコラーゲン合成能を促進させる効果があることが示された。

[0075] ［エラスチン合成能促進効果の確認］

継代6代目で凍結保存された正常ヒト皮膚線維芽細胞（cat. no.KF-4009, lot no.05884, KURABO）100万個を100 mm培養デッシュ（cat. no.353003, CORNING）に播種し、10% FBSを含有したDMEM培地（cat. no. 11885084, Invitrogen）で前培養を行った。培養1日後、常法に従い細胞を剥離して電流負荷用の35 mm培養皿に3万個を播種した。なお、培地は同じく10% FBSを含有したDMEM培地を使用、電流負荷用35 mm培養皿は使用する直前に70%エタノール消毒とDPBS(-)によるリンスを2回行った。電流負荷用の培養皿に播種した1日後、無添加群、配合成分（加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水を含む組成物；表1）添加群、高周波電流3分負荷群、高周波電流3分負荷および配合成分添加群を用意し、それぞれ処置を行った。

[0076] 高周波の適用には、1MHzの高周波電流を発生させる美容機器（YAMAN社製）を使用した。出力のON/OFFを各0.4/0.6 [sec]で繰り返し、電極間に印加する交流電圧は88 [Vpp: Voltage peak to peak]とした。

[0077] 細胞はCO_2インキュベーターに戻してさらに72時間培養を行った後、total RNAをRNeasy Mini Kit（cat. no.74106, Qiagen）を用いて回収した。NanoDropにてRNA濃度を測定し、1μg量のRNAからSuperScript VILO cDNA Synthesis Kit（cat. no.11754, Invitrogen）を使用してcDNAを合成した。Elastinの遺伝子発現量をSYBR Green（cat. no.11733046, Invitrogen）によりStepOne（Applied Bioscience）を使用して定量解析を実施した。反応に用いたプライ

マーを表2に示す。ハウスキーピング遺伝子としてGAPDHを使用した。

[0078] [表6]

遺伝子（ヒト）	方向	配列（5’から3’）	配列番号
Elastin	Fwd	GGGCAATTCCTGGAATTGGA	9
Elastin	Rev	CTGCTTCTGGTGACACAACCC	10
GAPDH	Fwd	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	11
GAPDH	Rev	TGGGATTTCCATTGATGACA	12

[0079] 無処置（コントロール）および各処置をした場合におけるElastin遺伝子発現量の解析を行った。ハウスキーピング遺伝子のGAPDHを用いて遺伝子量の標準化を行い、コントロールに対するElastin遺伝子発現量を表7および図5に示す。各処置群でヒト線維芽細胞のElastin遺伝子発現量がコントロールと比較して増加傾向を示したが、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器を同時に適用した場合のみ、統計学的に有意な差をもって増加した。

[0080] [表7]

	#1	#2	#3	平均	S.D.	コントロール比（%）
コントロール	1.02	1.10	0.89	1.00	0.09	100.0
美容機器	1.53	0.89	1.52	1.31	0.30	131.3
配合成分	1.81	1.36	0.90	1.35	0.37	135.3
美容機器＋配合成分	1.67	2.39	2.43	2.16	0.35	216.0

[0081] 以上の結果より、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、有意にヒト線維芽細胞のElastin遺伝子の発現を増加させる効果があることがわかった。Elastin遺伝子は、皮膚の弾力線維成分の主成分をコードする遺伝子であることから、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、ヒト真皮線維芽細胞のエラスチン合成能を促進させる効果があることが示された。

[0082] ［幹細胞の呼吸活性促進効果の確認］

継代1代目で凍結保存されたヒト間葉系幹細胞（P/N 51-0070, Invitrogen）100万個をT-75フラスコに播種し，MesenPRO RS(商標) Medium（cat. no.12746012, Thermo Fisher Scientific）で前培養を行った。培養2日後、常法に従い細胞を剥離して電流負荷用の35 mm 培養皿に6万個を播種した。なお、培地はMesenchymal Stem Cell Growth Medium 2（cat. no.C-28009, ナカライ

