

(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
2020年10月22日(22.10.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/213745 A1

(51) 国際特許分類:

A45D 44/22 (2006.01) C12Q 1/06 (2006.01)
A61H 7/00 (2006.01) G01N 33/15 (2006.01)
A61H 15/00 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/017099

(22) 国際出願日: 2020年4月20日(20.04.2020)

(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 2019-080490 2019年4月19日(19.04.2019) JP
特願 2019-108921 2019年6月11日(11.06.2019) JP

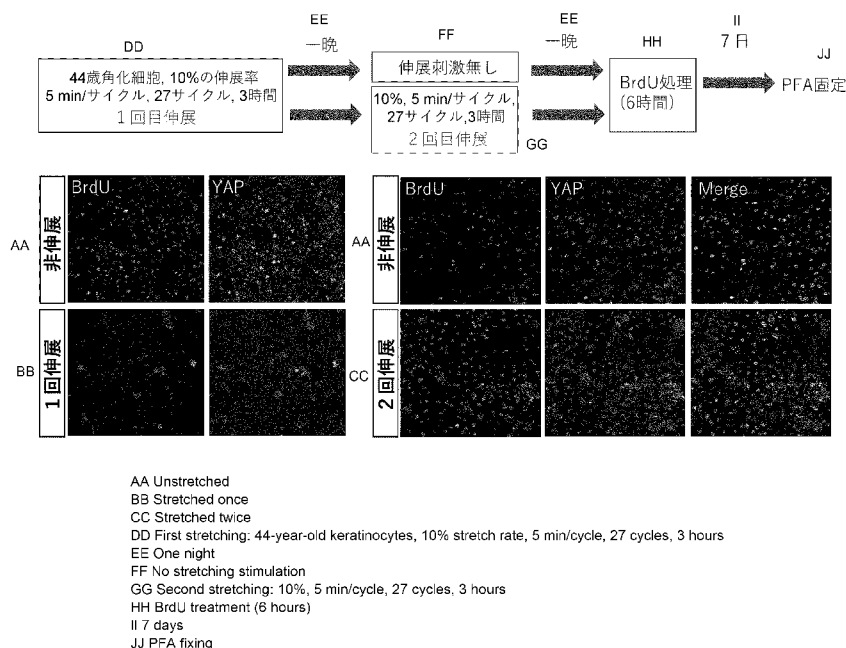
(71) 出願人: 株式会社 資生堂 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒1040061 東京都中央区銀座7-5-5 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 井上 大悟 (INOUE, Daigo); 〒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). 堀場 聡 (HORIBA, Satoshi); 〒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). 曾我部 敦 (SOGABE, Atsushi); 〒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). 高垣 知輝 (TAKAGAKI, Kazuki); 〒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). 那須 美恵子 (NASU, Mieko); 〒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). 大谷 毅 (OHTANI, Tsuyoshi); 〒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). 内山 智哉 (UCHIYAMA, Tomoya); 〒1040061 東京都中央区銀座7丁目5番5号 株式会社資生堂内

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR PREVENTING SKIN AGING

(54) 発明の名称: 皮膚抗老化のための方法および装置

図9



(57) Abstract: [Problem] To provide a method and a device for preventing skin aging. [Solution] A method and a device for preventing skin aging, the method and the device involving physical stimulation of targeted skin at a frequency of no greater than 60 Hz. The present invention provides a method and a device that have skin aging prevention effects that are favorable for shallow layers such as the epidermis.

Tokyo (JP). 高橋 明子 (TAKAHASHI, Akiko);
〒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.);
〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目 5
番 1 号 虎ノ門 3 7 森ビル 青和特許
法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, 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, 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:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 【課題】皮膚抗老化のための方法および装置を提供する。【解決手段】60 Hz 以下の振動数で行う物理刺激を対象の皮膚に与えることを含む皮膚抗老化のための方法および装置に関する。本発明によれば、表皮といった浅い層に好ましい皮膚抗老化作用を奏する方法および装置が提供される。

明 細 書

発明の名称：皮膚抗老化のための方法および装置

技術分野

[0001] 本発明は皮膚抗老化のための方法および装置、特に、60 Hz以下の振動数で行う物理刺激を対象の皮膚に与えることを含む皮膚抗老化のための方法および装置に関する。

背景技術

[0002] 皮膚老化は、加齢、ホルモン、代謝等の内部要因と、紫外線、乾燥等の外部要因を含め様々な因子が介在する皮膚の変化である。皮膚老化は、例えば、しみ、しわ、たるみ、しぼみなど外観から判断できる場合もあるが、例えば、皮膚内部組織の構造や構成成分の変化といった目に見えない老化が進行している場合もある。このような老化は気付かないうちに進行していることが多いため予防策をとりづらい。皮膚老化を予防・改善するための適切な対策をとることが重要である。

[0003] ここで、現在、種々な美容方法が存在する。例えば、特許文献1は、角質物質の変位を引き起こす電気活性材料アクチュエータを開示する。特許文献2は、皮膚を伸展させた状態で光照射を行う光照射美容器具を開示する。特許文献3は、皮下脂肪細胞を伸展させるストレッチと、脂肪蓄積抑制成分及び／又は脂肪細胞分化抑制成分を配合した皮膚外用剤を組み合わせた皮下脂肪を減少させる瘦身方法を開示する。特許文献4は、カラス麦属植物の抽出物、又はオランダビユ属植物の抽出物を含有する伸展刺激介在コラーゲン分解酵素生成抑制剤を開示する。特許文献5は、伸展ストレスに起因するシワ改善剤又はNF- κ B活性抑制剤を開示する。非特許文献1では、65～85 Hzでの機械的刺激を推奨している。また、非特許文献1に記載の装置に関連する特許文献6では、約65～約120 Hzといった周波数で皮膚を刺激する末端エフェクターを開示する。

[0004] しかし、皮膚表面より刺激を与える場合は表層部分である表皮にまず刺激

が加わる為、表皮にダメージが加わるという問題がある。また、表皮直下には構造的に非常に特徴的な基底膜も存在し（アンジュレーション構造）機械刺激を受容する可能性が高いと考えられる。実際に先行文献によって物理刺激を与えることで表層が大きく変化することも報告されている（非特許文献2）。よって、表皮や基底膜を含めた皮膚に対し好ましい抗老化作用を奏する方法や装置が求められる。

先行技術文献

特許文献

- [0005] 特許文献1：特表2011-505897号公報
特許文献2：特開2009-28271号公報
特許文献3：特開2015-127315号公報
特許文献4：特開2011-162507号公報
特許文献5：特開2014-108924号公報
特許文献6：特表2018-501000号公報

非特許文献

- [0006] 非特許文献1：Caberlotto et al. PLoS One. 2017 Mar 1;12
非特許文献2：Naruse et al. PLoS One. 2015 Nov 3;10
非特許文献3：Furukawa et al., 2017, Cell Reports 20, 1435-1447
非特許文献4：Cell Death and Disease (2014) 5, e1519; doi:10.1038/cddis.2014.476
非特許文献5：Current Biology Vol 24 No 17m 8 September 2014, Pages 2012-2017
非特許文献6：Nature Communications volume 8, Article number: 15206 (2017)
非特許文献7：Development 138, 3907-3914 (2011) doi:10.1242/dev.070987
2017
非特許文献8：Cell Reports 19, 1495-1502, May 23, 2017
非特許文献9：Nature Communications volume 9, Article number: 2961 (20

18); DOI: 10.1038/s41467-018-05388-x

非特許文献10: Nature Cell Biology volume 20, pages262-271 (2018)

非特許文献11: Trends Cell Biol. 2018 Jul;28(7):560-573. doi: 10.1016/j.tcb.2018.03.001

非特許文献12: Nature Communications volume 8, Article number: 15206 (2017; DOI: 10.1038/ncomms15206

非特許文献13: Cancer Res; 73(12) June 15, 2013; DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3793

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明の課題は、皮膚抗老化のための方法及び装置の提供にある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、鋭意研究の結果、伸展などの物理刺激を特定の伸展率及び振動数で皮膚に与えた場合、表皮といった浅い層に好ましい皮膚抗老化作用を奏することを発見し、本発明に想到した。

本願は、以下の発明を提供する：

(1) 対象における皮膚抗老化のための美容方法であって、皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を含み、ここで当該工程は、例えば

(a) 前記対象の皮膚を0.1%以上50.0%以下の伸展率まで伸展すること；及び

(b) 前記対象の皮膚を伸展状態から回復すること；

並びに／又は、

(a-1) 前記対象の皮膚を、1 μ m～1000 μ m押圧すること；及び

(b-1) 前記対象の皮膚を押圧状態から回復させること；

を含むサイクルを60Hz以下の振動数で行う物理刺激を対象の皮膚に与えることを含み、ここで、伸展率は、

[数1]

$$\text{伸展率 (\%)} = \frac{\text{物理刺激付与後の定点Aから定点Bまでの距離} - \text{物理刺激付与前の定点Aから定点Bまでの距離}}{\text{物理刺激付与前の定点Aから定点Bまでの距離}} \times 100 \quad (\text{式1})$$

(式中、定点AおよびBは、表皮または表皮が接着しているマトリックス上の任意の位置であり、ここで定点AとBを通る直線が伸展方向と平行である)

で算出される、前記美容方法。

(2) 前記サイクルを2～500サイクル行うセットを、1又は複数セット行う、(1)に記載の美容方法。

(3) 前記皮膚抗老化は、全角化細胞数に対する核局在YAPを有する細胞数の割合を指標として測定された場合、皮膚に前記美容方法を適用した後に伸展角化細胞で測定される核局在YAPを有する細胞数の割合が前記美容方法を適用する前と比べて増加することであり、ここで、核局在YAPを有する細胞数の割合は、

[数2]

$$\text{核局在YAPを有する細胞の割合 (\%)} = \frac{\text{核局在YAPを有する細胞の数}}{\text{全角化細胞数}} \times 100 \quad (\text{式2})$$

で算出される、(1)又は(2)に記載の美容方法。

(4) 前記皮膚抗老化は、全角化細胞数に対するアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合を指標として測定された場合、皮膚に前記美容方法を適用した後に伸展角化細胞で測定されるアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合が増加することであり、ここで、アクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合は、

[数3]

$$\text{アクチンストレスファイバーを有する細胞の割合 (\%)} = \frac{\text{アクチンストレスファイバーを有する細胞の数}}{\text{全角化細胞数}} \times 100 \quad (\text{式3})$$

で算出される、(1)又は(2)に記載の美容方法。

(5) 皮膚抗老化のための美容装置であって、
前記装置は、
物理刺激を生ずる刺激発生部と、
刺激発生部で発生した物理刺激を皮膚に付与する刺激付与部とを備え、
ここで、当該装置は、皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を行うための装置であり、ここで当該工程は、例えば、

(a) 皮膚を0.1%以上50.0%以下の伸展率まで伸展すること；及び

(b) 前記対象の皮膚を伸展状態から回復すること；

並びに／又は、

(a-1) 前記対象の皮膚を、 $1\mu\text{m}$ ～ $1000\mu\text{m}$ 押圧すること；及び

(b-1) 前記対象の皮膚を押圧状態から回復させること；を含むサイクルを60Hz以下の振動数で行うことであり、

ここで、伸展率は、上記式1により算出される、前記美容装置。

(6) (5)に記載の美容装置を対象の皮膚に適用することを含む、皮膚抗老化のための美容方法。

(7) 皮膚におけるヒアルロン酸を増加するための、(1)～(4)及び(6)のいずれか1項に記載の美容方法。

(8) (1)～(4)、(6)及び(7)のいずれか1項に記載の美容方法又は(5)に記載の美容装置を対象に提示することを含む、対象の美容行為を支援する美容カウンセリング方法。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、表皮といった浅い層に好ましい皮膚抗老化作用を奏する方法および装置が提供される。その結果、しみ、しわ、たるみといった皮膚老化の予防・改善が期待される。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、実験1、3で行った伸展刺激の設定を示す。

[図2a]図2aは、実験1において44歳のドナーから得た角化細胞の単層培養物

に伸展刺激を与えない状態および与えた直後のYAP（赤）およびアクチン（緑）の局在を示す。

[図2b]図2bは、実験1において各年齢のドナー（0歳，18歳，64歳）から得た角化細胞の単層培養物に伸展刺激を与えない状態および与えた直後のYAP（赤）およびアクチン（緑）の局在を示す。

[図3]図3は、実験1において各年齢のドナー（0歳，18歳，62歳）から得た角化細胞培養物に伸展刺激を与えない状態および与えた直後の核局在YAPを有する細胞数の割合を示す。図中，*は両側t検定(2つの母集団の分散が等しい場合)により有意差があることを示す（ $p<0.05\%$ ）。

[図4]図4は、実験1において各年齢のドナー（0歳，18歳，62歳）から得た角化細胞培養物に伸展刺激を与えない状態および与えた直後のアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合を示す。図中，*は両側t検定(2つの母集団の分散が等しい場合)により有意差があることを示す（ $p<0.05\%$ ）。

[図5]図5は、実験1において各年齢のドナー（0歳，68歳）から得た線維芽細胞の培養物に伸展刺激を与えない状態および与えた直後のYAP（赤），アクチン（緑），および核(青)の局在を示す。

[図6]図6は、実験2で使用した装置およびex vivo皮膚試料を示す。

[図7]図7は、実験2，4，5で行った伸展刺激の設定を示す。

[図8]図8は、実験2において44歳のドナーから得た皮膚試料に押下刺激を与えない状態および与えた直後のYAP（緑）および核（青）の局在を示す。

[図9]図9は、実験3において44歳のドナーから得た角化細胞の単層培養物にそれぞれ伸展刺激を与えない条件，1回の伸展刺激を与えた条件，2回の伸展刺激を与えた条件の後，通常培養を1週間おこなった後のYAPおよびBrdUの局在を示す。

[図10]図10は、実験4で使用した装置および皮膚試料を示す。

[図11]図11は、実験4において44歳のドナーから得た2つの皮膚試料（試料#1および#2）に1回の伸展刺激を与えない状態および与えた条件の後，通常培養を1週間おこなった後のYAP（緑），Ki67（赤）および核（青）の局在を

示す。

[図12]図12は、実験4において44歳のドナーから得た2つの皮膚試料（試料#1および#2）に2回の伸展刺激を与えない状態および与えた条件の後、通常培養を1週間おこなった後のYAP（緑）、Ki67（赤）および核（青）の局在を示す。

[図13]図13は、実験5において44歳のドナーから得た2つの皮膚試料（試料#1および#2）に2回の伸展刺激を与えない状態および与えた条件の後、通常培養を1週間おこなった後のヒアルロン酸（緑）、コラーゲン（赤）、核（青）を示す。

[図14]図14は、本発明の装置の一例を示す。

[図15a]図15aは、実験6におけるバポメーターとコルネオメーターによる測定結果を示す。*はdunnett's testで0日目の値と有意差があることを示す(*** : $p<0.005$, ** : $p<0.01$, *: $p<0.05$)。

[図15b]図15bは、実験6におけるキュートメーターによるR0値を示す。*はdunnett's testで0日目の値と有意差があることを示す(*** : $p<0.005$, ** : $p<0.01$, *: $p<0.05$)。

[図15c]図15cは、実験6における主観的な評価の結果を示す。*はwilcoxonの符号付順位検定で0日目の値と有意差があることを示す(*** : $p<0.005$, ** : $p<0.01$, *: $p<0.05$)。

[図16]図16左上は実験7の設定を示す。図16右上は実験7の押圧刺激の波形の一例（矩形波）を示す。図16下は実験7の押圧刺激の条件（波形:Shape of wave, 振動数:Frequency/Hz, 深度:Displacement/ μm , 期間:Day）を示す。

[図17]図17は、実験7において44歳のドナーから得た2つの皮膚試料（試料#1および#2）に押圧刺激を与えない条件（Cont）および矩形波の押圧刺激を与えた条件（0.5Hz/100 μm ）における1日目（d1）および5日目（d5）のKi67（緑）および核（青）の局在を示す。

[図18]図18は、実験7において44歳のドナーから得た皮膚試料に1回の押圧

刺激を与えない条件 (Cont) および与えた条件 (矩形波 : 0.5Hz, 5Hz, 50Hz/100 μ m) における 1 日目(左)および 5 日目(右)の全体の細胞数におけるKi67陽性を示す細胞数の割合を示す。

[図19]図 19 上は実験 8 の設定を示し, 下は採用した押圧刺激の波形 (矩形波) を示す。

[図20a]図 20aは, 実験 8 の結果であり, 左は押圧刺激を与えた場合, 右は押圧刺激を与えなかった場合(control)の0日目及び 7 日目の結果を示す。図 20aはコルネオメーターによる測定結果である。

[図20b]図 20bは, 実験 8 の結果であり, 左は押圧刺激を与えた場合, 右は押圧刺激を与えなかった場合(control)の0日目及び 7 日目の結果を示す。図 20bはバポメーターとによる測定結果である。

[図20c]図 20cは, 実験 8 の結果であり, 左は押圧刺激を与えなかった場合(control), 右は押圧刺激を与えた場合の0日目及び 7 日目の結果を示す。図 20cはキュートメーターによるR0値を示す。*はdunnett's testで0日目の値と有意差があることを示す(*:p<0.05)。

発明を実施するための形態

[0011] 現在, 真皮よりも深い層をターゲットとした美容方法は多く存在し, 例えば, 表情筋の強化, 脂肪の分解促進, 真皮線維の強化を目指すもの等が挙げられる。また, 例えば特許文献 1 のように角質物質に着目した美容法も存在するものの電氣的刺激によるものや, 高い振動数を与える刺激の強いものが多い。しかしながら, 上述のように皮膚表面より刺激を与えると, 表皮にダメージが加わるという問題がある。さらには, 特許文献 4, 5 等に記載されるように伸展刺激は皮膚に対し悪影響を与えるという知見も存在し, 実際, 非特許文献 2 では, 伸展刺激を与えることで表層が大きく変化することが報告されている。

