(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
2022年3月31日(31.03.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/065330 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 35/744 (2015.01) *A61K 35/747* (2015.01)
A23K 10/16 (2016.01) *A61P 21/00* (2006.01)
A23L 33/135 (2016.01) *C12N 1/20* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2021/034680

(22) 国際出願日： 2021年9月22日(22.09.2021)

(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 2020-158699 2020年9月23日(23.09.2020) JP

(71) 出願人: 雪印メグミルク株式会社(**MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒0650043 北海道札幌市東区苗穂町６丁目１番１号 Hokkaido (JP).

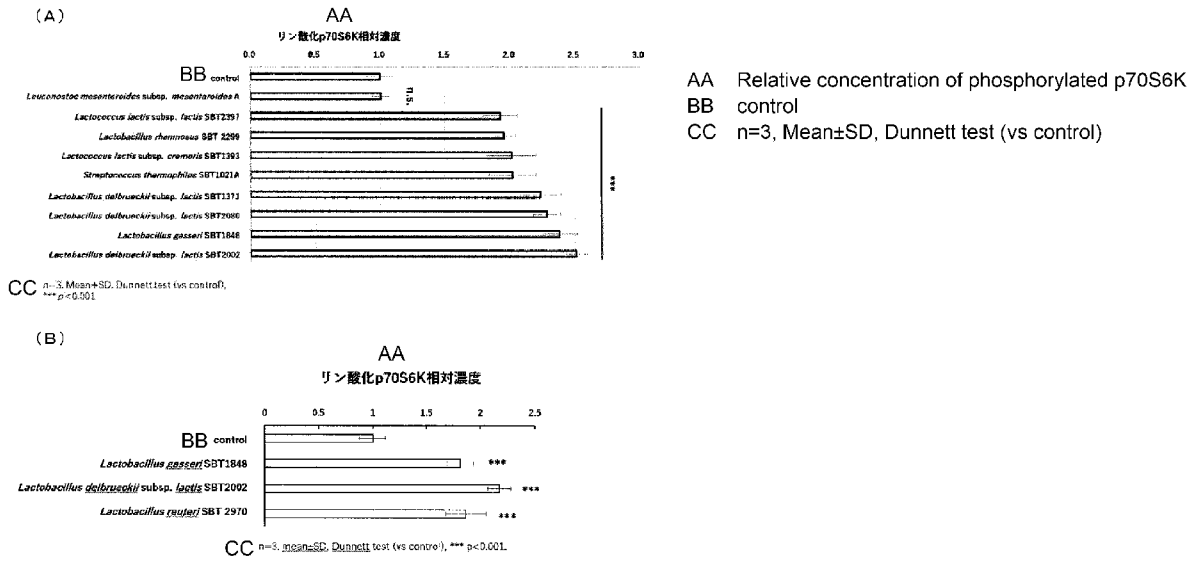
(72) 発明者: 浮辺 健(**UKIBE Ken**); 〒0650043 北海道札幌市東区苗穂町６丁目１番１号 雪印メグミルク株式会社内 Hokkaido (JP). 河田 大輔(**KAWATA Daisuke**); 〒0650043 北海道札幌市東区苗穂町６丁目１番１号 雪印メグミルク株式会社内 Hokkaido (JP). 瀬戸 泰幸(**SETO Yasuyuki**); 〒0650043 北海道札幌市東区苗穂町６丁目１番１号 雪印メグミルク株式会社内 Hokkaido (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人 もえぎ特許事務所(**MOEGI PATENT OFFICE**); 〒1600007 東京都新宿区荒木町２０番地２１インテック８８ビル４階 Tokyo (JP).

(54) **Title:** MUSCLE ATROPHY PREVENTION AGENT

(54) 発明の名称： 筋委縮予防剤

[図1]



AA Relative concentration of phosphorylated p70S6K
BB control
CC n=3, Mean±SD, Dunnett test (vs control)

(57) **Abstract:** The purpose of the present invention is to provide a novel technique for preventing muscle atrophy by inhibiting muscle degradation or directly promoting muscle synthesis without involving physical activity. Provided is a muscle atrophy prevention agent containing, as an active ingredient, lactic acid bacteria having a muscle synthesis promotion effect and/or a muscle degradation inhibition effect, a processed product of the lactic acid bacteria, or an extract thereof. A lactic acid bacterium having the muscle synthesis promotion effect is Lactobacillus gasseri or the like, and a lactic acid bacterium having the muscle degradation inhibition effect is Lactobacillus reuteri or the like.

WO 2022/065330 A1

［続葉有］

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

— 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示 (規則13の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii))

— 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))

(57) 要約: 本発明は、身体活動を介さずとも直接筋合成を促進しまたは筋分解を抑制することで筋委縮を予防する新規な技術を提供することを目的とする。 筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤であって、筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ等であり、筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ等である、前記筋委縮予防剤を提供する。

明　細　書

発明の名称 ： 筋委縮予防剤

技術分野

[0001] 本発明は、筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤に関する。また、当該筋萎縮予防剤を含有する筋萎縮予防用医薬品、飲食品、又は飼料に関する。

背景技術

[0002] 超高齢化が進展する日本において、平均寿命と健康寿命の乖離は喫緊の課題となっている。とりわけ加齢に伴う運動器の機能低下、いわゆるロコモティブシンドロームは高齢者のQOL（Quality of Life）を低下させる大きな要因の一つであり、介護負担や医療費増大の観点からも大きな問題となっている。運動器のうち、特に筋肉は、筋肉自身が持つ運動機能に加え、衝撃吸収作用や姿勢安定化作用を有しており、他の運動器の障害を予防するという観点からも重要な運動器である。しかし、筋肉量は30歳頃から減少を開始し、全身の骨格筋肉量が低下した状態であるサルコペニアに至るヒトの割合は加齢に伴って増大する。その割合は75歳～79歳の高齢者で25%程度、80歳以上では35%を超えるとする報告もなされている（非特許文献１）。そのため、高齢者において筋委縮を予防し、筋肉量を維持することは、健康寿命を延伸し、高齢者のQOLを向上させるうえで必要不可欠な要素である。

[0003] 若年者であっても、例えば傷害や疾病によって一時的な寝たきり状態となり筋肉への負荷が低下すると、容易に筋委縮は進行し、リハビリテーションや予後に悪影響を及ぼす。したがって、筋委縮を予防し筋肉量を維持することは高齢者に限らず、若年者のQOL向上にもつながる。

[0004] 筋肉量は筋合成と筋分解のバランスにより調整される。したがって筋委縮を予防するためには、筋合成を促進するか、または筋分解を抑制する方法が考えられる。特に、筋合成を促進すると同時に筋分解を抑制することができ

れば、より効果的に筋委縮を予防できる。

[0005] ここで、筋委縮を防止し筋肉量を増加させる方法として筋力トレーニングを行い、それに加え、筋肉の原料となるタンパク質や、筋肉の合成シグナルを刺激する分岐鎖アミノ酸を摂取することが一般に推奨されている。また、特許文献１に記載の技術が存在する。特許文献１には、ラクトバチルス・ガセリ OLL2809株を有効成分とする身体活動促進剤によって、身体活動が促進され、筋肉量が増加することについて開示されている。その他、特許文献２には、筋芽細胞の増殖を促進し筋修復を促進するラクトバチルス属の乳酸菌株が開示されている。

また、特許文献３には、ラクトバチルス・カルバタスあるいはラクトバチルス・アミロボラスにAtrogin-1の発現によって引き起こされる筋肉の分解を抑制する作用があることが開示されている。