テスク株式会社）を使用、電流負荷用35 mm培養皿は使用する直前に70%エタノール消毒とDPBS(-)によるリンスを2回行った。また、メーカー推奨プロトコールに従い、培養皿1枚当たり500 ml のCTS(商標) CELLstart(商標) Substrate (cat. no. A1014201, Thermo Fisher Scientific) を用いて37℃で1時間のコーティングを行った。電流負荷用の培養皿に播種した1日後、無添加群、配合成分（加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、およびローズ水を含む組成物；表1）添加群、高周波電流1分間負荷群、高周波電流1分間負荷および配合成分添加群を用意し、それぞれ処置を行った。

[0083] 高周波の適用には、1MHzの高周波電流を発生させる美容機器（YAMAN社製）を使用した。出力のON/OFFを各0.4/0.6 [sec]で繰り返し、電極間に印加する交流電圧は88 [Vpp: Voltage peak to peak]とした。

[0084] それぞれ処置を行った細胞はCO_2インキュベーターに戻してさらに一晩培養を行った後、Alamar blue (cat. no.DAL1025, Invitrogen)の使用マニュアルに従って、ヒト間葉系幹細胞の呼吸活性を測定した。培養培地をAlamar blue 含有 Mesenchymal Stem Cell Growth Medium 2へ交換し、1時間インキュベーション後、蛍光強度（励起波長:544nm、検出波長590nm）を測定した。測定後、常法に従い細胞を剥離して0.4%トリパンブルー溶液（cat. no.T10282, Invitrogen）の使用マニュアルに従って生細胞を染色し、カウントした。ヒト間葉系幹細胞は、全て5% CO_2、37℃のCO_2インキュベーターを用いて培養した。

[0085] 無処置（コントロール）および各処置をしたヒト間葉系幹細胞から得られた蛍光強度を細胞数で割り返すことで、ヒト間葉系幹細胞1細胞あたりの呼吸活性を測定した。結果を表8および図6に示す。コントロールに対して、各処置群でヒト間葉系幹細胞の呼吸活性が促進する傾向を示したが、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器を同時に適用した場合のみ、統計学的に有意な差をもって促進した。

[0086]

[表8]

	#1	#2	#3	平均	S.D.	コントロール比（%）
コントロール	26.84	44.52	49.99	40.45	9.88	100.0
美容機器	40.44	64.29	57.78	54.17	10.07	133.9
配合成分	39.88	30.99	58.77	43.22	11.58	106.8
美容機器＋配合成分	93.38	61.13	72.77	75.76	13.33	187.3

[0087] 以上の結果より、本開示に係る美容組成物および高周波美容機器の同時適用は、効果的にヒト間葉系幹細胞の呼吸活性を促進する効果があることがわかった。この効果は、ヒト間葉系幹細胞の活性化に寄与する可能性が考えられる。

符号の説明

[0088]

1	高周波装置
10	電極部
10a	第1電極
10b	第2電極
20	制御回路

請求の範囲

[請求項1] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、

一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有する、高周波美容処理装置。

[請求項2] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、

一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、

線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置。

[請求項3] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、

一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、

線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進する高周波

電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置。

[請求項4] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、美容方法において使用するための高周波美容処理装置であって、

一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路とを有し、

幹細胞の呼吸活性を促進する高周波電圧を皮膚に印加するように構成されている、高周波美容処理装置。

[請求項5] 高周波美容処理装置と組み合わせて使用するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物。

[請求項6] 高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物。

[請求項7] 高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物。

[請求項8] 高周波美容処理装置と組み合わせて使用して、幹細胞の呼吸活性を促進するための、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物。

[請求項9] 加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容

組成物と、

高周波美容処理装置と、

を含む、美容キット。

[請求項10] 加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、

高周波美容処理装置と、

を含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進に用いるための美容キット。

[請求項11] 加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、

高周波美容処理装置と、

を含む、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進に用いるための美容キット。

[請求項12] 加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む美容組成物と、

高周波美容処理装置と、

を含む、幹細胞の呼吸活性を促進に用いるための美容キット。

[請求項13] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、美容方法。

[請求項14] 線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進するための、請求項13に記載の美容方法。