[0012] ここで, 本発明者らは, 皮膚表層部に着目し鋭意研究を行った。その結果, 角化細胞におけるYAPの挙動やアクチンファイバーの構造と老化が関連することを発見した。例えば, 伸展などの物理刺激を皮膚に与えた場合, 老化角

化細胞では核局在YAPを有する細胞やアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合が著しく減少した。さらに、本発明者らは、YAPの挙動やアクチンファイバーの構造を皮膚老化の指標とし、特定の物理刺激を対象の皮膚に与えると表皮を含む皮膚に好ましい効果が奏されることも発見した。より具体的には、老化した表皮であっても、特定の伸展率で、例えば1Hz以下、10Hz以下といった60Hz以下の振動数で行う物理刺激を与えると、老化角化細胞に特徴的な核局在YAPあるいはアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合の減少を結果として抑制する効果が示唆された。更には、このような物理刺激は、表皮のみならず真皮におけるヒアルロン酸量も増加することもわかり、皮膚老化の予防改善に有効であることが裏付けられた。

[0013] 本発明は、物理刺激を対象の皮膚に与えることを含む、対象における皮膚抗老化のための方法を提供する。また、本発明は、物理刺激を生ずる刺激発生部と、刺激発生部で発生した物理刺激を皮膚に付与する刺激付与部とを備える皮膚抗老化のための装置を提供する。

[0014] 本発明の方法は皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を含み、本発明の装置は皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を行うための装置であり、ここで当該工程は、例えば、（a）皮膚を0.1%以上50.0%以下の伸展率まで伸展すること；及び（b）伸展状態から回復すること；を含むサイクルを60Hz以下の振動数で行うことであってもよい。

[0015] 伸展率は、上記式1により算出される。物理刺激は、0.001%以上80.0%以下、0.01%以上60.0%以下、0.1%以上50.0%以下、好ましくは、0.1%以上50.0%以下の伸展率で行ってもよい。例えば、0.1%以上1.0%以下、0.1%以上5.0%以下、0.1%以上10.0%以下、0.1%以上20.0%以下、0.1%以上30.0%以下、1.0%以上5.0%以下、1.0%以上10.0%以下、1.0%以上20.0%以下、1.0%以上30.0%以下、1.0%以上50.0%以下、10.0%以上20.0%以下、10.0%以上30.0%以下、等任意の範囲の伸展率が採用できる。

[0016] 伸展速度は、1サイクル中で最大伸展率（%）に達するまでの速度（%/s）を指す。回復速度は、最大伸展率から非伸展状態に戻る速度（%/s）を指す。

す。伸展速度・回復速度は、 $0.010\%/s \sim 40\%/s$ 、 $0.05\%/s \sim 30\%/s$ 、 $0.10\%/s \sim 20\%/s$ 、 $0.2\%/s \sim 15\%/s$ 、 $0.3\%/s \sim 10\%/s$ など任意の速度で行ってもよい。伸展速度と回復速度は同じでも異なってもよい。

[0017] 本発明の方法は皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を含み、本発明の装置は皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を行うための装置であり、ここで当該工程は、例えば、(a-1) 前記対象の皮膚を $1\mu m \sim 1000\mu m$ 押圧すること；及び(b-1) 前記対象の皮膚を押圧状態から回復させること；を含むサイクルを $60Hz$ 以下の振動数で行うことであってもよい。

[0018] 「皮膚を $1\mu m \sim 1000\mu m$ 押圧する」とは、皮膚の最表面から $1\mu m \sim 1000\mu m$ の深度まで皮膚を押圧することを指す。押圧の深度は、皮膚の最表面から $1\mu m \sim 1000\mu m$ 、 $10\mu m \sim 1000\mu m$ 、 $10\mu m \sim 300\mu m$ 、 $10\mu m \sim 100\mu m$ 等任意に設定可能である。

[0019] 振動数は、伸展又は押圧開始から非伸展又は非押圧状態まで回復するサイクルを1サイクルとした場合の1秒あたりのサイクル数を指す。1サイクルには、一定の時間、伸展又は押圧状態を維持すること及び/又は非伸展又は非押圧状態で休止することを含めてもよい。例えば、1サイクル中に、(a') (a) の後かつ(b) の前に、あるいは(a-1) の後かつ(b-1) の前に、0秒～30分間、1秒～20分間、5秒～10分間、又は10秒～5分間伸展又は押圧状態を保持すること；及び/又は(b') (b) の後かつ次のサイクルの(a) の前に、あるいは(a-1) の後かつ(b-1) の前に、0秒～30秒間、0秒～20秒間、0秒～10秒間、1秒～10秒間、1秒～20秒間、1秒～10秒間非伸展又は非押圧状態で休止すること、を更に含んでもよい。振動数は、例えば、 $0.0000001Hz$ 以上 $10kHz$ 以下、 $0.000001Hz$ 以上 $1kHz$ 以下、 $0.00001Hz$ 以上 $100Hz$ 以下、好ましくは、 $0.0001Hz$ 以上 $60Hz$ 以下、 $0.0001Hz$ 以上 $10Hz$ 以下、 $0.001Hz$ 以上 $60Hz$ 以下、 $0.01Hz$ 以上 $60Hz$ 以下、 $0.001Hz$ 以上 $10Hz$ 以下、 $0.01Hz$ 以上 $10Hz$ 以下、 $0.1Hz$ 以上 $60Hz$ 以下、 $0.1Hz$ 以上 $10Hz$ 以下、 $0.5Hz$ 以上 $60Hz$ 以下、 $0.5Hz$ 以上 $50Hz$ 以下、 $0.5Hz$ 以上 $10Hz$ 以下、 $0.5Hz$ 以上 $5Hz$ 以下、 $0.5Hz$ 以上 $1Hz$ 以下、 0.00

1Hz以上0.01Hz以下, 0.001Hz以上0.1Hz以下, 0.001Hz以上1Hz以下, 0.01Hz以上1Hz以下, 0.1Hz以上1Hz以下, 1Hz以上60Hz以下, 1Hz以上10Hz以下, 1Hz以上5Hz以下, 等任意の範囲の振動数が採用できる。

[0020] 市販の美顔器, マッサージ機器等には, RF波といった0.3~300MHz程度の周波数を有する電磁波を用いるものや, 1MHzから7MHz程度の周波数を有する超音波を用いるものなどがある。これらの周波数/振動数と比べ, 本発明の方法/装置が採用する振動数は極めて低い。従来の美顔器等のように皮膚に強い振動数を与えると皮膚に赤み, 圧力痕, 傷, 痛み, 炎症といった悪影響を与えるリスクがあるが, 本発明のような振動数を採用すると上述のリスクが低く非侵襲的な物理刺激が可能になる。本発明者らにより, 伸展率, 押圧度, 振動数等が高すぎると刺激が強すぎるため, これらの値を適正值に調節することにより皮膚を優しく刺激するほうが好ましいことが発見されたためである。

[0021] また, 従来, 当該分野において一般的に利用されているモーター等の機構を利用する美容機器類ではそのモーターの機械的機構から60Hzを超える振動数しか選択できないことが当業者の技術常識であった。従来技術における美容機器類の限界である「60Hz」以下の振動数, 例えば, 60Hz以下, 10Hz以下, 1Hz以下といった本発明のような振動数を採用するには, 特別な機械を作成する必要性が求められていた。更には, このような低い振動数では, 本発明の効果を奏するには「弱すぎる」という固定概念もあり, これまで検討がほとんどされていなかった。しかしながら, 本発明者らは, 従来の技術常識から考えると非常に低い振動数を用いて実際に皮膚に物理刺激を与えてみたところ, 驚くべきことに, このような低い振動数の優しい刺激でも良好な効果が奏された。

[0022] EMS機器等では低中周波の装置も市販されているものの, これらは特に筋肉や皮下脂肪等の深い層で作用させるように設計されており, 本願発明のような皮膚表層に対する影響は不明である。また, このような装置は周波数が低くても電流を流す際にビリビリとした刺激を伴うこともあり, 皮膚に優しい

刺激を与える本願発明とは異なる。一方、本発明は、超音波や電流、磁場といったエネルギーを加えず、直接皮膚に伸展又は押圧刺激を与えるという簡便な方法による美容法が可能である。更に、このような振動数を有する伸展又は押圧刺激は、優しい刺激でありながら、実施例に記載のように表皮細胞にも真皮細胞にも良好な効果を奏する。よって、本発明の方法／装置を使用すると、皮膚に悪影響を与えず、短期的には皮膚の表皮に、長期的には真皮に美容効果が期待される。

[0023] 物理刺激は、美顔器などの器具、実験的な装置、ヒトの手や器具を用いたマッサージ、顔面のエクササイズによるものであってもよく、接触又は非接触により達成されるものであってもよい。一態様では、物理刺激を生ずる刺激発生部と、物理刺激を接触又は非接触により付与する刺激付与部を備えた機器を用いて、皮膚に対して機械的に発生された物理刺激を付与することができる。物理刺激は、例えば、皮膚を引張、押圧、叩く、揉む、吸引するといった接触によって達成されてもよく、及び／又は、例えば、超音波や空気圧のようなもので皮膚に衝撃波をあたえることで変位させるといった非接触により達成されてもよい。顔面のエクササイズとしては、頬を膨らませることや、目を見開くことなどが行うことができる。マッサージとしては、施術を受ける対象自身又は美容部員などの施術者による手やローラー等の器具を用いたマッサージが挙げられる。しかしながら、本発明の物理刺激の範囲内であれば限定されない。

[0024] 本発明の装置として、例えば、使用者の皮膚に接触し本発明の物理刺激を付与する皮膚接触部を備える美容装置が挙げられる。例えば、把持部及び皮膚伸展部又は皮膚押圧部から構成されるものであってもよい。例えば、図14左に記載の装置は、皮膚接触部が皮膚に触れることにより、皮膚を特定の振動数および伸展率にて伸展するように設計されている。

[0025] また、例えば、本発明の装置は、電源と、刺激発生部と、皮膚刺激部を備え、電源は電気信号を発生し、刺激発生部は、電源からの電気信号を物理的な刺激に変換して物理刺激を発生し、皮膚刺激部は、刺激発生部で発生され

た物理刺激を受け取り使用者の皮膚に物理刺激を与えるものであってもよい。

[0026] 例えば、図14左に示す装置は、把持部と、電源と、物理的な刺激を制御する制御部と、刺激発生部と、皮膚刺激部と皮膚固定部を含む皮膚接触部とを備える。使用者が把持部を持って皮膚接触部を皮膚に当て、皮膚固定部により皮膚を固定するようにし、制御部を操作することにより電源からの電気的な信号が刺激発生部により物理的な刺激に変換され、物理刺激が皮膚刺激部に伝わり、皮膚が皮膚固定部に固定されつつ皮膚刺激部により特定の振動数および伸展率にて伸展されるように設計されている。例えば、刺激発生部はモーターなどにより駆動され電気信号を物理刺激に変換するものであってもよい。また、図14左に記載の皮膚刺激部は、皮膚に伸展刺激を与えるものであるが、例えば、皮膚に押圧刺激を与えるものであってもよい。

[0027] あるいは、本発明の装置は、電源と、物理的な刺激を制御する制御部と、刺激発生部と、シート状の材料からなる皮膚接触面を含む皮膚接触部とを備える美容装置であってもよい。例として、図14右にこのような美容装置の皮膚接触部を示す。シート状の材料は、電流を流すことが可能で、電源からの電気的な信号を物理的な刺激に変換するものであってもよい。そのようなシート状の材料としては、誘電エラストマーアクチュエータ(DEA)、導電ポリマー、IPMC、PVCゲル、McKinnen型などが挙げられる。

[0028] 本発明の装置の電源は、内部電源又は外部電源であってもよく、充電式であってもよい。また、本発明の装置は、例えば、携帯電話やクラウドなどに保存されているデータを用いるものであっても、ワイヤレスでリモート操作されるものであってもよい。

[0029] 物理刺激は、上述のような接触又は非接触による物理的な刺激を与えることにより皮膚の伸展又は押圧を達成するものであってもよい。物理刺激は、皮膚表面に対し平行方向、すなわち横方向に加えてもよいし、皮膚表面に対し垂直方向、すなわち縦方向に加えてもよいし、あるいは斜め方向、ねじれ方向等任意の方向が採用できる。

- [0030] 物理刺激を行うサイクル数は限定されない。例えば、2～500サイクル、10～500サイクル、20～400サイクル、30～300サイクル、40～200サイクル、50～100サイクルといった任意の数のサイクル行なってもよい。例えば、実施例に記載のように、27サイクル行えば十分な場合もある。
- [0031] さらに、これらの任意の数のサイクルを1セットとし、このセットを任意の数のセット、例えば、1～100セット、2～50セット、又は3～10セット行ってもよい。
- [0032] 物理刺激を行う時間も限定されない。例えば、休止時間を設けて又は設けずにサイクルを繰り返し5分～3時間、10分～2時間、30分～1時間といった一定時間行ってもよい。
- [0033] サイクル間又はセット間の時間間隔も限定されない。例えば、伸展又は押圧刺激は、1セット又は複数セットを単独で行うものであってもよく、1又は複数のセットを毎日、2日、3日、4日、5日、6日、7日に1回、1、2、3、4週間に1回等、連続的又は断続的に定期的又は不定期的にを行うものであってもよい。
- [0034] しかしながら、皮膚抗老化作用を発揮するのに十分な刺激が達成されれば上記のような振動数、伸展率、サイクル数、頻度に限定されない。物理刺激を行う波形も、矩形波、正弦波、三角波、のこぎり波等任意に設定できる。
- [0035] 本発明の方法を適用する対象は、皮膚老化が客観的又は主観的に認められる対象であっても、皮膚老化を予防したいと希望する対象であってもよい。例えば、ヒアルロン酸などの皮膚構成成分が不足していると判断された対象であってもよい。1実施形態では、角層細胞におけるYAPの挙動及び／又はアクチンファイバーの構造を指標として皮膚老化度が高いと判断された対象であってもよい。例えば、伸展角化細胞で測定した場合、全角化細胞数に対する核局在YAPを有する細胞数の割合、及び／又は全角化細胞数に対するアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合が低いと判断された対象であってもよい。あるいは、皮膚の老化、例えば、しみ、しわ、たるみ、くすみ、毛穴の目立ち、あるいは、なめらかさ、はり、ハリ感、つや、弾力の低下等

が気になる対象であってもよい。しみ、しわ、たるみ、くすみ、毛穴の目立ち、なめらかさ、はり、ハリ感、つや、弾力等は、視感判定、主観的又は客観的な評価、キュートメーターの値など公知の指標を用いることにより決定することができる。

[0036] 皮膚抗老化は、全角化細胞数に対する核局在YAPを有する角化細胞数の割合を測定することにより決定してもよい。核局在YAPの有無は、実施例に記載のように、細胞内のYAPを染色し、核又は細胞質にある内在性YAPを顕微鏡で観察、撮像し、画像処理解析ソフトウェアを使用して核内YAPと細胞質内YAPの比を蛍光強度の度合で数値化することにより決定できる。あるいは、非特許文献6や非特許文献7に記載の方法によっても測定できる。全角化細胞数に対する核局在YAPを有する角化細胞数の割合は、上記式2により算出される。例えば、上記のような方法で核局在YAPを有すると決定された細胞の数を計数し、例えばDAPIやHoechst33342等の核染色により核が染まった細胞を全細胞数として計数して、式2により算出してもよい。

[0037] 1実施形態では、YAPの核局在は、角化細胞における内在性のYAPが、その全発現量の増減が実施前後で2倍以下の範囲にとどまり、転写共役因子として核に局在することを指す。非特許文献3～5から、YAPの阻害因子を欠失させ、YAPの核局在を促進させてもタンパク量レベルでの発現量の有意な亢進は起こらない（例えば、非特許文献5ではYAPのタンパク量は平均2倍以下である）ことが確認されているためである。

[0038] YAPとは、Yes-associated proteinのことであり、YAP1、YAP65等と称されることもある約65 kDaのタンパク質である。YAPは、転写調節因子として機能すること、細胞増殖やアポトーシス等に関与すること、幹細胞(ニッチ)の維持・確立、腫瘍や癌の発生と関連すること等が報告されている。YAPは、細胞質に存在すると分解されるが、核内に移行すると活性化し転写を調節する。このようなYAPの局在は、細胞外マトリックスの硬度、細胞密度、細胞増殖と自己複製等と関連することも報告されている（非特許文献11～13）。

[0039] また、YAP上流因子であるアクチンの細胞質におけるストレスファイバー形

成がYAP核局在に相関的かつ積極的に関与することが知られている。よって、本発明の皮膚抗老化は、角化細胞におけるアクチンストレスファイバーの有無を指標として決定してもよい。例えば、皮膚抗老化は、全角化細胞数に対するアクチンストレスファイバーを有する角化細胞数の割合を測定することにより決定してもよい。アクチンストレスファイバーの有無は、実施例に記載のように、アクチンファイバーを蛍光化合物を架橋したファロイジンにより染色し、細胞質中や核周辺に存在するアクチンストレスファイバーを1つでも含む場合、アクチンストレスファイバーを有するとして決定することができる。あるいは、非特許文献9や非特許文献10に記載の方法によっても測定できる。全角化細胞数に対するアクチンストレスファイバーを有する角化細胞数の割合は、上記式3により算出される。例えば、上記のような方法でアクチンストレスファイバーを有すると決定された細胞の数を計数し、例えば上述のようにDAPI染色により全細胞数を計数して、式3により算出してもよい。

[0040] 1実施形態では、アクチンストレスファイバーを有する角化細胞は、アクチンタンパク発現量の亢進を伴わずアクチンストレスファイバーが形成された角化細胞を指す。非特許文献8に記載のように、YAPの有無やYAPの存在位置（核、細胞質等）が異なっても、アクチンタンパク量の変動がないためである。