また、非特許文献２（Nutirients）には、ビフィズス菌に筋肉を増加させる作用があることについて開示されている。

[0006] しかし、高齢者や寝たきり状態の患者が継続的に筋力トレーニングに取り組むことは現実的ではなく、タンパク質は筋合成においては専ら原料として働くのであって、タンパク質の摂取量を増やしたとしても、筋細胞における筋合成促進経路や分解抑制経路が活性化しなければその効果は限定的である。とりわけ高齢者においては分岐鎖アミノ酸に対する筋合成応答が減弱するとされており、筋委縮を予防するためには別途筋合成促進経路や分解抑制経路を活性化させる必要がある。

また、特許文献１は身体活動の促進に伴う副次的な効果として筋肉量を増加させるものであるが、直接筋合成を促進しまたは筋分解を抑制するものではない。特許文献２についても、損傷した筋の筋修復を促進させるものであって、筋合成を促進し又は筋分解を抑制するものではない。特許文献３は、筋肉の分解を抑制するものであるが限定的な２種類の乳酸菌が開示されるのみである。また非特許文献２は、特定のビフィズス菌に筋肉増加作用があることが開示されるのみで、乳酸菌に関する記載はない。

さらに上記いずれの文献にも、筋合成促進効果および筋分解抑制効果を併せ持つ乳酸菌については開示されていなかった。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特開2016-84358

特許文献2：国際公開2019-230957

特許文献3：特許6339526号公報

非特許文献

[0008] 非特許文献1：JAMDA 2013, 14, 911-915

非特許文献2：Nutrients 2020, 12, 219

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明は、身体活動を介さずとも直接筋合成を促進しまたは筋分解を抑制することで筋委縮を予防する新規な技術、あるいは筋合成を促進すると同時に筋分解を抑制することで筋委縮を効果的に予防する新規な技術を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0010] 筋合成は筋肉細胞内におけるAkt-mTOR (mechanistic target of rapamycin)経路の活性化によって促進される。p70S6Kタンパク質はAkt-mTOR経路の下流にあり、リン酸化によって活性化される。したがってリン酸化p70S6K量が筋合成活性化の指標として用いられており、リン酸化p70S6K量の増大は筋合成の活性化を意味する。

一方、筋分解は主としてユビキチン-プロテアソーム系が担っており、筋特異的なユビキチンリガーゼとしてAtrogin-1およびMuRF1 (muscle ring finger 1)が知られている。すなわち、Atrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量が増加すると筋分解が促進され、Atrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量が低下すると筋分解が抑制される。

発明者らは鋭意研究の結果、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリス、ラクトバチルス・ラムノーサスまたはラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスを筋細胞に添加することで筋細胞のリン酸化p70S6K量が増加すること、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタムおよびペディオコッカス・アシディラクティシを添加することで、Atrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量が低下することを見出すとともに、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス、ラクトバチルス・ガセリまたはラクトバチルス・ロイテリを添加すると、筋細胞のリン酸化p70S6K量が増加することに加えAtrogin-1及びMuRF1の遺伝子発現量が低下することを見出し、本発明を完成させた。

[0011] 本発明は以下［１］～［１０］の発明に係るものである。

[１]筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤であって、

筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ロイテリからなる群から選ばれるいずれか１種以上であり、

筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ペディオコッカス・アシディラクティシ、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ガセリからなる群から選ばれるいずれか１種以上である、前記筋委縮予防剤。

[２]筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスまたはラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスである[１]に記載の筋委縮予防剤。

［３］筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）、ストレプトコッカス・サーモフ

ィルスＳＢＴ１０２１Ａ株（ＦＥＲＭ　Ｐ－１０６５８）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスＳＢＴ１３９３株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８）、ラクトバチルス・ラムノーサス　ＳＢＴ２２９９株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９４）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２３９７株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３０８０）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である［１］又は［２］に記載の筋委縮予防剤。

［４］筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ　ＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ２９５８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２８０３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００３８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００４３株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３１８７）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８４６株（ＮＩＴＥ　ＡＰ－０３２７９）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８５９株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２９９６）、ペディオコッカス・アシディラクティシ　ＳＢＴ３３３１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９１）またはラクトバチルス・ガセリＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）である［１］に記載の筋委縮予防剤。

［５］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤。

［６］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ガセリ又はラクトバチルス・ロイテリである［５］に記載の筋委縮予防剤。

［７］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスである［６］に記載の筋委縮予防剤。

［８］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ１３７１株（Ｎ

ＩＴＥ　ＢＰ－０３２７７）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２００２株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２０８０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１）、ラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である［６］に記載の筋委縮予防剤。

［９］［１］～［８］のいずれかに記載の筋委縮予防剤を含む、筋委縮予防用の医薬品、飲食品、機能性表示食品、特定保健用食品、栄養補助食品、サプリメント、又は飼料。

［１０］新規乳酸菌である、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ１３７１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２７７）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２００２株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２０８０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリス　ＳＢＴ１３９３株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８）、ラクトバチルス・ロイテリ　ＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００３８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３）およびラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８４６株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７９）。

また、本願発明はさらに、以下の構成[１１]～[１８]を有する。

[１１]筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を対象に投与する工程を含む筋委縮予防方法であって、

筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス及びラクトバチルス・デルブレッキーからなる群から選ばれる

いずれか１種以上であり、

筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ペディオコッカス・アシディラクティシ及びラクトバチルス・デルブレッキーからなる群から選ばれるいずれか１種以上である、前記筋委縮予防方法。

[１２]筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスまたはラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスである[１１]に記載の筋委縮予防方法。

［１３］筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＳＢＴ１０２１Ａ株（ＦＥＲＭ　Ｐ－１０６５８）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスＳＢＴ１３９３株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８）、ラクトバチルス・ラムノーサス　ＳＢＴ２２９９株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９４）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２３９７株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３０８０）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である［１１］又は［１２］に記載の筋委縮予防方法。

［１４］筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ　ＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ２９５８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２８０３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００３８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００４３株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３１８７）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８４６株（ＮＩＴＥ　ＡＰ－０３２７９）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８５９株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２９９６）、ペディオコッカス・アシディラクティシ　ＳＢＴ３３３１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９１）またはラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）である［１１］に記載の筋委縮予防方法。

［１５］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を対象に投与する工程を含む、筋委縮予防方法。

［１６］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ガセリ又はラクトバチルス・ロイテリである［１５］に記載の筋委縮予防方法。

［１７］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスである［１６］に記載の筋委縮予防方法。

［１８］筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ１３７１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２７７）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２００２株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０）またはラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２０８０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１）、ラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である［１６］に記載の筋委縮予防方法。

発明の効果

[0012] 筋委縮を予防し筋肉量を維持することは高齢者に限らず、若年者のQOL向上にもつながる。本発明によれば、特定の乳酸菌の摂取により、筋合成を促進又は筋分解を抑制することで筋委縮を予防することができる。さらに、筋合成を促進すると同時に筋分解を抑制する乳酸菌を摂取することで筋委縮を効果的に予防することができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]試験例１に係り、マウス筋芽細胞C2C12細胞に各乳酸菌を添加した際のリン酸化p70S6Kの濃度をcontrol群の平均値を１とした場合の相対濃度にて示したグラフである。（Ａ）は乳酸菌破砕物を加えていないcontrol群及び筋合

成促進効果がみられなかった乳酸菌１株及び筋合成促進効果を有する乳酸菌株８株を比較した。（Ｂ）は乳酸菌破砕物を加えていないcontrol群及び筋合成促進効果を有する乳酸菌株３株を比較した（このうちＳＢＴ１８４８と２００２は（Ａ）と重複して試験を行った）。

[図2]試験例２に係り、筋管細胞に分化させたC2C12細胞にデキサメタゾンを加えて筋分解を誘導し、Atrogin-1の遺伝子発現量から各乳酸菌株の筋分解抑制効果を比較したグラフである。（Ａ）は何も加えない群、デキサメタゾンのみを加えた群、デキサメタゾンと筋分解抑制効果を有しない乳酸菌１株を加えた群及びデキサメタゾンと筋分解抑制効果を有する乳酸菌10株を加えた群を比較した。（Ｂ）は何も加えない群、デキサメタゾンのみを加えた群、及びデキサメタゾンと筋分解抑制効果を有する乳酸菌１株を加えた群を比較した。

