

(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3日(03.03.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/045261 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/82 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01) *A61P 37/06* (2006.01)
A61K 8/86 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61K 31/716 (2006.01) *C12N 15/12* (2006.01)
A61K 31/717 (2006.01) *C12Q 1/6851* (2018.01)
A61K 31/77 (2006.01) *C12Q 1/686* (2018.01)

(72) 発明者: 細井 純一(HOSOI, Junichi); 〒1040061
東京都中央区銀座7丁目5番5号 株式
会社資生堂内 Tokyo (JP).

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

(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/031403

(22) 国際出願日: 2021年8月26日(26.08.2021)

(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 2020-143559 2020年8月27日(27.08.2020) JP

(71) 出願人: 株式会社資生堂 (SHISEIDO
COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒1040061 東京都
中央区銀座7-5-5 Tokyo (JP).

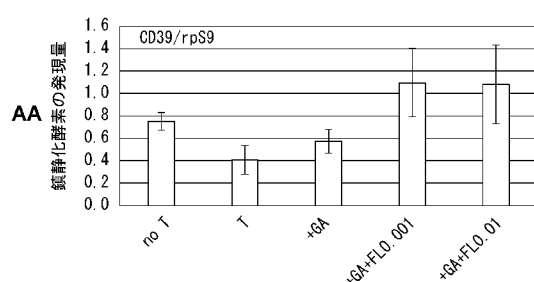
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,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

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS,

(54) Title: INHIBITOR OF DOWNREGULATION OF CD39 GENE

(54) 発明の名称: CD39遺伝子の発現低下の抑制剤

図1



AA Expression level of calming enzyme

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of developing of a drug capable of inhibiting downregulation of a CD39 gene involved in activation of Langerhans cells and modulating an immune response of the skin. The invention is based on the discovery that a composition that includes carboxymethyl beta-glucan or a salt thereof, polyoxyethylene (POE)-polyoxypropylene (POP) random copolymer dimethyl ether, and camellia extract inhibits downregulation of a CD39 gene by testosterone.

(57) 要約: ランゲルハンス細胞の活性化に関与するCD39遺伝子の発現低下を抑制し、皮膚の免疫応答を調節することができる薬剤の開発を課題とする。カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン(POE)・ポリオキシプロピレン(POP)ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含有組成物が、テストステロンによるCD39遺伝子の発現低下を抑制することを見出したことに基づく。

[続葉有]

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：

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

明 細 書

発明の名称： C D 3 9 遺伝子の発現低下の抑制剤

技術分野

[0001] 本発明は、C D 3 9 遺伝子の発現低下を抑制する薬剤に関する。C D 3 9 遺伝子の発現低下の抑制により、皮膚の免疫応答を調節することができる。

背景技術

[0002] 皮膚は生体の最外層に位置する臓器であり、外部からの刺激、例えば紫外線、物理的刺激、化学的刺激及び生物学的侵襲に常に晒されている。皮膚は、表皮、真皮、皮下組織の三層構造をとっている。このうち、最外層の表皮は、角化細胞（ケラチノサイト）、ランゲルハンス細胞、メラノサイトなどにより構成されている。最外層の表皮は、水分の蒸発や異物の侵入、紫外線などの外的環境から人体を防御する機能を有している。外部刺激を受けたケラチノサイトは、刺激応答因子を放出する。放出された刺激応答因子の信号を受けた周囲のケラチノサイトが、炎症性のサイトカインを分泌する。分泌されたサイトカインにより免疫細胞が誘引されて、刺激部位に炎症が引き起こされる（非特許文献1）。また、近年の研究により、ランゲルハンス細胞が、抗原処理、抗原提示能力によって皮膚免疫機能における重要な役割を果たすことが分かってきている。外部からの異物としての抗原が進入すると、ランゲルハンス細胞は、すみやかに抗原と接触して処理し、リンパ節へ移動してT細胞に抗原を提示し、以後の一連の免疫応答反応を惹起する。それにより、ランゲルハンス細胞は、化学的刺激や生物学的侵襲に対抗する機能に寄与することが分かってきている。一方で、ランゲルハンス細胞は、A T P a s eとして働くC D 3 9を発現し、それにより細胞外の刺激応答因子であるA T P量を低下させる能力も有している（非特許文献2）。細胞外A T Pは、炎症過程のシグナルの一つとして認知されている。したがって、ランゲルハンス細胞が細胞外A T Pの分解を介して、炎症の鎮静化に寄与し、紫外線や物理的刺激による皮膚障害を低減すると考えられている。亜鉛欠乏によ

リランゲルハンス細胞の数が減少すると、CD39分子による外部刺激に対する皮膚の応答の鎮静化機能が低下し、刺激応答が過剰となって過剰な炎症を引き起こすことが報告されている（非特許文献3）。

[0003] したがって、ランゲルハンス細胞を増加又は活性化させることにより、皮膚免疫機能の亢進、炎症の低下や日焼けなどの皮膚障害の低減が期待できることから、ランゲルハンス細胞数を指標とした薬剤のスクリーニング方法（特許文献1）、及び特定の植物抽出物からなる医薬又はランゲルハンス細胞減少抑制剤の開発が行われている（特許文献2）。また、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びローズ水によって、ランゲルハンス細胞におけるCD39の遺伝子発現が促進されることが開示されている（特許文献4）。