[0041] したがって、本発明の皮膚抗老化とは、例えば、皮膚試料に伸展刺激を与えた後の角化細胞における全角化細胞数に対する核局在YAP又はアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合の低下を本発明の方法／装置により抑制するということを意味する場合もある。抑制は、例えば、有意水準を5%とした統計学的有意差（例えばスチューデントのt検定）を有する上記割合の低下の抑制、及び／又は、例えば10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、100%の抑制であってもよい。

[0042] 核局在YAPおよびアクチンストレスファイバーは、細胞増殖と自己複製に間

接的又は直接的に働くことが知られている（非特許文献 1 1）。一方、核外または細胞質に局在するYAP、細胞質にて分解するYAP、あるいはアクチンストレスファイバーの不形成は、細胞死や分化により細胞集団から排除される機構に関与することが明らかになってきている（非特許文献 1 2）。皮膚の角化細胞および様々な細胞種における研究の知見から、YAPが核に局在しないことやアクチンストレスファイバーが形成されないといった現象を有する角化細胞は、自らの増殖維持や自己複製能の低い、老化又は分化様の細胞であることが示唆されている（非特許文献 1 3）。また、本願実施例において、本発明の方法／装置により、核局在YAP保持能力の弱いあるいはアクチンストレスファイバー形成能力の弱い老化角化細胞の数が有意に減少した。したがって、理論に拘束されるものではないが、本発明の方法／装置は、上記のような老化角化細胞を選択的に排除し、核局在YAP保持能力の弱いあるいはアクチンストレスファイバー形成能力の保持された“若い”角化細胞の選択とその後の再活性化、細胞増殖を促すことが示唆された。つまり、皮膚に本発明で特定する物理刺激を与えることにより伸展した角化細胞において、YAPが核に局在しないまたはアクチンストレスファイバーが形成されていない角化細胞を選択的に排除し、YAPが核に局在する角化細胞やアクチンストレスファイバーを有する角化細胞を選択的に残す結果、角化細胞を増殖または自己複製させている可能性が考えられる。つまり、本発明の方法／装置は、物理刺激を与えることにより、老化角化細胞を選択的に排除し、かつ増殖、自己複製する角化細胞を選択し、その結果、角化細胞の増殖や回復を促している可能性が考えられる。

[0043] ここで、核局在YAP又はアクチンストレスファイバーを有する細胞数を測定する際に、皮膚試料に伸展刺激等の物理刺激を与えることが好ましい。皮膚老化度や皮膚抗老化作用を測定する際の物理刺激は、本発明の抗老化方法／装置で使用する物理刺激と同じであっても異なってもよく限定されず、皮膚老化度を測定するのに十分な刺激が達成できればよい。例えば、生体における皮膚、採取後の皮膚、又は培養角化細胞といった皮膚試料に対し、引

張，押圧，叩く，揉む，吸引，といった接触，及び／又は，例えば，超音波や空気圧のようなもので皮膚に衝撃波をあたえることで変位させるといった非接触による物理的な刺激を与えることにより皮膚試料の伸展を達成するものであってもよく，物理刺激を与える方向も限定されない。

[0044] 代替的及び／又は追加的に，皮膚抗老化作用は，本発明の方法／装置による真皮におけるヒアルロン酸量の増加を意味する場合もある。増加は，例えば，有意水準を5%とした統計学的有意差（例えばスチューデントのt検定）を有するヒアルロン酸の増加，及び／又は，例えば10%以上，20%以上，30%以上，40%以上，50%以上，60%以上，70%以上，80%以上，90%以上，100%以上の増加であってもよい。

[0045] 代替的及び／又は追加的に，皮膚抗老化作用は，本発明の方法／装置による，皮膚粘弾性，はり，ハリ感，つや，なめらかさ，毛穴の目立たなさ，くすみのなさといった指標の増加を意味する場合もある。皮膚粘弾性，はり，ハリ感，つや，なめらかさ等はキュートメーターや主観的又は客観的な指標により測定できる。増加は，例えば，有意水準を5%とした統計学的有意差（例えばdunnett's testやwilcoxonの符号付順位検定）を有する増加，及び／又は，例えば10%以上，20%以上，30%以上，40%以上，50%以上，60%以上，70%以上，80%以上，90%以上，100%以上の増加であってもよい。

[0046] 本発明の方法および装置は，表皮といった浅い層に好ましい作用を奏しながら，皮膚老化を予防・改善することができる。例えば，角化細胞におけるYAPの挙動やアクチンファイバーの構造を改善すること，特に，皮膚に物理刺激を与えた際の全角化細胞に対する核局在YAPやアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合の減少を抑制あるいはその後の増加を回復することができる。さらに，真皮におけるヒアルロン酸の増加，皮膚粘弾性や上記のような主観的又は客観的な指標の増加をもたらすこともできる。

[0047] また，本発明の皮膚抗老化のための方法／装置は，他の処置と併用してもよい。他の処置としては，例えば，光刺激，電気刺激，機械刺激，人の手による刺激といった刺激の適用，抗老化剤の投与，化粧品塗布などが挙げら

れるがそれらに限定されない。抗老化剤は、天然または化学的に合成された化合物であってもよく、動植物の抽出物であってもよく、単体又は混合物、あるいは、水溶液等の溶媒中に含有された状態、化粧品などの形態であってもよい。また、抗老化剤の投与経路は任意に選択でき、例えば経口投与、経皮投与、皮下投与、経粘膜投与、筋肉内投与等が挙げられる。

[0048] 本発明の皮膚抗老化のための方法／装置は、美容、医療、ストレス緩和、リラックス等を目的とする方法／装置であってもよい。ある実施形態では、本発明の皮膚抗老化のための方法／装置は、美容を目的とするものであり、医師や医療従事者が使用する治療方法／装置ではない場合がある。また、本発明は、本発明の美容方法／装置を対象に提示することを含む、対象の美容行為を支援する美容カウンセリング方法も提供する。

[0049] 本明細書において引用される全ての文献はその全体が引用により本明細書に援用される。

実施例

[0050] 次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。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。

[0051] 実験1：老化による角化細胞のin vitroの変化

試料：株式会社ケー・エー・シーから購入した年齢の異なるドナー（0歳，18歳，44歳，64歳）由来の単層培養角化細胞および線維芽細胞培養物を使用した。

[0052] 伸展条件：Menicon Life Science社製のShellPaを使用し、上記の角化細胞および線維芽細胞に伸展刺激を与えた。伸展刺激は図1の下図中央に記載のような10%の伸展率で行った。サイクルは、図1上図左に記載のように、0.33%/sの伸展速度にて培養チェンバーを一方向に引っ張り、細胞を10%の伸展率まで伸展させた。その後、伸展状態を5分間維持し、0.33%/sの回復速度にて細

胞を元の非伸展状態に戻した。これを1サイクルとし、合計27サイクルを3時間かけて行った。サイクル間での休止時間は0～10秒とした。

[0053] 観察方法：非伸展刺激および伸展刺激後の細胞内YAPを以下のように蛍光抗体染色法で観察した。細胞におけるYAPは抗YAP抗体（Santa Cruz Biotechnology, YAP抗体(63.7): sc-101199）用い、アクチンファイバーは蛍光化合物が架橋したファロイジン（ThermoFisher Scientific, Alexa Fluor™ 488 Phalloidin: A12379）を用いて検出、共焦点レーザー顕微鏡（ZEISS, LSM700）により観察および画像取得した。また、画像処理解析ソフトウェアImageJを使用してYAPの核と細胞質比を蛍光強度の割合で数値化した。核と細胞質との蛍光強度比（核内YAPの蛍光強度/細胞質内YAPの蛍光強度）を算出し、その値が $1 \geq$ のものを核内YAPを有する細胞としてその細胞数を計数した。全細胞数は、DAPI（Vector Laboratories, VECTASHIELD Mounting Medium with DAPI:H-1200）を用いて染色し、核が染まっている細胞の数を計数し、核局在YAPを有する細胞数の割合を式2に従って算出した。また、細胞質中や核周辺にあるアクチンストレスファイバーを1つでも含む細胞をアクチンストレスファイバーを有する細胞として計数し、同様に全細胞数を計数し、アクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合を式3に従って算出した。

[0054] 結果：

角化細胞の顕微鏡写真を図2a, bに示す。これらの図からわかるように、若年層のドナー（0歳，18歳）から得た角化細胞では、伸展刺激の有り無しのいずれの条件においてもほぼ全ての細胞でYAPが核に局在するが、中高年層のドナー（44歳，64歳）から得た角化細胞では、伸展刺激を与えると核局在YAPを有する細胞数が急激に減少した。図3は、角化細胞における核局在YAPを有する細胞数の割合を示す。若年層では核局在YAPを有する細胞の数に変化は見られないものの、高齢者の角化細胞では有意に減少した。しかしながら、激減はしたものの核局在YAPを有する細胞数はゼロにはならず一定の割合で存在していた。角化細胞におけるアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合を示す図4では、若年層ではアクチンストレスファイバーを有する細胞

の数に変化は見られず、高齢者の角化細胞では有意に減少しほぼ見られなくなった。一方、線維芽細胞では、図5に示すように、伸展刺激の有り無しの条件においてYAPやアクチンストレスファイバーに変化は見られず、年齢差もほとんど見られなかった。

[0055] 実験2：老化による角化細胞のex vivoの変化

試料：Genoskin社から得たex vivoヒト腹部皮膚組織片（NativeSkin, 12well size, 直径約1cm）を使用した。組織片は38歳のものである。

伸展条件：図6に示すようなプラスチック製の押圧部を作成した。押圧部の底面が試料の上面に押圧されるように試料の上部から垂直に押し下げて、0.1%以下の伸展率で皮膚が伸展されるように調整した。このような押下運動を図7に示すように10%/sの速度で行い、その後押圧部を保持して10秒間伸展状態を維持し、10%/sの速度で持ち上げて元の非伸展状態に戻し、次の押下運動まで10秒間休止した。これを1サイクルとし、90サイクルを30分間かけて行った。この90サイクルを1セットとし、セット間に30分～1時間の休止時間を設けて合計3セットの押下運動（合計270サイクル）を行った。

[0056] 観察方法：伸展刺激の有り無しの条件において、YAPおよびDAPIを実験1と同様の方法で染色、観察、および画像取得を行った。

[0057] 結果：

実験1でみられた老化によるYAPの挙動の変化はex vivoの試料でも同様に見られた。図8に見られるように、中高年層のドナー（38歳）から得たex vivo皮膚モデルにおいても表皮内の角化細胞では、伸展刺激を与えると核局在YAPが減少し染色されない部分が多くみられた。特に基底層近辺でこのような変化が著しかった。

[0058] 実験3：伸展刺激による角化細胞におけるin vitroの効果

試料：実験1と同じ中高年層のドナー（44歳）の角化細胞の単層培養物を使用した。

伸展条件：実験1と同じ伸展刺激を与えた。つまり、実験1で行った27サイクルの伸展刺激のセットを与えた。しかし、27サイクルからなる1セットの

伸展刺激を3時間与えてから12～24時間経った後、試料に更に同じ伸展刺激を与え合計2セット行った。

[0059] 観察方法：非伸展刺激および伸展刺激後のYAPは実験1と同様に染色した。また、増殖マーカーとしてBrdUを、抗BrdU抗体（Abcam, Anti-BrdU 抗体 [BU 1/75 (ICR1)]: ab6326）を用いて蛍光抗体法により染色した。BrdUの処理は6時間行い、その7日後に4%パラホルムアルデヒドを用いて4℃にて24時間固定した。固定した試料を共焦点レーザー顕微鏡（ZEISS, LSM700）を用いて観察および画像取得を行った。

[0060] 結果を図9に示す。1回目の伸展刺激では、実験1と同様、伸展刺激前後で核局在YAPを有する細胞数に大きな変化があった。BrdUも核局在YAPと同様に伸展刺激により激減した。一方、1回目の伸展刺激から24時間後に2回目の伸展刺激を与えた場合、核局在YAPおよびBrdUは、非伸展刺激条件と2回伸展刺激条件の間で大きな変化が見られないかやや増加していた。核局在YAPと増殖細胞には何らかの関連性があることが示唆されかつ、1回の伸展刺激よりも2回の伸展刺激を与えた後の細胞は、自己複製能をもつ細胞が増加しており、非伸展あるいは若年の角化細胞と同様の細胞増殖能を回復あるいは維持していることが示唆される。理論に拘束されるものではないが、1回目の伸展刺激により、増殖維持や自己複製能の低い老化角化細胞の細胞死が促進されるか、剥がれ落ちるといった何らかの機構により、老化角化細胞を選択的に排除し、増殖維持や自己複製能の高い核局在YAPを示す細胞を選択的に残すことにより角化細胞の増殖や回復を促している可能性が考えられる。

[0061] 実験4：伸展刺激による表皮におけるex vivoの効果

試料：Genoskin社から購入した中高年層のドナー(42歳)のex vivoヒト腹部皮膚組織片（NativeSkin, 6well size, 直径約2～2.5cm）を使用した。

伸展条件：図10に示すようなウェル内の皮膚の両端を把持する把持部を有し、把持部を引っ張ることにより皮膚を伸展させる伸展器具を作成した。上記組織片が入ったウェルを水平に設置し、把持部を操作して両端から皮膚を伸展させ図7に示すように10%の伸展率となる伸展を10%/sの速度で行い、10

%/sの回復速度にて試料を元の非伸展状態に戻した。これを1サイクルとし、合計90サイクルを30分間かけて行った。この90サイクルを1セットとし、セット間に30分～1時間の休止時間を設けて合計3セット（合計270サイクル）を行った。この3セットの伸展刺激を3時間与えてから12～24時間経った後、試料に更に同じ3セットの伸展刺激を2日連続で2回行った。

[0062] 観察方法：非伸展刺激0日目、伸展刺激直後(同0日目)、非伸展刺激、伸展刺激処理した皮膚組織を1週間培養した後に、実験1と同様のYAPとDAPI処理を行い、更に増殖マーカーとしてKi67を抗Ki67抗体（Abcam, Anti-Ki67 抗体 [SP6]: ab16667）を用いて染色を行い、実験1と同様の手順で観察および画像取得を行った。

[0063] 図11に非伸展刺激0日目および伸展刺激直後(同0日目)の様子を示す。YAPを有する基底層の表皮細胞が減少し、増殖マーカーKi67は引張直後に増えていた。理論に拘束されるものではないが、伸展刺激により細胞増殖とその後の細胞分化の過程を促進した可能性も考えられる。図12に伸展刺激を2日連続で2回与えた後に1週間培養した後の様子を示す。伸展前では、基底層のみならず表皮細胞全体にわたりYAPが見られた。YAPは、通常基底層に多くみられるが、1週間培養した皮膚では全層にわたり観察された。理論に拘束されるものではないが、非伸展の皮膚組織では、細胞老化により、例えば、表皮内の各層における細胞増殖や細胞分化に何かしらの異常が起こり、YAPの分布が変化している可能性も考えられる。しかしながら、2回の伸展刺激後YAPの発現分布は基底層に維持されていた。理論に拘束されるものではないが、物理刺激により、表皮における細胞増殖、細胞分化のホメオスタシスが活性化、維持された結果、YAPの分布が1週間の培養後でも初期の新鮮な皮膚組織の通常状態を維持している可能性も考えられる。

[0064] 実験5：伸展刺激による真皮におけるex vivoの効果

試料および伸展条件：実験4と同じGenoskin社から購入した中高年層のドナー(44歳)のex vivoヒト腹部皮膚組織片（NativeSkin, 6well size, 直径約2～2.5cm）を使用した。実験4と同じ伸展である3セットの伸展刺激を2日連

続で2回行った。

[0065] 観察方法：伸展刺激前，伸展刺激後1週間培養した後のDAPI，ヒアルロン酸（HOKUDO, Biotin-HABP: BC41），コラーゲン（Merck Millipore, Anti-human COL1N-terminal antibody: MAB1912）を観察した。DAPIは実験1と同様に，ヒアルロン酸，コラーゲンは蛍光抗体法により染色し共焦点レーザー顕微鏡（ZEISS, LSM700）により観察および画像取得した。

[0066] 結果を図13に示す。伸展刺激を与えた場合，真皮におけるヒアルロン酸が増加していた。伸展刺激により表皮細胞の増殖を促進するのみならず，真皮にも好ましい影響を与えていることが示される。

[0067] 実験6：伸展刺激によるin vivoの効果

被験者：健康な30～50代の女性17名を選定した。

伸展条件：図14左に記載の伸展装置を使用した。この装置は，図14左の矢印で示す皮膚接触部が皮膚に触れ，皮膚固定部が皮膚を固定しつつ皮膚伸展部の皮膚に対する垂直方向押し込み量を最大約5mmの範囲で適宜設定することで水平方向の伸展率が0.1～20%となるようにし，皮膚を1.2Hzの振動数で伸展するように設計されている。被験者は半顔にこの装置を適用することで伸展刺激を毎日30分与える操作を10日間行った。

[0068] 測定方法：実験開始後3日目と10日目に伸展刺激を付与した（treated）及び付与しなかった（control）半顔毎の皮膚状態の測定を行った。皮膚状態の計測は，経皮水分蒸散量（TEWL）をDelfin Technologies社のバポメーターにより測定し，皮膚水分量をCourage+Khazaka社のコルネオメーター（CM825）により測定し，皮膚粘弾性をCourage+Khazaka社のキュートメーター（SEM575）により測定することにより行った。得られたデータはdunnett's testで0日目の値とそれぞれを比較することにより統計処理を行った（*** : $p<0.005$, ** : $p<0.01$, * : $p<0.05$ ）。

[0069] 更に，被験者は，伸展刺激を与える前と10日後の頬の印象を，下記に示す評価項目ごとに5段階評価にて記入することにより主観的な評価を行った。

[表1]

評価項目
はりがある ハリ感がある つやがある 毛穴が目立たない くすみがない なめらか
5段階評価
5 - 非常に変わった
4 - 変わった
3 - どちらともいえない
2 - 変わらない
1 - 全く変わらない

