

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7670334号
(P7670334)

(45)発行日 令和7年4月30日(2025.4.30)

(24)登録日 令和7年4月21日(2025.4.21)

(51)国際特許分類		F I		
A 6 1 K	35/747 (2015.01)	A 6 1 K	35/747	
A 2 3 L	33/135 (2016.01)	A 2 3 L	33/135	Z N A
A 6 1 K	8/99 (2017.01)	A 6 1 K	8/99	
A 6 1 K	9/12 (2006.01)	A 6 1 K	9/12	
A 6 1 P	1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00	
請求項の数 17 (全21頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2021-537084(P2021-537084)	(73)特許権者	516348577	
(86)(22)出願日	令和1年8月13日(2019.8.13)		エムディー ヘルスケア インコーポレイ	
(65)公表番号	特表2022-514977(P2022-514977		テッド	
	A)		M D H E A L T H C A R E I N C .	
(43)公表日	令和4年2月16日(2022.2.16)		大韓民国 ソウル 0 3 9 2 3、マポ - グ	
(86)国際出願番号	PCT/KR2019/010267		、ワールド カップ プク - ロ 5 6 - ギ	
(87)国際公開番号	WO2020/141685		ル、9、# 1 3 0 3、(サンアム - ドン	
(87)国際公開日	令和2年7月9日(2020.7.9)		、ウリィ テクノロジー ビルディング)	
審査請求日	令和3年6月24日(2021.6.24)	(74)代理人	110000729	
審査番号	不服2023-8512(P2023-8512/J1)		弁理士法人ユニアス国際特許事務所	
審査請求日	令和5年5月24日(2023.5.24)	(72)発明者	キム、ユン - クン	
(31)優先権主張番号	10-2018-0174027		大韓民国 1 0 9 0 8 キョンギ - ド、パ	
(32)優先日	平成30年12月31日(2018.12.31)		ジュ - シ、ハンビット - ロ、7 0、5 2	
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)		1 - 2 0 3	
	最終頁に続く	(72)発明者	ムン、チャン モ	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞及びその用途

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

炎症疾患又は癌の予防又は治療用薬学的組成物であって、ラクトバチルス・パラカゼイ (L a c t o b a c i l l u s p a r a c a s e i) 由来の小胞を有効成分として含み、前記癌が、大腸癌、胃癌、肺癌、肝臓癌、胆道癌、すい臓癌、乳癌、卵巣癌、腎臓癌、膀胱癌、及び前立腺癌からなる群より選ばれるいずれか 1 つであり、
前記小胞の平均直径が 1 0 ~ 3 0 0 n m である、薬学的組成物。

【請求項 2】

前記炎症疾患が、炎症性腸炎、胃炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、鼻炎、アトピー皮膚炎、脱毛、乾癬、退行性関節炎、及び関節リウマチからなる群より選ばれるい
ずれか 1 つであることを特徴とする、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3】

前記炎症疾患が、T N F - α 又は I L - 1 β により媒介される疾患であることを特徴と
する、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4】

前記小胞が、

- (a) 細菌の細胞を含む培養液を回収し、遠心分離することによって細菌細胞が除去され
た上清を得る工程、及び
(b) 前記上清をフィルターを使用して少なくとも 1 回濾過することにより、小胞を単離
する工程を含む、方法によって得られる、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 5】

前記小胞が、ラクトバチルス・パラカゼイから自然的に又は人工的に分泌されることを特徴とする、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

前記小胞が、ラクトバチルス・パラカゼイの培養液又はラクトバチルス・パラカゼイを添加して培養した食品からの分離物である、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 7】

炎症疾患又は癌の予防又は改善用食品組成物であって、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含み、前記癌が、大腸癌、胃癌、肺癌、肝臓癌、胆道癌、すい臓癌、乳癌、卵巣癌、腎臓癌、膀胱癌、及び前立腺癌からなる群より選ばれるいずれか 1 つであり、前記小胞の平均直径が 10 ~ 300 nm である、食品組成物。

10

【請求項 8】

前記炎症疾患が、炎症性腸炎、胃炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、鼻炎、アトピー皮膚炎、脱毛、乾癬、退行性関節炎、及び関節リウマチからなる群より選ばれるいずれか 1 つであることを特徴とする、請求項 7 に記載の食品組成物。

【請求項 9】

前記炎症疾患が、TNF - α 又は IL - 1 β により媒介される疾患であることを特徴とする、請求項 7 に記載の食品組成物。

【請求項 10】

前記小胞が、ラクトバチルス・パラカゼイから自然的に又は人工的に分泌されることを特徴とする、請求項 7 に記載の食品組成物。

20

【請求項 11】

炎症疾患又は癌の予防又は治療用吸入剤組成物であって、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含み、前記癌が、大腸癌、胃癌、肺癌、肝臓癌、胆道癌、すい臓癌、乳癌、卵巣癌、腎臓癌、膀胱癌、及び前立腺癌からなる群より選ばれるいずれか 1 つであり、前記小胞の平均直径が 10 ~ 300 nm である、吸入剤組成物。

【請求項 12】

前記炎症疾患が、炎症性腸炎、胃炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、鼻炎、アトピー皮膚炎、脱毛、乾癬、退行性関節炎、及び関節リウマチからなる群より選ばれるいずれか 1 つであることを特徴とする、請求項 11 に記載の吸入剤組成物。

30

【請求項 13】

前記炎症疾患が、TNF - α 又は IL - 1 β により媒介される疾患であることを特徴とする、請求項 11 に記載の吸入剤組成物。

【請求項 14】

ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含み、前記小胞の平均直径が 10 ~ 300 nm である、炎症疾患の予防又は改善用化粧品組成物。

【請求項 15】

前記炎症疾患が、アトピー皮膚炎、脱毛及び乾癬からなる群より選ばれるいずれか 1 つであることを特徴とする、請求項 14 に記載の化粧品組成物。

40

【請求項 16】

ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞の、炎症疾患に用いられる薬剤の生産のための使用であって、前記小胞の平均直径が 10 ~ 300 nm である、使用。

【請求項 17】

ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞の、癌に用いられる薬剤の生産のための使用であって、前記癌が、大腸癌、胃癌、肺癌、肝臓癌、胆道癌、すい臓癌、乳癌、卵巣癌、腎臓癌、膀胱癌、及び前立腺癌から

50

なる群より選ばれるいずれか 1 つであり、

前記小胞の平均直径が 1 0 ~ 3 0 0 n m である、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞及びその用途に関し、より詳しくは、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を有効成分として含む炎症疾患及び癌の予防又は治療用組成物等に関する。

【0002】

本出願は、2018年12月31日に出願された韓国特許出願第10-2018-0174027号及び2019年4月25日に出願された韓国特許出願第10-2019-0048671号に基づく優先権を主張し、当該出願の明細書及び図面に開示されたすべての内容は、本出願に援用される。

10

【背景技術】

【0003】

21世紀に入って過去伝染病と認識された急性感染性疾患の重要性が減少した一方で、慢性疾患による生活の質減少とヒト寿命を決定する主要疾患に疾病パターンが変わった。前記慢性疾患は、免疫機能異常を伴った慢性炎症を特徴とし、これによって発病する多様な慢性炎症疾患、癌等の疾患が国民保健に大きい問題となっている。

【0004】

20

炎症は、細胞及び組織の損傷や感染に対する局所的又は全身的な防御機序であり、主に免疫系を成す体液性メディエーターが直接反応したり、局所的又は全身的エフェクター系を刺激することによって起こる連鎖的な生体反応により誘発される。主な炎症性疾患としては、胃炎、炎症性腸炎等の消化器疾患、歯周炎等の口腔疾患、喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、鼻炎等の呼吸器疾患、アトピー皮膚炎、脱毛、乾癬等の皮膚疾患、退行性関節炎、関節リウマチ等のような関節炎、そして癌等が知られている。

【0005】

慢性炎症疾患を治療又は予防するために使用されている一般的な組成物としては、大きく、ステロイド性及非ステロイド性組成物に区分され、これらのうち、大部分が様々な副作用を伴う場合が多い。したがって、最近では、慢性炎症疾患の主な原因と知られた前炎症性サイトカインであるTNF- α 抑制剤に対する関心が増加している傾向にある。

30

【0006】

しかしながら、今のところは、低い副作用を有し、TNF- α の発現を効果的に抑制して慢性炎症疾患の予防及び治療に実質的に使用され得る薬物の開発は不十分な状況であり、癌治療剤も同じ状況である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、前述のような従来技術上の問題点を解決するために案出されたものであり、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を有効成分として含む、炎症疾患及び癌の改善、予防又は治療用組成物等を提供することをその目的とする。