[図3]試験例３に係り、筋管細胞に分化させたC2C12細胞にデキサメタゾンを加えて筋分解を誘導し、MuRF-1の遺伝子発現量から各乳酸菌株の筋分解抑制効果を比較したグラフである。（Ａ）は何も加えない群、デキサメタゾンのみを加えた群、デキサメタゾンと筋分解抑制効果を有しない乳酸菌１株を加えた群及びデキサメタゾンと筋分解抑制効果を有する乳酸菌10株を加えた群を比較した。（Ｂ）は何も加えない群、デキサメタゾンのみを加えた群、及びデキサメタゾンと筋分解抑制効果を有する乳酸菌１株を加えた群を比較した。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明は乳酸菌、乳酸菌処理物またはそれらの抽出物（以下、単に乳酸菌等ともいう）を有効成分とする筋委縮予防剤を提供する。

本発明の筋委縮予防剤に含まれる乳酸菌等は、筋合成促進効果を有する特定の乳酸菌等であり、ラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ロイテリからなる群から選ばれるいずれか１種以上から得られたものが好ましい。

このうちラクトコッカス・ラクティスは、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスまたはラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスであることがさらに好ましい。

また、上記菌種のうちでも、乳酸菌等がラクトバチルス・ガセリ SBT1848株、ストレプトコッカス・サーモフィルスSBT1021A株、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスSBT1393株、ラクトバチルス・ラムノーサス SBT2299株、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス SBT2397株、ラクトバチルス・ロイテリSBT2970株から得られたものであることがさらに好ましい。

[0015] また、本発明の筋委縮予防剤に含まれる乳酸菌等は、筋分解抑制効果を有する特定の乳酸菌等であり、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ペディオコッカス・アシディラクティシ、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ガセリからなる群から選ばれるいずれか１種以上から得られたものが好ましい。

また、上記菌種のうちでも、乳酸菌等がラクトバチルス・ロイテリ SBT2970株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT2958株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT10038株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT10043株、ラクトバチルス・ファーメンタム SBT1846株、ラクトバチルス・ファーメンタム SBT1859株、ペディオコッカス・アシディラクティシ SBT3331株またはラクトバチルス・ガセリ SBT1848株から得られたものであることがさらに好ましい。

[0016] また、本発明の筋委縮予防剤に含まれる乳酸菌等は、筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌等であり、当該効果を有するものであれば任意の乳酸菌等を使用することができる。

筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌等は、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ロイテリまたはラクトバチルス・ガセリから得られたものが好ましい。ラクトバチルス・デルブレッキーは、さらに、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスから得られたものであることが好ましい。

また、上記菌種のうちでも、乳酸菌等がラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス SBT1371株、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス SBT2002株、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス SBT2080株、ラクトバチルス・ロイテリSBT2970株またはラクトバチルス・ガセリ SBT1848株から得られたものであることがよりいっそう好ましい。

[0017] この乳酸菌等は、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス、ラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタムまたはペディオコッカス・アシディラクティシのうち少なくともいずれかから得られたものが好ましく、また、以上の乳酸菌は１種類でもよく、また複数種類を混合して用いることもできる。

[0018] 前記記載の乳酸菌株はいずれも独立行政法人製品評価技術基盤機構　特許微生物寄託センター(NPMD) に寄託されている。寄託情報については明細書後段に記載する。

[0019] 本発明における筋委縮予防剤は、筋肉の萎縮を予防する作用を有し、筋委縮の予防作用の有無は、筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果の有無により判断できる。

筋合成促進作用の有無は、後述する実施例に示すように例えば、対象乳酸菌等について、無添加の場合に比べてリン酸化p70S6K量の増大がみられるかどうかにより判断できる。

また、筋分解抑制作用の有無は、実施例に示すように例えば、対象乳酸菌等について、無添加の場合に比べてAtrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量が低下するかどうかにより判断できる。

[0020] 本発明に係る乳酸菌を培養する培地は、当該乳酸菌の培養が可能な培地であれば特に限定されることはなく、任意の培地を使用することができる。

[0021] 本実施形態に係る乳酸菌は、乳酸菌培養の常法に従って培養し、所望の量を調製すればよい。例えばMRS培地等の合成培地を用いて乳酸菌を培養し、得られた培養物を遠心分離することによって乳酸菌体を得ることができる。得られた菌体をそのまま用いてもよいほか、濃縮、乾燥、凍結乾燥、破砕処理に供した菌体を用いてもよい。菌体は加熱乾燥等により死菌体にしたものを用いることができる。

[0022] 本実施形態の筋委縮予防剤は、上述の通り、濃縮、乾燥、凍結乾燥、破砕処理に供した菌体や加熱乾燥等により死菌体にしたものを用いることができることから、医薬品、医薬部外品、飲食品、飼料等に含まれる組成物として広く利用できる。

製剤化に際しては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、矯味剤等、一般に用いられる添加物を適宜混合しても良い。

本発明の筋委縮予防用の飲食品としては、前記有効成分となる乳酸菌等が含まれる飲食品であればよく、機能性表示食品、特定保健用食品、栄養補助食品、サプリメントなどが挙げられる。本発明の飲食品は、乳飲料、ヨーグルト、チーズ、アイスクリーム、清涼飲料水、バター、練乳、クラッカー、調製粉乳、粉ミルク、液体ミルク、調味料等が挙げられる。また、既存の飲食品に本発明の有効成分を原料段階、製造途中、製造後に添加してもよい。また、本発明の有効成分は乳酸菌等であるから、例えば本発明の乳酸菌で発酵させたヨーグルト、チーズ、乳飲料などの発酵食品は、有効成分そのものが筋委縮予防用の飲食品の例である。

筋委縮予防剤のこれらの飲食品への配合量は、形態、剤型、投与対象の症状、体重、用途などによって異なるため、特に限定されないが、あえて挙げるなら例えば0.001～100（w/w）％で配合することができる。

筋委縮予防用の飼料としては、通常の飼料に前記有効成分を混合すればよい。

[0023] 本実施形態に係る筋委縮予防剤の投与対象や一日あたりの摂取量についても、特に限定されず、例えば投与対象がヒトである場合は、20歳未満の未成

年、成人、65歳以上の高齢者などに投与することができる。一日の摂取量は、年齢、症状、体重、目的によって異なるため、特に限定されないが、あえて挙げるとすれば、例えば、菌体または菌体処理物の重量として0.001～10g、好ましくは0.01～5gが挙げられる。

[0024] 以上、本実施形態によって新規な筋委縮予防剤を提供することができる。本筋委縮予防剤は乳酸菌等を有効成分とするものであり、安価かつ大量に製造が可能であって、安全性も高い。特に、筋合成を促進すると同時に筋分解を抑制できる乳酸菌等は筋委縮を予防する上で、高い効果を有する。

実施例

[0025] 以下、本発明の実施例として、マウス筋芽細胞C2C12細胞を用いた、筋合成促進効果、筋分解抑制効果の評価の結果について簡単に説明する。しかしながら、本発明は実施例の態様に限定されるものではない。

[0026] [乳酸菌破砕物の調製]