主観的評価の結果は、wilcoxonの符号付順位検定により統計処理を行った(***:p<0.005, **:p<0.01, *:p<0.05)。

[0070] 結果:結果を図15a～cに示す。図15aに示すようにTEWLおよび皮膚水分量のいずれも伸展刺激による変化はなかったが、図15bに示すようにキュートメーターによる測定ではR0値が有意に増加しており皮膚粘弾性が改善していることがわかった。この傾向はR2値及びR7値でも見られた。また、図15cに示すように見た目及び触感のいずれでも被験者は皮膚状態が改善されたことを実感していることが分かった。

[0071] 実験7: 押圧刺激によるex vivoの効果

試料: 実験4と同じGenoskin社から購入した中高年層のドナー(44歳)のex vivoヒト腹部皮膚組織片(NativeSkin, 6well size, 直径約2～2.5cm)を使用した。

[0072] 押圧条件: 誘電エラストマーアクチュエータ(住友理工株式会社製: SRHP074-001)を使用した。図16左上に記載のようにこの誘電エラストマーアクチュエータを上記皮膚組織片に施し、収縮と拡張を繰り返すことにより、図16下部に記載の条件で各種波形の0～100 μ mの押圧刺激を0.5Hz, 5Hz, 又は50Hzの振動数で1日又は5日間与えた。

[0073] 観察方法: 押圧刺激前、押圧刺激後のDAPI, Ki67を実験4と同様の方法で観

察した。

[0074] 結果：

結果を図 17, 18 に示す。押圧刺激を与えない場合 (Cont : silent) 1 日に比べ 5 日目の Ki67 の数が減少していたが、押圧刺激を与えた場合 (0.5Hz/100 μ m : square), 5 日目の表皮細胞の Ki67 の減少が抑制されており、押圧刺激によって表皮細胞の増殖抑制が抑えられることが示された。また押圧刺激は 0.5Hz 程度の低い振動数のほうが 5Hz, 50Hz の場合に比べて高い効果を示した。なお、図 17, 18 の結果は矩形波の場合 (square) を示しているが正弦波 (sin) の場合であっても同様の結果が得られた。

[0075] 実験 8 : 押圧刺激による in vivo の効果

被験者 : 健康な 30~50 代の女性 17 名を選定した。

伸展条件 : 図 19 に記載の押圧装置、誘電エラストマーアクチュエータ (住友理工株式会社製 : SRHP074-001) を使用した。この装置は、図 19 上に示す装置の皮膚接触部が 10gf の力で皮膚を押し込むことにより、5Hz の振動数で 100 μ m の深度にて図 19 下に示す矩形波の押圧刺激を皮膚に与えるように設計されている。図 19 に示すように、被験者の前腕内側部にこの装置を適用し押圧刺激を毎日 30 分与える操作を 5 日間行った。

[0076] 測定方法 : 実験開始前と 7 日目に押圧刺激を付与した及び付与しなかった前腕内側部の皮膚状態の測定を行った。皮膚状態の計測は、経皮水分蒸散量 (TEWL) を Delfin Technologies 社のバポメーターにより測定し、皮膚水分量を Courage+Khazaka 社のコルネオメーター (CM825) により測定し、皮膚粘弾性を Courage+Khazaka 社のキュートメーター (SEM575) により測定することにより行った。

[0077] 結果 : 結果を図 20 a~c に示す。TEWL および皮膚水分量のいずれも押圧刺激による変化はなかったが、キュートメーターの結果は、押圧刺激を与えないと 7 日目には R0 値が有意に減少したが押圧刺激を与えることによりその減少が抑えられており、粘弾性の改善が見られた。

[0078] 本願発明の物理刺激を施した皮膚では、伸展刺激による老化細胞の選択的

排除かつ核局在YAP，アクチンストレスファイバーを有する角化細胞の選択的保持が示唆された。また，それら選択された核局在YAP，アクチンストレスファイバーを有する角化細胞の細胞増殖を示唆する結果も得た。さらには角化細胞が存在する表皮のみならず，真皮におけるヒアルロン酸の量が増加していた。つまり，本発明の美容方法／装置を用いると，表皮のみならず真皮といった部分を含めた皮膚に対し抗老化作用を奏することが示唆される。実際にin vivoで本発明の美容方法／装置をヒトに適用すると皮膚の粘弾性や，はり，つや，くすみ，なめらかさといった見た目及び触感が改善した。

請求の範囲

- [請求項1] 対象における皮膚抗老化のための美容方法であって、皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を含み、ここで当該工程は、例えば、
- (a) 前記対象の皮膚を0.1%以上50.0%以下の伸展率まで伸展すること；及び
 - (b) 前記対象の皮膚を伸展状態から回復すること；
- 並びに／又は、
- (a-1) 前記対象の皮膚を、1 μ m～1000 μ m押圧すること；及び
 - (b-1) 前記対象の皮膚を押圧状態から回復させること；
- を含むサイクルを60Hz以下の振動数で行う物理刺激を対象の皮膚に与えることを含み、ここで、伸展率は、
- [数1]

$$\text{伸展率 (\%)} = \frac{\text{物理刺激付与後の定点Aから定点Bまでの距離} - \text{物理刺激付与前の定点Aから定点Bまでの距離}}{\text{物理刺激付与前の定点Aから定点Bまでの距離}} \times 100 \quad (\text{式1})$$

(式中、定点AおよびBは、表皮または表皮が接着しているマトリックス上の任意の位置であり、ここで定点AとBを通る直線が伸展方向と平行である)

で算出される、前記美容方法。

- [請求項2] 前記サイクルを2～500サイクル行うセットを、1又は複数セット行う、請求項1に記載の美容方法。
- [請求項3] 前記皮膚抗老化は、全角化細胞数に対する核局在YAPを有する細胞数の割合を指標として測定された場合、皮膚に前記美容方法を適用した後に伸展角化細胞で測定される核局在YAPを有する細胞数の割合が前記美容方法を適用する前と比べて増加することであり、ここで、核局在YAPを有する細胞数の割合は、

[数2]

$$\text{核局在YAPを有する細胞の割合 (\%)} = \frac{\text{核局在YAPを有する細胞の数}}{\text{全角化細胞数}} \times 100 \quad (\text{式2})$$

で算出される、請求項1又は2に記載の美容方法。

[請求項4]

前記皮膚抗老化は、全角化細胞数に対するアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合を指標として測定された場合、皮膚に前記美容方法を適用した後に伸展角化細胞で測定されるアクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合が増加することであり、ここで、アクチンストレスファイバーを有する細胞数の割合は、

[数3]

$$\text{アクチンストレスファイバーを有する細胞の割合 (\%)} = \frac{\text{アクチンストレスファイバーを有する細胞の数}}{\text{全角化細胞数}} \times 100 \quad (\text{式3})$$

で算出される、請求項1又は2に記載の美容方法。

[請求項5]

皮膚抗老化のための美容装置であって、
前記装置は、
物理刺激を生ずる刺激発生部と、
刺激発生部で発生した物理刺激を皮膚に付与する刺激付与部とを備え、

ここで、当該装置は、皮膚に対して微弱な物理刺激を適用する工程を行うための装置であり、ここで当該工程は、例えば、(a) 皮膚を0.1%以上50.0%以下の伸展率まで伸展すること；及び

(b) 前記対象の皮膚を伸展状態から回復すること；

並びに／又は、

(a-1) 前記対象の皮膚を、1μm～1000μm押圧すること；及び

(b-1) 前記対象の皮膚を押圧状態から回復させること；を含むサイクルを60Hz以下の振動数で行うことであり、

ここで、伸展率は、上記式 1 により算出される、前記美容装置。

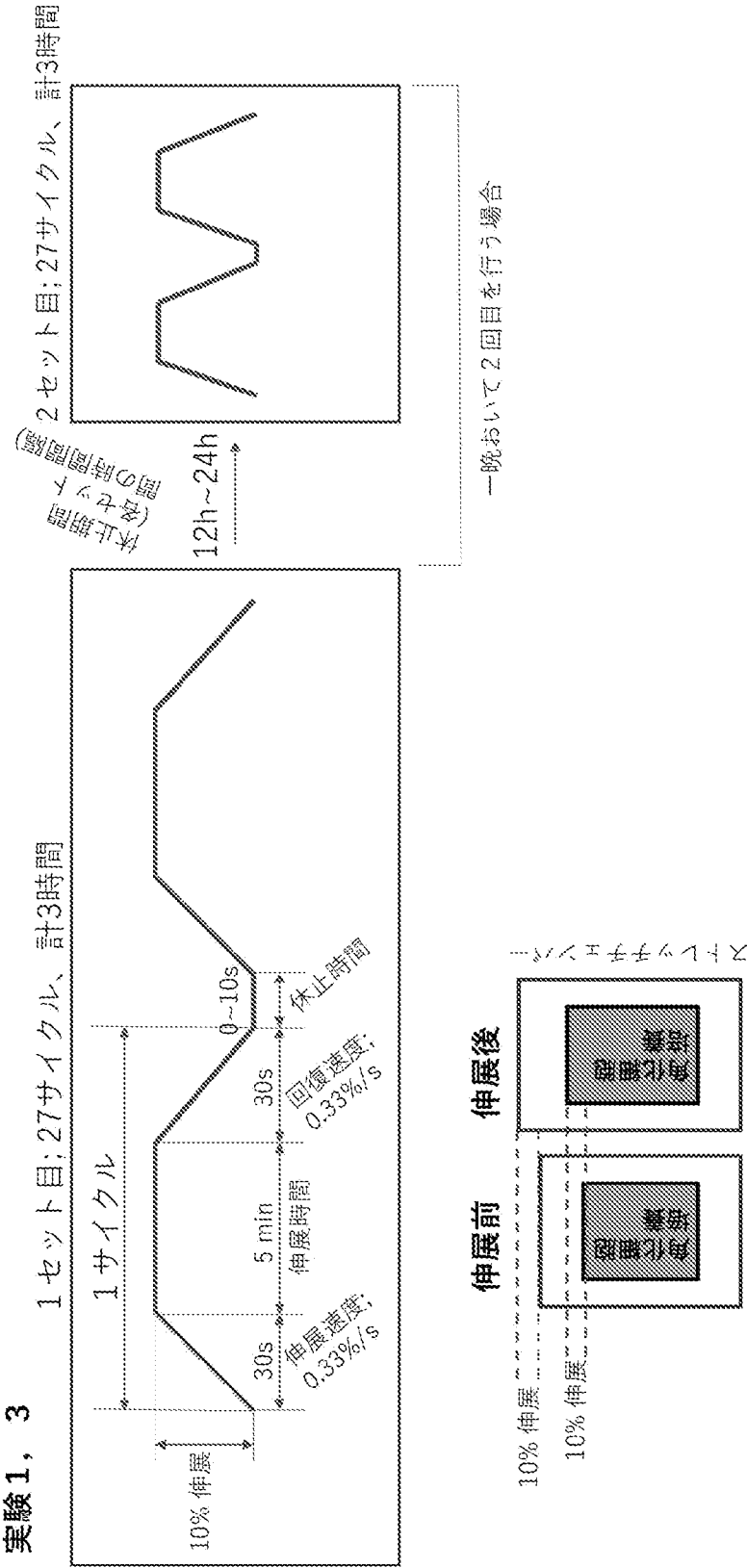
[請求項6] 請求項 5 に記載の美容装置を対象の皮膚に適用することを含む、皮膚抗老化のための美容方法。

[請求項7] 皮膚におけるヒアルロン酸を増加するための、請求項 1 ～ 4 及び 6 のいずれか 1 項に記載の美容方法。

[請求項8] 請求項 1 ～ 4， 6 及び 7 のいずれか 1 項に記載の美容方法又は請求項 5 に記載の美容装置を対象に提示することを含む、対象の美容行為を支援する美容カウンセリング方法。

[図1]

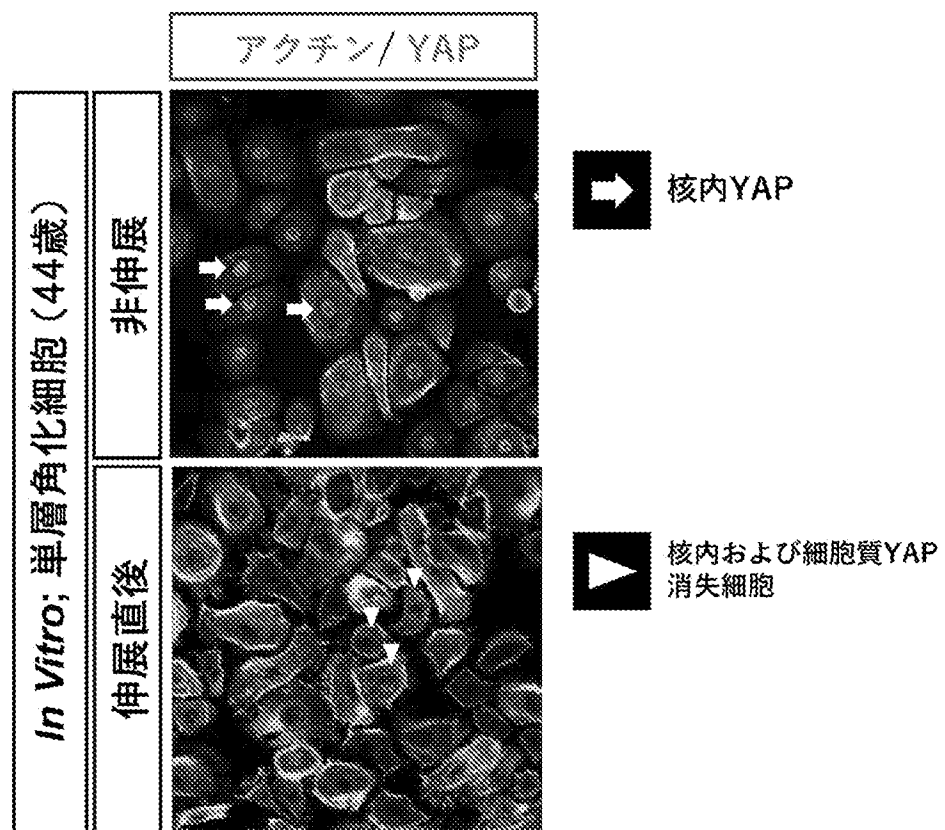
図1



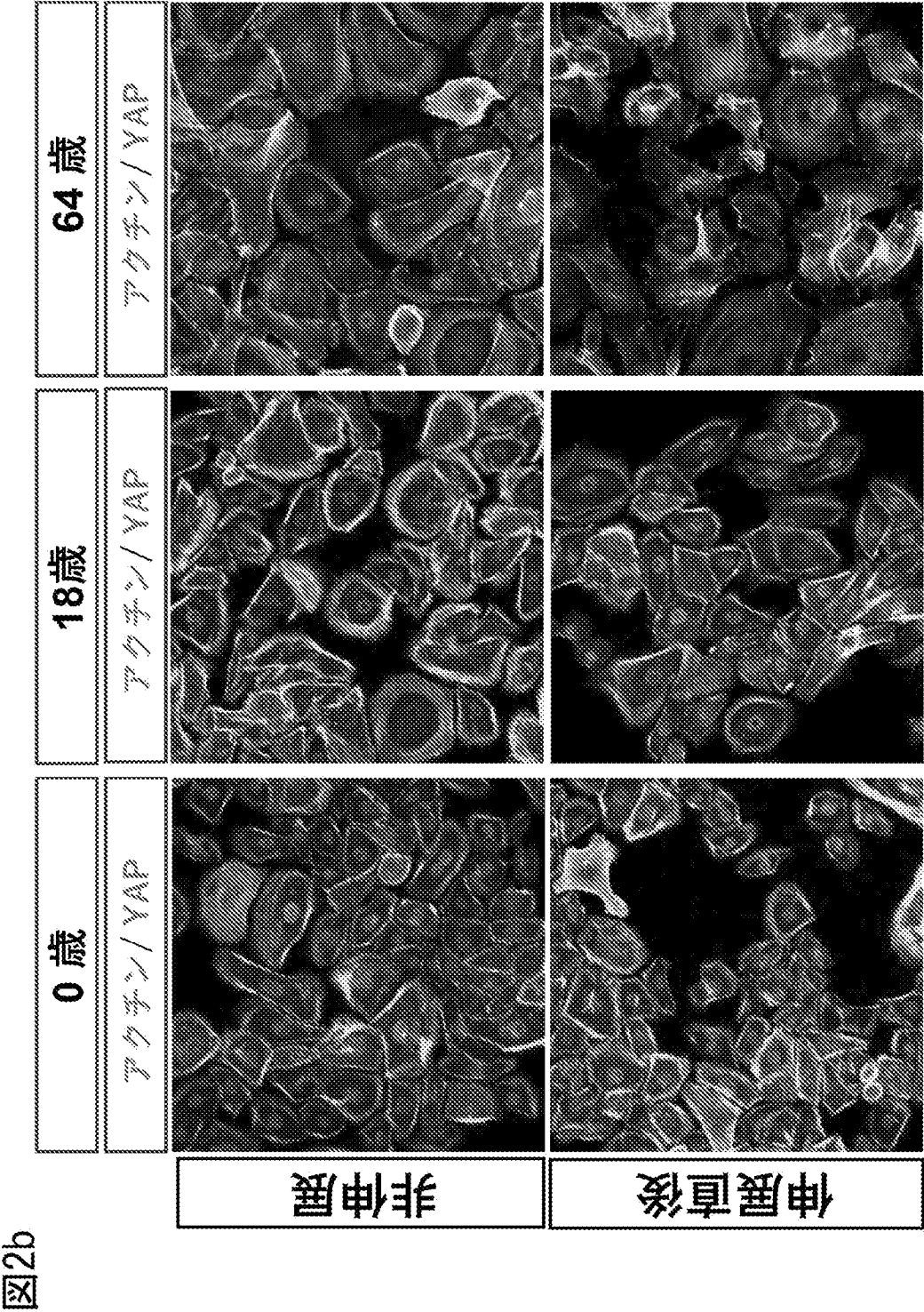
[図2a]