先行技術文献

特許文献

- [0004] 特許文献1：特開2000-236775号公報
特許文献2：特開2000-239144号公報
特許文献3：特開2004-83541号公報
特許文献4：特表2017-511790号公報

非特許文献

- [0005] 非特許文献1：Holzer AM and Granstein RD, "Role of extracellular adenosine triphosphate in human skin", J Cutan Med Surg 2004, 8 (2): 90-96
非特許文献2：Mizumoto N, et al., "CD 39 is the dominant Langerhans cell-associated ectoTNPase: modulatory roles in inflammation and immune responsiveness", Nat. Med. 2002, 8(4): 358-365
非特許文献3：Kawamura T., et al., "Severe dermatitis with loss of epidermal Langerhans cells in human and mouse zinc deficiency", J Clin Invest 2012, 122 (2): 722-732
非特許文献4：Koivukangas V and Oikarinen, "Suction Blister Model of W

ound Healing” (2003) Methods in Molecular Medicine 78:255-261

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明の課題は、ランゲルハンス細胞の活性化に關与するCD39遺伝子の発現低下を抑制し、皮膚の免疫応答を調節することができる薬剤を開発することにある。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らは、ランゲルハンス細胞を活性化の指標として使用可能なCD39の遺伝子発現を指標として、スクリーニングを行ったところ、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル及びカルボキシメチル・ベータグルカン・ナトリウムが、テストステロン適用によるランゲルハンス細胞におけるCD39の遺伝子発現の低下を抑制することができることを見いだした。さらに、驚くべきことに、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、カルボキシメチル・ベータグルカン・ナトリウム、及びツバキエキスを組み合わせて用いた場合に、テストステロン適用によるCD39遺伝子の発現低下の影響を完全に抑制し、むしろCD39遺伝子発現を増大させることができることを見出し、下記の本発明に至った。

- [0008] したがって、本発明は以下のものに関する：

[1-1] カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含み、CD39遺伝子の発現低下の抑制剤。

[1-2] CD39遺伝子の発現低下の抑制剤の製造のための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる3成分の使用。

[1-3] CD39 遺伝子の発現低下の抑制を必要とする対象において、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる3成分を含む組成物を投与することを含むCD39 遺伝子の発現低下の抑制方法。

[1-4] CD39 遺伝子の発現低下を介して、皮膚炎症の治療又は予防において使用するための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる3成分。

[2] CD39 遺伝子の発現低下が、外部刺激に起因する、項目1-1に記載の抑制剤、項目1-2に記載の使用、項目1-3に記載の方法、項目1-4に記載の3成分。

[3] CD39 遺伝子の発現低下が、テストステロンの増加に起因する、項目1-1に記載の抑制剤、項目1-2に記載の使用、項目1-3に記載の方法、項目1-4に記載の3成分。

[4] 皮膚のランゲルハンス細胞においてCD39 遺伝子発現低下を抑制する、項目1-1、1-2、1-3、1-4、2及び3のいずれか一項に記載の抑制剤、使用、方法、又は3成分。

[5-1] カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含有、皮膚外部刺激応答の鎮静化剤。

[5-2] 皮膚外部刺激応答の鎮静化剤の製造のための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる3成分の使用。

[5-3] 皮膚外部刺激応答の鎮静化を必要とする対象において、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及び

ツバキエキスからなる３成分を含む組成物を投与することを含む、皮膚外部刺激応答の鎮静化方法。

〔５－４〕 皮膚外部刺激応答の鎮静化を介して、皮膚炎症の治療又は予防において使用するための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（ＰＯＥ）／ポリオキシプロピレン（ＰＯＰ）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる３成分。

〔６－１〕 カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（ＰＯＥ）・ポリオキシプロピレン（ＰＯＰ）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを、皮膚免疫応答の鎮静化剤。

〔６－２〕 皮膚免疫応答の鎮静化剤の製造のための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（ＰＯＥ）／ポリオキシプロピレン（ＰＯＰ）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる３成分の使用。

〔６－３〕 皮膚免疫応答の鎮静化を必要とする対象において、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（ＰＯＥ）／ポリオキシプロピレン（ＰＯＰ）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる３成分を含む組成物を投与することを含む皮膚免疫応答の鎮静化方法。

〔６－４〕 皮膚免疫応答の鎮静化を介して、皮膚炎症の治療又は予防において使用するための、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（ＰＯＥ）／ポリオキシプロピレン（ＰＯＰ）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる３成分。