各菌株のグリセロールストックをMRS平板培地に画線し、37℃で３晩（64時間）培養した。次いで平板培地で得られた１コロニーを10 mLのMRS培地に植菌し、37℃または30℃で１晩培養（16時間）した。この菌体培養液 300 μLを新しいMRS培地 10 mLに植え継ぎ、再度37℃または30℃で１晩培養（16時間）した。次に、菌体培養液3 mLをMRS培地100 mLに植菌し、37℃または30℃で１晩培養（16時間）した。得られた菌体培養液を遠心分離し、沈殿した菌体をPBS、超純水で洗浄した。菌体は4 mLの超純水に再懸濁して、-80℃で凍結させた。これを凍結乾燥機（東京理科器械）を用いて凍結乾燥させることで、凍結乾燥菌体を得た。得られた凍結乾燥菌体をPBSまたはDMEM培地（gibco）に溶解し、マルチビーズショッカー（安井機械）を用いて破砕することで乳酸菌破砕物を調製した。

[0027] [試験例１] p70S6Kリン酸化亢進効果の評価

マウス筋芽細胞であるC2C12細胞を、10% FBS、1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地を添加した48well 培養プレート(IWAKI)に1.8×10^4 cell/wellとなるよう播種した。これを37℃、5%CO_2条件下で２日間、80%～90%コンフル

エントまで培養した。

次に培地をFBSを含まない1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地に交換し、４時間培養した。培養後、1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地に懸濁した図１に示す各乳酸菌の破砕物を100 μg/mL となるよう添加した。コントロール群には乳酸菌破砕物を含まない1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地を同量添加した。このC2C12細胞をさらに２時間培養後、PBSで洗浄し、p70S6K (pT389) SimpleStep ELISA (abcam)付属のCell Extraction Buffer PTRを用いて細胞を溶解した。細胞溶解液を回収し、遠心分離して上清を得ることで、次のELISAで用いるタンパク質溶液サンプルを得た。

ELISAは、リン酸化されたp70S6Kの濃度を検出できる、p70S6K (pT389) SimpleStep ELISAとPre-coated 384 well Microplate SimpleStep ELISA (abcam) を使用して行った。細胞溶解液の総タンパク濃度をBCA法によって定量し、各サンプルの濃度が一定となるようCell Extraction Buffer PTR で希釈した。これらを検量線作成用のコントロールサンプルとともに、25 μL /well ずつPre-coated 384 well Microplate SimpleStep ELISAに添加し、p70S6K (pT389) SimpleStep ELISAのマニュアル記載の方法により発色させた。VARIOSKAN (Thermo Scientific) を使用して、主波長として450 nm、副波長として 620 nmの吸光度をそれぞれ測定し、両波長における吸光度の差を求めた。この値をもとにコントロールサンプルから検量線を作成し、各サンプル中のリン酸化p70S6Kの相対濃度を算出した。

[0028] 活性を示した８株と活性を示さなかった１株を比較した結果を図１に示す。ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスSBT2002株、SBT2080株、SBT1371株の３株及びラクトバチルス・ガセリSBT1848株、ストレプトコッカス・サーモフィルスSBT1021A株、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスSBT1393株、ラクトバチルス・ラムノーサスSBT2299株、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスSBT2397株、ラクトバチルス・ロイテリSBT2970はリン酸化p70S6K量を増加させ、筋合成促進作用を示した。一方、ロイコノストック・メセンテロイデス

・サブスピーシーズ・メセンテロイデスAは、リン酸化p70S6K量を増加せず、筋合成促進作用を示さなかった。

[0029] [試験例２] Atrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現抑制効果の評価

マウス筋芽細胞であるC2C12細胞を、10% FBS、1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地を添加した48well 培養プレート(IWAKI)に1.8×10^4 cell/wellとなるよう播種した。これを37℃、5%CO_2条件下で２日間、80%～90%コンフルエントまで培養した。

次に培地を、2%ウマ血清を含む1% penicillin-streptomycin含有DMEM培地に交換し、２から３日おきに培地を交換し、５日間培養して、C2C12細胞を分化させた。その後、同様の培地にAtrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現を上昇させることが知られているデキサメタゾンを1μMの濃度で添加し、図２，図３に示す各乳酸菌破砕物を100μg/mL となるよう添加した。24時間培養後、培地を除去し、細胞にSepasol-RNA I Super G（ナカライテスク）を200μL/wellで加え、ピペッティングで細胞を破砕して回収した。回収した液からRNAを抽出し、約500 ngのRNAを鋳型にして、ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA remover (TOYOBO) を用いてcDNAを合成した。その後、THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO) と、各種遺伝子用増幅プライマーを用いて、ViiA 7 Real-time PCR system (Thermo Fisher Scientific) でAtrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量を定量した。内在性コントロールとしてはGapdhの遺伝子を使用した。使用したプライマーの配列を表１に示す。

[0030] [表1]

各遺伝子のプライマー配列

Atrogin1	F	GGCGGACGGCTGGAA	配列番号１
	R	CAGATTCTCCTTACTGTATACCTCCTTGT	配列番号２
MuRF1	F	ACGAGAAGAAGAGCGAGCTG	配列番号３
	R	CTTGGCACTTGAGAGGAAGG	配列番号４
Gapdh	F	ACCCAGAAGACTGTGGATGG	配列番号５
	R	TTCAGCTCTGGGATGACCTT	配列番号６

[0031] 活性を示した株と活性を示さなかった株を比較した結果を図２、３に示す。ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスSBT2002株、SBT2080株、SBT1371株の３株及びラクトバチルス・ロイテリ SBT2970株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT2958株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT10038株、ラクトバチルス・ムコーサエ SBT10043株、ラクトバチルス・ファーメンタム SBT1846株、ラクトバチルス・ファーメンタム SBT1859株およびペディオコッカス・アシディラクティシ SBT3331株、ラクトバチルス・ガセリＳＢＴ1848株はAtrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量をともに低下させ、筋分解抑制作用を示した。一方、ラクトバチルス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスＡは、Atrogin-1およびMuRF1の遺伝子発現量をともに低下させず、筋分解抑制作用を示さなかった。

[0032] 以上の結果から、各試験例記載の乳酸菌は筋合成促進作用または筋分解抑制作用を有していることが明らかとなった。特に、試験に供したラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ガセリは、いずれも筋合成促進作用と筋分解抑制作用の両方の活性を示していた。

[0033] 本発明は、実施例に記載の菌株に限定されるものではなく、同一菌種に広く応用できる可能性が高い。

産業上の利用可能性

[0034] 本発明によれば、特定の乳酸菌の摂取により、筋合成を促進又は筋分解を抑制することで筋委縮を予防することができ、さらに、筋合成を促進すると同時に筋分解を抑制する乳酸菌を摂取することで筋委縮を効果的に予防することができる。本発明の筋委縮予防剤は、高齢者に限らず、若年者のQOL向上をも実現することが可能となる。

受託番号

[0035] [寄託生物材料への言及]

（１）ＳＢＴ１３７１

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

独立行政法人製品評価技術基盤機構　特許微生物寄託センター（千葉県木更津市かずさ鎌足２-５-８（郵便番号２９２-０８１８））

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日（国際寄託への移管日　２０２１年９月１０日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２７７

（２）ＳＢＴ２００２

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日（国際寄託への移管日　２０２１年９月１０日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０

（３）ＳＢＴ２０８０

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日（国際寄託への移管日　２０２１年９月１０日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１

（４）ＳＢＴ１３９３

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８

（５）ＳＢＴ２９７０

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日（国際寄託への移管日　２０２１年９月１０日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２

（６）ＳＢＴ１００３８

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３

（７）ＳＢＴ１８４６

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年９月１５日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７９

（８）ＳＢＴ１００４３

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０２０年３月２７日（国際寄託への移管日　２０２１年３月２３日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３１８７

（９）ＳＢＴ１８４８株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１９年１１月２５日（国際寄託への移管日　２０２１年９月１０日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５

