

(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
2019年10月10日(10.10.2019)



(10) 国際公開番号
WO 2019/193717 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/505 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2018/014614
- (22) 国際出願日: 2018年4月5日(05.04.2018)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (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丁目5番5号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者:合津 陽子(**GOZU, Yoko**); 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早瀬2-2-1 株

式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). 土師 信一郎 (**HAZE, Shinichiro**); 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早瀬2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP).

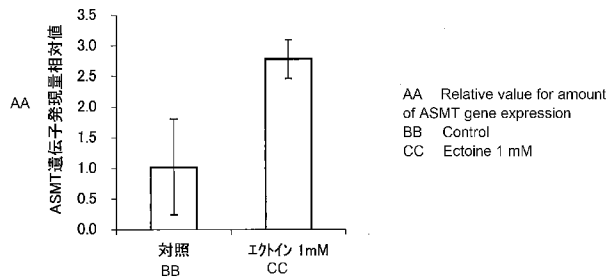
(74) 代理人: 青木 篤, 外 (**AOKI, Atsushi et al.**); 〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(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,

(54) Title: ASMT EXPRESSION PROMOTER

(54) 発明の名称: A S M T 発現促進剤

図1



(57) Abstract: Provided is a novel ASMT expression promoter. The present invention provides an ASMT expression promoter that contains ectoine or a physiologically acceptable salt thereof as an active ingredient. The present invention also provides a melatonin synthesis promoter that contains ectoine or a physiologically acceptable salt thereof as an active ingredient and that promotes melatonin synthesis via promotion of ASMT expression. The outcomes of improvements in sleep disorders, enhanced cognitive function, improvements in mood disorders, enhanced antioxidation activity, and



WO 2019/193717 A1

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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

添付公開書類 :

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

enhanced antiinflammatory activity can be strengthened by promoting melatonin synthesis via promotion of ASMT gene expression.

(57) 要約: 新規 ASMT 発現促進剤の提供。本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有する ASMT 発現促進剤を提供する。また、本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT 発現促進を介してメラトニンの合成を促進するメラトニン合成促進剤も提供する。ASMT 遺伝子発現の促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性の亢進、および抗炎症活性の亢進といった作用を増強することができる。

明 細 書

発明の名称 : A S M T 発現促進剤

技術分野

[0001] 本発明はASMT発現促進剤に関する。

背景技術

[0002] メラトニンは、動植物に存在するホルモンであり、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性・抗炎症活性の亢進といった効果を有することが報告されている（特許文献1、2、非特許文献1）。

[0003] メラトニン合成を促進する物質としてアセチルセロトニンO-メチルトランスフェラーゼ（ASMT）が知られている。ASMTは、ASMT遺伝子の発現により体内で産生され、メラトニン合成経路の最終ステップに関与する酵素である。よって、ASMTの発現を促進することによりメラトニンの合成が促され、メラトニン量が増えると考えられる（特許文献2、非特許文献1～6）。

[0004] したがって、ASMTの発現を促進することによりメラトニンの合成を促進する物質の探索が望まれる。しかしながら、これまでに、どのような物質がASMT発現促進作用に大きく寄与するのか十分に解明されていなかった。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開第2014-237700号公報

特許文献2：特表第2009-511038号公報

特許文献3：特開第2002-302444号公報

特許文献4：特許第5116917号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：服部淳彦、総説 メラトニンとエイジング、比較生理生化学Vol. 34 (2017), No. 1, p.2-11

非特許文献2：Pagan et.al., Mutation screening of ASMT, the last enzyme of the melatonin pathway, in a large sample of patients with Intell

ectual Disability, BMC Medical Genetics 2011, 12:17

非特許文献3: Reiter et.al., Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions, Acta Biochimica Polonica, Vol. 54 No. 1, 2007, 1-9

非特許文献4: Ribelayga et.al., HIOMT drives the photoperiodic changes in the amplitude of the melatonin peak of the Siberian hamster, American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology, 278: R1339-R1345, 2000.

非特許文献5: Ceinos et.al., Analysis of Adrenergic Regulation of Melatonin Synthesis in Siberian Hamster Pineal Emphasizes the Role of HIOMT, Neurosignals 2004;13:308-317

非特許文献6: Monika Talarowska et. al., ASMT gene expression correlates with cognitive impairment in patients with recurrent depressive disorder, Medical Science Monitor, 2014; 20: 905-912

非特許文献7: Yi H1 et. al., Localization of the hydroxyindole-0-methyltransferase gene to the pseudoautosomal region: implications for mapping of psychiatric disorders, Human Molecular Genetics. 1993 Feb;2(2):127-31.

非特許文献8: Gaia Favero et. al., Melatonin as an Anti-Inflammatory Agent Modulating Inflammasome Activation, International Journal of Endocrinology Volume 2017, Article ID 1835195, 13 pages.