図2a

(10%伸展率, 5 min/サイクル, 27サイクル, 3時間)



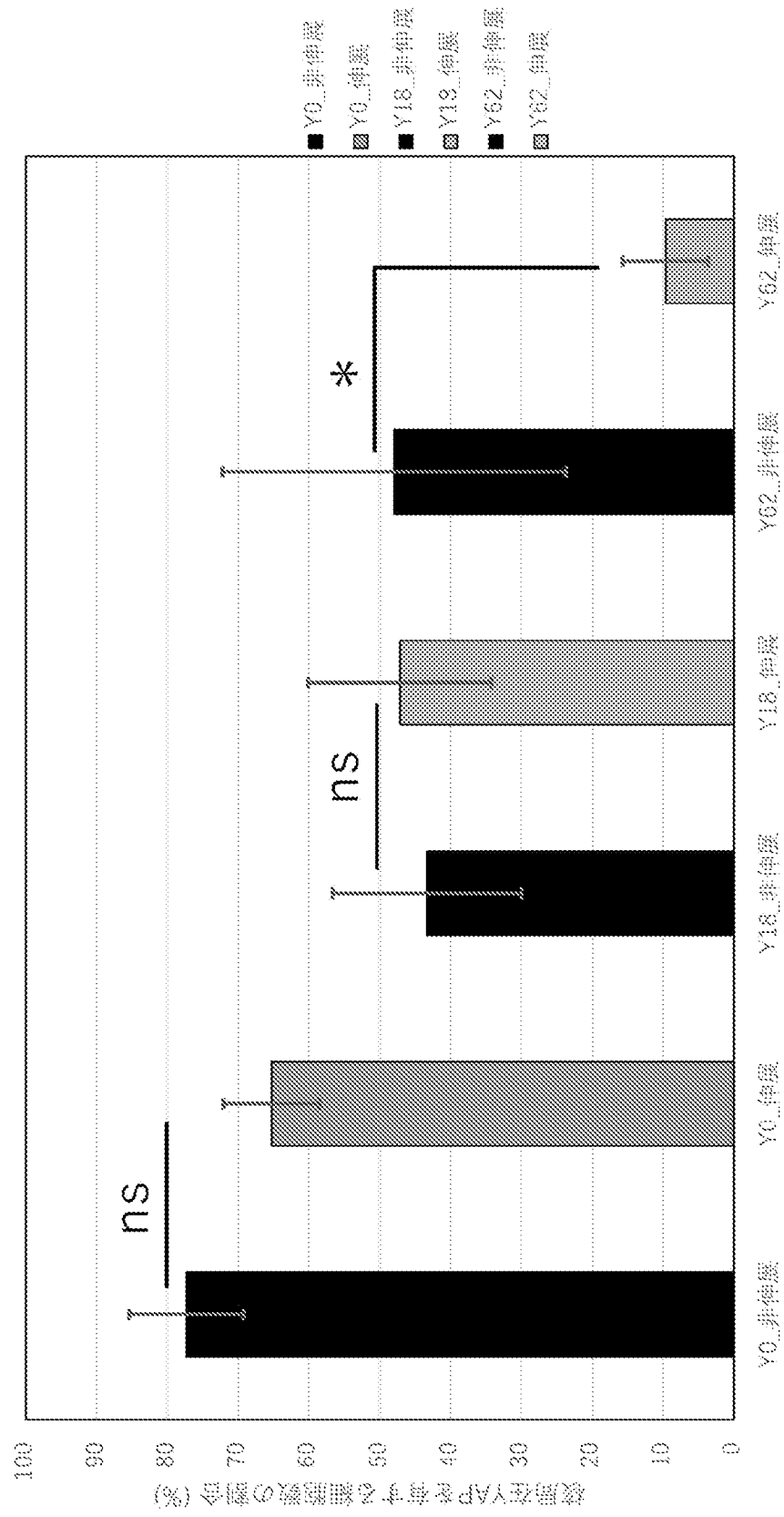
[図2b]



[図3]

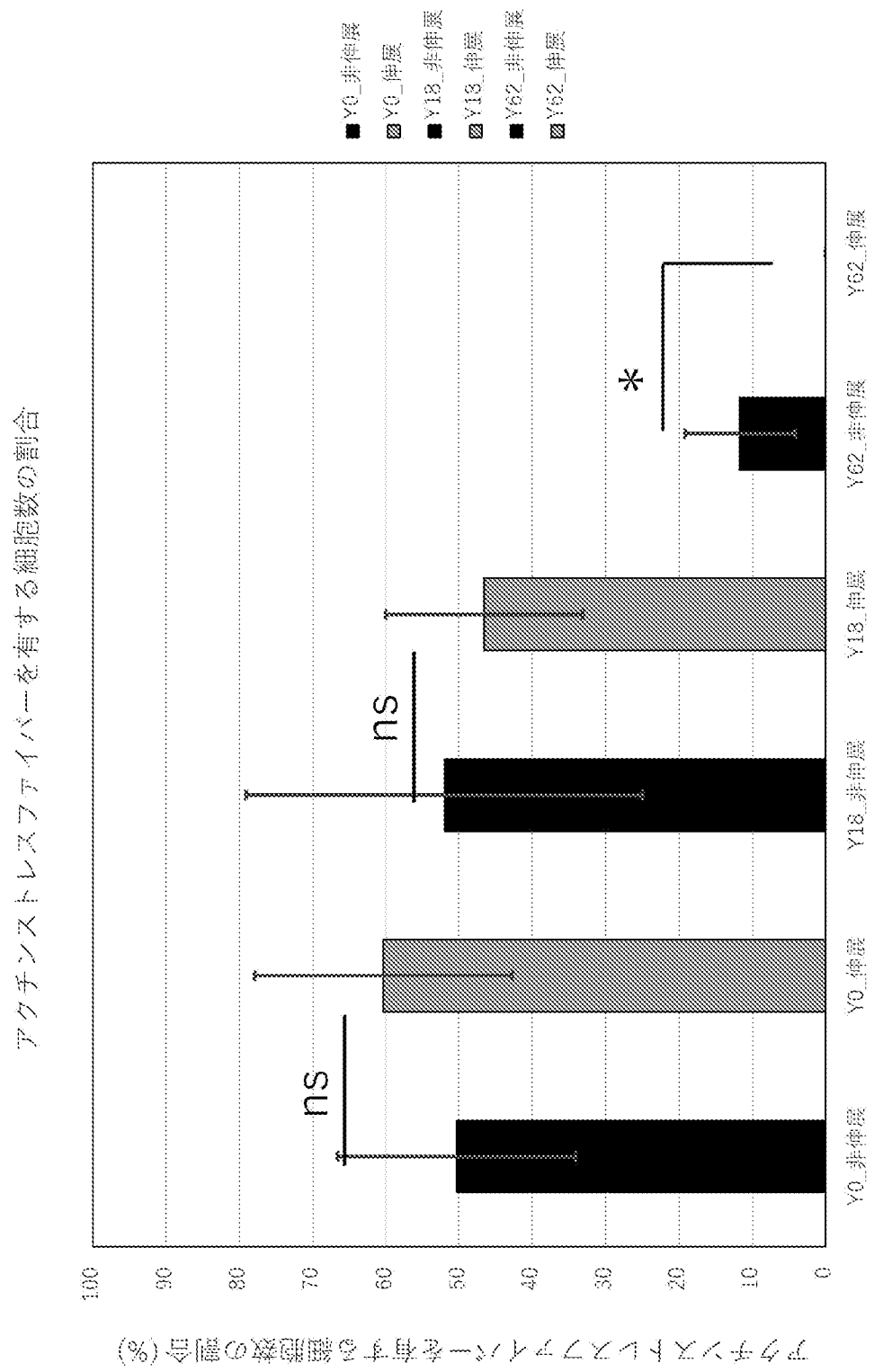
図3

核局在YAPを有する細胞数の割合



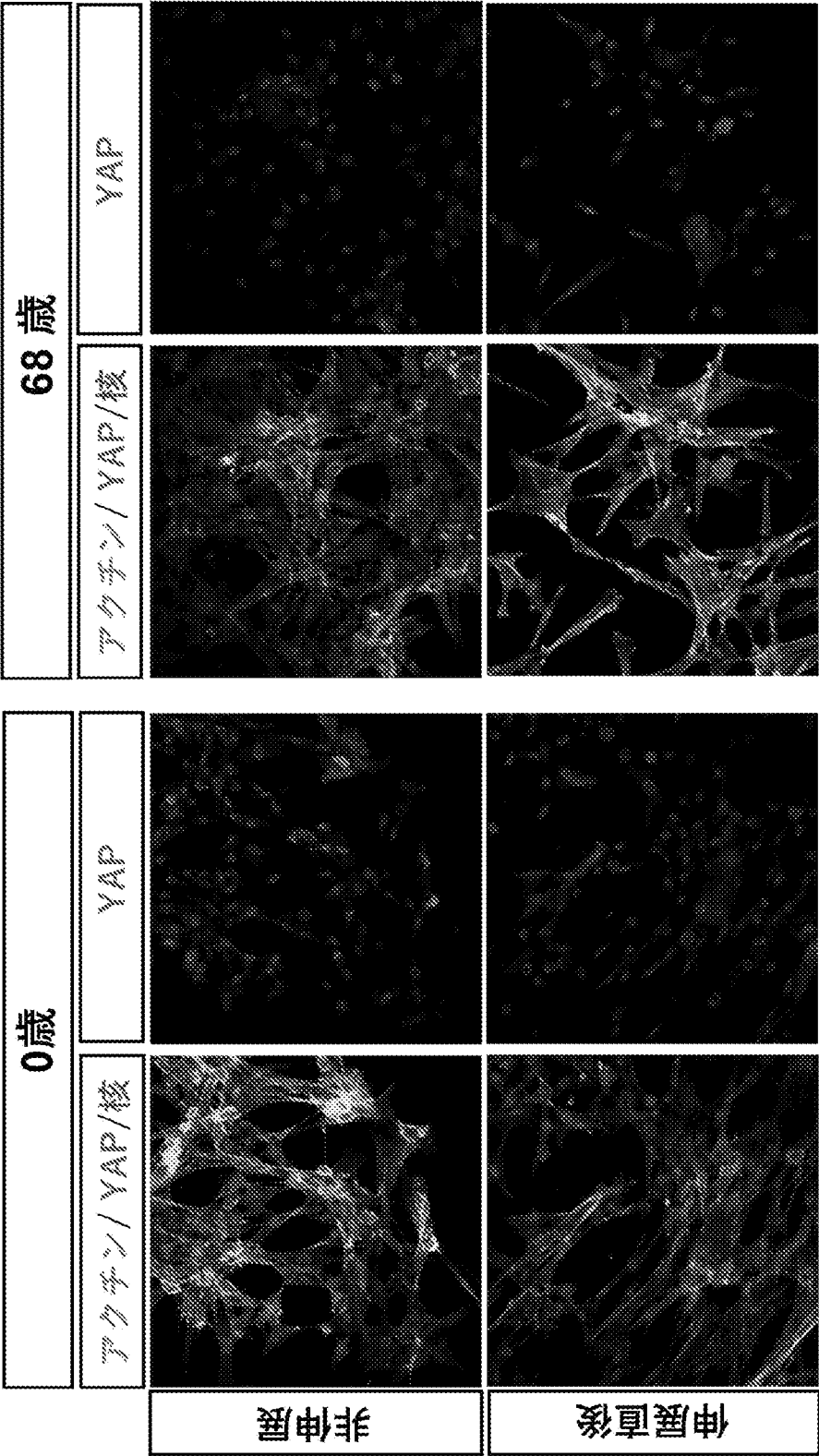
[図4]

図4



[図5]

図5

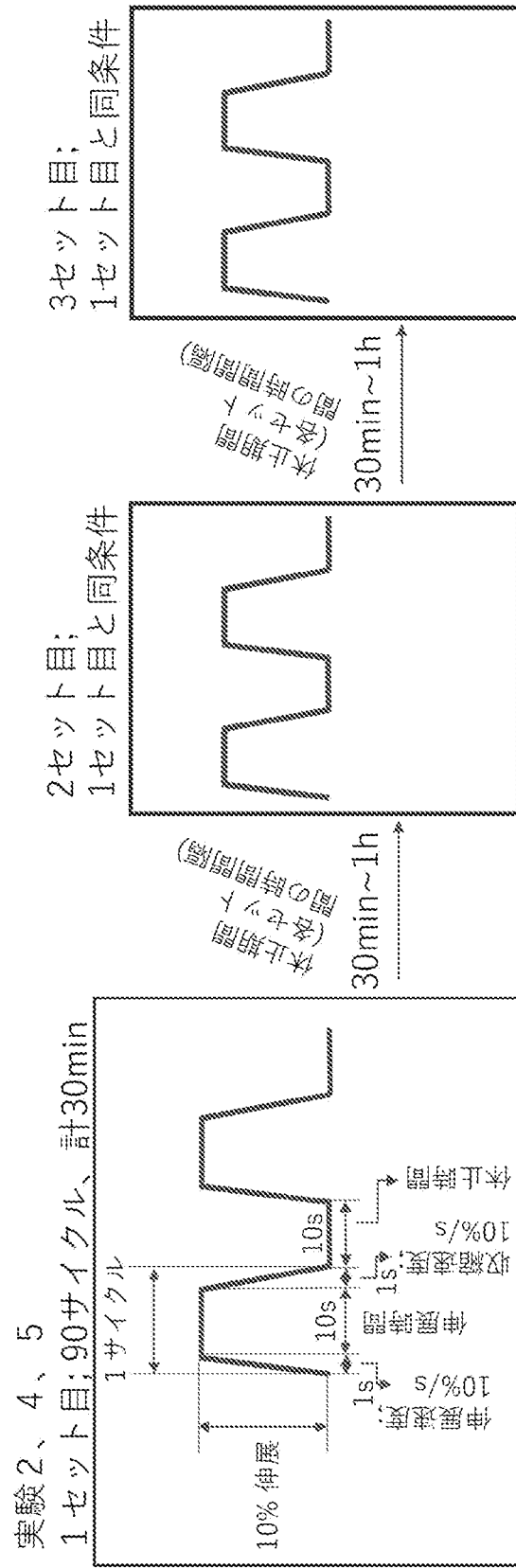


[図6]

図6

押下装置および*Ex vivo* 培養皮膚組織

[図7]

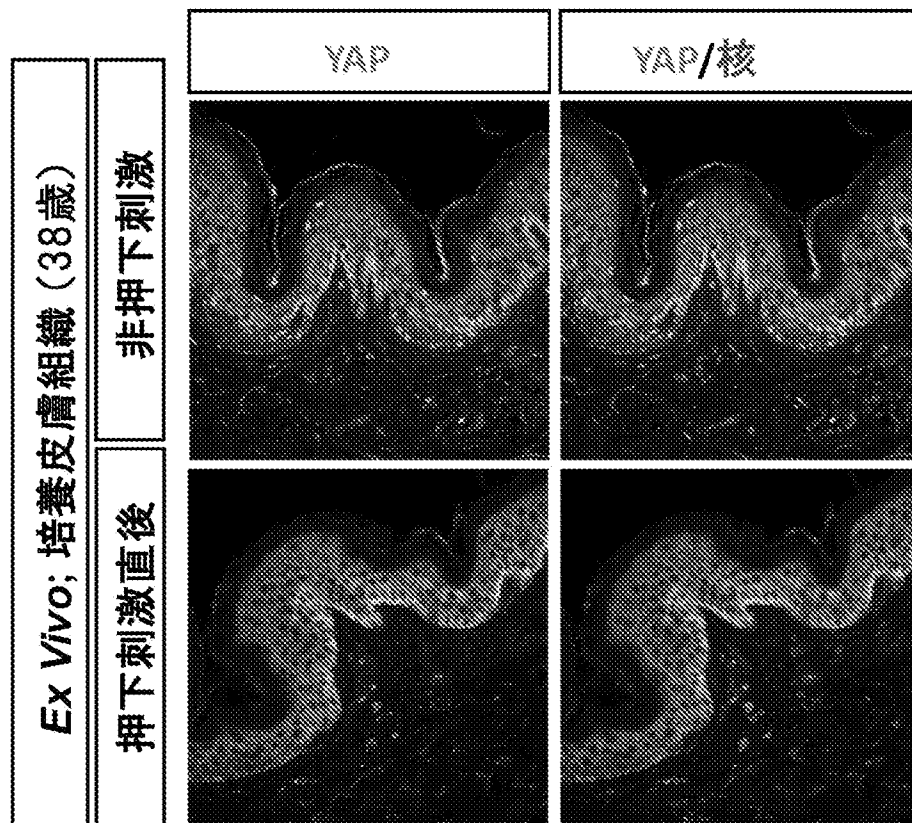


*さらにこの3セットの試行を一晩おいて、2日目、3日目、3日目の3セットの試行をおこなう。

[図8]

図8

(垂直押下運動30分, 休止1時間, 3サイクル)



[図9]