〔７〕 テストステロン及び候補物質の存在下でランゲルハンス細胞を培養する工程、

ＣＤ３９遺伝子の発現を測定する工程、及び

ＣＤ３９遺伝子の発現量に基づき、候補物質のＣＤ３９発現促進作用を決定する工程

を含む、ＣＤ３９発現低下の抑制剤のスクリーニング方法。

[8] C D 3 9 発現低下の抑制剤が、皮膚外部刺激応答の鎮静化剤である、項目 7 に記載の方法。

[9] C D 3 9 発現低下の抑制剤が、皮膚免疫応答鎮静化剤である、項目 7 に記載の方法。

発明の効果

[0009] 本発明は、C D 3 9 遺伝子の発現低下の抑制、C D 3 9 遺伝子の発現増加、外部刺激による皮膚応答鎮静化及び皮膚免疫応答鎮静化のうちの少なくとも 1 以上の効果を発揮することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図 1 は、培養単球細胞に対してテストステロンを適用した場合（T）に、対照（no T）と比較してC D 3 9 遺伝子の発現低下がみられる一方、予めCM－グルカン（G）及びポリオキシエチレン（POE）14／ポリオキシプロピレン（POP）7ランダム共重合体ジメチルエーテル（A）を適用していた場合には（+GA）、C D 3 9 遺伝子の発現低下が抑制されることを示すグラフである。図 1 のグラフは、さらに、CM－グルカン（G）及びポリオキシエチレン（POE）14／ポリオキシプロピレン（POP）7ランダム共重合体ジメチルエーテル（A）に加えてツバキエキス（花：F、葉：L）を適用していた場合には（+GA+FL）、C D 3 9 遺伝子の発現が増加することを示す。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明は、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスからなる 3 成分を含む、C D 3 9 遺伝子発現低下の抑制剤、皮膚外部刺激応答鎮静化剤、及び皮膚免疫応答鎮静化剤に関する。

[0012] C D 3 9 は、エクトヌクレオシド三リン酸塩ジホスホヒドロラーゼー 1（ENTPD1）とも呼ばれるタンパク質を指し、ATP／UTPおよびADP／UDPを、それぞれ、AMPなどのヌクレオシドに加水分解する酵素で

ある。CD39は、2つの膜貫通ドメインを有する膜タンパク質であり、ランゲルハンス細胞の他、T細胞サブセット、B細胞、樹状細胞などで発現が認められる。CD39は細胞外のATPを分解する作用を有し、かかる作用により、CD39を発現する細胞が、炎症を鎮静化する役割を有することが分かっている。

[0013] CD39の酵素活性により分解されるATPは、細胞内ではエネルギーの媒体として使用されているが、細胞外では情報伝達物質としての役割を果たす物質である。例えば、ATPは、神経系において神経伝達物質として作用することが知られている。一方で皮膚においては、機械的刺激、化学的刺激や紫外線刺激に応答して、又は細胞が破壊されることによりATPが細胞外に放出され、近傍の免疫細胞に作用することによりサイトカインやケモカイン類の産生を促される。それにより、免疫細胞が誘引されることから、細胞外ATPは、皮膚における免疫、アレルギー、や炎症反応に寄与すると考えられている（非特許文献1）。したがって、CD39を発現する細胞が、細胞外のATPを分解することで、皮膚、特に表皮の外部刺激に対する過剰な応答や、過剰な免疫応答を鎮静化することができる

[0014] 皮膚においては、CD39を発現する細胞（以下、CD39陽性細胞ともいう）としては、メラノサイトやランゲルハンス細胞が挙げられる。ランゲルハンス細胞は、骨髄由来の樹状細胞であり、有棘層の中から上層に存在する遊走性を有する細胞である。ランゲルハンス細胞は、CD39の他に、CD1a等のマーカーを発現する細胞である。ランゲルハンス細胞の機能として、外界から侵入した異物を捕捉・認識してT細胞へ提示する機能、癌細胞を認識する機能、免疫寛容を誘導する機能、細胞外のATPを分解する機能などが挙げられ、ランゲルハンス細胞は主に皮膚における免疫応答反応に関与する。ランゲルハンス細胞の有する多くの機能のうち、CD39を介して細胞外ATPを分解する機能が、皮膚、特に表皮における外部刺激に対する過剰な応答や過剰な免疫応答の鎮静化を可能にする（FRAGRANCE JOURNAL 2018-1, 16-20）。男性ホルモンであるテストステロンは、外部刺激に応じて皮膚

において産生されることが知られている(Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 137 (2013) 107-123)。皮膚において産生されたテストステロンの作用により、皮膚中のランゲルハンス細胞数が低減することが報告されている(The Journal of Investigative Dermatology (1989) vol. 92, no.1, 86-89)。また、一般的にテストステロンは免疫系に対し抑制的に作用する(Cellular Immunology 294 (2015)87-94)。その一方で、本発明者らにより、テストステロンはランゲルハンス細胞においてCD39の発現を低下させることが示されている。それにより、テストステロンは細胞外ATP増大を介して過剰免疫を引き起こすことが示唆される。そうするとテストステロンは皮膚において免疫の抑制と過剰免疫の誘導という相反する作用を引き起こし、皮膚免疫を攪乱する。本発明のCD39遺伝子の発現低下の抑制剤は、CD39遺伝子を発現する細胞、特にランゲルハンス細胞において、CD39遺伝子の発現低下を抑制させる薬剤のことをいう。本発明におけるCD39遺伝子の発現低下は、任意の原因であってもよいが、一例として外部刺激に応じて皮膚で生じたテストステロンに起因して生じうる。

[0015] したがって、本発明のCD39遺伝子の発現低下の抑制剤は、CD39遺伝子発現促進剤ということもできる。CD39遺伝子の発現低下の抑制剤は、外部刺激応答鎮静化剤として使用することもできる。本発明の外部刺激応答鎮静化剤によって、皮膚、特に表皮における外部刺激により生じる応答が鎮静化される。皮膚の外部刺激としては、例えば紫外線、機械的刺激、熱刺激、冷刺激、化学的刺激及び生物学的侵襲が挙げられる。これらの外部刺激を皮膚が受けると、表皮のケラチノサイトが細胞外に刺激応答因子、特にATPを放出し、上で説明したとおり、細胞外ATPが情報伝達物質として作用し、免疫、アレルギーや炎症反応が生じる。機械的刺激として、ひっかき、こすり、虫刺されなどが挙げられ、例えば搔傷、裂傷、創傷、発赤、腫れなどが生じる。熱刺激や冷刺激の結果として、やけど、しもやけ、あかぎれ、凍傷、凍瘡などが生じる。紫外線刺激の結果として日焼け、熱傷などが生じる。化学的刺激は、皮膚に対して刺激性を有する化学物質により誘発され