40

【0008】

しかしながら、本発明が達成しようとする技術的課題は、以上で言及した課題に制限されず、言及されていないさらに他の課題は、下記の記載から本発明の属する技術分野における通常の知識を有する者に明確に理解され得る。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ(Lactobacillus paracasei)由来の小胞を有効成分として含む、炎症疾患又は癌の予防又は治療用薬学的組成物を提供する。

50

【0010】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含む、炎症疾患又は癌の予防又は改善用食品組成物を提供する。

【0011】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含む、炎症疾患又は癌の予防又は治療用吸入剤組成物を提供する。

【0012】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含む、炎症疾患の予防又は改善用化粧料組成物を提供する。

10

【0013】

本発明の前記炎症疾患は、TNF- α 又はIL-1 β により媒介される疾患であり、炎症性腸炎（急性腸炎、慢性腸炎等）、胃炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、鼻炎、アトピー皮膚炎、脱毛、乾癬、退行性関節炎、及び関節リウマチを含むが、炎症反応により発生する疾患であれば、これに制限されない。

【0014】

本発明の前記癌は、大腸癌、胃癌、肺癌、肝臓癌、胆道癌、すい臓癌、乳癌、卵巣癌、腎臓癌、膀胱癌、及び前立腺癌を含むが、これに制限されない。

20

【0015】

本発明の一具体例において、前記小胞は、好ましくは、平均直径が10～300nmであるが、ラクトバチルス・パラカゼイから自然的に又は人工的に分泌又は分離された小胞であれば、これに制限されない。

【0016】

本発明の他の具体例において、前記小胞は、ラクトバチルス・パラカゼイの培養液又はラクトバチルス・パラカゼイを添加して培養した食品から分離することができるが、これに制限されない。

【0017】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含む組成物を個体に投与する段階を含む、炎症疾患又は癌の治療方法を提供する。

30

【0018】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞を有効成分として含む組成物の、炎症疾患又は癌の予防及び/又は治療用途を提供する。

【0019】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞の、炎症疾患及び/又は癌に用いられる薬剤を生産するための用途を提供する。

40

【発明の効果】

【0020】

本発明によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、多様な慢性炎症疾患の因子と知られている前炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-1 β 等の発現を効果的に抑制できるので、低い副作用を有する多様な慢性炎症疾患及び癌の改善、予防、又は治療剤として幅広く使用され得るものと期待される。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】図1a及び図1bは、本発明の一実施例によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を分析した結果を示す図である。

50

【図 2】図 2 a 及び図 2 b は、本発明の一実施例によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の細胞毒性及び炎症誘発効果を確認した結果を示す図である。

【図 3】図 3 は、本発明の一実施例によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の抗炎症効果を確認した結果を示す図である。

【図 4】図 4 a 及び図 4 b は、本発明の一実施例によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の L P S 誘導炎症反応抑制効果を、q R T - P C R で確認した結果を示す図である。

【図 5】図 5 a 及び図 5 b は、本発明の一実施例によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の L P S 誘導炎症反応抑制効果を、ウェスタンブロッティングで確認した結果を示す図である。

【図 6】図 6 a ~ 図 6 e は、本発明の一実施例による D S S 誘導大腸炎において、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の炎症反応抑制効果を、組織学的分析方法を通じて確認した結果を示す図である。

10

【図 7】図 7 a ~ 図 7 d は、本発明の一実施例による D S S 誘導大腸炎において、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の炎症反応抑制効果を、q R T - P C R で確認した結果を示す図である。

【図 8】図 8 a 及び図 8 b は、本発明の一実施例による D S S 誘導大腸炎において、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の炎症反応抑制効果を、ウェスタンブロッティングで確認した結果を示す図である。

【図 9】図 9 は、本発明の一実施例による癌細胞を移植して作った癌モデルにおいて、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を経口投与した後、時間による癌の大きさを測定した結果を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0022】

本発明では、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞が炎症反応に関連した多様な因子の発現を効果的に抑制して、炎症疾患で顕著な治療効果を示すことを確認した。したがって、本発明のラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、多様な慢性炎症疾患及び癌の改善、予防、治療用途に多様に使用され得るものと期待される。

【0023】

本明細書において、「小胞 (e x t r a c e l l u l a r v e s i c l e) 」とは、多様な細菌から分泌されるナノサイズの膜からなる構造物を意味し、本発明では、ラクトバチルス・パラカゼイから自然的に分泌されたり、人工的に生産された膜からなるすべての構造物を総称する。前記小胞は、ラクトバチルス・パラカゼイ菌体を含む培養液を遠心分離、超高速遠心分離、高圧処理、押出、超音波分解、細胞溶解、均質化、冷凍 - 解凍、電気穿孔、機械的分解、化学物質処理、フィルターによる濾過、ゲル濾過クロマトグラフィー、フリーフロー電気泳動、及びキャピラリー電気泳動からなる群より選ばれた 1 つ以上の方法を使用して分離することができる。また、不純物の除去のための洗浄、回収された小胞の濃縮等の過程を追加で含むことができる。

30

【0024】

本明細書において、「炎症疾患 (i n f l a m m a t i o n d i s e a s e) 」とは、体内の炎症反応により誘発される疾患を意味し、代表的な例としては、喘息、慢性閉塞性肺疾患、鼻炎等の呼吸器系の炎症疾患；アトピー皮膚炎、乾癬、にきび、接触皮膚炎、脱毛等の皮膚炎症疾患；胃炎、消化器潰瘍、炎症性腸炎（急性腸炎、クローン病、炎症性腸疾患、ベーチェット大腸炎、潰瘍性大腸炎、細菌性大腸炎等）等の消化器炎症疾患；膵炎；骨関節炎、関節リウマチ等の関節炎；及びその合併症等を含む。また、前記炎症性疾患は、一般的な炎症性疾患以外にも、炎症反応に関連した代謝疾患を含む意味で使用され、例えば、糖尿病、肥満、肝炎、肝硬変等を含む。

40

【0025】

本明細書において、「予防 (p r e v e n t i o n) 」とは、本発明による食品、化粧品、吸入剤、又は薬物組成物の投与により炎症疾患及び癌を抑制させたり発病を遅延させるすべての行為を意味する。

50

【 0 0 2 6 】

本明細書において、「治療 (t r e a t m e n t) 」とは、本発明による食品、化粧品、吸入剤、又は薬物組成物の投与により炎症疾患及び癌の症状が好転したり有利に変更されるすべての行為を意味する。

【 0 0 2 7 】

本明細書において、「改善 (i m p r o v e m e n t) 」とは、治療される状態と関連したパラメーターであり、例えば症状の程度を少なくとも減少させるすべての行為を意味する。

【 0 0 2 8 】

本明細書において、「個体 (i n d i v i d u a l) 」とは、病気の治療を必要とする対象を意味し、より具体的には、ヒト又は非ヒトである霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、及びウシ等の哺乳類を意味する。

10

【 0 0 2 9 】

本明細書において、「薬学的組成物 (p h a r m a c e u t i c a l c o m p o s i t i o n) 」とは、カプセル、錠剤、顆粒、注射剤、軟膏剤、粉末又は飲料の形態であることを特徴とし、前記薬学的組成物は、ヒトを対象とすることを特徴とする。前記薬学的組成物は、これらに限定されるものではないが、それぞれ通常の方法によって散剤、顆粒剤、カプセル、錠剤、水性懸濁液等の経口型剤形、外用剤、坐剤及び滅菌注射溶液の形態で剤形化して使用され得る。本発明の薬学的組成物は、薬剤的に許容可能な担体を含むことができる。薬剤学的に許容される担体は、経口投与時には、結合剤、滑沢剤、崩解剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、色素、香料等を使用することができ、注射剤の場合には、緩衝剤、保存剤、無痛化剤、可溶化剤、等張剤、安定化剤等を混合して使用することができ、局所投与用の場合には、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤等を使用することができる。本発明の薬剤学的組成物の剤形は、上述したような薬剤学的に許容される担体と混合して多様に製造され得る。例えば、経口投与時には、錠剤、トローチ、カプセル、エリクサー (e l i x i r)、サスペンション、シロップ、ウェハー等の形態で製造することができ、注射剤の場合には、単位投与アンプル又は多回投与形態で製造することができる。その他、溶液、懸濁液、錠剤、カプセル、徐放性製剤等で剤形することができる。

20

【 0 0 3 0 】

30

一方、製剤化に適した担体、賦形剤及び希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、デンプン、アカシアゴム、アルギン酸、ゼラチン、リン酸カルシウム、ケイ酸カルシウム、セルロース、メチルセルロース、微晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、水、メチルヒドロキシベンゾアート、プロピルヒドロキシベンゾアート、タルク、ステアリン酸マグネシウム又は鉱物油等が使用され得る。また、充填剤、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、乳化剤、防腐剤等を追加で含むことができる。