（１０）ＳＢＴ１０２１Ａ株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

独立行政法人製品評価技術基盤機構　特許生物寄託センター（千葉県木更津市かずさ鎌足２-５-８（郵便番号２９２-０８１８））

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

１９８９年４月１３日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＦＥＲＭ　Ｐ－１０６５８

（１１）ＳＢＴ２２９９株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１９年６月２６日（国際寄託への移管日　２０２０年７月１３日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９４

（１２）ＳＢＴ２３９７株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１９年１１月２５日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０３０８０

（１３）ＳＢＴ２９５８株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１８年１０月３１日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０２８０３

（１４）ＳＢＴ１８５９株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１９年６月２６日

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　Ｐ－０２９９６

（１５）ＳＢＴ３３３１株

イ　当該生物材料を寄託した寄託機関の名称及び住所

上記（１）と同じ

ロ　イの寄託機関に生物材料を寄託した日付

２０１９年６月２６日（国際寄託への移管日　２０２０年７月１３日）

ハ　イの寄託機関が寄託について付した受託番号

ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９１

請求の範囲

[請求項1] 筋合成促進効果及び／又は筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤であって、

筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ロイテリからなる群から選ばれるいずれか1種以上であり、

筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ペディオコッカス・アシディラクティシ、ラクトバチルス・デルブレッキー及びラクトバチルス・ガセリからなる群から選ばれるいずれか１種以上である、前記筋委縮予防剤。

[請求項2] 筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスまたはラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティスである請求項１に記載の筋委縮予防剤。

[請求項3] 筋合成促進効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）、ストレプトコッカス・サーモフィルスＳＢＴ１０２１Ａ株（ＦＥＲＭ　Ｐ－１０６５８）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリスＳＢＴ１３９３株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８）、ラクトバチルス・ラムノーサス　ＳＢＴ２２９９株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９４）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２３９７株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３０８０）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である請求項１又は２に記載の筋委縮予防剤。

[請求項4] 筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・ロイテリ　ＳＢ

Ｔ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ２９５８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２８０３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００３８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００４３株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３１８７）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８４６株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７９）、ラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８５９株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０２９９６）、ペディオコッカス・アシディラクティシ　ＳＢＴ３３３１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０２９９１）またはラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）である請求項１に記載の筋委縮予防剤。

[請求項5]　筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌、前記乳酸菌の処理物またはそれらの抽出物を有効成分とする、筋委縮予防剤。

[請求項6]　筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ガセリ又はラクトバチルス・ロイテリである請求項５に記載の筋委縮予防剤。

[請求項7]　筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌が、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティスである請求項６に記載の筋委縮予防剤。

[請求項8]　筋合成促進効果及び筋分解抑制効果を有する乳酸菌がラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ１３７１株（ＮＩＴＥ　ＡＰ－０３２７７）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２００２株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０）またはラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２０８０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１）、ラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３０７５）またはラクトバチルス・ロイテリＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）である請求項６に記載の筋委縮

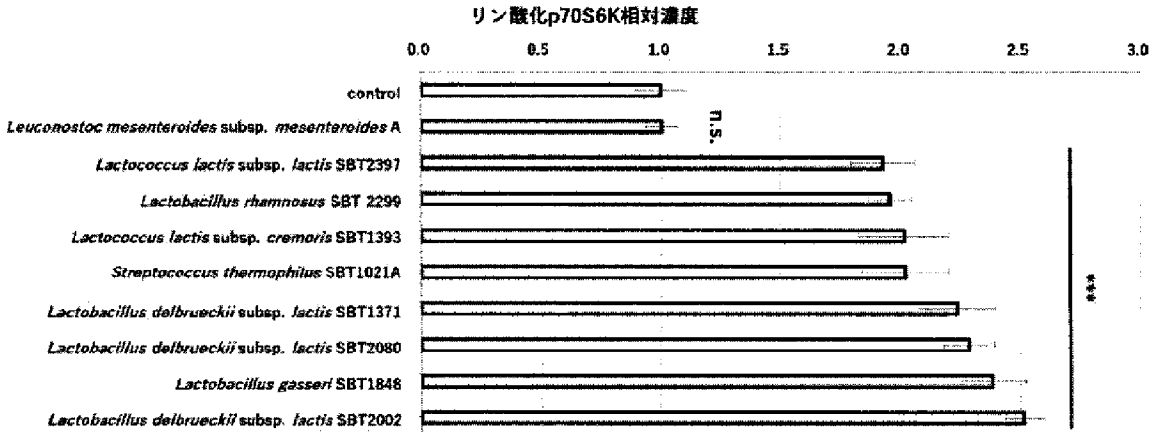
予防剤。

[請求項9] 請求項１～８のいずれかに記載の筋委縮予防剤を含む、筋委縮予防用の医薬品、飲食品、機能性表示食品、特定保健用食品、栄養補助食品、サプリメント、又は飼料。

[請求項10] 新規乳酸菌である、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ１３７１株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２７７）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２００２株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８０）、ラクトバチルス・デルブレッキー・サブスピーシーズ・ラクティス　ＳＢＴ２０８０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８１）、ラクトコッカス・ラクティス・サブスピーシーズ・クレモリス　ＳＢＴ１３９３株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７８）、ラクトバチルス・ロイテリ　ＳＢＴ２９７０株（ＮＩＴＥ　ＢＰ－０３２８２）、ラクトバチルス・ムコーサエ　ＳＢＴ１００３８株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２８３）およびラクトバチルス・ファーメンタム　ＳＢＴ１８４６株（ＮＩＴＥ　Ｐ－０３２７９）。

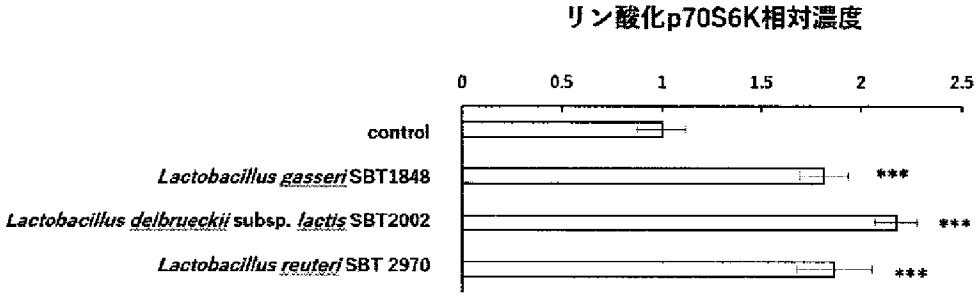
[図1]