、例えば酸やアルカリ、有機溶媒などにより誘発され、結果として湿疹、かぶれ、皮膚炎などが生じる。生物学的侵襲としては、細菌感染などが挙げられる。外部刺激によるCD39遺伝子発現が低下することで、過剰な免疫応答が生じる。過剰な免疫応答は、皮膚老化にも関与する。したがって、CD39遺伝子の発現低下の抑制剤は、皮膚老化の抑制剤ともいうことができる。

[0016] 本発明の皮膚外部刺激応答鎮静化剤は、これらの外部刺激による皮膚、特に表皮における応答、例えば炎症、又は炎症に起因するかゆみ、発赤、疼痛、熱感、腫脹などを緩和又は軽減することができ、結果として上に挙げられた症状を緩和、軽減又は治療することが可能になる。したがって、本発明の皮膚外部刺激応答鎮静化剤は、上記の症状の緩和、治療、又は予防剤であってもよい。また、皮膚外部刺激応答を鎮静化する結果として、皮膚における免疫応答を鎮静化できることから、本発明の皮膚外部刺激応答鎮静化剤は、皮膚免疫応答鎮静化剤であってもよい。

[0017] その一方で、本発明の皮膚外部刺激応答鎮静化剤は、皮膚における刺激応答のカスケードを直接的に抑制する訳ではなく、ATPase機能を有するCD39遺伝子発現の促進を介して、間接的に刺激応答を緩和すると考えられている。したがって、外部刺激応答鎮静化剤は、外部刺激に対する過剰な応答を鎮静化するという、皮膚が通常有している機能を増強するものであり、刺激応答鎮静化機能増強剤ということもできる。外部刺激応答鎮静化機能増強剤は、炎症が起きている部位に直接投与するよりも、炎症が生じていない平常時に用いることにより、外部刺激があった際の炎症応答、例えばかゆみ、発赤、疼痛、熱感、腫脹、かぶれを抑制するように機能することができる。したがって、外部刺激応答鎮静化剤は、医薬品に配合されてもよいが、日常的に使用することが意図される化粧品に配合され、外部刺激に対して予防的に使用されることが好ましい。本発明の皮膚外部刺激応答鎮静化剤が、医薬品に配合される場合であれば、抗炎症作用を有する他の薬剤と共に配合されることで、そのような薬剤の抗炎症作用に対し補助的に作用又は増強す

ることができる。

[0018] 本発明の皮膚免疫応答鎮静化剤は、皮膚における免疫応答を鎮静化させる薬剤であり、特にランゲルハンス細胞の減少や、細胞外ATPの増加に起因する免疫応答、特に過剰な炎症の鎮静化に寄与することができる。過剰な炎症としては、慢性皮膚炎、例えばアトピー性皮膚炎、乾癬、紅皮症など、急性皮膚炎、例えばかぶれなどの接触性皮膚炎や脂漏性皮膚炎、日光皮膚炎などが挙げられる。本発明の皮膚免疫応答鎮静化剤を配合した医薬品や、医薬部外品、又は化粧料を使用することにより、皮膚が各種の外部刺激を受けたときに生じる発赤やかゆみといった過剰な反応がおこりにくくなり、ひいては炎症性皮膚疾患の発症の治療又は予防につながる。特にアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患では、かゆみを伴う罹患部位を掻くことにより症状が悪化することから、過剰な炎症反応を生じにくくさせることは、治療に有用である。

[0019] 本発明で用いられるカルボキシメチル（CM）・ベータグルカンとは、通常、不溶性のベータグルカンをカルボキシメチル化することにより、水溶性に改変したベータグルカンである。カルボキシメチル・ベータグルカンは、任意の植物、菌類、細菌に由来のベータグルカンをもとに又は合成により製造されてもよい。天然のベータグルカンは、例えばアガリクス、霊芝、スエヒロタケなどのキノコ類、や酵母から生成されてもよい。カルボキシメチル・ベータグルカンの重量平均分子量は、その由来に応じて例えば、1,000～5,000,000ダルトンであり、酵母を原料としたカルボキシメチル・ベータグルカンの場合、上限は5,000,000ダルトン、より好ましくは3,000,000ダルトン、さらに好ましくは2,000,000ダルトンであり、下限は、10,000ダルトン、より好ましくは100,000ダルトン、さらに好ましくは500,000ダルトンである。カルボキシメチル・ベータグルカンは、任意の塩の形態であってよく、例えばナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩、トリエタノールアミン塩などであってよい。市販されているカルボキシメチル・ベータグルカンとして、カルボキシ

メチル・ベータグルカン・ナトリウムであるCM-グルカン (Mibelle Biochemistry) 等を用いることができるが、それに限定されるものではない。その配合量は、配合する化粧品や医薬品の剤形によって異なりうるが、十分な効力を発揮する観点から例えば0.0001質量%以上、好ましくは0.0002質量%以上、より好ましくは0.002質量%以上で配合される。一方で、溶解性の観点から、0.5質量%以下、より好ましくは0.1質量%以下、さらに好ましくは0.01質量%以下で用いられる。