【 0 0 3 1 】

本発明による薬学的組成物の投与経路は、これらに限定されるものではないが、口腔、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、硬膜内、心臓内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸管、局所、舌下又は直腸が含まれる。経口又は非経口投与が好ましい。本願に使用された用語「非経口」は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、硬膜内、病巣内及び頭蓋骨内注射又は注入技術を含む。本発明の薬学的組成物は、また、直腸投与のための坐剤の形態で投与され得る。

40

【 0 0 3 2 】

本発明の薬学的組成物は、使用された特定化合物の活性、年齢、体重、一般的な健康、性別、食事、投与時間、投与経路、排出率、薬物配合及び予防又は治療される特定疾患の重症を含む様々な要因によって多様に変化することができ、前記薬学的組成物の投与量は、患者の状態、体重、病気の程度、薬物形態、投与経路及び期間によって異なるが、当業者によって適切に選択され得、1日に0.0001~50mg/kg又は0.001~50

50

mg/kgで投与することができる。投与は、1日に1回投与することもでき、数回に分けて投与することもできる。前記投与量は、いかなる面においても、本発明の範囲を限定するものではない。本発明による医薬組成物は、丸剤、糖衣錠、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁剤で剤形化され得る。

【0033】

本発明において前記食品組成物は、各種食品類、例えば、飲料、ガム、お茶、ビタミン複合剤、健康補助食品類等に使用することができる。丸剤、粉末、顆粒、浸剤、錠剤、カプセル又は飲料の形態で使用する事ができる。前記食品組成物は、健康機能食品組成物を含む。この際、食品又は飲料中の前記ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の量は、一般的に本発明の食品組成物の場合、全体食品重量の0.01~15重量%で加えることができ、健康飲料組成物の場合、100mLを基準として0.02~10g、好ましくは、0.3~1gの割合で加えることができる。本明細書において、健康機能食品とは、人体に有用な機能を有する原料や成分を使用して製造及び/又は加工される食品であり、一般的な食品と比較してその成分に特徴があり、より積極的な健康維持、又は目的若しくは期待効果を有する食品をいう。

10

【0034】

本発明の食品組成物は、当業界における通常の食品添加剤、例えば香味剤、風味剤、着色剤、充填剤、安定化剤等を含むことができる。本発明による食品組成物は、必須成分として、前記ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の他に添加される成分には特別な制限はなく、通常の食品のように様々な香味剤又は天然炭水化物等を追加成分として含有することができる。前記天然炭水化物の例としては、モノサッカライド、例えば、ブドウ糖、果糖等；ジサッカライド、例えばマルトース、スクロース等；ポリサッカライド、例えばデキストリン、シクロデキストリン；等のような通常の糖及びキシリトール、ソルビトール、エリスリトール等の糖アルコールである。上述したもの以外の香味剤として、天然香味剤（ソーマチン、ステビア抽出物（例えばレバウディオサイドA、グリチルリチン等））及び合成香味剤（サッカリン、アスパルテム等）を有利に使用することができる。前記天然炭水化物の比率は、本発明の組成物100mL当たり一般的に約1~20g、好ましくは、約5~12gである。

20

【0035】

前記の他に本発明の食品組成物は、様々な栄養剤、ビタミン、ミネラル（電解質）、合成風味剤及び天然風味剤等の風味剤、着色剤及び増進剤（チーズ、チョコレート等）、ペクチン酸及びその塩、アルギン酸及びその塩、有機酸、保護性コロイド増粘剤、pH調節剤、安定化剤、防腐剤、グリセリン、アルコール、炭酸飲料に使用される炭酸化剤等を含むことができる。このような成分は、独立して又は組み合わせて使用することができる。このような添加剤の比率は、それほど重要ではないが、本発明の組成物100重量部当たり0~約20重量部の範囲で選択されることが一般的である。

30

【0036】

本発明において、化粧品組成物（cosmetic composition）は、前記ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を組成物の総重量に対して0.0005~50重量%含有することができる。また、本発明の組成物は、前記ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞に追加で同一又は類似の機能を示す有効成分を1種以上含有することができる。

40

【0037】

本発明の化粧品組成物で製造される化粧品は、一般的な乳化剤形及び可溶化剤形の形態で製造することができる。乳化剤形の化粧品としては、栄養化粧水、クリーム、エッセンス等があり、可溶化剤形の化粧品としては、柔軟化粧水がある。また、皮膚科学的に許容可能な媒質又は基剤を含有することによって、皮膚科学分野において通常的に使用される局所適用又は全身適用できる補助剤の形態で製造され得る。

【0038】

適合した化粧品の剤形としては、例えば、溶液、ゲル、固体又は固練り無水生成物、水

50

相に油相を分散させて得られたエマルジョン、懸濁液、マイクロエマルジョン、マイクロカプセル、微細顆粒球又はイオン型（リポソーム）、非イオン型の小胞分散剤の形態、クリーム、スキン、ローション、パウダー、軟膏、スプレー又はコンシールスティック（conceal stick）の形態で提供され得る。また、泡沫（フォーム）の形態又は圧縮された推進剤をさらに含有するエアロゾル組成物の形態でも製造され得る。

【0039】

また、本発明の化粧品組成物は、追加で脂肪物質、有機溶媒、溶解剤、濃縮剤及びゲル化剤、軟化剤、抗酸化剤、懸濁化剤、安定化剤、発泡剤、芳香剤、界面活性剤、水、イオン型又は非イオン型乳化剤、充填剤、金属イオン封鎖剤及びキレート化剤、保存剤、ビタミン、遮断剤、湿潤化剤、エッセンシャルオイル、染料、顔料、親水性又は親油性活性剤、脂質小胞又は化粧品に通常的に使用される任意の他の成分のような化粧品学又は皮膚科学分野において通常的に使用される補助剤を含有することができる。そして、前記の成分は、皮膚科学分野において一般的に使用される量で導入され得る。

10

【0040】

本発明の化粧品組成物を添加できる製品としては、例えば、収れん化粧水、柔軟化粧水、栄養化粧水、各種クリーム、エッセンス、パック、ファンデーション等のような化粧品類と、クレンジング、洗顔剤、石鹸、トリートメント、美容液等がある。

【0041】

本発明の化粧品組成物の具体的な剤形としては、スキンローション、スキンソフトナー、スキントナー、アストリンゼント、ローション、ミルクローション、モイスチャーローション、栄養ローション、マッサージクリーム、栄養クリーム、モイスチャークリーム、ハンドクリーム、エッセンス、栄養エッセンス、パック、ソープ、シャンプー、クレンジングフォーム、クレンジングローション、クレンジングクリーム、ボディローション、ボディクレンザー、乳液、プレスパウダー、ルースパウダー、アイシャドウ等の剤形を含む。

20

【0042】

本発明の吸入剤組成物において有効成分を吸入剤にそのまま添加したり他の成分と共に使用され得、通常の方法によって適切に使用され得る。有効成分の混合量は、その使用目的（予防又は治療用）によって適合するように決定され得る。

【0043】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ（*Lactobacillus paracasei*）由来の小胞を有効成分として含む組成物を個体に投与する段階を含む、炎症疾患又は癌の治療方法を提供する。

30

【0044】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ（*Lactobacillus paracasei*）由来の小胞を有効成分として含む組成物の、炎症疾患又は癌の予防及び/又は治療用途を提供する。

【0045】

また、本発明は、ラクトバチルス・パラカゼイ（*Lactobacillus paracasei*）由来の小胞の、炎症性疾患又は癌に用いられる薬剤を生産するための用途を提供する。

40

【0046】

本発明で「投与」は、いかなる適切な方法で患者に本発明の薬学的組成物を導入することを意味し、本発明の組成物の投与経路は、目的組織に到達できる限り、経口又は非経口の多様な経路を通じて投与され得る。

【0047】

本発明で「個体」とは、病気の治療を必要とする対象を意味し、より具体的には、ヒト又は非ヒトである霊長類、マウス、イヌ、ネコ、ウマ及びウシ等の哺乳類を意味する。

【0048】

以下、本発明の理解を助けるために好適な実施例を提示する。しかしながら、下記の実施例は、本発明をより容易に理解するために提供されるものに過ぎず、下記実施例によっ

50

て本発明の内容が限定されるものではない。

【実施例】

【0049】

[実施例1：ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の分離]