[請求項15] 線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進するための

、請求項13に記載の美容方法。

[請求項16] 幹細胞の呼吸活性を促進するための、請求項13に記載の美容方法。

[請求項17] 皮膚に高周波を適用して、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進することを含む、美容方法。

[請求項18] 高周波の周波数が約1MHzである、請求項13～17のいずれか一項記載の美容方法。

[請求項19] 高周波のピーク間電圧が50～100Vppである、請求項13～18のいずれか一項に記載の美容方法。

[請求項20] 高周波の適用が、デューティー比10%～99%のパルス印加である、請求項13～19のいずれか一項に記載の美容方法。

[請求項21] 前記パルス印加の周期は0．1秒～2秒である、請求項20に記載の美容方法。

[請求項22] 前記パルス印加の周期は1秒である、請求項21に記載の美容方法。

[請求項23] 皮膚の張りを向上させる、請求項13～22のいずれか一項に記載の美容方法。

[請求項24] 皮膚の潤いを向上させる、請求項13～23のいずれか一項に記載の美容方法。

[請求項25] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能の促進方法。

[請求項26] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能の促進方法。

[請求項27] 1）加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を皮膚に適用すること、ならびに

2）皮膚に高周波を適用すること

を含む、幹細胞の呼吸活性の促進方法。

[請求項28] 皮膚に高周波を適用することを含む、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能の促進方法。

[請求項29] 一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、

前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を印加すること、

を含み、

前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行なわれる、

高周波美容処理装置の作動方法。

[請求項30] 一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、

前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のコラーゲンおよびエラスチン合成能を促進する高周波電圧を印加すること、

を含み、

前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行われる、

高周波美容処理装置の作動方法。

[請求項31] 一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と

、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、

前記制御回路により、前記一対の電極に、幹細胞の呼吸活性を促進する高周波電圧を印加すること、

を含み、

前記高周波電圧の印加は、加水分解酵母、イノシトール、サクラ葉エキス、カシア樹皮エキス、セイヨウアカマツ球果エキス、および／またはローズ水を含む組成物を適用した皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行われる、