[0020] 本発明で用いられるポリオキシエチレン (POE) /ポリオキシプロピレン (POP) ランダム共重合体ジメチルエーテルに用いられるポリオキシプロピレン (POP) の平均付加モル数は2~50、ポリオキシエチレン (POE) の平均付加モル数は8~100であり、ポリオキシエチレン (POE) とポリオキシプロピレン (POP) の平均付加モル数の合計に対するポリオキシエチレン (POE) の平均付加モル数の割合 $[POE / (POE + POP)]$ は0.5以上であることが好ましい。ここで、POE及びPOPは、それぞれポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレンの略であり、以下、このように略して記載することがある。また、ポリオキシエチレン (POE) /ポリオキシプロピレン (POP) ランダム共重合体ジメチルエーテルにおいて用いられるポリオキシエチレンとポリオキシプロピレンのモル比は、所望の作用を発揮するポリマーを取得する観点から、1:5~5:1、好ましくは1:3~3:1、さらに好ましくは1:2~2:1の範囲である。例えばPOE:POPの比が2:1のものをを用いることができる。ポリオキシプロピレン・ポリオキシエチレンランダム共重合体ジアルキルエーテルは公知の方法で製造することができる (特許文献3)。例えば、水酸基を有している化合物にエチレンオキシドおよびプロピレンオキシドを付加重合した後、ハロゲン化アルキルをアルカリ触媒の存在下にエーテル反応させることによって得られる。その配合量は、配合する化粧品や医薬品の剤形によって異なりうるが、十分な効力を発揮する観点から、例えば0.01質量%以上、好ましくは0.05質量%以上、より好ましくは0.1質量%以上で配合さ

れる。一方で、溶解性の観点から、3質量%以下、より好ましくは1質量%以下、さらに好ましくは0.5質量%以下で用いられる。なお、本発明で用いられる、ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンランダム共重合体ジアルキルエーテルは、単独またはその他の成分との組み合わせにより保湿効果などが知られているが、ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンランダム共重合体ジアルキルエーテルのCD39遺伝子発現への効果は知られていない。

[0021] 本発明で用いられるツバキエキスは、ツバキ科ツバキ属の植物体から得られるエキスをいう。ツバキ科ツバキ属の植物として、ヤブツバキ (*Camellia japonica*) が挙げられ、またその近縁種、例えばユキツバキ (*Camellia rusticana*)、サザンカ (*Camellia sasanqua*) 等や交配種が挙げられる。ヤブツバキは日本原産であり、その植物体、例えば花、果実、葉、枝、樹木、種子からエキスを抽出することができる。抽出溶媒としては、有機溶媒又は水性溶媒を使用することができ、一例としてブチレングリコール、プロピレングリコール、エタノール、グリセリンなどのアルコール、ジエチレングリコールモノエチルエーテルなどのエーテル、酢酸エチル、酢酸ブチルなどのエステル、又は水、或いはそれらの任意の混合液を使用することができる。一例として、ツバキ花エキスは、ツバキの花を、ブチレングリコールの50%水溶液で抽出して得ることができる。ツバキ葉エキスは、ツバキの葉を、ブチレングリコールの50%水溶液で抽出して得ることができる。配合量としては、十分な効力を発揮する観点から、例えば0.0001% (v/v) 以上、好ましくは0.0002% (v/v) 以上、より好ましくは0.0005% (v/v) 以上で配合される。一方で、安定性・安全性の観点から、5% (v/v) 以下、より好ましくは3% (v/v) 以下、さらに好ましくは1% (v/v) 以下で用いられる。

[0022] 本発明で用いられるカルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン (POE) / ポリオキシプロピレン (POP) ランダム共重合体ジメチルエーテル、ツバキエキスの配合比は、カルボキシメチル・ベ-

タグルカン又はその塩の2%水溶液の配合量を1とした場合に、1:1~100:1~100であり、好ましくは1:1~20:1~20、さらに好ましくは1:10:10である。本発明で用いられるカルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスの3成分は、1つの製剤に配合されてもよいし、複数の製剤に配合されて、逐次投与されてもよい。

[0023] 本発明のCD39遺伝子の発現低下の抑制剤、外部刺激応答鎮静化剤、及び皮膚免疫応答鎮静化剤は、それぞれ化粧料、医薬品又は医薬部外品に配合されてもよい。これらの薬剤は、経口、又は非経口、例えば経皮投与されてもよい。経皮投与される場合、皮膚外用剤に剤形することができる。皮膚外用剤は、皮膚に適用可能であれば特に限定されず、例えば、溶液状、乳化状、固形状、半固形状、粉末状、粉末分散状、水-油二層分離状、水-油-粉末三層分離状、軟膏状、ゲル状、エアゾール状、ムース状、スティック状等、任意の剤形が適用できる。皮膚外用剤に剤形される場合には、皮膚外用剤に通常用いられる基剤、及び賦形剤、例えば保存剤、乳化剤、pH調整剤などが用いられてもよく、さらに抗炎症性の成分、例えばステロイド、抗ヒスタミン剤などがさらに添加されてもよい。化粧料に配合する場合、化粧水、乳液、美容液、クリーム、ローション、パック、エッセンス、ジェル等の顔用又は体用の化粧料や、ファンデーション、化粧下地、コンシーラー等のメーキャップ化粧料、さらには浴用剤などに配合することができる。本発明の成分を含む化粧品を用いることにより、炎症反応を緩和又は予防することができることから、発赤、かゆみ、かぶれが生じにくい健康な肌の維持を可能にする。

