

(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
2015年7月23日(23.07.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/108014 A1

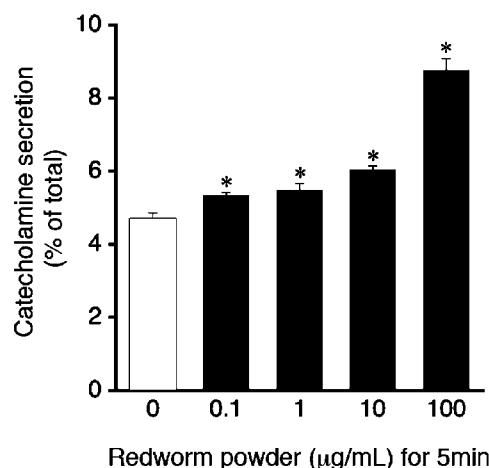
- (51) 国際特許分類:
A61K 35/56 (2015.01) *A61P 25/28* (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/050586
- (22) 国際出願日: 2015年1月13日(13.01.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-007845 2014年1月20日(20.01.2014) JP
- (71) 出願人: Well Stone 有限会社
(WELL STONE CO.) [JP/JP]; 〒8891701 宮崎県宮崎市
市田野町甲6742番地1 Miyazaki (JP).
- (72) 発明者: 石井 陽一 (ISHII Yoichi); 〒8800014 宮崎
県宮崎市鶴島3丁目122-1 Miyazaki (JP). 根
本 隆行 (NEMOTO Takayuki); 〒8891692 宮崎県
宮崎市清武町木原5200国立大学法人宮崎大
学医学部機能制御学講座薬理学分野 Miyazaki
(JP). 岡本 猛 (OKAMOTO Takeshi); 〒7100806 岡
山県倉敷市西阿知町西原1046-6 102
号室 Okayama (JP).
- (74) 代理人: 本多 一郎 (HONDA Ichiro); 〒1050001 東
京都港区虎ノ門一丁目14番1号 郵政福祉琴
平ビル6階 本多国際特許事務所 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN,
IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, 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).

[続葉有]

(54) Title: CATECHOLAMINE PRODUCTION ACCELERATOR, AND THERAPEUTIC AND PREVENTIVE AGENT AND THERAPEUTIC AND PREVENTIVE FOOD COMPOSITION FOR DISEASES CAUSED BY CATECHOLAMINE DEFICIENCY

(54) 発明の名称: カテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬・予防薬および治療用・予防用食品組成物

[図1]



(57) Abstract: Provided are a catecholamine production accelerator comprising a natural product as an active ingredient, a therapeutic and preventive agent for diseases caused by catecholamine deficiency, and a therapeutic and preventive food composition for diseases caused by catecholamine deficiency. The present invention provides a catecholamine production accelerator comprising a dry powder, triturate and/or extract of worms as an active ingredient, a therapeutic and preventive agent for diseases caused by catecholamine deficiency, and a therapeutic and preventive food composition for diseases caused by catecholamine deficiency. The diseases caused by catecholamine deficiency are preferably selected from the group consisting of Alzheimer's disease and Parkinson's disease.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2015/108014 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

天然物を有効成分として含有するカテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬・予防薬、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用・予防用食品組成物を提供することにある。ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を有効成分として含有するカテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬・予防薬、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用・予防用食品組成物である。前記カテコールアミンの欠乏に起因する疾患は、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択されることが好ましい。

明 細 書

発明の名称：

カテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の
治療薬・予防薬および治療用・予防用食品組成物

技術分野

[0001] 本発明は、カテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬・予防薬、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用・予防用食品組成物に関する。

背景技術

[0002] カテコールアミンは、カテコールとアミンを有する化合物であり、生体内には神経伝達物質の一部として存在する。生体内に最も豊富に含まれているカテコールアミンは、アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミンであり、これらはチロシンから変換される。チロシンはL-DOPA（L-3, 4-ジヒドロキシフェニルアラニン）に変換され、さらにL-DOPAはドーパミンに変換される。また、ノルアドレナリンはドーパミンから変換され、アドレナリンはノルアドレナリンから変換される。

[0003] アルツハイマー病やパーキンソン病等の神経変性疾患においては、カテコールアミンの欠乏が確認されており、カテコールアミンの産生促進による予防又は治療が実用化又は研究されている。例えば、抗パーキンソン病薬として、アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミンの前駆体となる、フェニルアラニン、チロシン又はL-DOPAが投与されている。また、モノアミン酸化酵素によるアミノ基の酸化的除去に起因する代謝を防ぐために、抗パーキンソン病薬としてモノアミン酸化酵素阻害薬が用いられている。アルツハイマー病に関しては、近年、薬物治療が主に行われるようになってきたが、現在のところ根本的治療薬は見つかっていない。しかしながら、ノルアドレナリン、ドーパミンの重要性が検討されており、また、アルツハイマー病モデルマウスでは、ノルアドレナリンの組織内濃度の減少も報告されて

いることから（非特許文献1～4）、カテコールアミンの産生促進によるアルツハイマー病の予防又は治療法の開発が期待されている。

[0004] 一方、ミミズ抽出物やミミズ乾燥粉末は、古来より主として東洋諸国において、各種疾病の予防剤、治療剤として用いられており、これまでに膀胱内結石縮小剤及び排出促進剤、黄疸治療剤、分娩促進剤、強壮剤、育毛剤、強精剤、解熱剤、ひきつけ治療剤、血行促進剤、半身不随治療剤、間接鎮痛剤、利尿剤、気管支喘息剤、高血圧症治療剤としての用途が知られている。

しかし、これまでミミズを有効成分としたカテコールアミン産生促進剤や、アルツハイマー病やパーキンソン病の予防・治療にミミズを利用した報告例はない。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1: Francis BM et al., Neuropsychopharmacology (2012) 37: 1934-1944

非特許文献2: Szot P, Epilepsia (2012) 53 (Suppl. 1): 61-66

非特許文献3: Xu Y et al., Progress in Neurobiology (2012) 97: 1-13

非特許文献4: Robertson IH, Neurobiology of Aging (2013) 34: 298-308

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] アルツハイマー病やパーキンソン病等の神経変性疾患の治療には長期間の薬剤の投与を伴うと考えられることから、安全で副作用の少ない薬剤が特に必要であり、天然物由来のカテコールアミン産生促進剤並びにアルツハイマー病及びパーキンソン病の予防・治療薬が求められていた。