高周波美容処理装置の作動方法。

[請求項32] 一対の電極と、前記一対の電極に高周波電圧を印加する制御回路と、を有する高周波美容処理装置の作動方法であって、

前記制御回路により、前記一対の電極に、線維芽細胞のヒアルロン酸合成能を促進する高周波電圧を印加すること、

を含み、

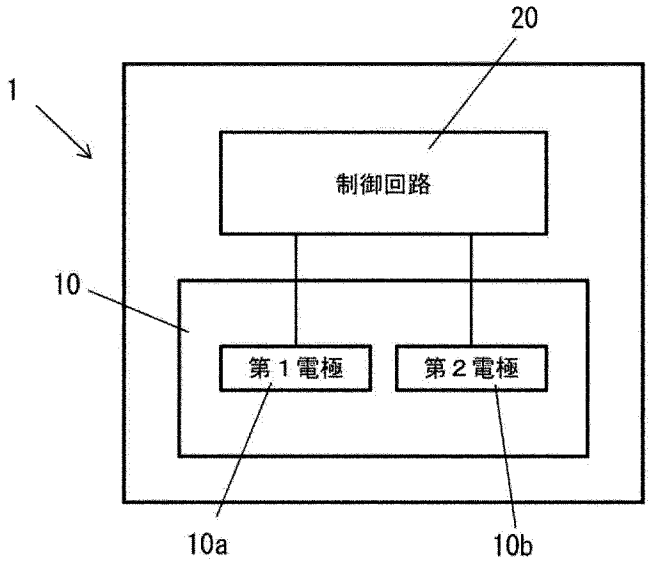
前記高周波電圧の印加は、皮膚に前記一対の電極を接触させた状態で行なわれる、

高周波美容処理装置の作動方法。

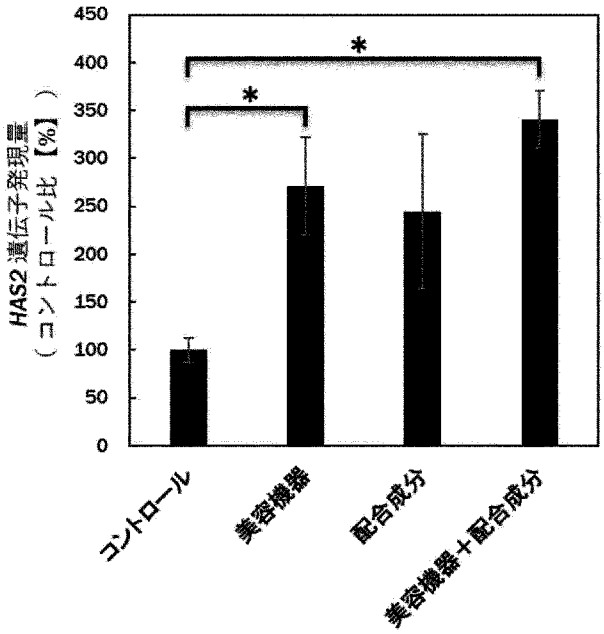
[請求項33] 高周波のピーク間電圧が50～100Vppである、請求項17～32のいずれか一項に記載の作動方法。

[請求項34] 高周波電圧の印加が、1秒周期、デューティー比10～99％のパルス印加である、請求項17～33のいずれか一項に記載の作動方法。

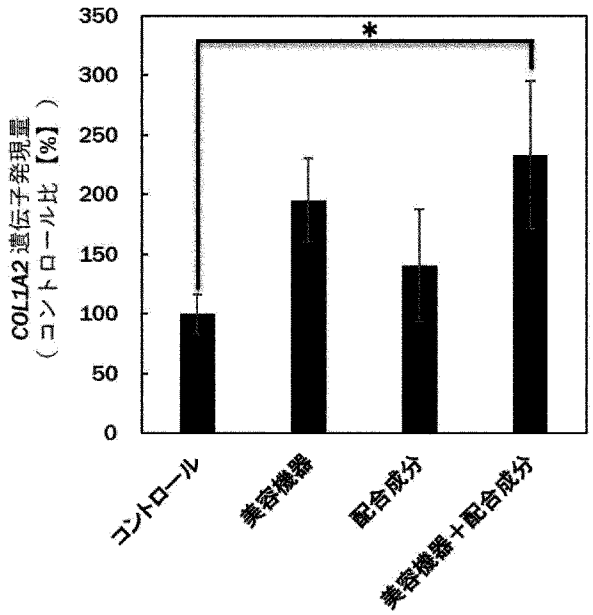
[図1]