[0024] 本発明は、また、本発明のCD39遺伝子の発現低下の抑制剤、外部刺激応答鎮静化剤、及び皮膚免疫応答鎮静化剤、すなわち、カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）／ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスの

からなる３成分を投与することを含む、化粧方法、外部刺激応答鎮静化方法、健常肌維持方法、炎症治療方法にも関してもよい。これらの方法において、本発明の３成分の投与は、全ての成分を配合された皮膚外用剤又は化粧料を使用することにより行われてもよいし、個別の成分を配合された皮膚外用剤又は化粧料を連続して使用することにより行われてもよい。

[0025] 本発明の別の態様では、本発明は、ＣＤ３９遺伝子の発現低下の抑制剤のスクリーニング方法にも関する。当該スクリーニング方法は、以下の：

テストステロン及び候補物質の存在下でＣＤ３９陽性細胞を培養する工程、

ＣＤ３９遺伝子の発現を測定する工程、及び

ＣＤ３９遺伝子の発現量に基づき、候補物質のＣＤ３９遺伝子の発現低下の抑制作用を決定する工程

を含む。テストステロンは、候補物質の存在下で培養されたＣＤ３９陽性細胞の培養物中に添加又は培地置換により加えられてもよい。テストステロンは、ＣＤ３９陽性細胞においてＣＤ３９遺伝子の発現低下を誘導することから、ＣＤ３９遺伝子発現量を測定することで、候補物質のＣＤ３９遺伝子の発現低下に対する抑制作用を決定することができる。ＣＤ３９遺伝子発現量は、既知の手法によりｍＲＮＡ量を測定してもよいし、既知の手法により発現したタンパク質量を測定してもよい。ＣＤ３９遺伝子の発現低下に対する抑制作用は、ＣＤ３９遺伝子の発現促進作用ということもできる。こうしてスクリーニングされたＣＤ３９遺伝子の発現低下の抑制剤は、皮膚外部刺激応答の鎮静化剤又は皮膚免疫応答鎮静化剤ともいうことができる。ＣＤ３９陽性細胞としては、ランゲルハンス細胞又はランゲルハンス細胞の代替細胞、例えばＴＨＰ－１細胞を使用することができる。

[0026] 本明細書において言及される全ての文献はその全体が引用により本明細書に取り込まれる。

[0027] 以下に説明する本発明の実施例は例示のみを目的とし、本発明の技術的範囲を限定するものではない。本発明の技術的範囲は特許請求の範囲の記載によってのみ限定される。本発明の趣旨を逸脱しないことを条件として、本発

明の変更、例えば、本発明の構成要件の追加、削除及び置換を行うことができる。

実施例

[0028] 1×10^5 個のTHP-1（ヒト単球細胞株、Virginia USA）細胞を、10%胎児ウシ血清（FCS; Santa Ana, CA）、非必須アミノ酸及び必須アミノ酸（Nacalai Tesque, Japan）を添加した2 mlのRPMI 1640培地（Nacalai Tesque, Japan）中で12ウェルプレートの各ウェルに播種し、そして24時間培養した。10 μ Lのリン酸緩衝生理食塩水（PBS）又はPBSで希釈された10 μ Lの試験物質を培養培地に添加した。37℃で1時間インキュベート後に、10 μ LのEtOH又は10 μ Lのエタノールに溶解したテストステロン（TST: SIGMA, St. Louise, MO）を加えた。各試験物質の最終濃度は、下記のとおりであった：

群A（noT）：PBS、EtOHのみ

群B（T）：1 ng/mlテストステロン（TST）

群C（+GA）：0.01% カルボキシメチルベータグルカン（CM-Gulucan、Mibelle Biochemistry社）、1 ng/mL TST、及び0.1%ポリオキシエチレン（POE）14/ポリオキシプロピレン（POP）7ランダム共重合体ジメチルエーテル

群D（+GA+FL0.001）：0.01% カルボキシメチルベータグルカン（CM-Gulucan、Mibelle Biochemistry社）及び1 ng/mL TST、0.1%ポリオキシエチレン（POE）14/ポリオキシプロピレン（POP）7ランダム共重合体ジメチルエーテル、0.001%ツバキ花エキス（東亜化成（株））及び0.001%ツバキ葉エキス（東亜化成（株））

群E（+GA+FL0.01）：0.01% カルボキシメチルベータグルカン及び1 ng/mL TST、0.1%ポリオキシエチレン（POE）14/ポリオキシプロピレン（POP）7ランダム共重合体ジメチルエーテル、0.01%ツバキ花エキス及び0.01%ツバキ葉エキス

[0029] さらに24時間の培養後に、RNeasy micro plus kit（Qiagen, Netherland

s)を用いてRNAを抽出した。GoScript reverse transcriptase kit (Promega, Japan)でcDNAを合成した。GoTaq qPCR master mix (Promega, Japan)及びLyteCycler 480II (Roche, Switzerland)を用いてRT-PCRを行った。使用したプライマーは下記の通りであった：

[表1]