ラクトバチルス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*) 由来の小胞 (extracellular vesicle; EV) を分離するために、ラクトバチルス・パラカゼイを MRS (de Man - Rogosa and Sharpe) 培地に接種し、37℃で200rpmで吸光度 (OD_{600nm}) が1.0~1.5になるまで培養した後に、LB (*Luria Bertani*) 培地に再接種して培養した。そして、菌体が含まれている培養液を回収して10,000gで4℃で20分間遠心分離して、菌体が除去された上澄み液を獲得した。獲得された上澄み液は、さらに0.22μmのフィルターを利用して濾過させ、濾過させた上澄み液は、100kDa Pelli con 2 Cassette フィルターメンブレイン (Merck Millipore) と Master Flex pump system (Cole - Parmer) を利用して50mL以下の体積に濃縮した。濃縮させた上澄み液は、さらに0.22μmのフィルターを利用して濾過させて、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を分離した。上澄み液に含まれているタンパク質の量は、Pierce BCA Protein Assay kit (Thermo Fisher Scientific) を利用して測定した。そして、分離した小胞は、JEM1011透過電子顕微鏡 (TEM, JEOL) 及び Zeta sizer Nano ZS (Malvern Instruments) を利用して観察した。対照群としては、大腸菌由来の小胞を同じ方法で分離した。その結果は、図1a及び図1bに示した。

10

20

【0050】

図1a及び図1bに示されたように、ラクトバチルス・パラカゼイの培養液から分離した小胞の平均直径は、34.22nmであり、正常に小胞が分離されたことを確認した。

【0051】

[実施例2：ラクトバチルス・パラカゼイの菌体準備]

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞と菌体を比較するために、ラクトバチルス・パラカゼイ菌体を準備した。より詳しくは、実施例1と同じ方法で培養されたラクトバチルス・パラカゼイ菌体を70℃で1時間の間熱処理した後に10,000gで4℃で20分間遠心分離して、上澄み液が除去された熱により不活性化した菌体を獲得した。そして、菌体をさらにリン酸塩緩衝溶液 (phosphate buffered saline; PBS) を利用して再浮遊させた後に、Pierce BCA Protein Assay kit (Thermo Fisher Scientific) を利用してタンパク質の量を測定した。

30

【0052】

[実施例3：ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の炎症誘発効果確認]

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞が炎症細胞で炎症反応に及ぼす影響を確認するために、マウスマクロファージ株である Raw 264.7 にラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を0.1、1、及び10μg/mLの濃度で処理し、反応させた後に、細胞死の程度とTNF-αの分泌量を測定した。より詳しくは、48ウェルプレートに5×10個ずつ Raw 264.7 細胞を分注した後、DMEM無血清培地で希釈したラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を処理し、12時間の間培養した。そして、EZ-CYTOX (Doogen) を利用して細胞死の程度を測定し、細胞培養液は、1.5mLチューブに入れて3,000gで5分間遠心分離して上澄み液だけを回収した後、-80℃に保管してから、ELISAを実施した。ELISAは、捕捉抗体 (Abcam) をリン酸塩緩衝溶液に希釈させて、96ウェルプレートに50μLずつ分注した後、4℃で16時間の間反応させた。そして、0.05%のツイン20が添加されたリン酸塩緩衝溶液 (PBST) 100μLを利用して3回洗浄した後、1%のBSA (bovine serum albumin) が添加されたリン酸塩緩衝溶液 (RD) をウェル当たり100μLずつ添加

40

50

して常温で1時間の間ブロッキングした。そして、実験しようとする試料とスタンダードを濃度に合わせて50 μ Lずつ添加し、常温で2時間の間反応させ、PBSTを利用して3回洗浄した。そして、検出抗体をRDに希釈し、ウェル当たり50 μ Lずつ添加し、常温で2時間の間反応させ、PBSTを利用して3回洗浄して、結合されない抗体をきれいに除去した後に、RDに1/40で希釈させたストレプトアビジン-HRP (R&D system) をウェル当たり50 μ Lずつ添加し、常温で20分間反応させた。最後に、PBST 100 μ Lで3回洗浄した後に、TMB基質 (SurModics) をウェル当たり50 μ Lずつ添加し、5分~20分後に発色が進行されたとき、1Mの硫酸溶液をウェル当たり50 μ Lずつ添加して反応を終了させた後、SpectraMax M3 microplate reader (Molecular Devices) を利用して450 nmで吸光度を測定した。その結果は、図2a及び図2bに示した。

10

【0053】

図2aに示されたように、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、細胞の生存率に影響を及ぼさず、図2bに示されたように、10 μ g/mL以上の高濃度を処理する場合、マウスマクロファージ株で炎症メディエーターの分泌を促進させることを確認した。

【0054】

[実施例4：ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の抗炎症効果確認]

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の抗炎症効果を確認するために、マウスマクロファージ株であるRaw264.7にラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を0.1、1、10、及び50 μ g/mLの濃度で前処理し、培養させた後に、TNF- α の分泌量を測定した。より詳しくは、48ウェルプレートに5 $\times$ 10個ずつRaw264.7細胞を分注した後、DMEM無血清培地で希釈したラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞又で実施例2と同じ方法で準備したラクトバチルス・パラカゼイ菌体を処理し、12時間の間培養した。そして、さらに大腸菌由来の小胞1 μ g/mLの濃度で処理した後に、12時間の間追加で培養した。そして、実施例3と同じ方法でTNF- α の分泌量を測定した。その結果は、図3に示した。

20

【0055】

図3に示されたように、ラクトバチルス・パラカゼイ菌体で前処理した試料では、大腸菌由来の小胞によるTNF- α の分泌を有意的に減少させないのに対し、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を処理した試料では、大腸菌由来の小胞によるTNF- α の分泌が濃度に応じて有意的に減少することを確認した。前記結果を通じて、病原性細菌又は病原性細菌由来の小胞により誘導される炎症反応をラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を利用して効果的に抑制させることができることが確認された。

30

【0056】

[実施例5：ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞のLPS誘導炎症反応抑制効果確認]

(5.1. qRT-PCR実験)

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞のLPS (lipopolysaccharide) 誘導炎症反応抑制効果を確認するために、大腸癌細胞 (colorectal cancer cells) 株であるHT29細胞株にLPS及び/又はラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を処理した。より詳しくは、HT29細胞株を10%のウシ胎児血清 (fetal bovine serum; FBS)、100 U/mLのペニシリン、及び100 μ g/mLのストレプトマイシンが添加されたDMEM培地で培養した後に、リン酸塩緩衝溶液を利用して細胞を洗浄した。そして、無血清DMEM培地で3時間の間培養した後に、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を500 ng/mLの濃度で前処理し、12時間の間培養した。培養された細胞に1 μ g/mLのLPSを処理した後に、さらに12時間の間培養した。そして、定量逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction; qRT-PCR) を実施した。qRT-PCRを実施するために、一次的にTRIzol reagent (Invitrogen) を利用して製造

40

50

社で提供されるプロトコルによって培養された細胞から全体RNAを抽出した後に、NanoDrop 2000 Spectrophotometerを利用してRNA量を測定した後に、M-MLV逆転写ポリメラーゼを利用してcDNAを合成し、合成されたcDNAを鋳型としてqRT-PCRを実施した。qRT-PCRは、Quant3 Studio Real-time PCR Systems (Applied Biosystems)を利用して実施し、定量のためには、CyberGreen qPCR Mastermix kitを利用して製造社で提供されるプロトコルによって実施した。使用したプライマー配列は、表1に記載し、その結果は、図4a及び図4bに示した。

【0057】

【表1】

Gene	Primers (5' から3')	配列番号
IL1 α	TCAAGGAGAGCATGGTGGTA	1
	GTGCTGACCTAGGCTTGATG	2
IL1 β	AGCTCGCCAGTGAAATGATG	3
	CGGAGATTTCGTAGCTGGATG	4
IL2	AACCTCTGGAGGAAGTGCTA	5
	AATGGTTGCTGTCTCATCAGC	6
IL3	CACGCGACATCCAATCCATA	7
	TCAAAGTCGTCTGTTGAGCC	8
IL4	CCGAGTTGACCGTAACAGAC	9
	GTTCTCTCTGTTGGCTTTGTAGG	10
TNF α	ATCATCTTCTCGAACCCCGA	11
	GTTATCTCTCAGCTCCACGC	12
IL10	CCTGCCTAACATGCTTCGAG	13
	GTCTTGTTTCTCAGCTTGGG	14
TGF β	GACTCGCCAGAGTGGTTATC	15
	GGTAGTGAAACCCGTTGATGT	16
β -actin	AACTACCTTCAACTCCATC	17
	CTTGCTGATCCACATCTG	18

【0058】

図4a及び図4bに示されたように、LPSにより炎症反応が促進されて、前炎症性サイトカイン(pro-inflammatory cytokine)であるIL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、及びTNF- α の発現量が増加するが、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を前処理した細胞(LpEV)では、増加した前炎症性サイトカインの発現が抑制されたことを確認した。また、IL-10及びTGF- β の発現が増加することを確認した。

【0059】

[5.2. ウェスタンブロッティング実験]