[0007] そこで本発明の目的は、天然物を有効成分として含有するカテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の予防・治療剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の症状の改善用食品組成物および改善用医薬用組成物を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 即ち、本発明のカテコールアミン産生促進剤は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を有効成分として含有することを特徴とするものである。

[0009] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬または予防薬は、前記カテコールアミン産生促進剤を含有することを特徴とするものである。

[0010] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用または予防用食品組成物は、前記カテコールアミン産生促進剤を含有することを特徴とするものである。

[0011] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬または予防薬は、前記カテコールアミンの欠乏に起因する疾患が、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択されることが好ましい。

[0012] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用または予防用食品組成物は、前記カテコールアミンの欠乏に起因する疾患が、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択されることが好ましい。

[0013] 本発明のカテコールアミン産生促進剤の製造方法は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物を使用することを特徴とするものである。

[0014] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬または予防薬の製造方法は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物を使用することを特徴とするものである。

[0015] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用または予防用食品組成物の製造方法は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物を使用することを特徴とするものである。

[0016] 本発明のカテコールアミンの産生促進方法は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を使用することを特徴とするものである。

[0017] 本発明のミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物は、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療における使用のためのものである。

[0018] 本発明のカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療方法または予防方法は、ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を、対象に有効量を投与することを特徴とするものである。

発明の効果

[0019] 本発明により、天然物を有効成分として含有するカテコールアミン産生促進剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の予防・治療剤、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の症状の改善用食品組成物および改善用医薬用組成物を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]ミミズ乾燥粉末の含有によるウシ副腎髄質クロマフィン細胞のカテコールアミンの分泌量の変化を示すグラフである。横軸はミミズ乾燥粉末の濃度を示す。縦軸はカテコールアミンの分泌量を示す。ミミズ乾燥粉末 $0 \mu\text{g} / \text{mL}$ 、5分時の細胞内カテコールアミン量を100%とした。

[図2]ミミズ乾燥粉末の含有によるウシ副腎髄質クロマフィン細胞の細胞内カルシウム濃度の変化を示す写真図である。

[図3]ミミズ乾燥粉末の含有によるウシ副腎髄質クロマフィン細胞の細胞内カルシウムの蛍光強度の変化を示すグラフである。横軸はミミズ乾燥粉末の濃度を示す。縦軸は蛍光強度を示す。ミミズ乾燥粉末 $0 \mu\text{g} / \text{mL}$ 群の蛍光強度を100%とした。

[図4]ミミズ乾燥粉末の含有によるウシ副腎髄質クロマフィン細胞のチロシン水酸化酵素のリン酸化の変化を調べたウエスタンブロットの結果を示す写真図である。

発明を実施するための形態

[0021] 本発明においては、原料に用いられるミミズは特に限定されず、例えばア

カミミズ (*Lumbricus rubellus*)、LTミミズ (*Lumbricus terrestris*)、シマミミズ (*Eisenia foetida*)、カッショクツリミミズ (*Allolobophora caliginosa*)、ムラサキツリミミズ (*Dendrobaena octaedra*)、サクラミミズ (*Allolobophora japonica* Michaelson)、ハッタミミズ (*Drawida hattamimizu* Hatai)、セグロミミズ (*Pheretima divergens* Michaelson)、フツウミミズ (*Pheretima communissima*)、ハタケミミズ (*Pheretima agrestis*)、シーボルトミミズ (*Pheretima sieboldi* Horst)、ヒトツモンミミズ (*Pheretima hilgendorfi*)、イソミミズ (*Pontodrilus matsu shimensis* Iizuka)、イトミミズ (*Tubifex hattai* Nomura)、ゴトウイトミミズ (ユリミミズ) [*Limnodrilus gotoi* Hatai = *L. Socialis* Stephenson] などを用いることができる。

[0022] 本発明において、ミミズの乾燥粉末とは、未処理の又は前処理をしたミミズの摩砕物又は抽出物を乾燥して得た粉末を意味する。また、ミミズの摩砕物とは、未処理の又は前処理をしたミミズを摩砕した液状ないしペースト状のものである。ミミズの抽出物とは、未処理の又は前処理をしたミミズ又はその摩砕物を、水、水溶液または有機溶媒に溶解し、不溶性画分を除去または分離して得たエキスを意味する。前記前処理は特に限定されるものではなく、後述する汚物等の除去処理等が挙げられる。また、ミミズの乾燥粉末、摩砕物および抽出物は後処理がされていてもよく、後処理としては造粒、濾過、精製、濃縮、希釈およびpH調製等が挙げられる。

[0023] ミミズの摩砕物を得るための摩砕方法は特に限定されず、例えば、ホモジナイザー、ブレンダー、ホモミキサー、擂潰機、加圧型細胞破壊装置等を用いて摩砕することができる。

[0024] ミミズの抽出物を得るための抽出方法は特に限定されず、例えば、ミミズの乾燥粉末又は摩砕物を抽出溶媒に溶解し、不溶性画分を除去又は分離して抽出することができる。抽出溶媒としては、水、水溶液並びにエタノール、アセトン及び酢酸エチル等の有機溶媒が挙げられ、1種を単独で、又は、2種以上を組み合わせてもよい。中でも、水、エタノール又はエタノール水溶液が好ましい。

[0025] ミミズの乾燥物を得るための乾燥方法は特に限定されず、凍結乾燥、加熱乾燥及び噴霧乾燥等の乾燥方法により乾燥することができる。中でも、後述の理由により、凍結乾燥が好ましい。

[0026] 本発明において、ミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物は、その目的に合わせて効果的な量を配合すればよい。適切な配合量は、目的、投与経路及び形態、ミミズの乾燥粉末等の製造方法等の様々な因子に依存するが、後述するミミズの消化管内に残留する消化物、体皮に付着する汚物等を除去した後、ミミズを摩砕し、摩砕物を凍結乾燥して得られたミミズの乾燥粉末の重量に換算して、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の予防又は軽度の疾患の治療を目的としては、好ましくは1日あたり1～15,000mg、より好ましくは1日あたり12～1,800mg、さらに好ましくは1日あたり120～180mgである。また、カテコールアミンの欠乏に起因する重度の疾患の治療を目的としては、好ましくは1日あたり1～15,000mg、より好ましくは1日あたり18～3,600mg、さらに好ましくは1日あたり180～360mgである。