（A）



n=3. Mean±SD. Dunnett test (vs control),
***$p<0.001$

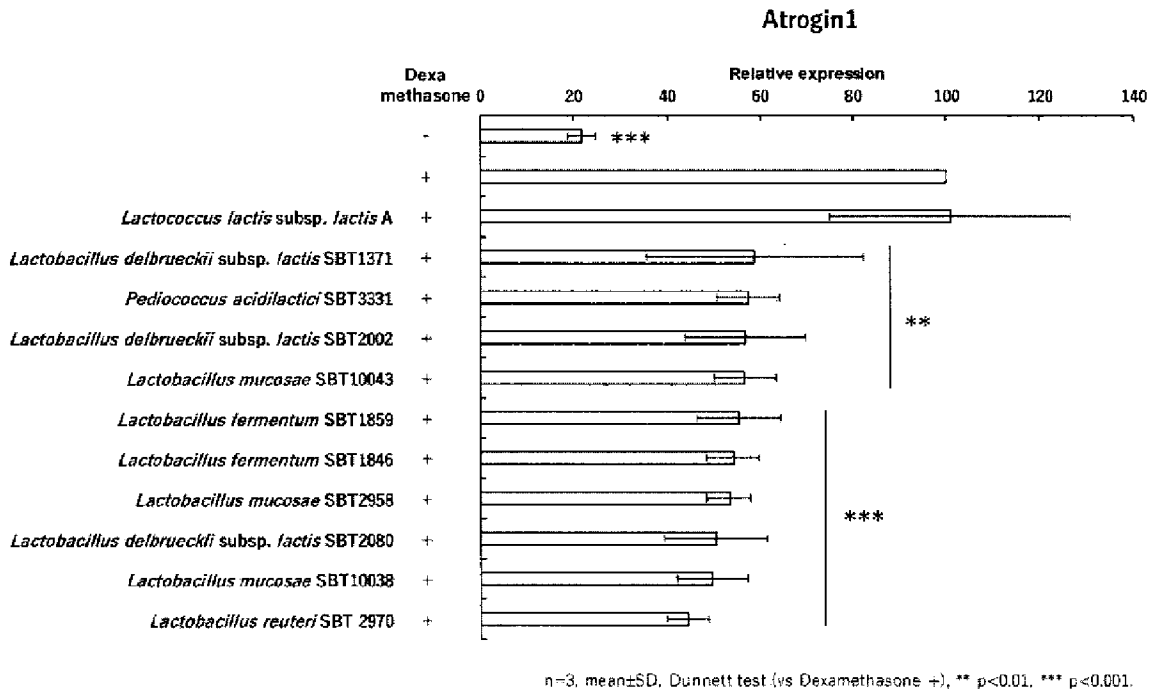
（B）



n=3, mean±SD, Dunnett test (vs control), *** p<0.001.

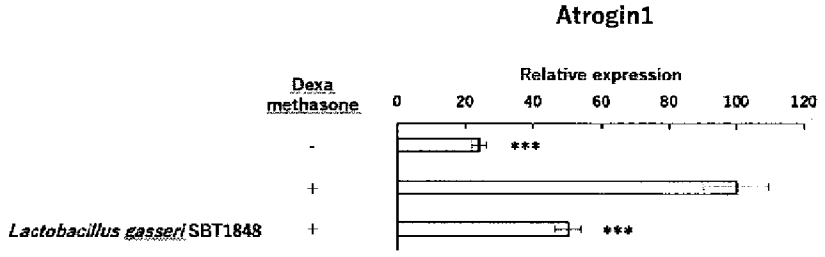
[図2]

(A)



n=3, mean±SD, Dunnett test (vs Dexamethasone +), ** p<0.01, *** p<0.001.

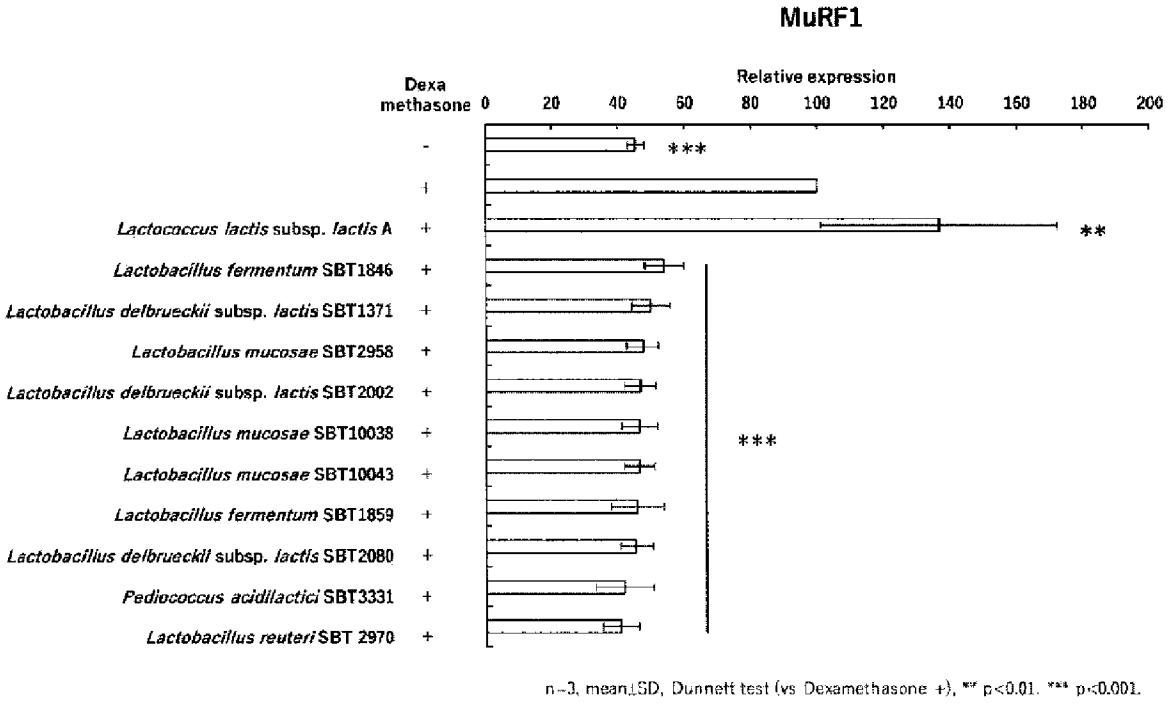
(B)



n=3, mean±SD, Dunnett test (vs Dexamethasone +), *** p<0.001.

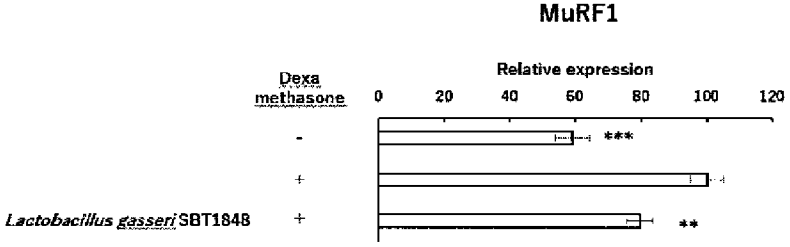
[図3]

（A）



n=3, mean±SD, Dunnett test (vs Dexamethasone +), ** p<0.01, *** p<0.001.

（B）



n=3, mean±SD, Dunnett test (vs Dexamethasone +), ** p<0.01, *** p<0.001.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/034680

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/744(2015.01)i; ***A23K 10/16***(2016.01)i; ***A23L 33/135***(2016.01)i; ***A61K 35/747***(2015.01)i; ***A61P 21/00***(2006.01)i; ***C12N 1/20***(2006.01)i
FI: A61K35/744 ZNA; A61K35/747; A61P21/00; A23L33/135; A23K10/16; C12N1/20 E

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)

A61K35/744; A23K10/16; A23L33/135; A61K35/747; A61P21/00; C12N1/20

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

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

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SUGIMURA, Tetsu et al., Long-term administration of pDC-Stimulative Lactococcus Lactis strain decelerates senescence and prolongs the lifespan of mice, International Immunopharmacology, 2018, vol. 58, pp.166-172 abstract, fig. 4B	1, 2, 9
X	WO 2018/003900 A1 (ASAHI GROUP HOLDINGS, LTD.) 04 January 2018 (2018-01-04) claims 3 and 5, examples 1 and 2	1, 5, 6, 9
Y		3, 4, 8
X	JP 2016-084358 A (MEIJI CO., LTD) 19 May 2016 (2016-05-19) claims, examples	1, 5, 6, 9
Y		3, 4, 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
"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 December 2021	**21 December 2021**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/034680