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞のLPS(lipopolysaccharide)誘導炎症反応抑制効果を確認するために、ウェスタンブロッティングを実施した。実施例5.1と同じ方法で準備した細胞を冷たいリン酸塩緩衝溶液を利用して2回洗浄し、RIPA lysis buffer(50mM Tris-HCl(pH7.4)、150mM NaCl、1.0% NP-40、0.5% sodium deoxycholate、0.1% sodium dodecyl sulfate(SDS)、50mM NaF、0.1mM phenylmethanesulfonyl fluoride

、及び0.5% protease inhibitor cocktail)を利用して細胞を溶解させた後に、12,000Xgで4で5分間遠心分離して細胞残骸をきれいに除去した後に、Pierce BCA Protein Assay kit(Thermo Fisher Scientific)を利用してタンパク質の量を測定した。そして、タンパク質40μgを8~12% SDS-ポリアクリルアミドゲルを利用してSDS-PAGE(Bio-Rad Laboratories)を実施してタンパク質を分離した後に、分離したタンパク質をHybond™-ECLニトロセルロースメンブレン(Amersham Bioscience)にタンパク質を移動させた。そして、タンパク質が移動したメンブレンは、5%スキムミルクが添加されたTBSTを利用して1時間の間室温でブロッキングさせた後に、1:2,000で希釈された1次抗体を処理し、4で16時間の間反応させた。そして、TBSTを利用して3回洗浄した後に、1:2,000で希釈されたHRPが結合された2次抗体を処理し、1時間の間室温で反応させ、ECL detection system(Amersham)を利用して観察した。COX-2及び活性化したMMP9に対する抗体は、SantaCruzから購入し、NFκ及びiNOSに対する抗体は、BioLegendから購入し、β-アクチン、リン酸化-Iκκ及びIκκに対する抗体は、Cell Signaling Technologyから購入して使用した。その結果は、図5a及び図5bに示した。

【0060】

図5a及び図5bに示されたように、LPSだけを処理した対照群では、LPS処理時間(2、6、12、及び24時間)によってCOX2、活性化したMMP9及びiNOSの発現量が増加し、Iκκのリン酸化が促進されることを確認し、NFκは、核内への移動が促進されることを確認した。しかしながら、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を前処理した細胞の場合には、LPS処理によって誘導された炎症性タンパク質の発現が減少し、Iκκのリン酸化が抑制され、NFκの核内移動が抑制されることを確認した。前記結果を通じて、ラクトバチルス・パラカゼイは、LPSにより誘導された炎症反応を効果的に抑制できることを確認することができた。

【0061】

[実施例6：DSS誘導大腸炎におけるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の炎症反応抑制効果確認]

(6.1.組織学的分析)

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞のDSS誘導大腸炎(DSS-induced colitis)治療効果を確認するために、マウスにデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)を処理して大腸炎を誘導した。より詳しくは、7週齢の雄C57BL/6マウスを一般的な条件で1週間飼育し、適応期間を経た後に、2w/v%のDSS(MP Biomedicals, LLC)を飲料水に混合して5日間提供した。対照群(コントロール)としては、一般飲料水を5日間提供した。ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、DSSを投与する初日にマウス当たり10mgを強制経口投与でマウスに注入した。そして、実験を始める日から13日後にマウスを麻酔させ、結腸を摘出した後に、回盲部から直腸までの長さを測定し、後続実験のために-80に保管した。疾病活性度指数(disease activity index; DAI)、体重、便のかたさ、及び血便程度は、毎日記録した。より詳しくは、疾病活性度指数は、0日目の体重と比較して100%以上であるときは、1、90~100%であるときは、2、80~90%であるときは、3、80%以下であるときは、4で表示し、便の硬さは、正常状態であるときは、1、若干軟らかいときは、2、軟らかいときは、3、水のような状態のときは、4で表示した。そして、血便程度は、正常状態であるときは、1、便に血液がついている状態のときは、2、肛門に血液が観察される状態のときは、3、便及び肛門の両方で血液が観察される状態のときは、4で表示した。その結果は、図6a~図6eに示した。

【0062】

DSSを投与したマウスでは、結腸の長さが短くなったが、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を共に投与した実験群では、結腸の長さがそのまま維持されることを確認し

た（図 6 a 及び図 6 e）。また、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を共に投与した実験群では、体重が対照群と類似に維持され、D S S を投与したマウスと比較して疾病活性度指数も減少したことを確認した（図 6 b 及び図 6 d）。そして、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を共に投与した実験群は、対照群と同じ生存率を示すことを確認した（図 6 c）。前記結果を通じて、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、D S S により誘導される大腸炎を効果的に抑制できることを確認することができた。

【 0 0 6 3 】

（ 6 . 2 . q R T - P C R 実験 ）

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の D S S 誘導大腸炎治療効果を確認するために、- 8 0 で保管した結腸から m R N A を抽出して、実施例 5 . 1 と同じ方法で q R T - P C R を実施した。その結果は、図 7 a ~ 図 7 d に示した。

10

【 0 0 6 4 】

図 7 a ~ 図 7 d に示されたように、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を前処理したマウス（L p E V）では、増加した前炎症性サイトカインである T N F - α 及び I L - 1 β が顕著に減少し、I L - 1 0 及び T G F - β の発現が増加することを確認した。前記結果を通じて、D S S により誘導された炎症反応がラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞により効果的に抑制されたことを確認することができた。

【 0 0 6 5 】

（ 6 . 3 . ウェスタンブロッティング実験 ）

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の D S S 誘導大腸炎治療効果を確認するために、- 8 0 で保管した結腸からタンパク質を抽出して、実施例 5 . 2 と同じ方法でウェスタンブロッティングを実施した。その結果は、図 8 a 及び図 8 b に示した。

20

【 0 0 6 6 】

図 8 a 及び図 8 b に示されたように、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を処理したマウスにおいて D S S 処理によって誘導された炎症性タンパク質の発現量が減少し、I κ のリン酸化が抑制されて、I κ の d e g r a d a t i o n が抑制され、N F κ の核内移動が抑制されることを確認した。前記結果を通じて、D S S により誘導された炎症反応がラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞により効果的に抑制されたことを確認することができた。

【 0 0 6 7 】

30

[実施例 7 : ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の抗癌効果確認]

ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞の抗癌効果を確認するために、マウスにマウス大腸癌細胞である C T 2 6 細胞を注射して癌を生成させた。より詳しくは、6 週齢の雄 C 5 7 B L / 6 マウスを一般的な条件で 3 日間飼育し、適応期間を経た後に、2 0 μ g のラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を 5 日間経口投与した。対照群（P B S , C o n t r o l）としては、P B S を 5 日間経口投与した。実験を始めた日から 8 日目になる日に、マウスにマウス大腸癌細胞である C T 2 6 細胞 1×10^6 個を皮下注射した。そして、P B S 又はラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞 2 0 μ g を 1 週間に 5 日間、1 日 1 回投与で 3 週間経口投与しつつ、癌の大きさを測定した。

【 0 0 6 8 】

40

図 9 に示されたように、P B S だけを投与した対照群では、癌の大きさが幾何級数的に増加するが、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞を経口投与した実験群では、対照群に比べて癌の大きさが約 5 0 % 程度小さいことを確認した。前記結果を通じて、ラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、癌の成長を効果的に抑制できることを確認することができた。

【 0 0 6 9 】

前記結果を通じて、本発明のラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、多様な慢性炎症疾患の因子と知られている T N F - α 等の発現を効果的に抑制して、抗炎症効果を示すだけでなく、癌動物モデルで癌成長を効率的に抑制して、多様な炎症疾患及び癌を予防及び / 又は治療効果を示すことを確認したところ、本発明のラクトバチルス・パラカゼイ由

50

来の小胞は、多様な炎症疾患及び癌の改善、予防、又は治療用途に使用され得るものと期待される。

【 0 0 7 0 】

前述した本発明の説明は、例示のためのものであり、本発明の属する技術分野における通常の知識を有する者は、本発明の技術的思想や必須の特徴を変更することなく、他の具体的な形態で容易に変形が可能であることを理解することができる。したがって、以上で記述した実施例は、すべての面において例示的なものであり、限定的でないものと理解しなければならない。

【産業上の利用可能性】

【 0 0 7 1 】

本発明によるラクトバチルス・パラカゼイ由来の小胞は、多様な慢性炎症疾患の因子と知られている前炎症性サイトカインである $\text{TNF} - \alpha$ 、 $\text{IL} - 1\beta$ 等の発現を効果的に抑制できるので、低い副作用を有する多様な慢性炎症疾患及び癌の改善、予防、又は治療剤として幅広く使用され得るものと期待されるところ、産業上の利用可能性がある。