[0027] 本発明のカテコールアミン産生促進剤、治療薬、予防薬及び食品組成物の形状は特に限定されず、固形、粉末、半固形及び液体のいずれでもよい。

[0028] 本発明において、ミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物はそのまま使用することができる。また、特に本発明のカテコールアミン産生促進剤、治療薬及び予防薬においては、薬学的に許容しうる担体を含んでもよく、例えば錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、ソフトカプセル剤、液剤、注射剤、坐剤、徐放剤等として、経口的または非経口的（例えば、静脈投与、直接患部に

投与等)に投与することができる。薬学的に許容しうる担体としては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、流動化剤、滑沢剤、コーティング剤、懸濁化剤、着色剤、甘味剤または界面活性剤等を用いることができ、公知の方法に従って一般的な医薬製剤の形態とすることができる。また、他の治療・予防成分や薬学的に許容しうる添加剤を含んでもよい。

[0029] また、本発明、特に本発明のカテコールアミン産生促進剤及び食品組成物においては、食品に通常に使用される添加剤を含んでもよい。例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、流動化剤、滑沢剤、コーティング剤、懸濁化剤、着色剤、甘味剤または界面活性剤等を用いることができ、公知の方法に従って一般的な食品組成物の形態とすることができる。また、他の食品又は食品由来の成分を含んでもよい。

[0030] 本発明において、ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び抽出物の中でも、製造工程における保存安定性の観点から、ミミズの乾燥粉末を用いることが好ましい。ミミズの乾燥粉末は、予め水等の液体に溶解及び／又は分散させてから、薬学的に及び又は食品に使用される通常の担体、添加剤等の他の成分と混合してもよい。

[0031] 本発明において、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患は特に限定されないが、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択されることが好ましい。

[0032] ミミズを原料として経口投与するためには、ミミズの消化管内に残留する消化物、体皮に付着する汚物等を除去することが好ましい。本発明においては、除去方法は特に限定されず、公知の方法を用いて除去することができる。例えば、ミミズ生体をナトリウム塩又はカリウム塩のようなアルカリ塩の水溶液中に浸せきして、消化管内の糞土を排泄させる方法（特開平 1-47718 号公報、特開平 1-47719 号公報、特開平 1-47720 号公報および特開平 1-268639 号公報に記載の方法）、ミミズ生体を 6~26℃に維持した酸水溶液中に 0.1~5 時間放置して消化管内の糞土を除去する方法（特開平 3-72427 号公報に記載の方法）などを用いることがで

きる。

[0033] 本発明においては、除去方法として、下記の金属の塩化物および／またはヒドロキシカルボン酸とミミズとを接触させることが好ましい。

[0034] 上記金属の塩化物は、カリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる少なくとも1種の金属の塩化物である。即ち、塩化カリウム、塩化ナトリウム、塩化マグネシウムおよび塩化カルシウムからなる群から選ばれる少なくとも1種である。また、これらの混合物でもよく、これらと、食品への添加が可能な他の無害な成分との混合物であってもよい。そのような混合物としては、例えば食塩、岩塩、天日塩が挙げられる。上記金属の塩化物は、粉末状のものを生ミミズにふりかけることにより用いることができ、これによりミミズと金属の塩化物の接触が起きる。

[0035] 生ミミズに上記金属の塩化物を接触させた後、生ミミズと下記のようにヒドロキシカルボン酸を接触させることが好ましい。また、上記金属の塩化物との接触をさせずに、下記のようにヒドロキシカルボン酸とミミズとの接触を行うこともできる。

[0036] 上記ヒドロキシカルボン酸との接触についても、粉末状のヒドロキシカルボン酸を生ミミズにふりかけることにより行うことができる。また、pH 2～5のヒドロキシカルボン酸水溶液中に浸漬してもよい。金属の塩化物との接触を経ってからヒドロキシカルボン酸との接触を行う場合は、ヒドロキシカルボン酸との接触は、上記金属の塩化物との接触の後速やかに行うことが好ましい。また、生ミミズとヒドロキシカルボン酸とを接触させる前に、ミミズを水洗することが好ましい。水洗により上記金属の塩化物を除いてからミミズとヒドロキシカルボン酸とを接触させると酵素活性の高いミミズ乾燥粉末が得られる。ヒドロキシカルボン酸との接触前に水洗を行う場合は、金属の塩化物との接触開始後、好ましくは30分、より好ましくは20分以内に水洗を行う。水洗方法は特に限定されず、公知の方法を採用することができる。

[0037] 生ミミズを長時間ヒドロキシカルボン酸粉末と接触させておくと死滅し、

生活機能を消失し、消化管内の消化物を排泄しなくなるので、可及的速やかに、好ましくは30秒以内、より好ましくは20秒以内にヒドロキシカルボン酸を水で希釈し、pHを2～5の範囲に調整することが好ましい。

[0038] ヒドロキシカルボン酸はミミズにとって不快生活環境を形成するため、生ミミズは、自己保存本能により体液、排泄物を放出して生活環境を改善しようとする。また、ヒドロキシカルボン酸は殺菌性を有するため、上記のように消化器内に残留する消化物等の排泄を促す役割を果たすとともに、ミミズに付着した雑菌を殺菌するという効果が期待できる。

[0039] 上記方法において用いられる結晶状ヒドロキシカルボン酸は、使用条件下で結晶状体を示すものであれば、そのヒドロキシ基数又はカルボキシル基数には関係なく用いることができる。すなわち、モノヒドロキシモノカルボン酸、モノヒドロキシポリカルボン酸、ポリヒドロキシモノカルボン酸、ポリヒドロキシポリカルボン酸のいずれでもよい。