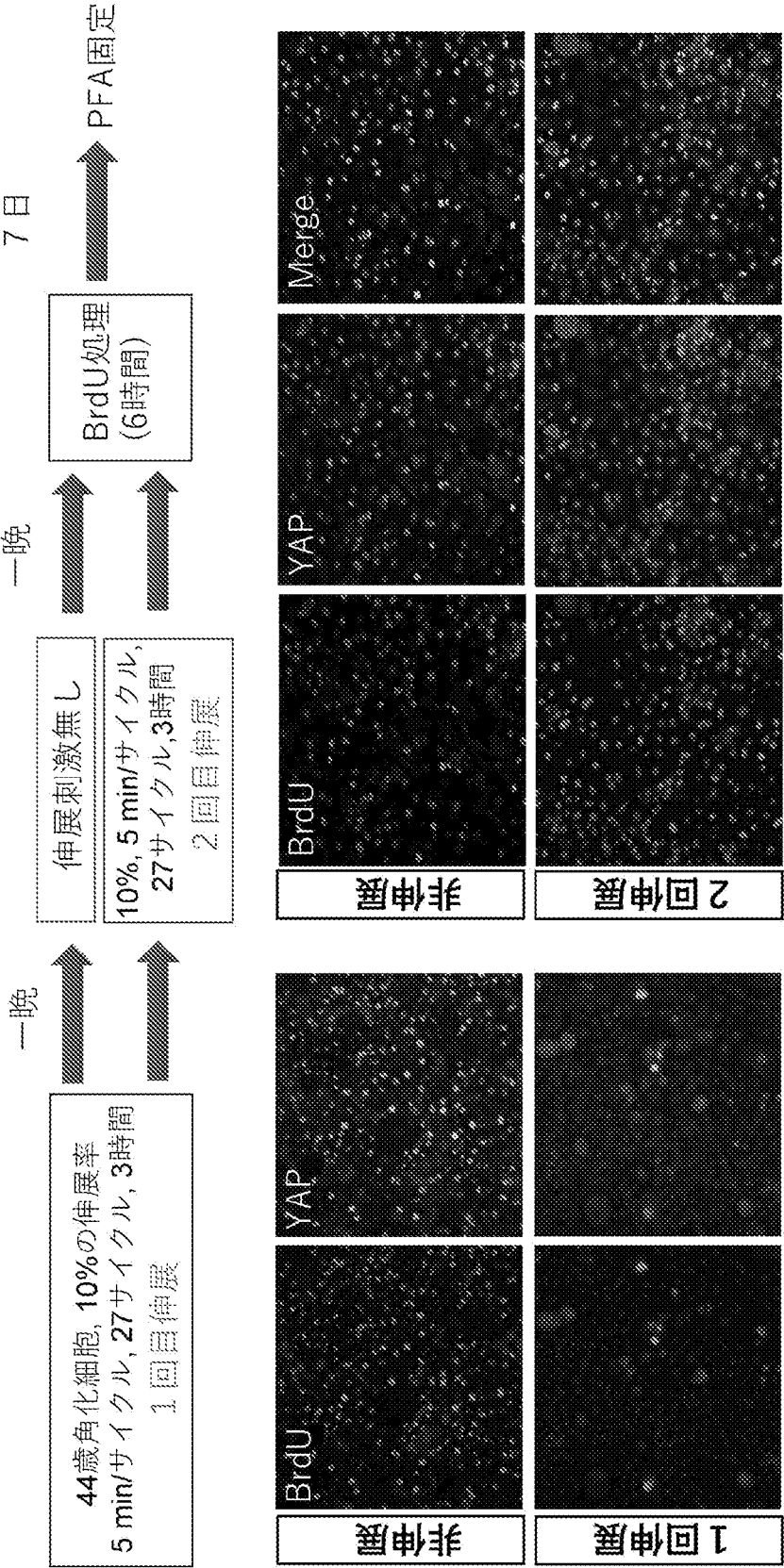
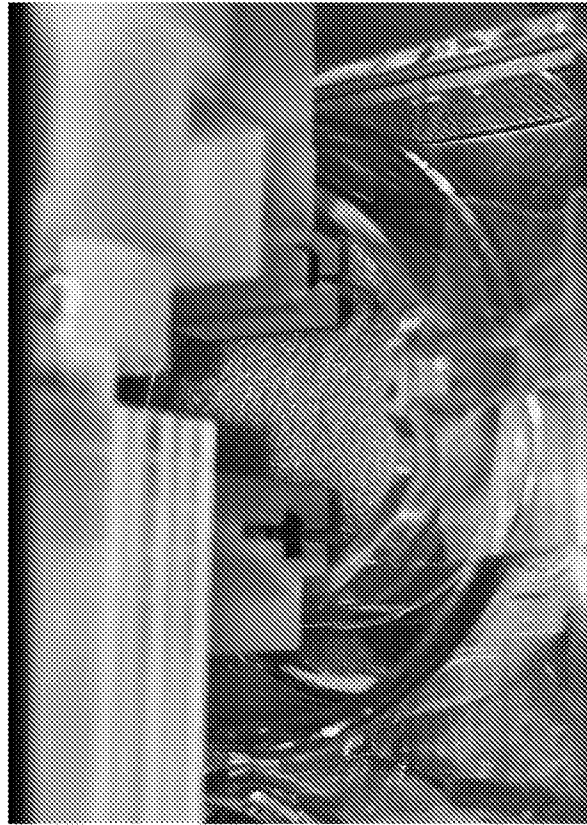


図9

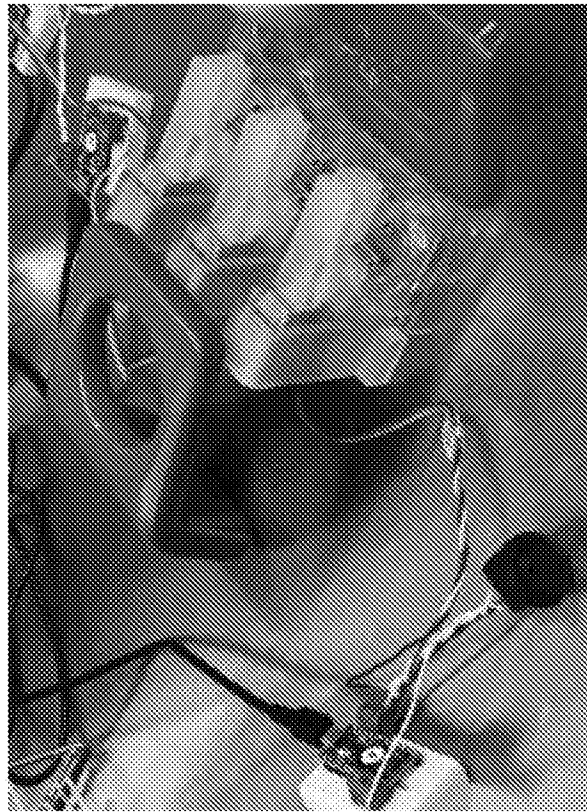
[図10]

図10

Ex vivo 培養皮膚組織および装置近接図

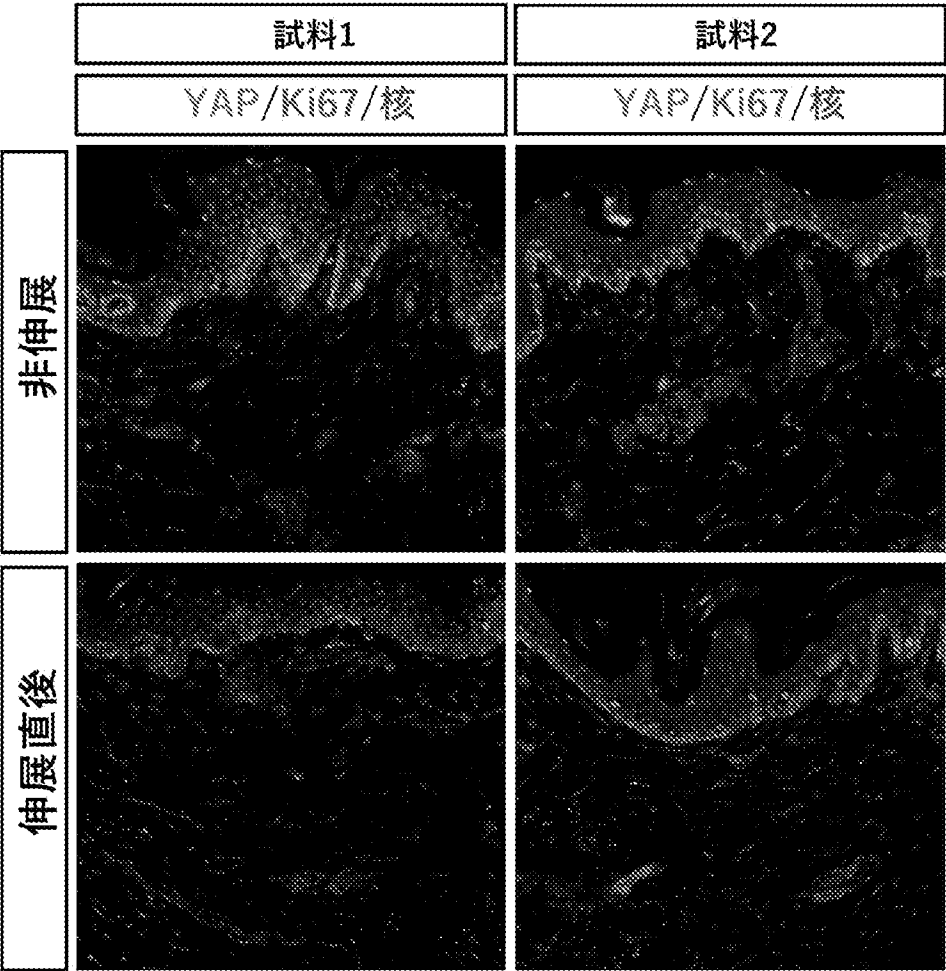


装置全体像



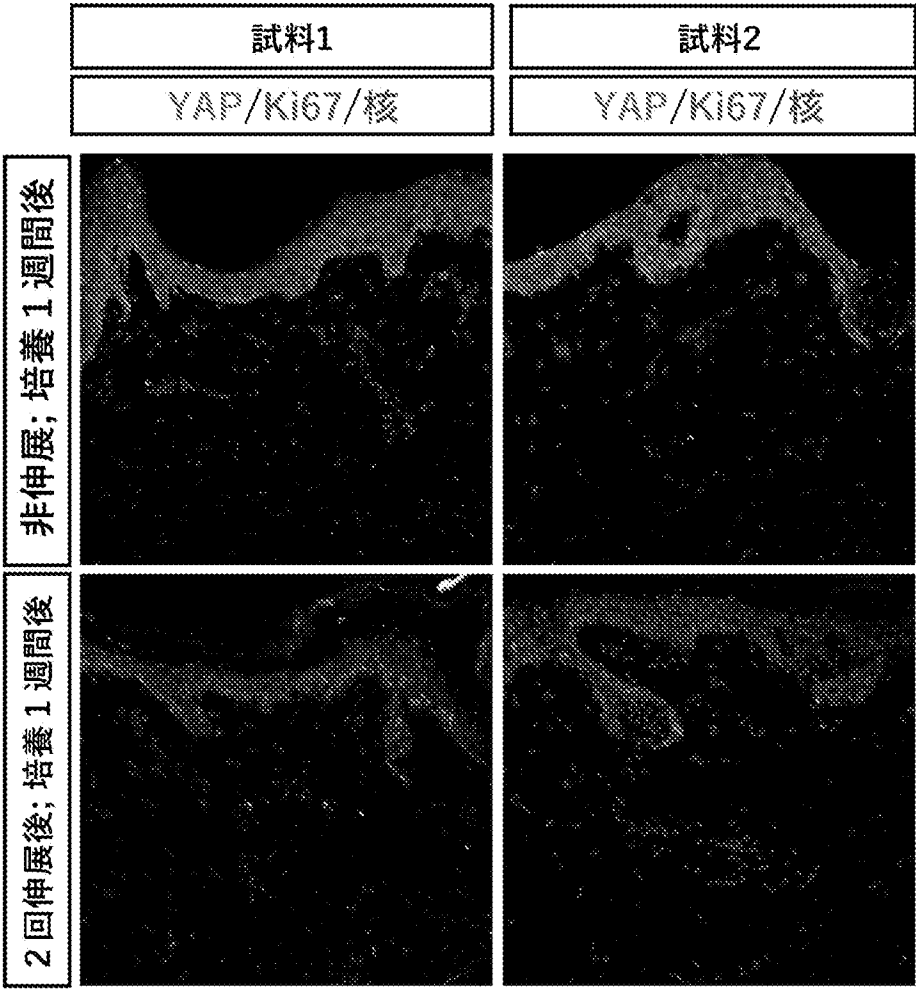
[図11]

図11



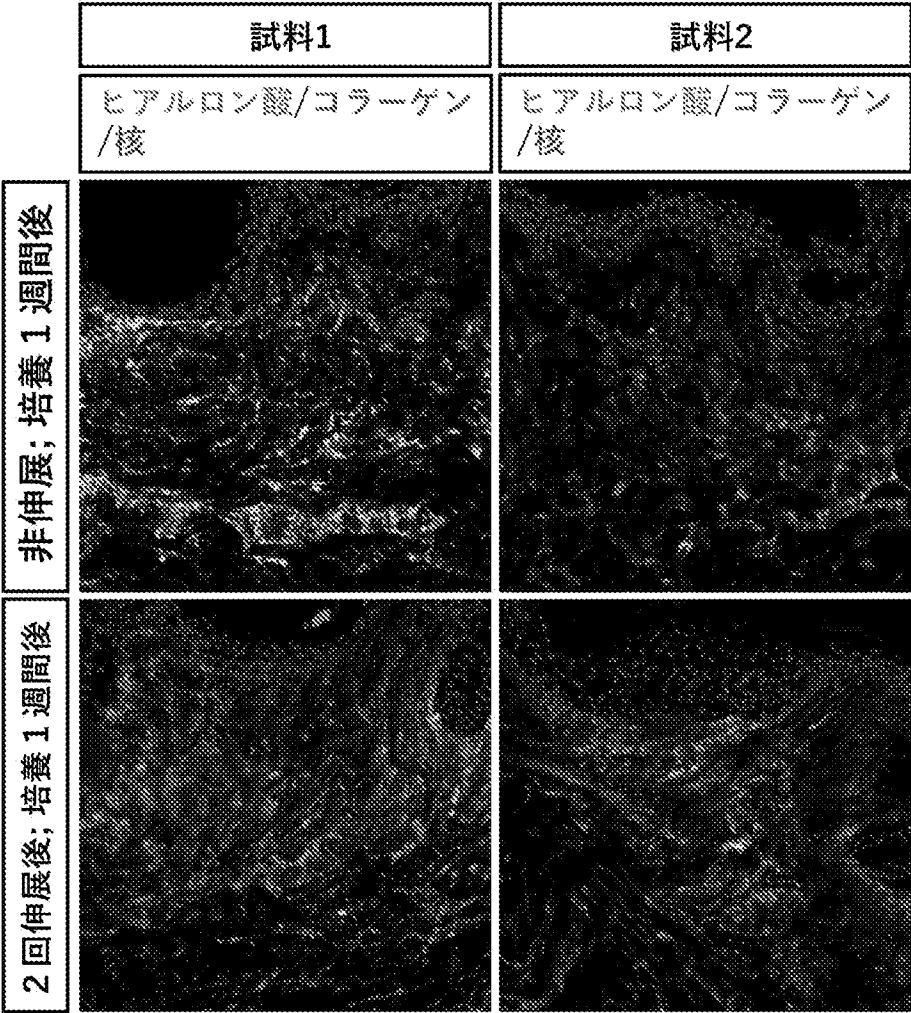
[図12]

図12

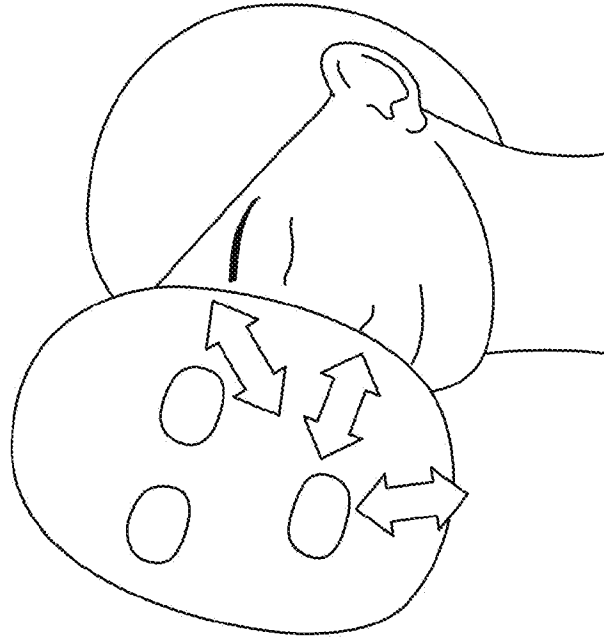


[図13]

図13



[図14]