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/230957 A1 (MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD.) 05 December 2019 (2019-12-05) claims, examples	1, 5, 6, 9, 10
Y		3, 4, 8
A		7
X	飯田健人　ほか, 高齢者向けサルコペニア予防ヨーグルトの創製, 日本畜産学会大会講演要旨, 2016, vol. 121, p. 260, non-official translation (IIDA, Kento et al. Production of Yogurt for Sarcopenia Prevention for Seniors, proceedings of the annual meeting of the Japanese Society of Animal Science Conference) entire text	1, 5, 6, 9
Y		3, 4, 8
X	JP 2020-014452 A (MEIJI CO., LTD) 30 January 2020 (2020-01-30) claims, examples	1, 5, 6, 9
Y		3
A		7
X	JP 2018-538369 A (PROBIOTICAL S.P.A.) 27 December 2018 (2018-12-27) claims, paragraph [0003], examples	1, 9
Y		3
X	WO 2018/151225 A1 (SHINSHU UNIVERSITY) 23 August 2018 (2018-08-23) claims, paragraphs [0066], [0125], examples	1, 9
X	JP 2014-003929 A (MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD.) 16 January 2014 (2014-01-16) p. 10	10
Y	JP 2005-225841 A (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.) 25 August 2005 (2005-08-25) paragraph [0014], test example 2	3, 4, 8
Y	WO 2018/174125 A1 (MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD.) 27 September 2018 (2018-09-27) p. 7, third paragraph	3
P, X	AISO, Chisato et al., Effects of Lactococcus lactis subsp. cremoris FC-fermented milk on muscle mass and protein metabolism signaling in aged mice, Journal of Physical Fitness and Sports Medicine, 25 November 2020, vol.9, no. 6, p. 305, abstract no. 130 entire text	1, 2, 9
P, Y	JP 2021-019507 A (MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD.) 18 February 2021 (2021-02-18) claim 5	3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/034680

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

International application No.
PCT/JP2021/034680

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:

(Invention 1) The inventions in which Lactobacillus gasseri is selected in claims 1, 3-6, 8, and 9,

Document 2 (claims 3 and 5, examples 1 and 2) discloses a composition for increasing muscle amount, the composition containing Lactobacillus gasseri or a processed product thereof as an active ingredient. Thus, the invention in which Lactobacillus gasseri, which is the first option in claim 1, is selected lacks novelty in light of document 1 and as such does not have a special technical feature. However, claim 3, which depends from claim 1, has the special technical feature of "Lactobacillus gasseri SBT1848 (NITE BP-03075)," and claim 4 also has the same special technical feature as claim 3. Therefore, the inventions in which Lactobacillus gasseri is selected in claims 1, 3, and 4 are classified as invention 1.

Furthermore, claim 9 depends from claim 1 and is inventively linked with the invention in which Lactobacillus gasseri is selected in claim 1. Thus, claim 9 is classified as invention 1.

In addition, the inventions in which Lactobacillus gasseri is selected in claims 5, 6, and 8 are substantially identical to or similarly closely related to the invention in which Lactobacillus gasseri is selected in claim 1, and thus are classified as invention 1.

(Invention 2) The inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9

The inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with the invention in which Lactobacillus gasseri is selected in claim 3 classified as invention 1.

Furthermore, the inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 do not depend from claim 1 classified as invention 1.

In addition, the inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as invention 1.

Therefore, the inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 cannot be classified as invention 1.

The inventions in which Streptococcus thermophilus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 are classified as invention 2 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Streptococcus thermophilus as an active ingredient."

(Invention 3) The inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9

The inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with the inventions classified as invention 1 or 2.

Furthermore, the inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri or Streptococcus thermophilus is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as invention 1 or invention 2.

Therefore, the inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 cannot be classified as either of invention 1 or 2.

The inventions in which Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claims 1, 3, 5, and 9 are classified as invention 3 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Lacticaseibacillus rhamnosus as an active ingredient."

(Invention 4) The inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10

The inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-3.

Furthermore, the inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, or Lacticaseibacillus rhamnosus is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as inventions 1-3.

Therefore, the inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10 cannot be classified as any of inventions 1-3.

The inventions in which Lactococcus lactis is selected in claims 1-3, 5, 9, and 10 are classified as invention 4 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Lactococcus lactis as an active ingredient."

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

(Invention 5) The inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10.

The inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-4.

Furthermore, the inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, or Lactococcus lactis is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as inventions 1-4.

Therefore, the inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10 cannot be classified as any of inventions 1-4.

The inventions in which Lactobacillus delbrueckii is selected in claims 1 and 5-10 are classified as invention 5 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Lactobacillus delbrueckii as an active ingredient."

(Invention 6) The inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10

The inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-5.

Furthermore, the inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, or Lactobacillus delbrueckii is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10 are not substantially identical to or similarly closed related to any of the claims classified as inventions 1-5.

Therefore, the inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10 cannot be classified as any of inventions 1-5.

The inventions in which Limosilactobacillus reuteri is selected in claims 1, 3-6, and 8-10 are classified as invention 6 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Limosilactobacillus reuteri as an active component."

(Invention 7) The inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10

The inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-6.

Furthermore, the inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, Lactobacillus delbrueckii, or Limosilactobacillus reuteri is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as inventions 1-6.

Therefore, the inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 cannot be classified as any of inventions 1-6.

The inventions in which Limosilactobacillus mucosae is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 are classified as invention 7 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Limosilactobacillus mucosae as an active ingredient."

(Invention 8) The inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10

The inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-7.

Furthermore, the inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, Lactobacillus delbrueckii, Limosilactobacillus reuteri, or Limosilactobacillus mucosae is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as inventions 1-7.

Therefore, the inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 cannot be classified as any of the inventions 1-7.

The inventions in which Limosilactobacillus fermentum is selected in claims 1, 4, 5, 9, and 10 are classified as invention 8 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Limosilactobacillus fermentum as an active ingredient."

(Invention 9) The inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/034680

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

The inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9 cannot be said to share the same or corresponding special technical feature with any of the inventions classified as inventions 1-8.

Furthermore, the inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9 do not depend from the invention in which Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, Lactobacillus delbrueckii, Limosilactobacillus reuteri, Limosilactobacillus mucosae, or Limosilactobacillus fermentum is selected in claim 1.

In addition, the inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9 are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as inventions 1-8.

Therefore, the inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9 cannot be classified as any of inventions 1-8.

The inventions in which Pediococcus acidilactici is selected in claims 1, 4, 5, and 9 are classified as invention 9 as a result of having the special technical feature of "a muscle atrophy prevention agent containing Pediococcus acidilactici as an active ingredient."

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.: **The aspects in claims 1-10 relating to Lactobacillus gasseri, Streptococcus thermophilus, Lacticaseibacillus rhamnosus, Lactococcus lactis, and Lactobacillus delbrueckii.**

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/034680

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2018/003900 A1	04 January 2018	EP 3479835 A1 claims 3 and 5, examples 1 and 2	
JP 2016-084358 A	19 May 2016	(Family: none)	
WO 2019/230957 A1	05 December 2019	(Family: none)	
JP 2020-014452 A	30 January 2020	WO 2020/013307 A1	
JP 2018-538369 A	27 December 2018	WO 2017/085656 A1 claims, page 1, paragraph [0002], examples EP 3377081 A1 CN 108430484 A KR 10-2018-0094511 A US 2018/0318363 A1	
WO 2018/151225 A1	23 August 2018	(Family: none)	
JP 2014-003929 A	16 January 2014	(Family: none)	
JP 2005-225841 A	25 August 2005	(Family: none)	
WO 2018/174125 A1	27 September 2018	(Family: none)	
JP 2021-019507 A	18 February 2021	WO 2021/015289 A1	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/034680

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 35/744(2015.01)i; A23K 10/16(2016.01)i; A23L 33/135(2016.01)i; A61K 35/747(2015.01)i; A61P 21/00(2006.01)i; C12N 1/20(2006.01)i
FI: A61K35/744 ZNA; A61K35/747; A61P21/00; A23L33/135; A23K10/16; C12N1/20 E

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））

A61K35/744; A23K10/16; A23L33/135; A61K35/747; A61P21/00; C12N1/20

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	１９７１－２０２１年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２１年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２１年