[0040] 本発明で用いるヒドロキシカルボン酸としては、例えば、グリコール酸、乳酸、酢酸、 β -ヒドロキシプロピオン酸、 α -ヒドロキシ-n-酪酸、 β -ヒドロキシ-n-酪酸、 α -ヒドロキシ-n-吉草酸、 β -ヒドロキシ-n-吉草酸、リンゴ酸、 α -メチルリンゴ酸、 α -ヒドロキシグルタル酸、 β -ヒドロキシグルタル酸、クエン酸、マロン酸およびコハク酸などが挙げられる。中でも食品に対して使用可能で入手が容易である点で乳酸、酢酸、リンゴ酸、クエン酸、マロン酸およびコハク酸が好ましい。ヒドロキシカルボン酸は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を混合して用いてもよい。

[0041] 生ミミズの組織の65%は水分である。生ミミズの保身機能が働く時間としては、ある程度余裕はあるが、生ミミズが死滅してしまうと酵素が働いてしまうので、不快生活環境下に置く時間の制御は慎重に行う必要がある。この時間は、条件により左右されるが、通常は3～180分の範囲である。

[0042] ヒドロキシカルボン酸で処理したミミズ生体は、水で洗浄したのち、摩砕して液状ないしペースト状の摩砕物にすることが好ましい。洗浄は好ましく

は純水で行う。洗浄方法は特に限定されず、公知の水洗方法を採用することができる。また、摩砕前の処理工程の合計時間、即ち、生ミミズに金属の塩化物を振りかけてから、ヒドロキシカルボン酸の水による洗浄を終えるまでの時間は、合計で240分以内が好ましい。

[0043] 上記摩砕方法は特に限定されず、例えば、ホモジナイザー、ブレンダー、ホモミキサー、擂潰機、加圧型細胞破壊装置を用い、通常1～25℃で行われる。ミミズ構成成分の分解抑制の観点から低温下で行うことが好ましく、2～15℃の温度が好ましい。

[0044] ミミズの摩砕により得られた摩砕物は、例えばステンレス鋼製トレーに収容され、凍結乾燥に付される。この際、ミミズ生体に含まれる酵素は、生細胞には作用しないが死細胞に対しては瞬時に作用するため、腐敗性ガスが発生するおそれがあり、これを防止するために瞬間的に-18℃～-35℃に急冷・凍結して酵素の作用を抑制した後に、凍結乾燥を行うことが好ましい。

[0045] このように、ミミズ本来の薬理作用を損なわずに粉末化するには、迅速に凍結することが好ましいが、一方においてあまり短時間で凍結させるとミミズペーストの主成分であるタンパク質とともに存在する不純物がスポット状の不凍結部分を形成し、分離されないことがあるので、過度に急速な凍結は好ましくない。したがって、凍結は好ましくは-18℃から-35℃の低温で20～240時間、より好ましくは50～170時間を要して行う。

[0046] 凍結乾燥に際しては、水分とともに不純分が残留することなく除去し得る条件を選ぶことが重要である。そのためには、圧力50Pa以下、-60℃ないし+90℃の温度において、温度を段階的に上げながら10～60時間の範囲で制御して行うのが好ましい。

[0047] 凍結乾燥の方法としては、例えば、前記したように摩砕物を-18℃ないし-35℃の温度で20～240時間を要して凍結したのち、-60℃～+90℃の温度において、数段階に分け昇温し、圧力25～40Paにおいて、数段階に分け減圧しながら、10～60時間凍結真空乾燥させることで無

菌状態の淡黄色ミミズ乾燥粉末を得ることができる。

[0048] さらに、前記摩砕物を凍結乾燥したものを水またはエタノール水溶液に溶解し、不溶性画分を除去または分離する工程を備えることが好ましい。不溶性画分を除去または分離する工程は、上記と同様に、放置による沈殿、遠心、濾過等によることができる。水またはエタノール水溶液に溶解する工程は、攪拌ないし振とうしながら行うことが好ましい。水への溶解に要する時間は好ましくは、1～120分間、より好ましくは5～80分間である。エタノール水溶液のエタノール濃度は特に制限されないが、好ましくは10～70%（v/v）、より好ましくは30～60%である。

[0049] 本発明のカテコール産生促進剤、治療薬、予防薬及び食品組成物は、上記のように水またはエタノール水溶液に溶解したものの上清を、そのまま水溶液の状態で用いてもよく、水分を飛ばして濃縮液として用いてもよく、乾燥させて粉末状にして用いることもできる。上清を乾燥して粉末状にしたものを水に溶解して用いてもよい。また、ミミズペーストを凍結乾燥した粉末を、水またはエタノール水溶液に溶解せずにそのまま用いることもできる。

[0050] また、本発明においては、除去方法としては、生ミミズを不快環境下に置く処理の前、即ち上記の生ミミズを金属の塩化物またはヒドロキシカルボン酸に接触させるのに先立ち、生ミミズをパン箱のような平箱に移し、明所にて10～50時間放置し、体皮に付着した汚物を除去することが好ましい。明所での放置時間は、より好ましくは12～24時間である。この際の収容量としては、ミミズが30～60mm、好ましくは40～50mmの厚さに積み重なる程度の量が好ましい。この平箱内には、砂、泥のような異物が存在しないようにし、またミミズは夜行性で暗所では生活活動が活発となり、体力を消耗するおそれがあるため、夜間は電照培養方式などにより明るく保つことが好ましい。この処置により生ミミズは、自己防御本能を発揮し、消化管内に残留する消化物を排泄し、この排泄物で全身を覆い、水分が蒸発するのを防いで、生活環境を維持しようとするので、この覆っている汚物すなわち排泄物を適当な手段で剥ぎ取ることを繰り返せば、最終的に消化管内の

消化物及び体皮に付着した汚物を除去することができる。

[0051] ミミズの体皮に付着した汚物の剥ぎ取りは、例えば不織布で生ミミズを被覆し、汚物をそれに吸着させて行うことができる。この明所での放置および体皮に付着した汚物の除去と、上記の金属の塩化物および／またはヒドロキシカルボン酸との接触とを組み合わせることにより、一層のミミズ体内の有毒物の排出、除去が期待できる。