10

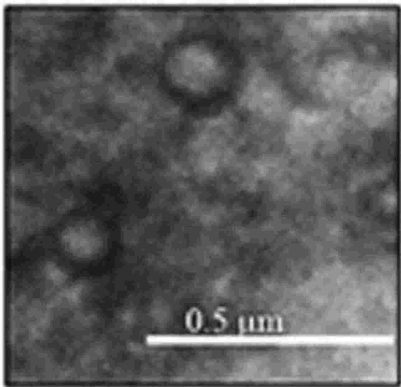
20

30

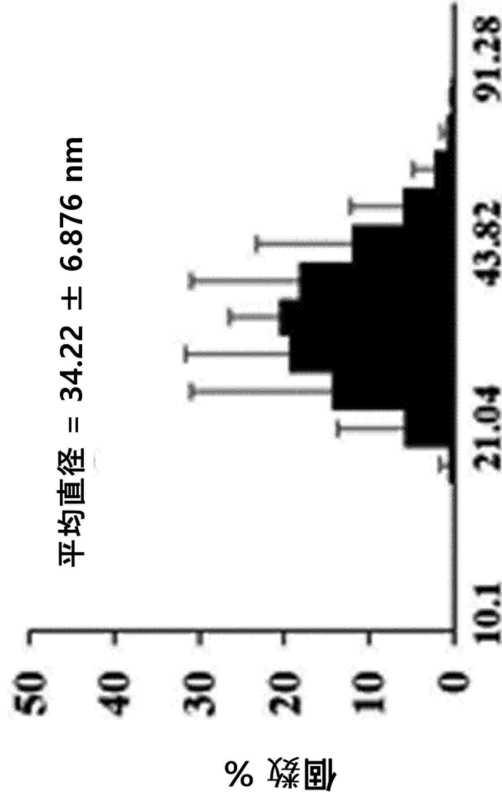
40

50

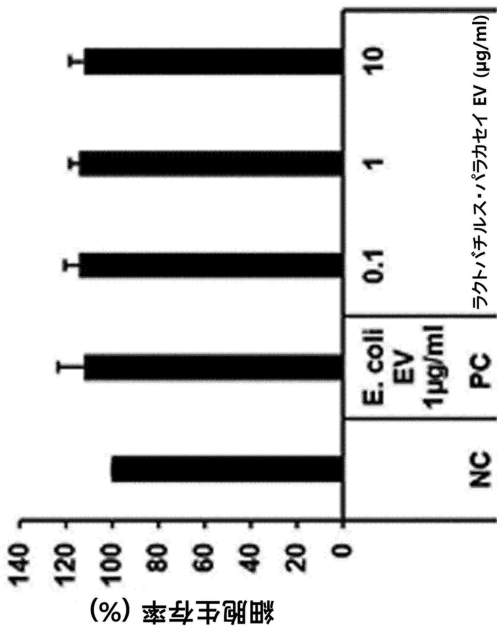
【図面】
【図 1 a】



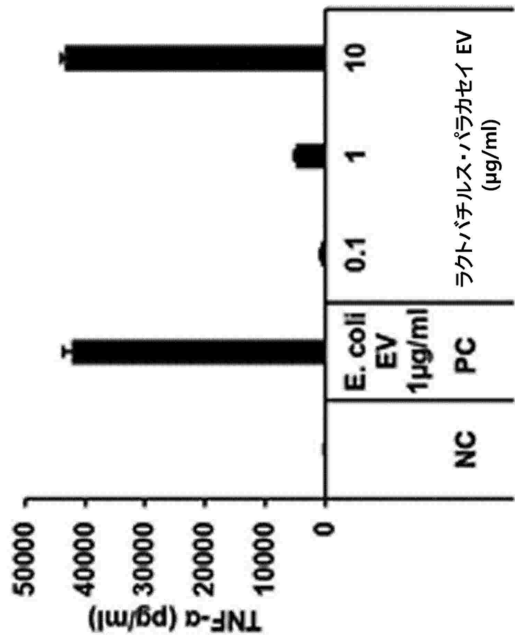
【図 1 b】



【図 2 a】



【図 2 b】



10

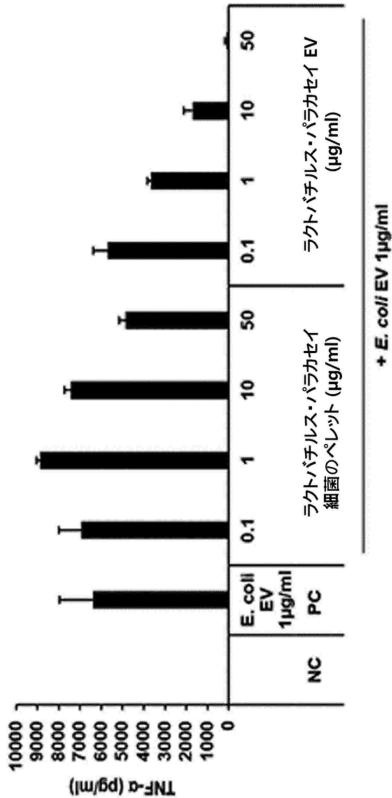
20

30

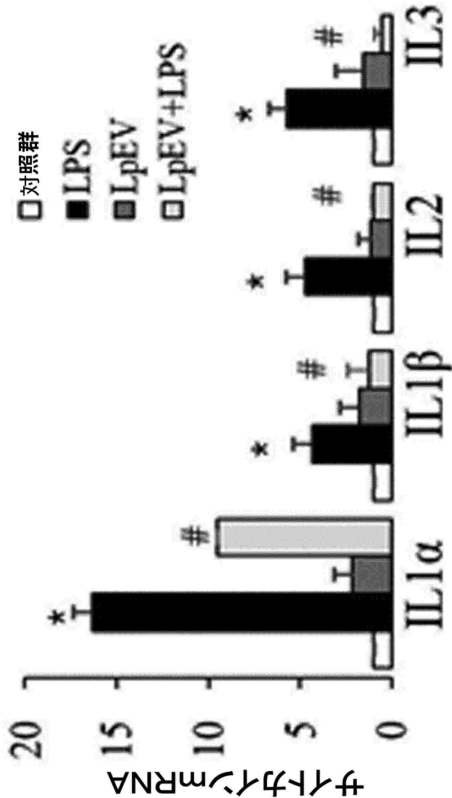
40

50

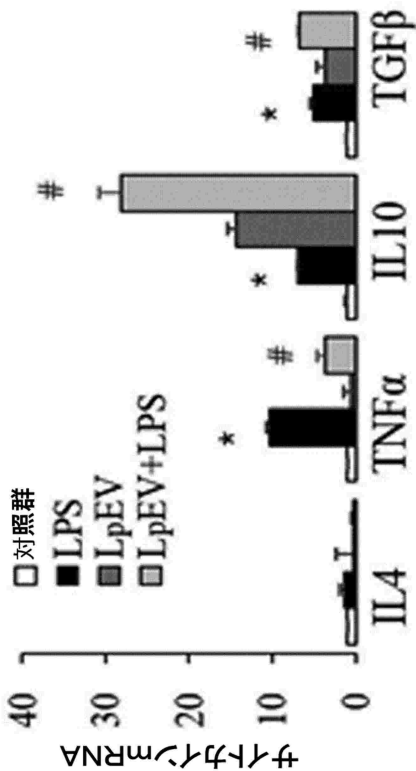
【 図 3 】



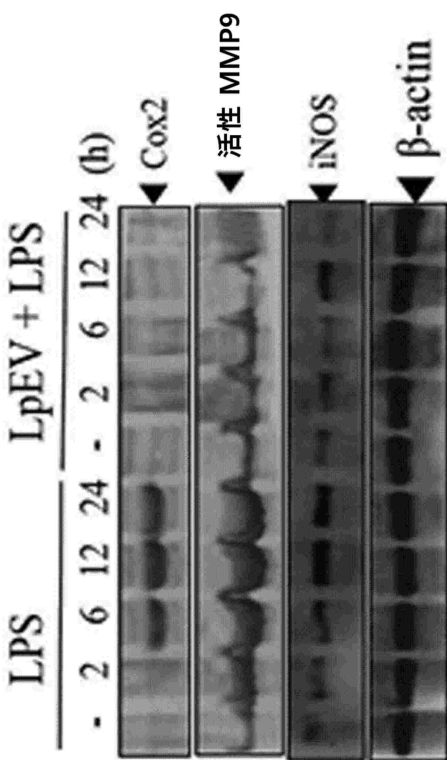
【 図 4 a 】



【 図 4 b 】



【 図 5 a 】



10

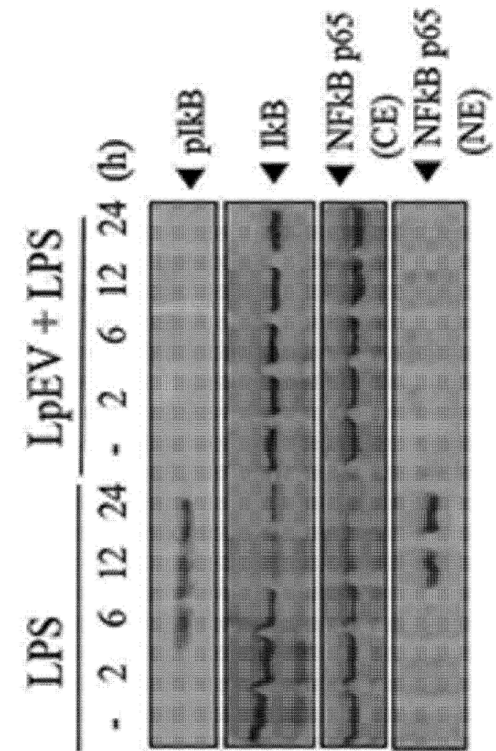
20

30

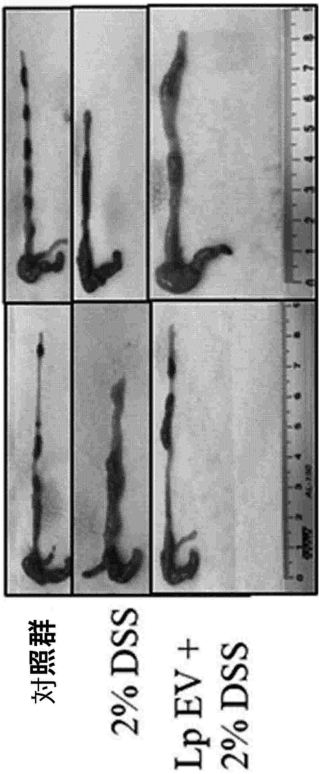
40

50

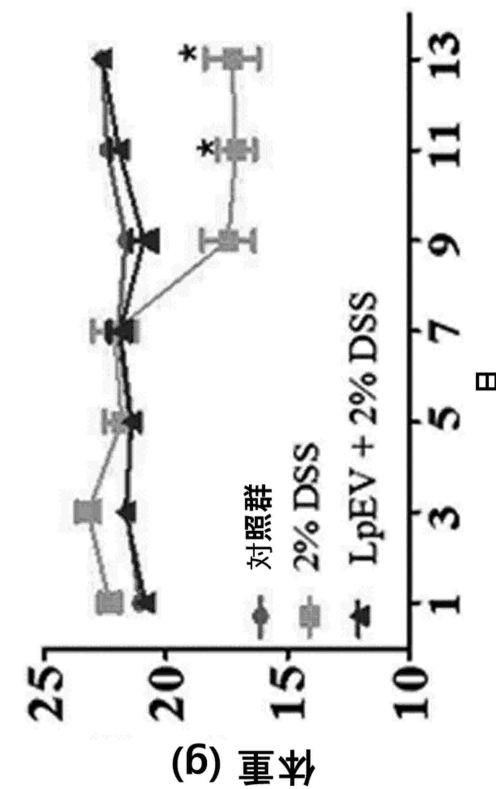
【 図 5 b 】