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）

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

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	SUGIMURA, Tetsu et al., Long-term administration of pDC-Stimulative Lactococcus Lactis strain decelerates senescence and prolongs the lifespan of mice, International Immunopharmacology, 2018, Vol. 58, pp.166-172 Abstract、Fig. 4B	1, 2, 9
X	WO 2018/003900 A1 (アサヒグループホールディングス株式会社) 04.01.2018 (2018-01-04) 請求項３及び５、実施例１及び２	1, 5, 6, 9
Y		3, 4, 8
X	JP 2016-084358 A (株式会社明治) 19.05.2016 (2016-05-19) 特許請求の範囲、実施例	1, 5, 6, 9
Y		3, 4, 8
X	WO 2019/230957 A1 (雪印メグミルク株式会社) 05.12.2019 (2019-12-05) 請求の範囲、実施例	1, 5, 6, 9, 10
Y		3, 4, 8
A		7

☑ 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
07.12.2021	21.12.2021

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）
菊池　美香 4U 3954

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

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	飯田健人　ほか，高齢者向けサルコペニア予防ヨーグルトの創製，日本畜産学会大会講演要旨，2016，Vol. 121st，p. 260 全文	1，5，6，9
Y		3，4，8
X	JP 2020-014452 A（株式会社明治）30.01.2020（2020－01－30） 特許請求の範囲、実施例	1，5，6，9
Y		3
A		7
X	JP 2018-538369 A（プロバイオティカル・エッセ・ピ・ア）27.12.2018（2018－12－27） 特許請求の範囲、段落０００３、実施例	1，9
Y		3
X	WO 2018/151225 A1（国立大学法人信州大学）23.08.2018（2018－08－23） 特許請求の範囲、段落０００６、０１２５、実施例	1，9
X	JP 2014-003929 A（雪印メグミルク株式会社）16.01.2014（2014－01－16） 第１０頁	10
Y	JP 2005-225841 A（雪印乳業株式会社）25.08.2005（2005－08－25） 段落００１４、試験例２	3，4，8
Y	WO 2018/174125 A1（雪印メグミルク株式会社）27.09.2018（2018－09－27） 第７頁第３段落	3
P，X	AISO，Chisato et al.，Effects of Lactococcus lactis subsp. cremoris FC-fermented milk on muscle mass and protein metabolism signaling in aged mice，Journal of Physical Fitness and Sports Medicine，2020.11.25，Vol.9，No. 6，p. 305，Abstract No. 130 全文	1，2，9
P，Y	JP 2021-019507 A（雪印メグミルク株式会社）18.02.2021（2021－02－18） 請求項５	3

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/034680

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

国際出願番号
PCT/JP2021/034680

第Ⅲ欄　　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

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

（発明1）　請求項１，３-６，８，９においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明
　文献２（請求項３及び５、実施例１及び２）には、ラクトバチルス・ガセリ、またはその処理物を有効成分として含有する筋肉量増加用組成物が記載されており、請求項１における最初の選択肢であるラクトバチルス・ガセリを選択した発明は、文献1により新規性が欠如しているため、特別な技術的特徴を有しない。しかしながら、請求項1の従属請求項である請求項3は、「ラクトバチルス・ガセリ　ＳＢＴ１８４８株（ＮＩＴＥ　ＢＰ-０３０７５）」という特別な技術的特徴を有しており、請求項４も、請求項3と同一の特別な技術的特徴を有している。したがって、請求項１，３，４においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明を発明1に区分する。
　また、請求項９は請求項1の従属請求項であり、請求項1においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明に対して発明の連関を有しているので、発明1に区分する。
　さらに、請求項５，６，８においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明は請求項1においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明と実質同一又はそれに準ずる関係にあるので、発明1に区分する。

（発明2）請求項１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明
　請求項１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明は、発明1に区分された請求項3においてラクトバチルス・ガセリを選択した発明と、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明は、発明1に区分された請求項1の従属請求項ではない。
　さらに１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明は、発明1に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明は発明1に区分できない。
　そして、１，３，５，９においてストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明は、「ストレプトコッカス・サーモフィルスを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明2に区分する。

（発明3）請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明
　請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明は、発明1又は２に区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ又はストレプトコッカス・サーモフィルスを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明は、発明1又は発明2に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明は発明1及び2のいずれにも区分できない。
　そして、請求項１，３，５，９においてラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明は、「ラクトバチルス・ラムノーサスを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明3に区分する。

（発明４）請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明
　請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明は、発明1-３のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、又はラクトバチルス・ラムノーサスを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明は、発明1-３に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明は発明1-３のいずれにも区分できない。
　そして、請求項１-３，５，９，１０においてラクトコッカス・ラクティスを選択した発明は、「ラクトコッカス・ラクティスを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明４に区分する。

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）

（発明５）請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明
　請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明は、発明1-４のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、またはラクトコッカス・ラクティスを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明は、発明１-４に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明は発明１-４のいずれにも区分できない。
　そして、請求項１，５-１０においてラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明は、「ラクトバチルス・デルブレッキーを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明５に区分する。

（発明６）請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明
　請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明は、発明１-５のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティスまたはラクトバチルス・デルブレッキーを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明は、発明１-５に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明は発明１-５のいずれにも区分できない。
　そして、請求項１，３-６，８-１０においてラクトバチルス・ロイテリを選択した発明は、「ラクトバチルス・ロイテリを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明６に区分する。

（発明７）請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明
　請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明は、発明１-６のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキーまたはラクトバチルス・ロイテリを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明は、発明１-６に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明は発明１-６のいずれにも区分できない。
　そして、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明は、「ラクトバチルス・ムコーサエを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明７に区分する。

（発明８）請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明
　請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明は、発明１-７のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
　また、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ロイテリまたはラクトバチルス・ムコーサエを選択した発明の従属請求項でもない。
　さらに、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明は、発明１-７に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
　したがって、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明は発明１-７のいずれにも区分できない。

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）

そして、請求項１，４，５，９，１０においてラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明は、「ラクトバチルス・ファーメンタムを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明８に区分する。

（発明９）請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明
請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明は、発明１－８のいずれかに区分されたものと、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。
また、請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明は、請求項1においてラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトバチルス・デルブレッキー、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトバチルス・ムコーサエまたはラクトバチルス・ファーメンタムを選択した発明の従属請求項でもない。
さらに、請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明は、発明１－８に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。
したがって、請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明は発明１－８のいずれにも区分できない。
そして、請求項１，４，５，９においてペディオコッカス・アシディラクティシを選択した発明は、「ペディオコッカス・アシディラクティシを有効成分とする筋萎縮予防剤」という特別な技術的特徴を有しているので、発明９に区分する。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。

2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. ☑ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
請求項１－１０において、ラクトバチルス・ガセリ、ストレプトコッカス・サーモフィルス、
ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトコッカス・ラクティス、及び、
ラクトバチルス・デルブレッキーに関する部分

4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2021/034680

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2018/003900 A1	04.01.2018	EP 3479835 A1 Claims 3 and 5, Examples 1 and 2	
JP 2016-084358 A	19.05.2016	（ファミリーなし）	
WO 2019/230957 A1	05.12.2019	（ファミリーなし）	
JP 2020-014452 A	30.01.2020	WO 2020/013307 A1	
JP 2018-538369 A	27.12.2018	WO 2017/085656 A1 Claims, page 1, paragraph 2, Examples EP 3377081 A1 CN 108430484 A KR 10-2018-0094511 A US 2018/0318363 A1	
WO 2018/151225 A1	23.08.2018	（ファミリーなし）	
JP 2014-003929 A	16.01.2014	（ファミリーなし）	
JP 2005-225841 A	25.08.2005	（ファミリーなし）	
WO 2018/174125 A1	27.09.2018	（ファミリーなし）	
JP 2021-019507 A	18.02.2021	WO 2021/015289 A1	