[0052] 本発明において、ミミズの乾燥粉末を得る方法としては、特に乾燥粉末の保存安定性の観点から、下記の方法が好ましい。

(A-1) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる少なくとも1種の金属の塩化物と接触させ、

その後、粉末状ヒドロキシカルボン酸と生ミミズとを接触させ、水で希釈してpH2～5に調整し、3～180分間保持した後、生ミミズを水洗し、摩砕し、得られた摩砕物を凍結乾燥する工程を備えるミミズの乾燥粉末の製造方法。

(A-2) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる金属の塩化物と接触させ、

その後、生ミミズをpH2～5に調整したヒドロキシカルボン酸水溶液中に浸漬し、3～180分間保持したのち、生ミミズを水洗し、摩砕し、得られた摩砕物を凍結乾燥する工程を備えるミミズの乾燥粉末の製造方法。

(A-3) 前記(A-1)又は(A-2)において、前記摩砕物を凍結乾燥したものを水またはエタノール水溶液に溶解し、不溶性画分を除去または分離した後、さらに凍結乾燥する工程を備えるミミズの乾燥粉末の製造方法。

[0053] また、生ミミズを摩砕してなる摩砕物を凍結乾燥した後、乾燥物の殺菌の観点から、得られた乾燥物を110℃以上130℃未満で加熱処理することが好ましい。加熱温度が110℃未満であると、乾燥物の殺菌が不十分なことがあり、130℃以上であるとミミズ乾燥物に含まれる酵素が失活してしまい活性が下がるので好ましくない。より好ましくは、115～125℃である。加熱方法は特に限定されず、熱風をかける方法、加熱ジャケットを用

いる方法、トレイ等に乗せてヒーターで加熱する方法、定温恒温器を使用する方法などが挙げられる。加熱時間は好ましくは、30秒～130分、より好ましくは、30分～90分さらに好ましくは60分～90分である。加熱時間があまり短いと殺菌が不十分な場合があり、あまり長いと酵素の活性が失われるため好ましくない。尚、液体中の酵素に上記加熱処理を行うと酵素活性が失われてしまうことから、本発明においては、ミミズの乾燥粉末を用いることが好ましい。

[0054] 本発明において、ミミズの摩砕物を得る方法としては、下記の方法が好ましい。

(B-1) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる少なくとも1種の金属の塩化物と接触させ、

その後、粉末状ヒドロキシカルボン酸と生ミミズとを接触させ、水で希釈してpH2～5に調整し、3～180分間保持した後、生ミミズを水洗し、摩砕する工程を備えるミミズの摩砕物の製造方法。

(B-2) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる金属の塩化物と接触させ、

その後、生ミミズをpH2～5に調整したヒドロキシカルボン酸水溶液中に浸漬し、3～180分間保持したのち、生ミミズを水洗し、摩砕する工程を備えるミミズの摩砕物の製造方法。

[0055] 本発明において、ミミズの抽出物を得る方法としては、下記の方法が好ましい。

(C-1) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる少なくとも1種の金属の塩化物と接触させ、

その後、粉末状ヒドロキシカルボン酸と生ミミズとを接触させ、水で希釈してpH2～5に調整し、3～180分間保持した後、生ミミズを水洗し、摩砕し、得られた摩砕物を凍結乾燥したものを、水またはエタノール水溶液に溶解し、不溶性画分を除去または分離する工程を備えるミミズの抽出物の製造方法。

(C-2) 生ミミズをカリウム、ナトリウム、マグネシウムおよびカルシウムからなる群から選ばれる金属の塩化物と接触させ、

その後、生ミミズをpH 2～5に調整したヒドロキシカルボン酸水溶液中に浸漬し、3～180分間保持したのち、生ミミズを水洗し、摩砕し、得られた摩砕物を凍結乾燥したものを、水またはエタノール水溶液に溶解し、不溶性画分を除去または分離する工程を備えるミミズの抽出物の製造方法。

実施例

[0056] 以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明する。本発明は、以下の実施例により何ら制限されるものではない。尚、以下において「%」とあるのは、特に断りのない限り全て質量基準である。

[0057] [ミミズ乾燥粉末の調製]

24時間明所に放置後、体皮に付着する汚物を剥ぎ取った生のアカミミズ30kgを平皿に約5cmの厚さに拡げ、この上に塩化ナトリウム250gを均一に振りかけた。20分後、ミミズを水洗いした。その後、クエン酸250gを同様に振りかけた後15秒で純水30リットルを加えて希釈した。この時、水を加えた直後のpHは2.25であり、完全に希釈したときのpHは2.74であった。クエン酸粉末を振りかけると、ミミズは一気に黄色い体液を放出した。水で希釈した後に、その状態で20分間保持した。次いで、汚れたクエン酸水溶液から生ミミズを取り出し、水洗したのち、ホモジナイザーを用いて10℃において摩砕し、ミミズペーストを調製した。次に、このミミズペーストを吸引脱気して、その中に含まれているガスを除いたのち、ステンレス鋼製トレーに移し、瞬間的に-35℃まで急冷し、この温度に50時間維持して徐々に凍結した。凍結したミミズペーストを-35℃で圧力0Paを2時間保ったのち、温度25℃まで昇温し、40Paで10時間、次いで40℃、圧力35Paで14時間、次いで65℃、圧力35Paで12時間乾燥し、最後に温度を80℃とし、圧力25Paにおいて6時間保つことにより真空凍結乾燥を行った。この処理により含水量8質量%の淡黄色のミミズ乾燥粉末を得た。

[0058] 上記で得られたミミズ乾燥粉末を、RM-50D型加熱装置（株式会社 大河原製作所製）を用いて加熱処理を行った。加熱条件は、90分かけて120℃まで加熱した後、120℃で20分間加熱し、240分かけて40℃まで冷却した後、ミミズ乾燥粉末を取り出した。

加熱処理したミミズ乾燥粉末を、50%エタノール水溶液に、エタノール：凍結乾燥粉末が20：1（v/w）となるように溶解し、室温（25℃）下、1500rpmで1時間振とうした。その後、4℃、10000×gで15分間遠心し、上清を分離して、75℃で15分間減圧濃縮した。得られた上清をステンレス鋼製トレーに移し、瞬間的に-35℃まで急冷し、この温度に50時間維持して徐々に凍結した。凍結したミミズペーストを-35℃で圧力0Paを2時間保ったのち、温度25℃まで昇温し、40Paで10時間、次いで40℃、圧力35Paで14時間、次いで65℃、圧力35Paで12時間乾燥し、最後に温度を80℃とし、圧力25Paにおいて6時間保つことにより真空凍結乾燥を行い、ミミズ乾燥粉末A-1を得た。