20
1
制御回路
10
第１電極
第２電極
10a
10b

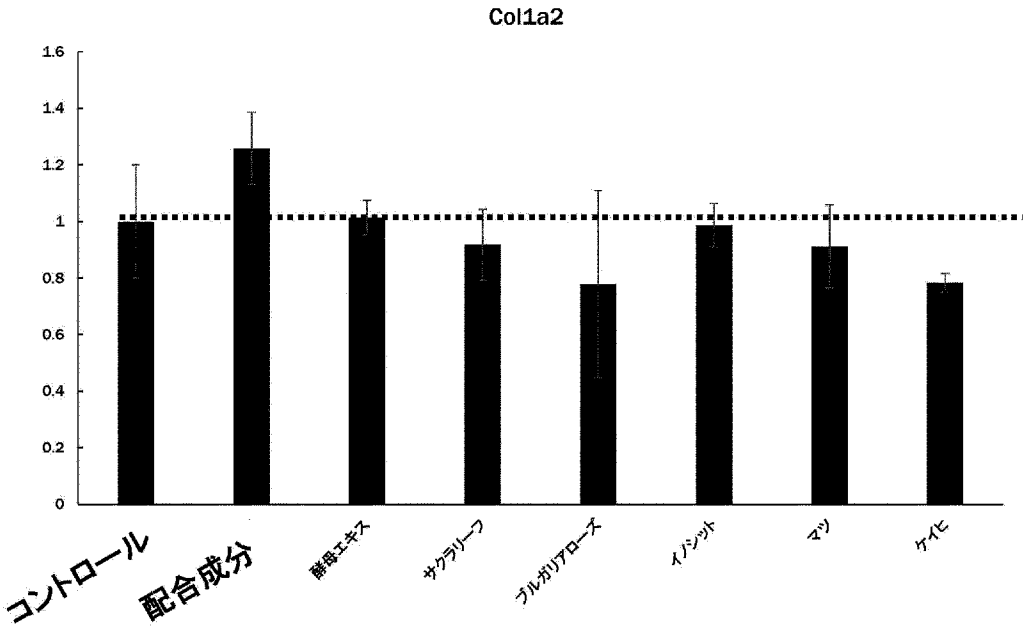
[図2]


HAS2 遺伝子発現量
（コントロール比【%】）
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
*
*
コントロール
美容機器
配合成分
美容機器＋配合成分

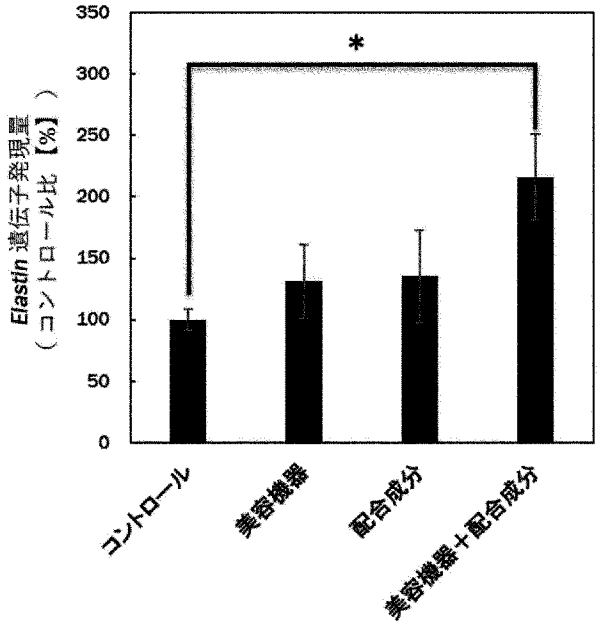
[図3]


COL1A2 遺伝子発現量
（コントロール比【%】）
350
300
250
200
150
100
50
0
*
コントロール
美容機器
配合成分
美容機器＋配合成分

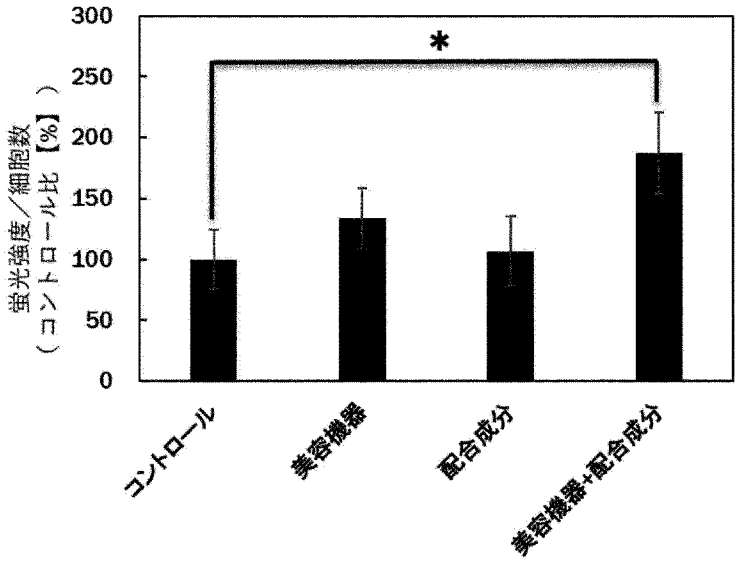
[図4]