遺伝子名	配列
CD39	5' -TGGAATCCTGAACCCACTTCT-3' (配列番号1)
	5' -CAGCCAGATGCAATCAATGCC-3' (配列番号2)
ribosomal protein S9	5' -TGCTGACGCTTGATGAGAAG-3' (配列番号3)
	5' -CGCAGAGAAGTCGATGTG-3' (配列番号4)

[0030] CD39の発現値をリボソームタンパク質S9 (rpS9)で正規化し、ANOVA及びポストホックTukey検定で統計的有意差を決定した。結果を図1に示す。

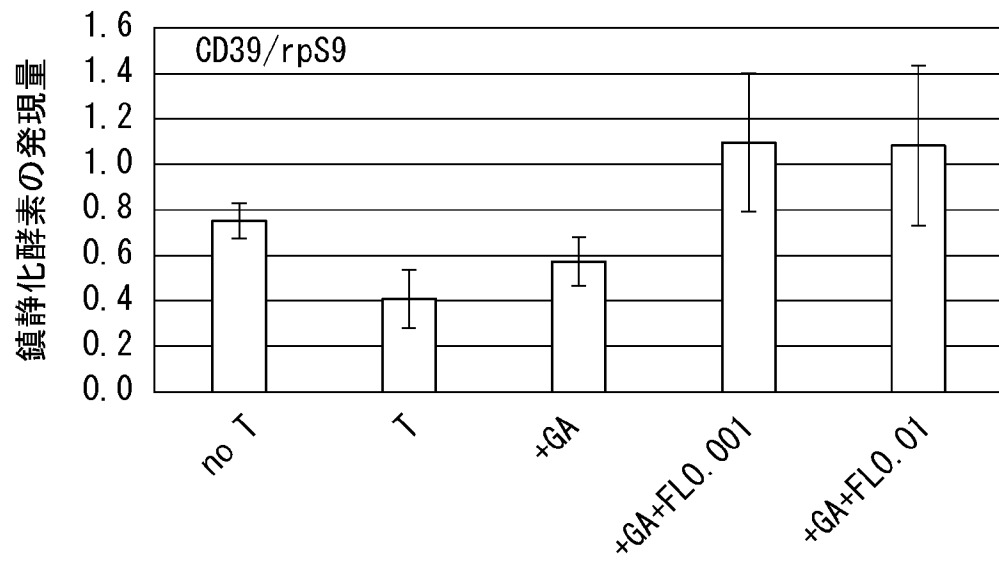
請求の範囲

- [請求項1] カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含む、CD39遺伝子の発現低下の抑制剤。
- [請求項2] CD39遺伝子の発現低下が、外部刺激に起因する、請求項1に記載の抑制剤。
- [請求項3] CD39遺伝子の発現低下が、テストステロンの増加に起因する、請求項1に記載の抑制剤。
- [請求項4] 皮膚のランゲルハンス細胞においてCD39遺伝子発現低下を抑制する、請求項1～3のいずれか一項に記載の抑制剤。
- [請求項5] カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含む、皮膚外部刺激応答の鎮静化剤。
- [請求項6] カルボキシメチル・ベータグルカン又はその塩、ポリオキシエチレン（POE）・ポリオキシプロピレン（POP）ランダム共重合体ジメチルエーテル、及びツバキエキスを含む、皮膚免疫応答の鎮静化剤。
- [請求項7] テストステロン及び候補物質の存在下でランゲルハンス細胞を培養する工程、
CD39遺伝子の発現を測定する工程、及び
CD39遺伝子の発現量に基づき、候補物質のCD39発現促進作用を決定する工程
を含む、CD39発現低下の抑制剤のスクリーニング方法。
- [請求項8] CD39発現低下の抑制剤が、皮膚外部刺激応答の鎮静化剤である、請求項7に記載の方法。
- [請求項9] CD39発現低下の抑制剤が、皮膚免疫応答鎮静化剤である、請求

項 7 に記載の方法。

[図1]

図1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/031403

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/82(2006.01)i; **A61K 8/73**(2006.01)i; **A61K 8/86**(2006.01)i; **A61K 8/9789**(2017.01)i; **A61K 31/716**(2006.01)i; **A61K 31/717**(2006.01)i; **A61K 31/77**(2006.01)i; **A61P 17/00**(2006.01)i; **A61P 37/06**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **A61Q 19/00**(2006.01)i; **C12N 15/12**(2006.01)i; **C12Q 1/6851**(2018.01)i; **C12Q 1/686**(2018.01)i

FI: A61K36/82; A61P43/00 111; A61P17/00; A61P37/06; A61K31/717; A61P43/00 121; A61K31/77; A61Q19/00; A61K8/73; A61K8/86; A61K8/9789; C12Q1/6851 Z; C12Q1/686 Z; C12N15/12 ZNA; A61K31/716

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K36/82; A61K8/73; A61K8/86; A61K8/9789; A61K31/716; A61K31/717; A61K31/77; A61P17/00; A61P37/06; A61P43/00; A61Q19/00; C12N15/12; C12Q1/6851; C12Q1/686

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); CAlus/REGISTRY/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.
Y	JP 2017-511790 A (SHISEIDO CO., LTD.) 27 April 2017 (2017-04-27) claims 1-3, paragraphs [0015]-[0018], examples	1-6
A		7-9
Y	JP 2015-134737 A (KYOEI CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 27 July 2015 (2015-07-27) claim 1, examples	1-6
Y	JP 2009-155317 A (BHN KK) 16 July 2009 (2009-07-16) claims 1-8, examples	1-6
A	JP 2000-236775 A (SHISEIDO CO., LTD.) 05 September 2000 (2000-09-05) claims 1-11	7-9