[0059] [ウシ副腎髄質クロマフィン細胞培養]

ウシ副腎髄質より単離したウシ副腎髄質クロマフィン細胞を、48時間培養液中（37℃）で培養した。尚、副腎髄質クロマフィン細胞は、発生学的に神経堤由来細胞であることから、しばしば神経細胞モデルとして利用される細胞である。

[0060] [カテコールアミン分泌測定]

上記で培養したウシ副腎髄質クロマフィン細胞（ 4×10^6 個：35mmディッシュ）の培養液を、上記で得たミミズ乾燥粉末A-1をそれぞれ0、0.1、1、10及び100 $\mu\text{g/mL}$ になるように溶解したKRP溶液（クレブス・リンゲルリン酸緩衝液：Krebs-Ringer phosphate buffer）1mLに置換し、37℃で5分、培養した。培養に用いたミミズ乾燥粉末を溶解したKRP溶液から溶液のみを0.1mLを採取し、0.2N過塩素酸0.1mLと3,4-ジヒドロキシベンジルアミン（DHBA）0.2mLを加え、HPLC（高速液体クロマトグラフィー）

及びE S A社製C o u l o c h e m 11（電気化学検出機）を用いて、カテコールアミンの分泌量を求めた。また、上記ミミズ乾燥粉末A-1を $0\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 37°C 、5分で培養したウシ副腎髄質クロマフィン細胞の細胞（ 4×10^6 個）内カテコールアミン量を100%として換算した結果を図1に示す。

[0061] [細胞内カルシウム濃度測定]

上記で培養したウシ副腎髄質クロマフィン細胞（ 4×10^6 個：35mmディッシュ）の培養液を、同人化学社製F l u o - 4 - A Mを最終濃度 $5\mu\text{m o l}/\text{mL}$ で含有させたK R P溶液1 mLに置換し、 37°C で30分、培養した。その後、培養ディッシュを蛍光顕微鏡下還流装置に固定し、上記で得たミミズ乾燥粉末A-1をそれぞれ0、1、10及び $100\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように溶解したK R P溶液で還流し、還流開始から5秒間隔で写真記録し、写真全体の蛍光（488nm）強度ピーク時の蛍光強度を測定した。蛍光強度ピーク時の写真を図2に、また、ミミズ乾燥粉末A-1が $0\mu\text{g}/\text{mL}$ の場合の蛍光強度ピーク時の蛍光強度を100%として比較した結果を図3に示す。

尚、副腎クロマフィン細胞及び神経細胞において細胞内カルシウム濃度の上昇は、カテコールアミンを含む分泌小胞のプライミング（分泌小胞の細胞膜融合）を促し、カテコールアミンの分泌を惹起することが知られている。

[0062] [チロシン水酸化酵素のリン酸化]

上記で培養したウシ副腎髄質クロマフィン細胞（ 4×10^6 個：35mmディッシュ）の培養液を、上記で得たミミズ乾燥粉末A-1をそれぞれ0及び $100\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように溶解したK R P溶液（クレブス・リンゲルリン酸緩衝液：K r e b s - R i n g e r p h o s p h a t e b u f f e r）1 mLに置換し、 37°C で5分、培養した。その後、P B S（-）溶液（ 4°C ）で細胞を洗浄後速やかに細胞（ 4×10^6 個）のみを採取し、ウェスタンブロットによりチロシン水酸化酵素（T y r o s i n e H y d r o x y l a s e : T H）のリン酸化を検出した。結果を図4に示す。

尚、チロシン水酸化酵素は、カテコールアミンの生合成の律速酵素であり、細胞内カルシウム濃度の上昇によりリン酸化され、活性化される。

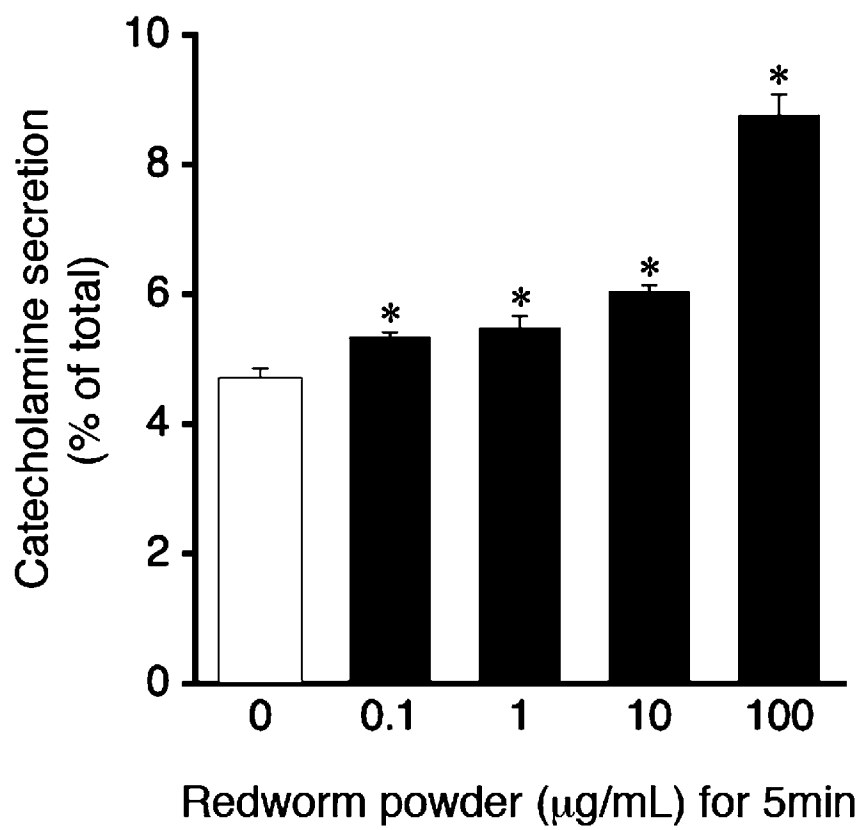
[0063] 図1から明らかなように、ミミズ乾燥粉末は、コントロール（ミミズ乾燥粉末を含まないKRP溶液）と比べて、有意にカテコールアミンの分泌量を増加させ、 $100\mu\text{g/mL}$ においては85%も増加させた。図2、図3から明らかなように、ミミズ乾燥粉末は、細胞内カルシウムも、コントロールと比べて増加させた。図4から明らかなように、ミミズ乾燥粉末は、カテコールアミンの生合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素のセリン残基（19、31、40番目）のリン酸化（pSer-TH）を増加させ、活性が上昇していることを示した。