皮膚固定部
皮膚伸展部

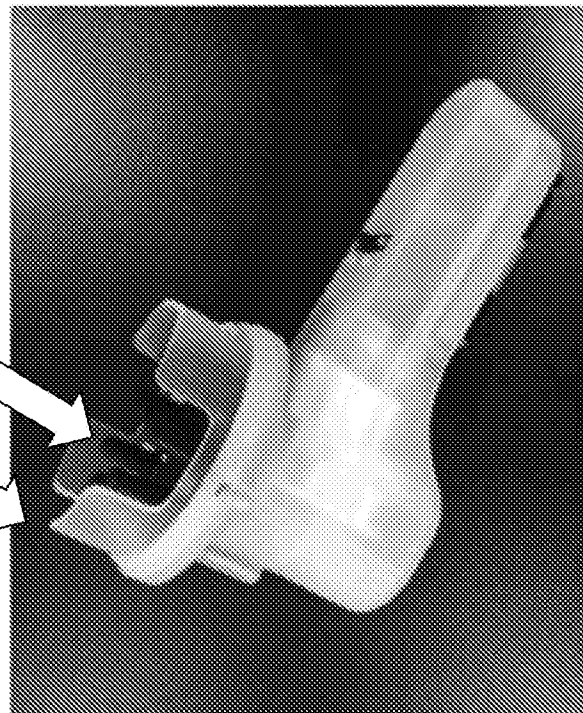


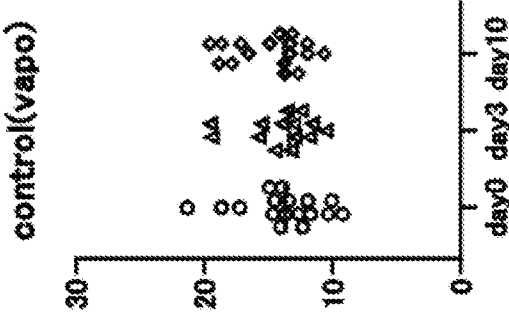
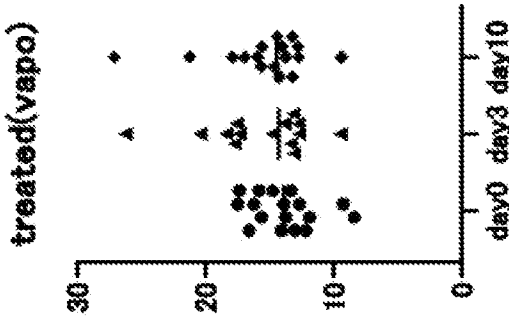
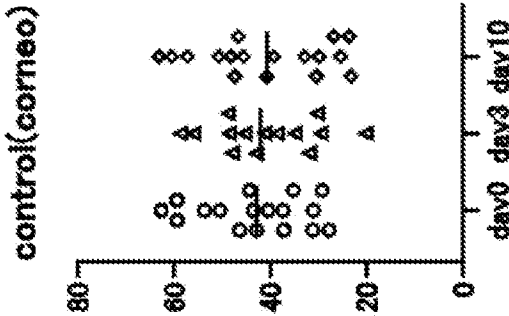
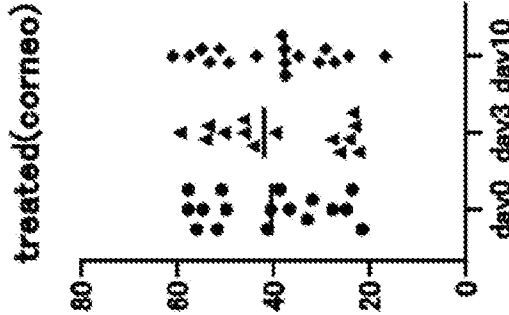
図14

[図15a]

図15a

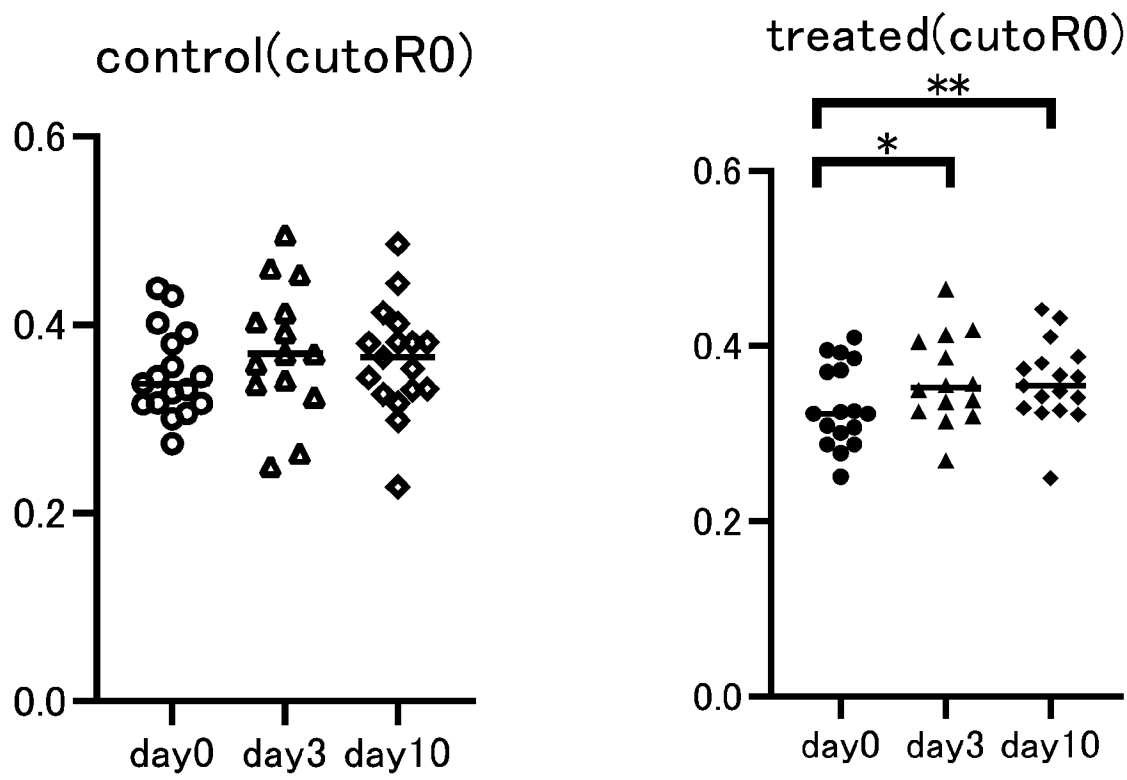
バブメータ

コルネオメータ



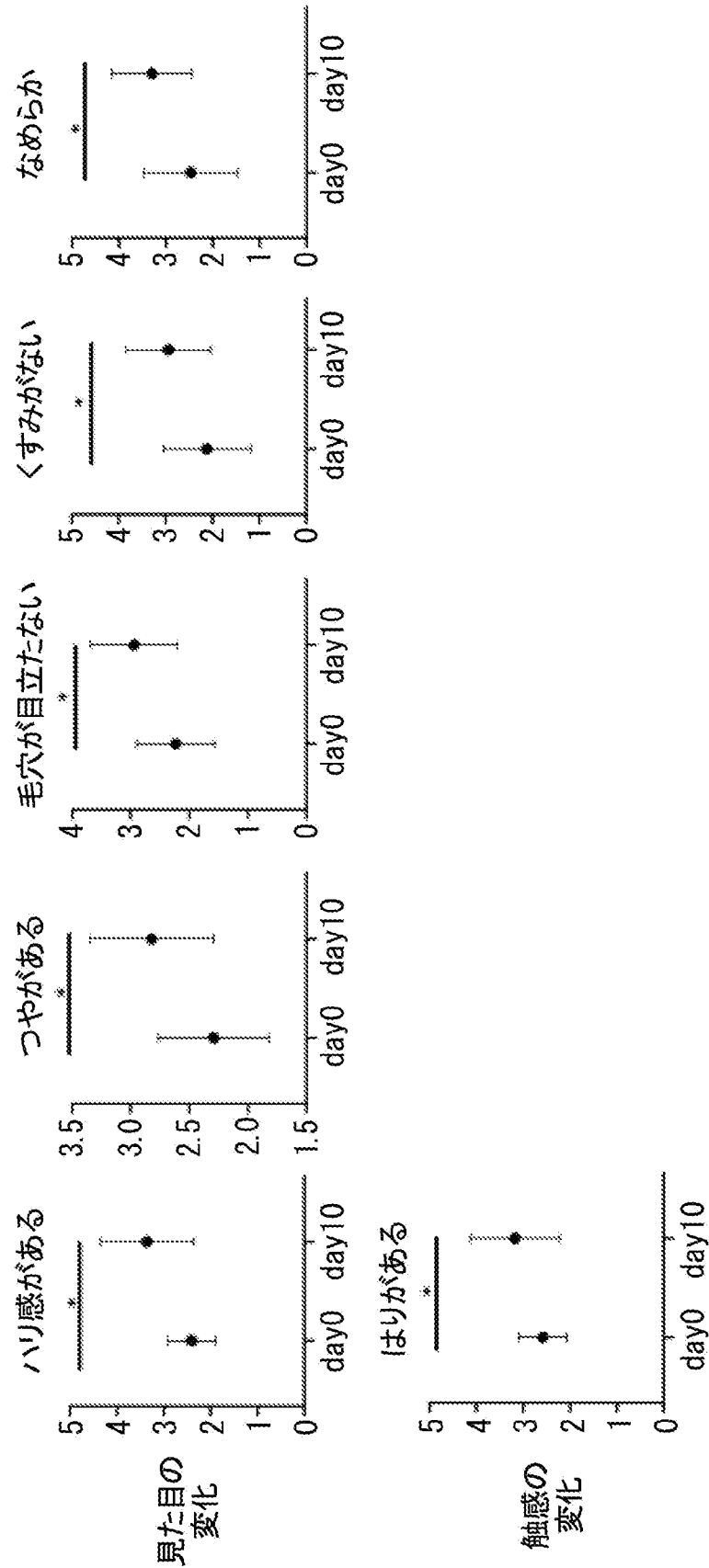
[図15b]

図15b



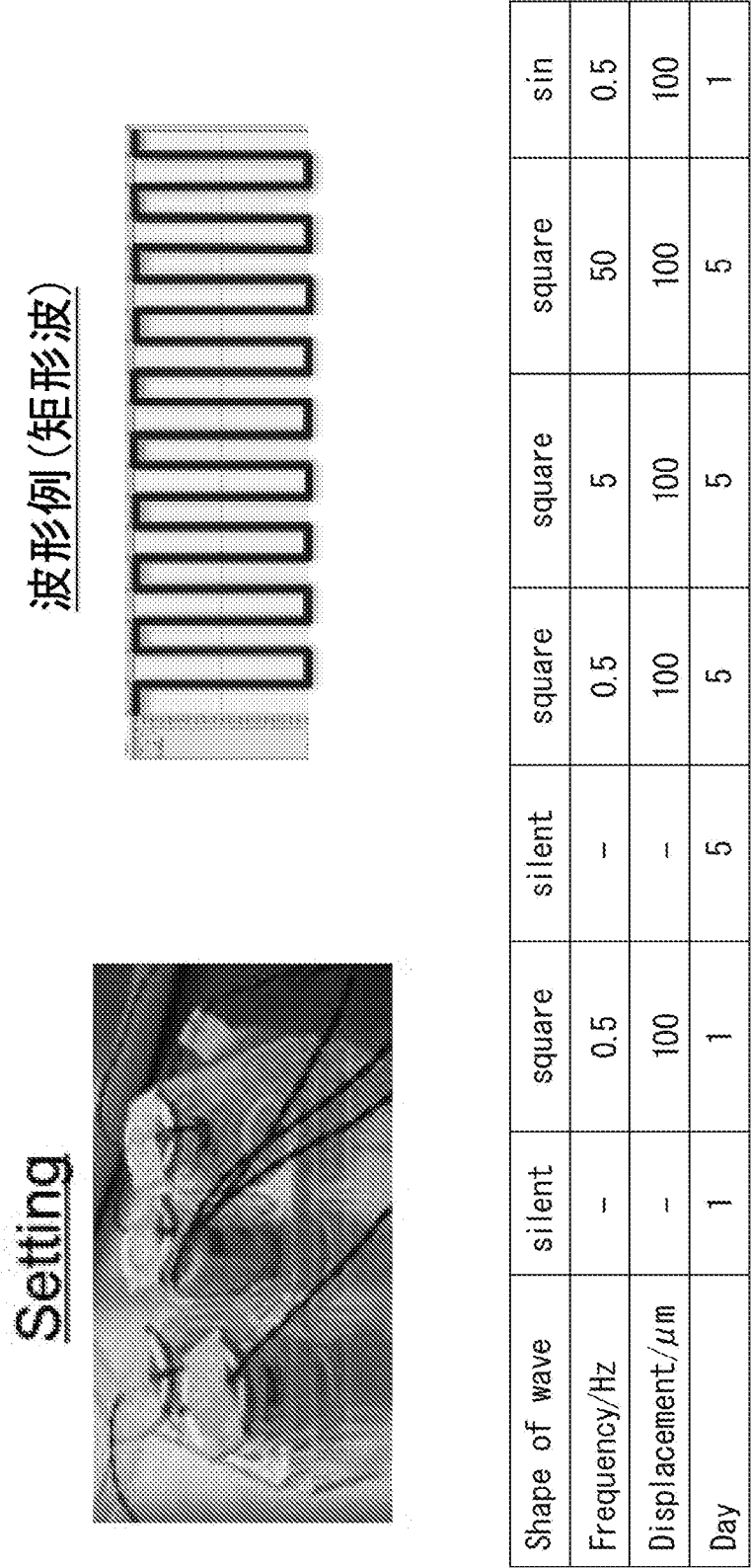
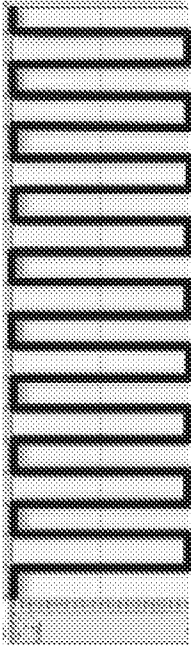
[図15c]

図15c



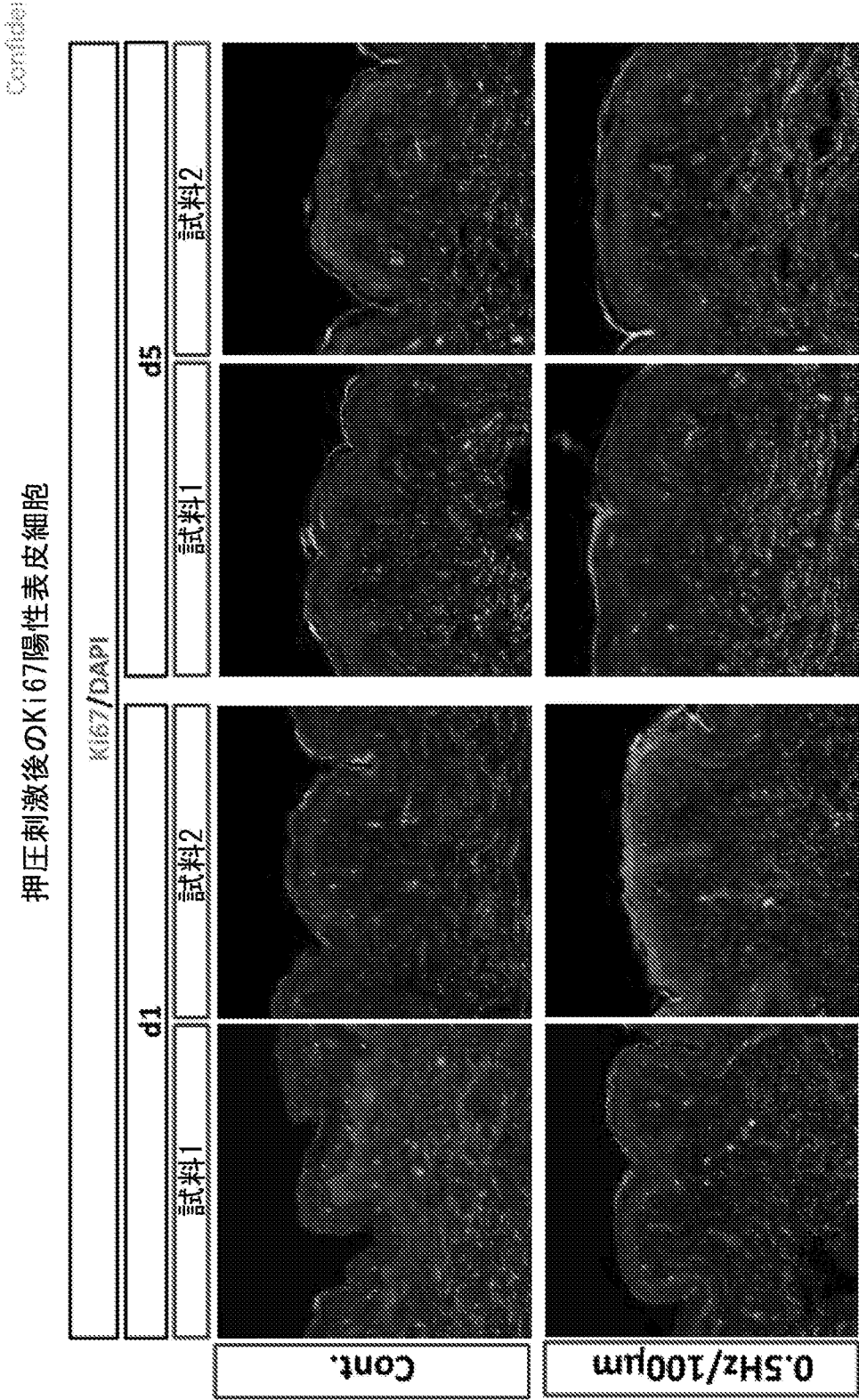
[図16]