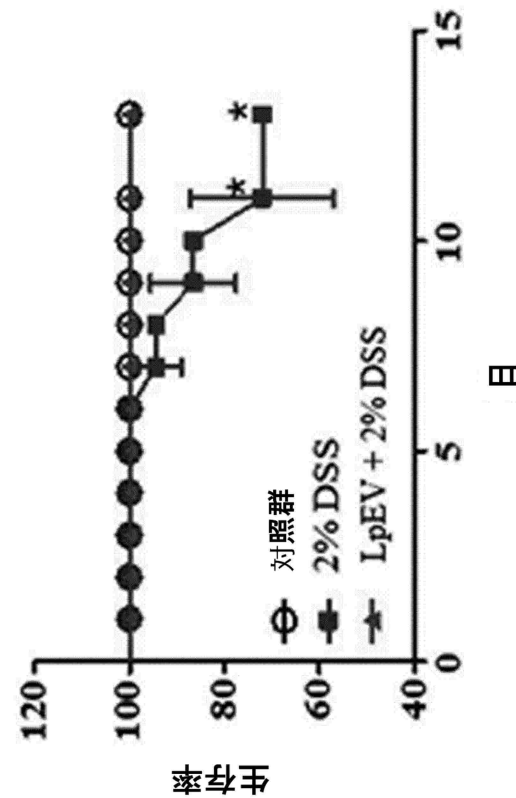
【 図 6 a 】



【 図 6 b 】



【 図 6 c 】



10

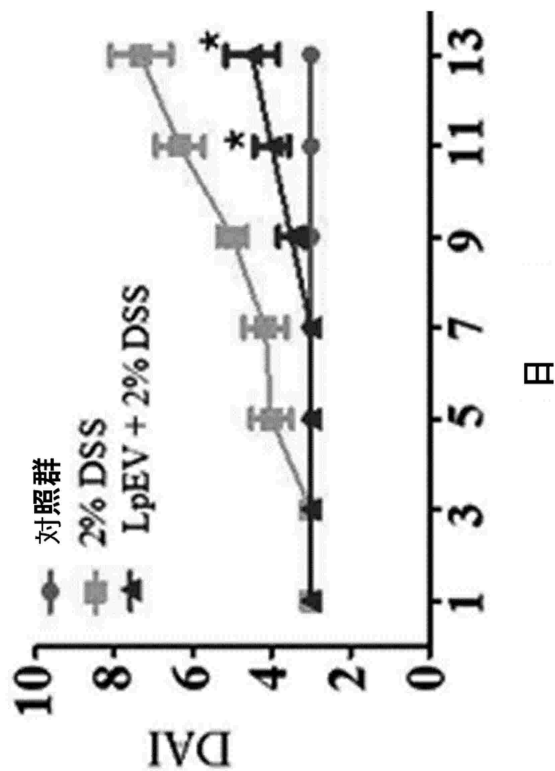
20

30

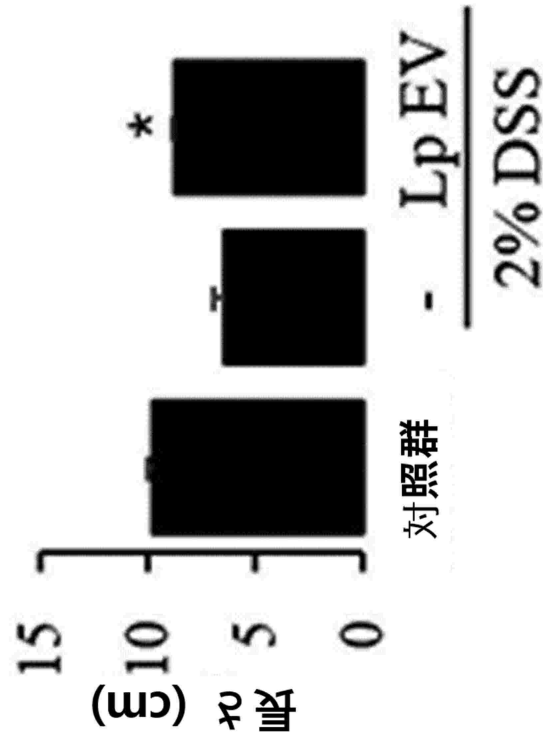
40

50

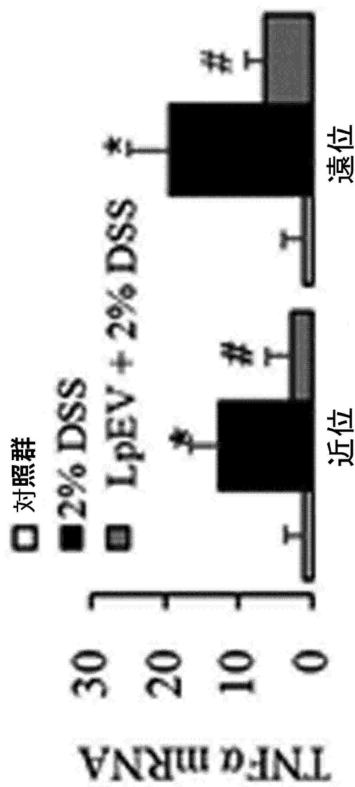
【 図 6 d 】



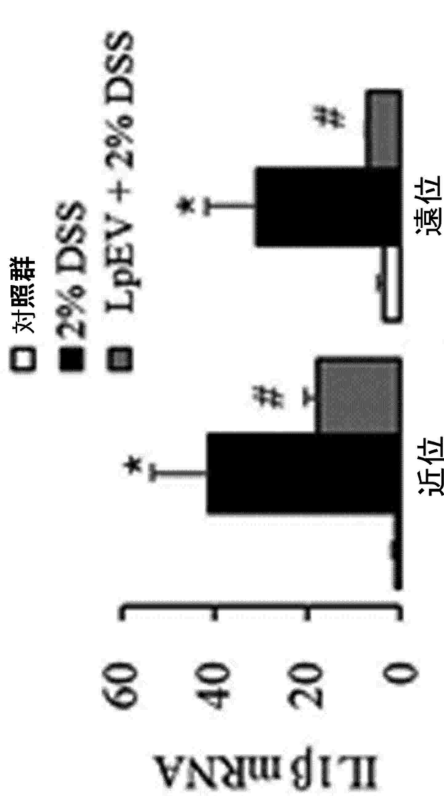
【 図 6 e 】



【 図 7 a 】



【 図 7 b 】



10

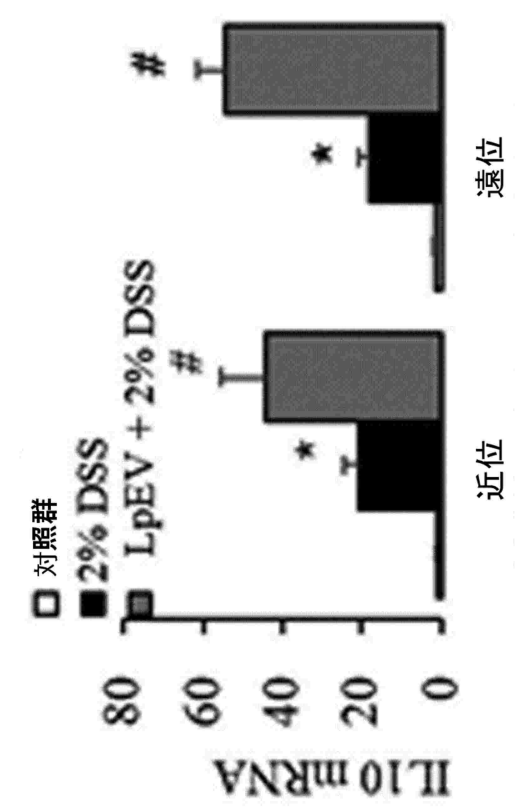
20

30

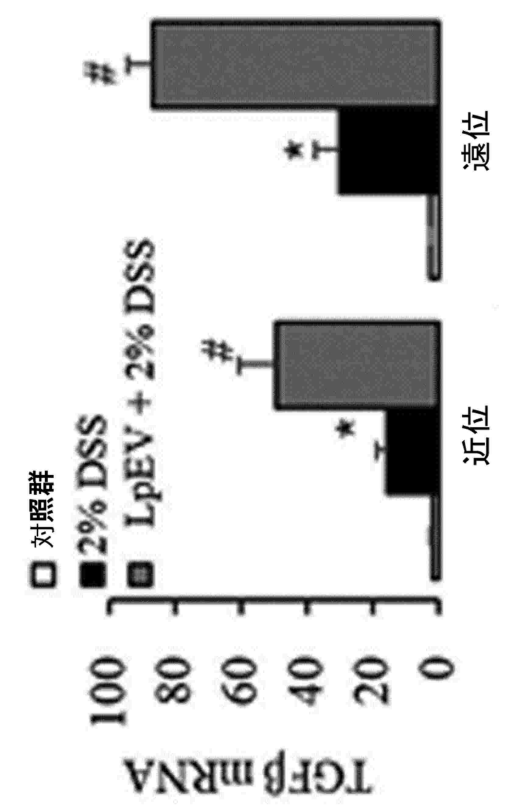
40

50

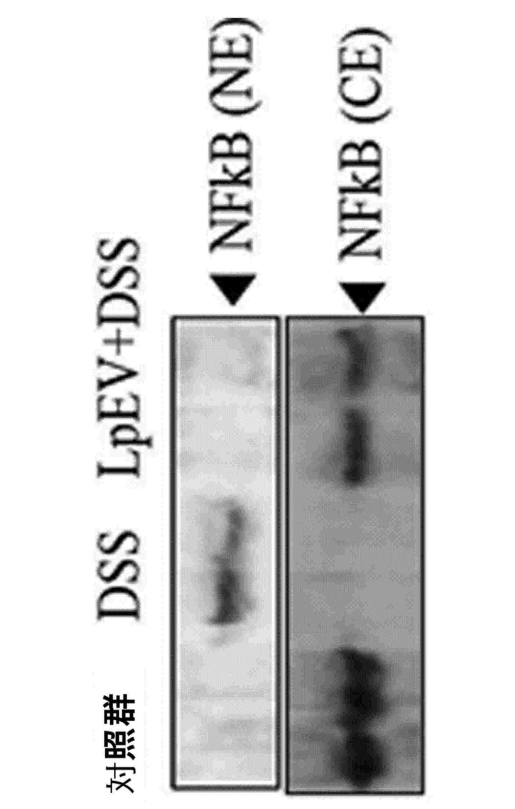
【 図 7 c 】



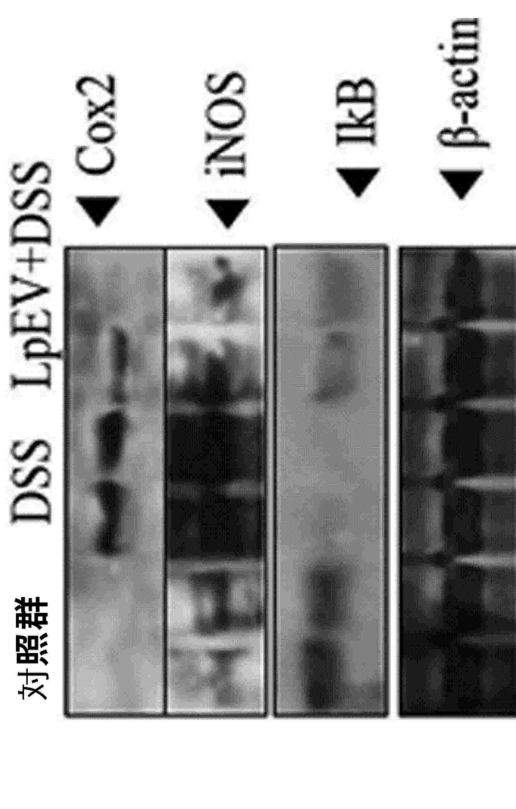
【 図 7 d 】



【 図 8 a 】



【 図 8 b 】



10

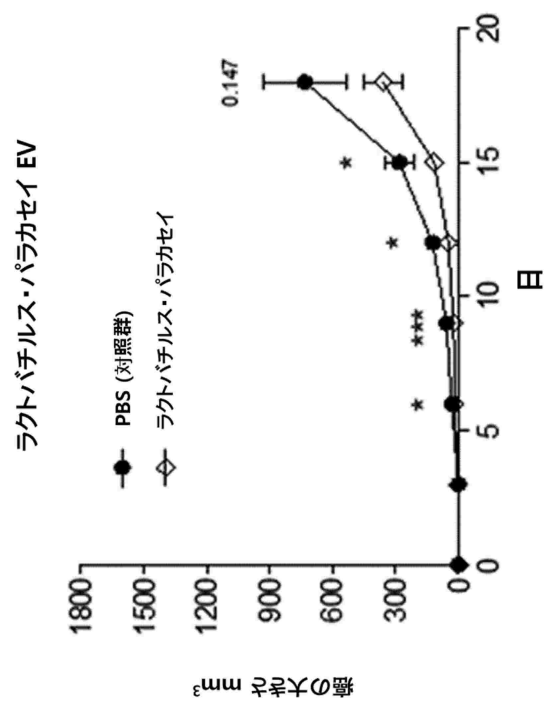
20

30

40

50

【図 9】



【配列表】

0007670334000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	17/04 (2006.01)	A 6 1 P	17/04
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	17/14 (2006.01)	A 6 1 P	17/14
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1
A 6 1 Q	90/00 (2009.01)	A 6 1 Q	90/00

(31)優先権主張番号 10-2019-0048671

(32)優先日 平成31年4月25日(2019.4.25)

(33)優先権主張国・地域又は機関

韓国(KR)

大韓民国 0 6 5 4 4 ソウル、ソチヨ - グ、シンバンポ - ロ、2 7 0、1 3 7 - 9 0 2

合議体

審判長 富永 みどり

審判官 関 景輔

審判官 山村 祥子

(56)参考文献 特表 2 0 1 3 - 5 3 0 2 1 6 号公報 (J P , A)

特表 2 0 1 8 - 5 1 1 5 8 3 号公報 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 1 2 / 0 0 8 7 9 0 2 (U S , A 1)

Food Funct., 2018, 9, 2705-2715