請求の範囲

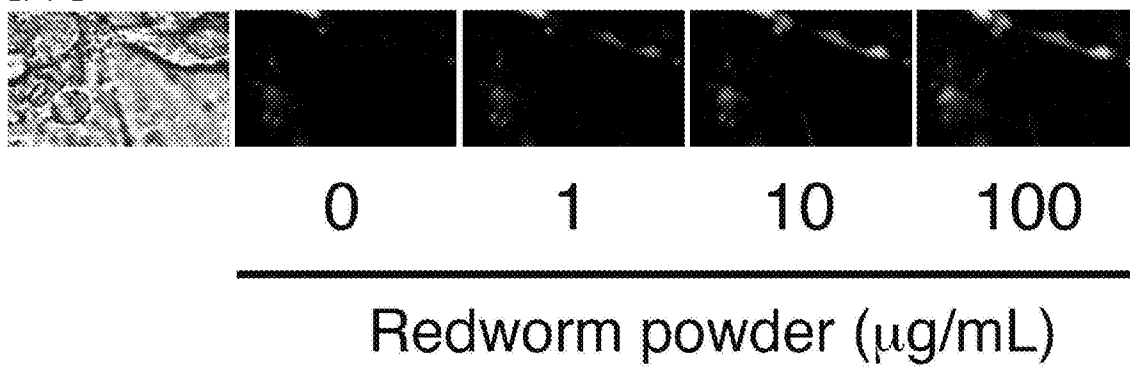
- [請求項1] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を有効成分として含有することを特徴とするカテコールアミン産生促進剤。
- [請求項2] 請求項1記載のカテコールアミン産生促進剤を含有することを特徴とする、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬または予防薬。
- [請求項3] 請求項1記載のカテコールアミン産生促進剤を含有することを特徴とする、カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用または予防用食品組成物。
- [請求項4] 前記カテコールアミンの欠乏に起因する疾患が、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択される請求項2記載の治療薬または予防薬。
- [請求項5] 前記カテコールアミンの欠乏に起因する疾患が、アルツハイマー病及びパーキンソン病からなる群より選択される請求項3記載の治療用または予防用食品組成物。
- [請求項6] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を使用することを特徴とするカテコールアミン産生促進剤の製造方法。
- [請求項7] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を使用することを特徴とするカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療薬または予防薬の製造方法。
- [請求項8] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を使用することを特徴とするカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療用または予防用食品組成物の製造方法。
- [請求項9] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を使用することを特徴とするカテコールアミンの産生促進方法。
- [請求項10] カテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療における使用のためのミミズの乾燥粉末、摩砕物または抽出物。
- [請求項11] ミミズの乾燥粉末、摩砕物及び／又は抽出物を、対象に有効量を投

与することを特徴とするカテコールアミンの欠乏に起因する疾患の治療方法または予防方法。

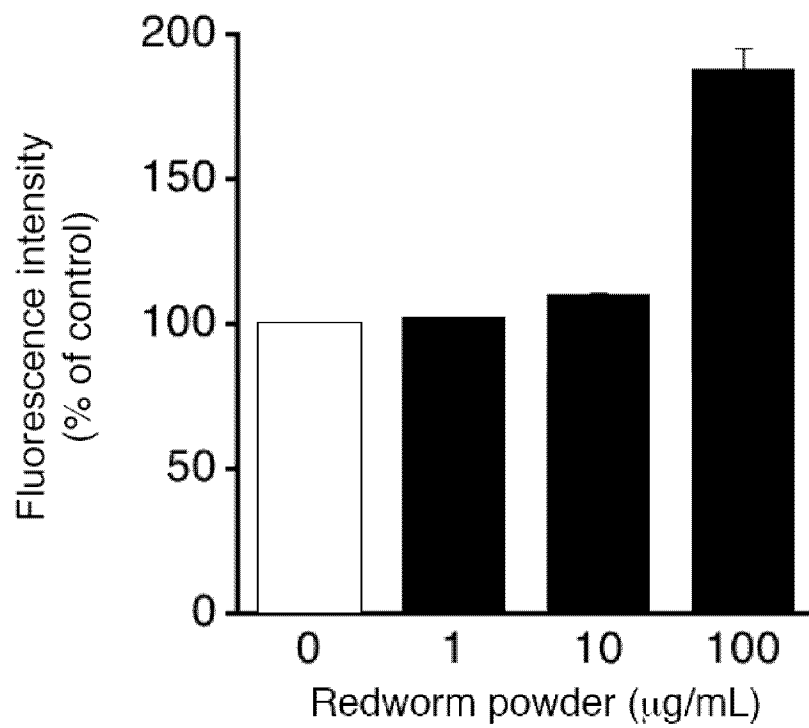
[図1]