☒ 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

20 October 2021

Date of mailing of the international search report

02 November 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/JP2021/031403

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOYAMA, Yoh-ichi et al. Effect of Systemic and Topical Application of Testosterone Propionate on the Density of Epidermal Langerhans Cells in the Mouse. THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY. 1989, vol. 92, no. 1, pp. 86-90 abstract	7-9
A	細井純一. ヒトカ*もつ力を利用したスキンケア. FRAGRANCE JOURNAL. 2018, vol. 46, no. 1, pp. 16-20, (HOSOI, Junichi. An affectionate approach of skin care that takes advantage of the defense power.) entire text, all drawings	7-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/031403

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/031403

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2017-511790	A	27 April 2017	US 2017/0014444 A1 claims 1-3, paragraphs [0031]- [0034], examples WO 2015/136718 A1 EP 2941254 B1 CN 104039337 A KR 10-2016-0128990 A	
JP	2015-134737	A	27 July 2015	(Family: none)	
JP	2009-155317	A	16 July 2009	(Family: none)	
JP	2000-236775	A	05 September 2000	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 36/82(2006.01)i; A61K 8/73(2006.01)i; A61K 8/86(2006.01)i; A61K 8/9789(2017.01)i; A61K 31/716(2006.01)i; A61K 31/717(2006.01)i; A61K 31/77(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i; A61P 37/06(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; A61Q 19/00(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C12Q 1/6851(2018.01)i; C12Q 1/686(2018.01)i FI: A61K36/82; A61P43/00 111; A61P17/00; A61P37/06; A61K31/717; A61P43/00 121; A61K31/77; A61Q19/00; A61K8/73; A61K8/86; A61K8/9789; C12Q1/6851 Z; C12Q1/686 Z; C12N15/12 ZNA; A61K31/716																				
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）） A61K36/82; A61K8/73; A61K8/86; A61K8/9789; A61K31/716; A61K31/717; A61K31/77; A61P17/00; A61P37/06; A61P43/00; A61Q19/00; C12N15/12; C12Q1/6851; C12Q1/686 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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table> 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); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2021年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2021年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2021年																			
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2017-511790 A（株式会社資生堂）27.04.2017（2017-04-27） 請求項1-3, 段落0015-0018, 実施例</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td></td> <td>7-9</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2015-134737 A（共栄化学工業株式会社）27.07.2015（2015-07-27） 請求項1, 実施例</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2009-155317 A（ビーエイチエヌ株式会社）16.07.2009（2009-07-16） 請求項1-8, 実施例</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2000-236775 A（株式会社資生堂）05.09.2000（2000-09-05） 請求項1-11</td> <td>7-9</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	Y	JP 2017-511790 A（株式会社資生堂）27.04.2017（2017-04-27） 請求項1-3, 段落0015-0018, 実施例	1-6	A		7-9	Y	JP 2015-134737 A（共栄化学工業株式会社）27.07.2015（2015-07-27） 請求項1, 実施例	1-6	Y	JP 2009-155317 A（ビーエイチエヌ株式会社）16.07.2009（2009-07-16） 請求項1-8, 実施例	1-6	A	JP 2000-236775 A（株式会社資生堂）05.09.2000（2000-09-05） 請求項1-11	7-9
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																		
Y	JP 2017-511790 A（株式会社資生堂）27.04.2017（2017-04-27） 請求項1-3, 段落0015-0018, 実施例	1-6																		
A		7-9																		
Y	JP 2015-134737 A（共栄化学工業株式会社）27.07.2015（2015-07-27） 請求項1, 実施例	1-6																		
Y	JP 2009-155317 A（ビーエイチエヌ株式会社）16.07.2009（2009-07-16） 請求項1-8, 実施例	1-6																		
A	JP 2000-236775 A（株式会社資生堂）05.09.2000（2000-09-05） 請求項1-11	7-9																		
☒ 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。 <table border="0"> <tr> <td> * 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な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 </td> <td> “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “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 </td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な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																
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な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 20.10.2021		国際調査報告の発送日 02.11.2021																		
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） 吉川 阿佳里 4U 1581 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
A	KOYAMA, Yoh-ichi et al., Effect of Systemic and Topical Application of Testosterone Propionate on the Density of Epidermal Langerhans Cells in the Mouse, THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 1989, Vol. 92, No. 1, p. 86-90 要約	7-9
A	細井純一, ヒトがもつ力を利用したスキンケア, FRAGRANCE JOURNAL, 2018, Vol. 46, No. 1, p. 16-20 全文, 全図	7-9

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

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
 ☒ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
 ☐ 紙形式又はイメージファイル形式
- b. ☐ 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
 ☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
 ☐ 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/031403

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2017-511790	A	27.04.2017	US 2017/0014444 A1 請求項1-3, 段落 0031-0034, 実施例 WO 2015/136718 A1 EP 2941254 B1 CN 104039337 A KR 10-2016-0128990 A	
JP	2015-134737	A	27.07.2015	(ファミリーなし)	
JP	2009-155317	A	16.07.2009	(ファミリーなし)	
JP	2000-236775	A	05.09.2000	(ファミリーなし)	