Col1a2
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
コントロール
配合成分
酵母エキス
サクラリーフ
ブルガリアローズ
イノシット
マツ
ケイヒ

[図5]


Elastin 遺伝子発現量
（コントロール比【%】）
350
300
250
200
150
100
50
0
*
コントロール
美容機器
配合成分
美容機器＋配合成分

[図6]


蛍光強度／細胞数
（コントロール比【%】）
300
250
200
150
100
50
0
*
コントロール
美容機器
配合成分
美容機器＋配合成分

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/000752

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61Q 19/00(2006.01)i; ***A61N 1/30***(2006.01)i; ***C12N 5/071***(2010.01)i; ***C12N 15/12***(2006.01)i; ***C07K 14/78***(2006.01)i; ***A61K 8/34***(2006.01)i; ***A61K 8/9728***(2017.01)i; ***A61K 8/9767***(2017.01)i; ***A61K 8/9789***(2017.01)i
FI: A61N1/30; A61K8/9767; A61Q19/00; A61K8/9789; A61K8/9728; C12N15/12; C07K14/78; C12N5/071; A61K8/34 ZNA

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)

A61Q19/00; A61N1/30; C12N5/071; C12N15/12; C07K14/78; A61K8/34; A61K8/9728; A61K8/9767; A61K8/9789

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 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

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.
X	JP 2005-35957 A (ICHIMARU FUARUKOSU KK) 10 February 2005 (2005-02-10) paragraphs [0001]-[0128]	5-28, 33, 34
Y	paragraphs [0001]-[0128]	1-4, 29-32
Y	WO 2020/230498 A1 (YA-MAN LTD.) 19 November 2020 (2020-11-19) fig. 1	1-4, 29-32
Y	JP 6445212 B1 (LUXMAN CORP.) 26 December 2018 (2018-12-26) fig. 1	1-4, 29-32

☐ 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	Date of mailing of the international search report
07 February 2023	**21 February 2023**
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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/000752

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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/000752

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2005-35957 A	10 February 2005	(Family: none)	
WO 2020/230498 A1	19 November 2020	CN 113329785 A	
JP 6445212 B1	26 December 2018	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/000752

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61Q 19/00(2006.01)i; A61N 1/30(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C07K 14/78(2006.01)i; A61K 8/34(2006.01)i; A61K 8/9728(2017.01)i; A61K 8/9767(2017.01)i; A61K 8/9789(2017.01)i
FI: A61N1/30; A61K8/9767; A61Q19/00; A61K8/9789; A61K8/9728; C12N15/12; C07K14/78; C12N5/071; A61K8/34 ZNA

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））

A61Q19/00; A61N1/30; C12N5/071; C12N15/12; C07K14/78; A61K8/34; A61K8/9728; A61K8/9767; A61K8/9789

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	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３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
X	JP 2005-35957 A (一丸ファルコス株式会社) 10.02.2005 (2005-02-10) 段落０００１－０１２８	5-28, 33, 34
Y	段落０００１－０１２８	1-4, 29-32
Y	WO 2020/230498 A1 (ヤーマン株式会社) 19.11.2020 (2020-11-19) 図１	1-4, 29-32
Y	JP 6445212 B1 (ラックスマン株式会社) 26.12.2018 (2018-12-26) 図１	1-4, 29-32

☐ 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
“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	国際調査報告の発送日
07.02.2023	21.02.2023

名称及びあて先
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

権限のある職員（特許庁審査官）
石川　薫 3I 4860
電話番号 03-3581-1101 内線 3386

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/000752

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:

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/JP2023/000752

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2005-35957 A	10.02.2005	（ファミリーなし）	
WO 2020/230498 A1	19.11.2020	CN 113329785 A	
JP 6445212 B1	26.12.2018	（ファミリーなし）	