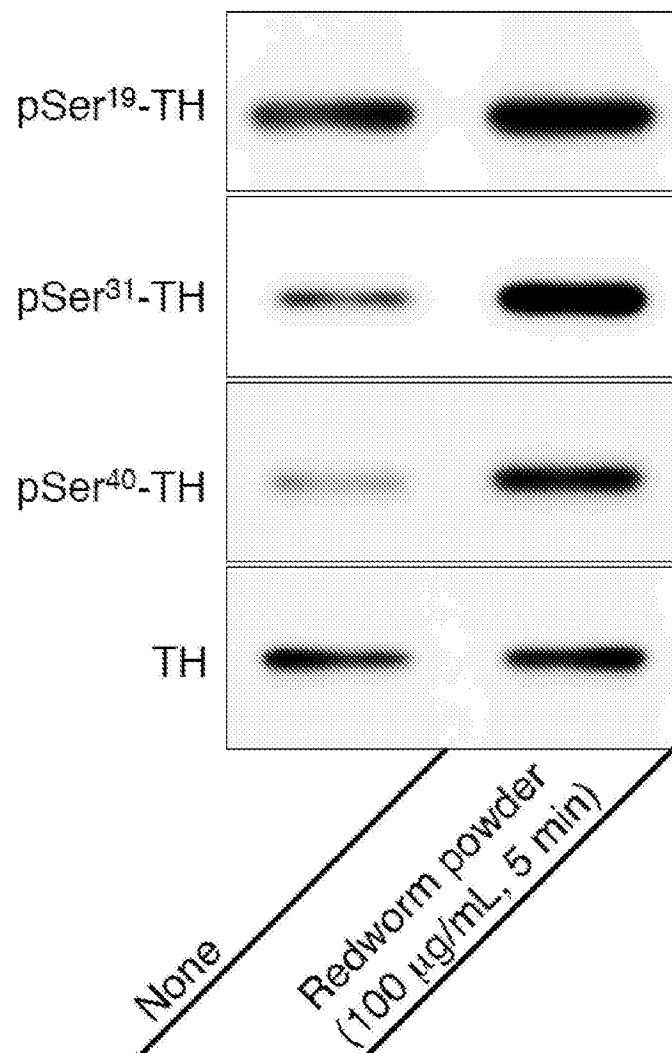
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/050586

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K35/56(2015.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K35/56, A61P25/16, A61P25/28, A61P43/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDREAMIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 59-216572 A (Yoichi ISHII), 06 December 1984 (06.12.1984), examples (Family: none)	3, 5, 8, 10 1-8
X Y	JP 2-215723 A (Eimei Co., Ltd.), 28 August 1990 (28.08.1990), examples (Family: none)	10 1-8
X Y	JP 2-215725 A (Eimei Co., Ltd.), 28 August 1990 (28.08.1990), examples (Family: none)	10 1-8



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

"I"

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 March 2015 (09.03.15)

Date of mailing of the international search report

17 March 2015 (17.03.15)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/050586

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2-215726 A (Eimei Co., Ltd.), 28 August 1990 (28.08.1990), examples (Family: none)	10 1-8
X Y	JP 2013-32308 A (Kazuo SAKAI), 14 February 2013 (14.02.2013), examples (Family: none)	10 1-3, 6-8
Y	Shuko TAKEDA et al., "Koketsuatsu to Alzheimer-gata Ninchisho", Journal of Blood Pressure, 2007, 14(5), 165 to 169, entire text	1-8
Y	Tomohiro Umeda, et al., Hypercholesterolemia accelerates intraneuronal accumulation of A β oligomers resulting in memory impairment in Alzheimer's disease model mice, Life Sci., 2012, 91, 1169-76 See Fig.2, 4	1-8
Y	Shuko TAKEDA et al., "Mechanistic Interaction Between Diabetes Mellitus and Alzheimer Disease", Journal of Japan Society for the Study of Obesity, 2010, 16(3), 192 to 195, entire text	1-8
Y	Takashi ABE et al., "Chiho Mikata to Chiryo Kanri no Jissai Chiho no Shindan Chiho Kanja ni Okeru Shinkei Dentatsu Busshitsu no Henka", Modern Physician, 1998, 18(4), 367 to 373, page 368, right column, 2nd paragraph to page 371, left column, 2nd paragraph, tables 1, 3	1-8
Y	Akiko IKEDA, "Stress Shakai o Kangaeru Utsuhyo to Do Mukiauka", Chemistry & chemical industry, 2007, 60(10), 971 to 975, page 972, right column, 3rd paragraph to page 973, left column, 3rd paragraph	1-3, 6-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/050586

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.: 9, 11
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 9 and 11 pertain to "methods for treatment of the human body by surgery or therapy" and thus relate to a subject matter on which it is not required to carry out an international search under the provision of PCT Rule 39.1(iv).
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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The 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.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. A61K35/56(2015.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. A61K35/56, A61P25/16, A61P25/28, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 5 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 5 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 5 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）

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

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 Y	JP 59-216572 A（石井陽一）1984.12.06, 実施例等 (ファミリーなし)	3, 5, 8, 10 1-8
X Y	JP 2-215723 A（株式会社エイメイ）1990.08.28, 実施例等 (ファミリーなし)	10 1-8
X Y	JP 2-215725 A（株式会社エイメイ）1990.08.28, 実施例等 (ファミリーなし)	10 1-8

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 9 . 0 3 . 2 0 1 5

国際調査報告の発送日

1 7 . 0 3 . 2 0 1 5

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

安藤 公祐

4 U

4 4 9 6

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 2-215726 A (株式会社エイメイ) 1990.08.28, 実施例等 (ファミリーなし)	10 1-8
X Y	JP 2013-32308 A (酒井和夫) 2013.02.14, 実施例等 (ファミリーなし)	10 1-3, 6-8
Y	武田朱公ら, 高血圧とアルツハイマー型認知症, 血圧, 2007, 14(5), 165-9 全文参照	1-8
Y	Tomohiro Umeda, et al., Hypercholesterolemia accelerates intraneuronal accumulation of A β oligomers resulting in memory impairment in Alzheimer's disease model mice, Life Sci., 2012, 91, 1169-76 See Fig. 2, 4	1-8
Y	武田朱公ら, 糖尿病とアルツハイマー病における相互的な病態修飾 機序の解明, 肥満研究, 2010, 16(3), 192-5 全文参照	1-8
Y	阿部隆志ら, 痴呆 診かたと治療・管理の実際 痴呆の診断 痴呆患者 における神経伝達物質の変化, モダンフィジシャン, 1998, 18(4), 367-73 第 368 頁右欄 2 段落-第 371 頁左欄 2 段落、表 1, 3	1-8
Y	池田亜希子, ストレス社会を考える うつ病とどう向き合うか, 化 学と工業, 2007, 60(10), 971-5 第 972 頁右欄 3 段落-第 973 頁左欄 3 段落	1-3, 6-8

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

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

1. ☒ 請求項 9, 11 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、
請求項9, 11は「手術又は治療による人体を処置する方法」であって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってP C T規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

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

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ため、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ため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

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