図16



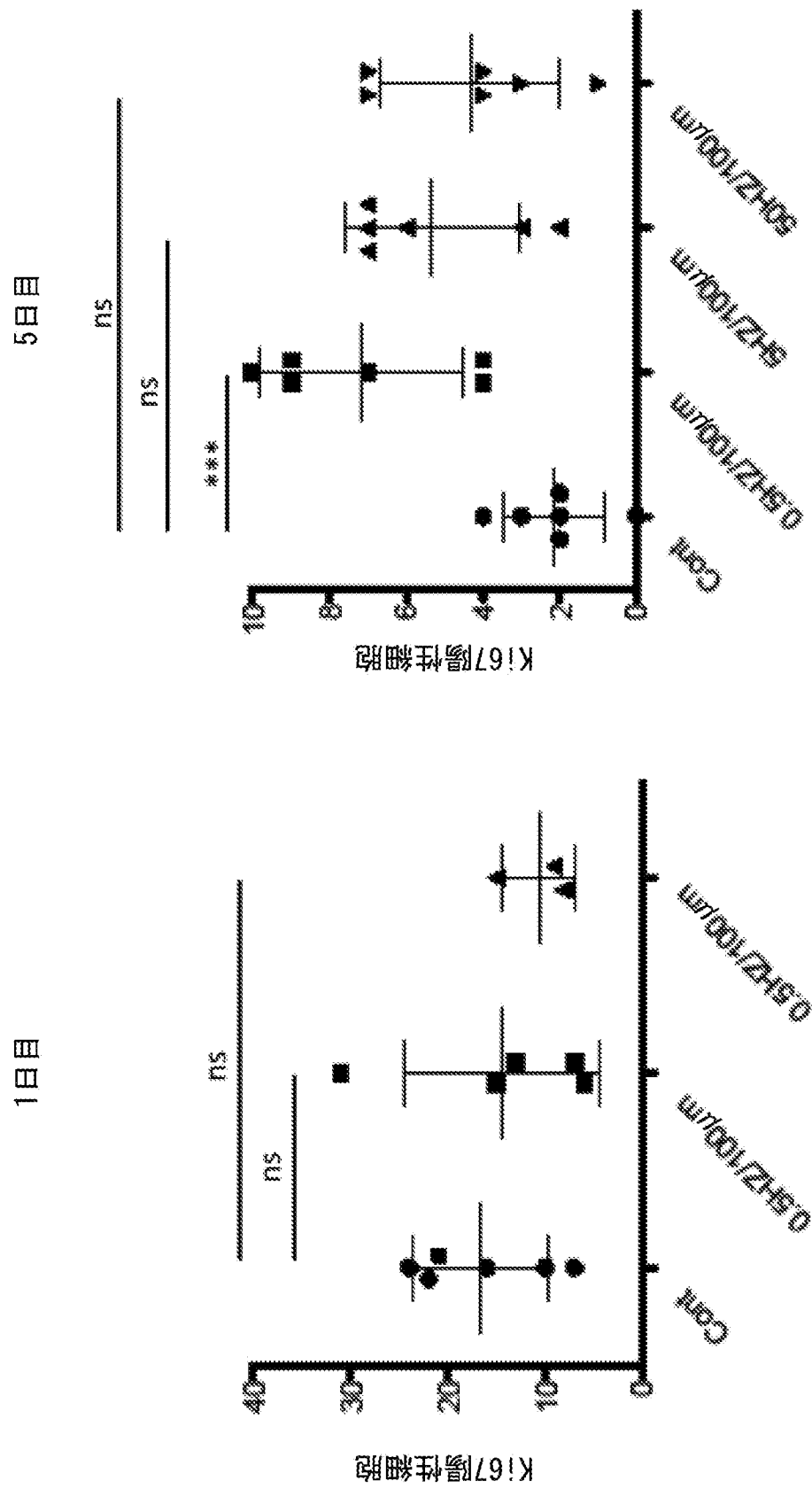
[図17]

図17



[図18]

[図18]

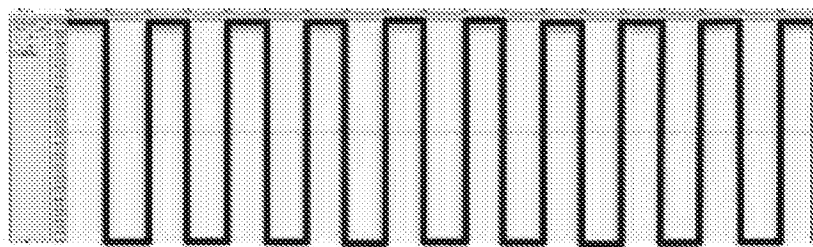


[図19]

図19



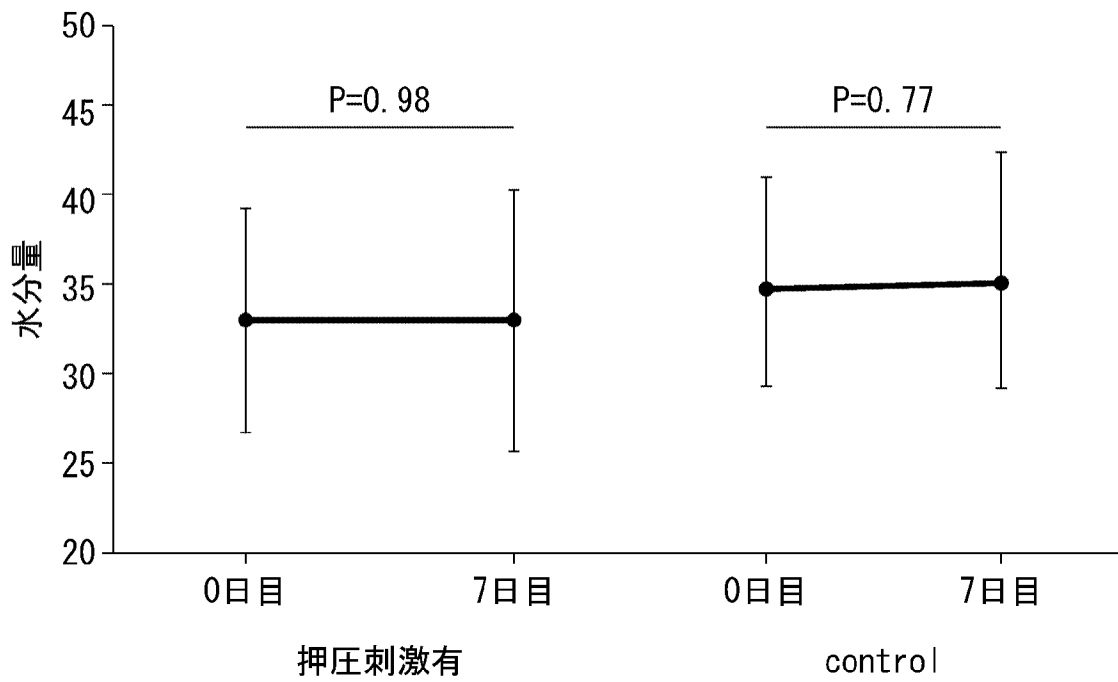
荷重10 gf + 物理刺激 なし(control)
荷重10 gf + 物理刺激 5Hz 100 μ m / 30min $\times$ 5 days



[図20a]

図20a

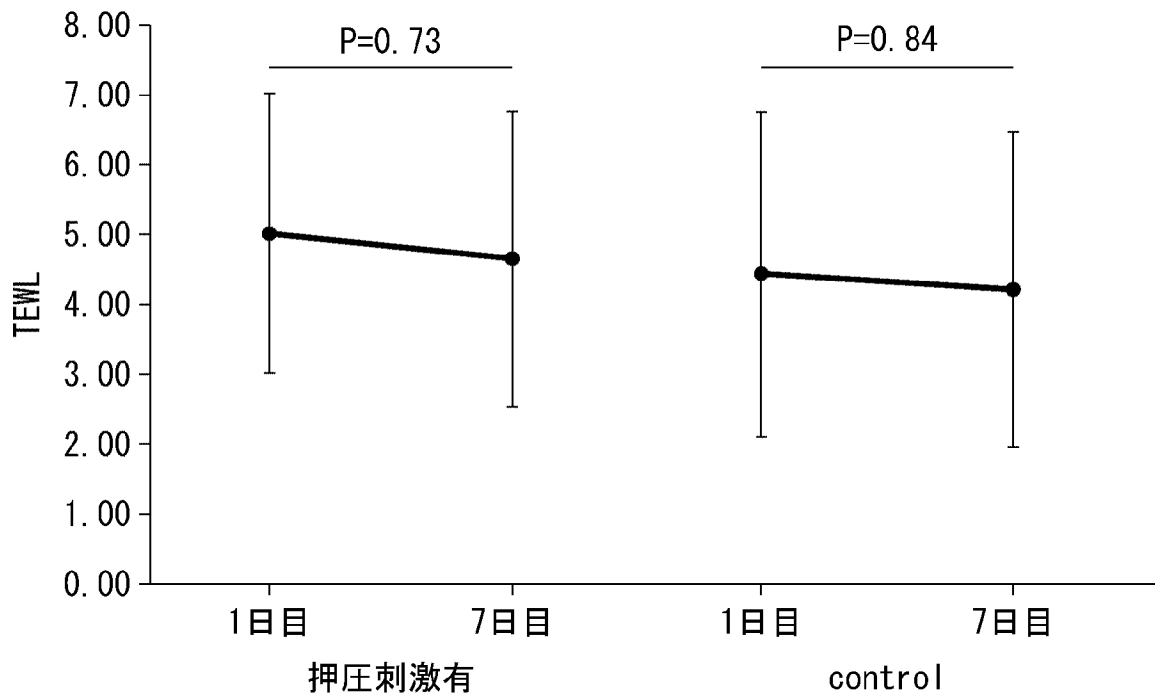
コルネオメーター



[図20b]

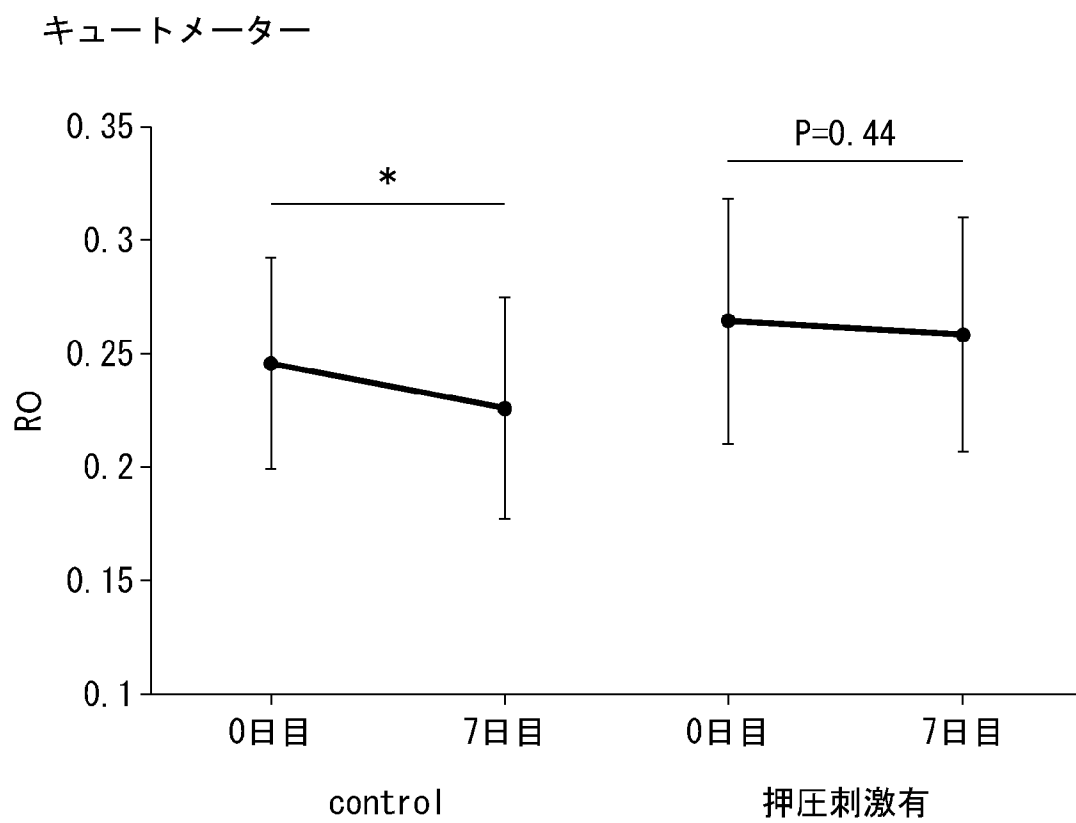
図20b

バポメーター



[図20c]

図20c



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/017099

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A45D 44/22(2006.01)i; A61H 7/00(2006.01)i; A61H 15/00(2006.01)i; C12Q 1/06(2006.01)i; G01N 33/15(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i

FI: A61H7/00 300A; G01N33/50 Q; G01N33/15 Z; C12Q1/06; A45D44/22 B;
A61H7/00 300F; A61H15/00 310; A61H15/00 340A; A61H7/00 320Z;
G01N33/50 Z

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)

A45D44/22; A61H7/00; A61H15/00; C12Q1/06; G01N33/15; G01N33/50

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 1971-2020

Registered utility model specifications of Japan 1996-2020

Published registered utility model applications of Japan 1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-334517 A (MATSUSHITA ELECTRIC WORKS, LTD.) 08.12.2005 (2005-12-08) see claims, paragraphs [0002], [0006]-[0017], fig. 1, 4, etc.	1, 5-6, 8
X	JP 2017-080341 A (SHISEIDO CO., LTD.) 18.05.2017 (2017-05-18) entire text, all drawings, in particular, see claims, paragraphs [0016]-[0024], etc.	1, 5-6, 8
X	JP 11-221260 A (KAO CORP.) 17.08.1999 (1999-08-17) entire text, all drawings, in particular, see claims, etc.	1



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

03 July 2020 (03.07.2020)

Date of mailing of the international search report

14 July 2020 (14.07.2020)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/017099

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-262893 A (KANEBO LTD.) 24.09.2004 (2004-09-24) see entire text, all drawings, etc.	1-8
A	JP 2015-223419 A (PANASONIC IP MANAGEMENT CO., LTD.) 14.12.2015 (2015-12-14) see entire text, all drawings, etc.	1-8
A	JP 2017-538502 A (L'OREAL) 28.12.2017 (2017-12-28) see entire text, all drawings, etc.	1-8
A	JP 2007-050126 A (DR. ITO PROCARE COSMETICS KK) 01.03.2007 (2007-03-01) see entire text, all drawings, etc.	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/017099

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2005-334517 A	08 Dec. 2017	(Family: none)	
JP 2017-080341 A	18 May 2017	(Family: none)	
JP 11-221260 A	17 Aug. 1999	DE 19904790 A1 entire text, all drawings, in particular, see claims, etc.	
JP 2004-262893 A	24 Sep. 2004	(Family: none)	
JP 2015-223419 A	14 Dec. 2015	CN 105310871 A see entire text, all drawings, etc.	
JP 2017-538502 A	28 Dec. 2017	US 2016/0184177 Aa see entire text, all drawings, etc.	
		WO 2016/109185 Aa	
		EP 3244866 A1	
JP 2007-050126 A	01 Mar. 2007	(Family: none)	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>A45D 44/22(2006.01)i; A61H 7/00(2006.01)i; A61H 15/00(2006.01)i; C12Q 1/06(2006.01)i; G01N 33/15(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i FI: A61H7/00 300A; G01N33/50 Q; G01N33/15 Z; C12Q1/06; A45D44/22 B; A61H7/00 300F; A61H15/00 310; A61H15/00 340A; A61H7/00 320Z; G01N33/50 Z</p>																				
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>A45D44/22; A61H7/00; A61H15/00; C12Q1/06; G01N33/15; G01N33/50</p> <p>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</p> <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>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table> <p>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）</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)</p>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2020年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2020年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2020年																			
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <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>X</td> <td>JP 2005-334517 A（松下電工株式会社）08.12.2005（2005-12-08） [特許請求の範囲]、段落[0002]、[0006]－[0017]、[図1]、[図4]等参照</td> <td>1,5-6,8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>JP 2017-080341 A（株式会社 資生堂）18.05.2017（2017-05-18） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落[0016]－[0024]等参照</td> <td>1,5-6,8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>JP 11-221260 A（花王株式会社）17.08.1999（1999-08-17） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]等参照</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2004-262893 A（カネボウ株式会社）24.09.2004（2004-09-24） 全文・全図等参照</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2015-223419 A（パナソニックIPマネジメント株式会社）14.12.2015（2015-12-14） 全文・全図等参照</td> <td>1-8</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	X	JP 2005-334517 A（松下電工株式会社）08.12.2005（2005-12-08） [特許請求の範囲]、段落[0002]、[0006]－[0017]、[図1]、[図4]等参照	1,5-6,8	X	JP 2017-080341 A（株式会社 資生堂）18.05.2017（2017-05-18） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落[0016]－[0024]等参照	1,5-6,8	X	JP 11-221260 A（花王株式会社）17.08.1999（1999-08-17） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]等参照	1	A	JP 2004-262893 A（カネボウ株式会社）24.09.2004（2004-09-24） 全文・全図等参照	1-8	A	JP 2015-223419 A（パナソニックIPマネジメント株式会社）14.12.2015（2015-12-14） 全文・全図等参照	1-8
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
X	JP 2005-334517 A（松下電工株式会社）08.12.2005（2005-12-08） [特許請求の範囲]、段落[0002]、[0006]－[0017]、[図1]、[図4]等参照	1,5-6,8																		
X	JP 2017-080341 A（株式会社 資生堂）18.05.2017（2017-05-18） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]、段落[0016]－[0024]等参照	1,5-6,8																		
X	JP 11-221260 A（花王株式会社）17.08.1999（1999-08-17） 全文・全図、特に、[特許請求の範囲]等参照	1																		
A	JP 2004-262893 A（カネボウ株式会社）24.09.2004（2004-09-24） 全文・全図等参照	1-8																		
A	JP 2015-223419 A（パナソニックIPマネジメント株式会社）14.12.2015（2015-12-14） 全文・全図等参照	1-8																		
<p>☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。</p> <p>☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>																				
<table border="0"> <tr> <td> <p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“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</p> </td> <td> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p> </td> </tr> </table>			<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>																
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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）</p> <p>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同一パテントファミリー文献</p>																			
<p>国際調査を完了した日</p> <p>03.07.2020</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p>14.07.2020</p>																		
<p>名称及びあて先</p> <p>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</p>		<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>草川 貴史 2J 4075</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3252</p>																		

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	JP 2017-538502 A (ロレアル) 28.12.2017 (2017 - 12 - 28) 全文・全図等参照	1-8
A	JP 2007-050126 A (有限会社D r . I t o プロケアコスメティクス) 01.03.2007 (2007 - 03 - 01) 全文・全図等参照	1-8

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/JP2020/017099

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2005-334517	A	08.12.2005	(ファミリーなし)	
JP	2017-080341	A	18.05.2017	(ファミリーなし)	
JP	11-221260	A	17.08.1999	DE 19904790 A1	
				全文・全図，特に，特許請求の範囲等参照	
JP	2004-262893	A	24.09.2004	(ファミリーなし)	
JP	2015-223419	A	14.12.2015	CN 105310871 A	
				全文・全図等参照	
JP	2017-538502	A	28.12.2017	US 2016/0184177 A1	
				全文・全図等参照	
				WO 2016/109185 A1	
				EP 3244866 A1	
JP	2007-050126	A	01.03.2007	(ファミリーなし)	