非特許文献9: Andrzej Alominski, D. J. Tobin, M. A. Zmijewski, et.al., Melatonin in the skin: synthesis, metabolism and functions. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2008, 19:17-24

非特許文献10: DX Tan, LD Chen, B Poeggeler, et.al., Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. Endocrine J, 1993, 1:57-60

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、新規なASMT発現促進剤の提供にある。

課題を解決するための手段

[0008] 発明者らは、様々な成分についてASMT発現促進剤としての効果について鋭意研究の結果、エクトインが、ASMT発現促進剤として特に高い効果を有することを見出し、以下の発明を完成するに至った：

(1) エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有するASMT発現促進剤。

(2) エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進するメラトニン合成促進剤。

(3) エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより抗酸化活性を亢進する抗酸化剤。

(4) (1) に記載のASMT発現促進剤を含む組成物。

(5) (2) に記載のメラトニン合成促進剤を含む組成物。

(6) (3) に記載の抗酸化剤を含む組成物。

(7) ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性の亢進、および抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強するための、(4)又は(5)に記載の組成物。

(8) 化粧品組成物又は食品組成物である、(4)～(7)いずれか1項に記載の組成物。

発明の効果

[0009] 本発明のASMT発現促進剤の投与により、ASMT発現を促進することができる。本発明によれば、ASMT発現促進剤を含有する組成物を提供することができる。ASMT発現を促進することによりメラトニンの合成を促進することができる、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性・抗炎症活性の亢進といったメラトニンの有する効果を増強することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、エクトインによるASMT発現促進効果をエクトイン無添加の対照と比較した結果である。対照のASMT遺伝子発現量を1とした比較として示す。

[図2]図2は、各濃度のエクトインによるASMT発現促進効果を示す結果である。内部標準として発現量がほぼ一定のハウスキーピング遺伝子であるRPLP0遺伝子の発現量を定量し、RPLP0に対する相対発現量ASMT/RPLP0を算出して、ASMT遺伝子発現量とした。

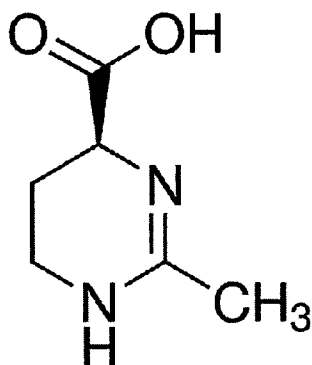
[図3]図3は、エクトインによるASMT発現促進効果を各種対照薬剤および薬剤無添加の対照と比較した結果である。内部標準として発現量がほぼ一定のハウスキーピング遺伝子であるRPLP0遺伝子の発現量を定量し、RPLP0に対する相対発現量ASMT/RPLP0を算出して、ASMT遺伝子発現量とした。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有するASMT発現促進剤を提供する。

[0012] エクトインとは、(4S)-2-メチル-1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン-4-カルボン酸 ((4S)-2-methyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidine-4-carboxylic acid) のことであり、以下の構造を有する環状型のアミノ酸である (CAS番号96702-03-3)。

[0013] [化1]



- [0014] エクトインは、浸透圧を調節する作用があることが知られており、浸透圧の変化によるストレスから細胞を守る働きがある。また、エクトインは、肌の保水力を長時間維持する作用等を有することが知られており、各種化粧品に配合されている成分である（特許文献3、4）。しかしながら、エクトインが、高いASMT発現促進作用を有することはこれまでに報告されておらず、非常に驚くべき発見である。
- [0015] 生理学的に許容しうる塩とは、アルカリ塩又はアルカリ土類塩、特にカリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウムの塩や、非毒性脂肪族又は芳香族アミンなどの有機塩基から誘導される塩を含む。
- [0016] ASMTは、アセチルセロトニン 0-メチルトランスフェラーゼ (Acetyl serotonin 0-methyl transferase) を指す (CAS番号9029-77-0)。ASMTは、メラトニン合成経路の最終段階であるノルメラトニンをメラトニンに変換する反応を触媒する酵素として知られている。また、ASMTは、ヒドロキシインドール0-メチルトランスフェラーゼ (HIOMT : Hydroxyindole-0-methyltransferase) 等の名称で呼ばれることもある（非特許文献1～5）。
- [0017] ASMT遺伝子は、X染色体及びY染色体に共通する偽常染色体領域1 (PAR1) に位置し、アセチルセロトニン0-メチルトランスフェラーゼ (ASMT) をコードする遺伝子である（非特許文献7）。ASMT遺伝子の発現量が少ないとノルメラトニンからメラトニンへと変換されないためメラトニン産生量が減少し、逆に、ASMT遺伝子の発現量が多いとメラトニン産生量が増加することが示唆されている（非特許文献1～5）。
- [0018] メラトニンは、N-アセチル-5-メトキシトリプタミン (N-acetyl-5-methoxytryptamine) のことを指す (CAS番号73-31-4)。メラトニンは、ヒトなどの動物において松果体で産生されるが、近年、皮膚、網膜、脳、脊髄、消化管、心臓、腎臓、精巣、卵巣、胸腺、脾臓、水晶体、蝸牛、骨髄、リンパ球など様々な器官においても産生されることが報告されている（非特許文献1、9、10）。また、メラトニンは、概日リズムの調整、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、皮膚などの器官における抗酸化作用や抗炎症

症作用等の様々な作用を有することが報告されている（特許文献1、2、非特許文献1、2、6～10）。したがって、高いASMT発現促進作用を有することが本発明者らにより発見されたエクトインによりメラトニンを促進することができれば、メラトニンの有する上記の各種効果が増強されると考えられる。

[0019] ASMT発現の促進とは、例えば、ASMT発現促進剤を付与していない状態（コントロール）に比べて、ASMT発現促進剤を付与した場合に、ASMT遺伝子の発現量が、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）をもって亢進していることを意味し得る。または、ASMT発現の促進とは、例えばASMT発現促進剤を付与していない状態（コントロール）に比べて、ASMT発現促進剤を付与した場合に、ASMT遺伝子の発現量が、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、200%以上、300%以上、400%以上、又は500%以上亢進していることを意味し得る。ASMT遺伝子の発現量は、任意の公知技術、例えば、非特許文献6に記載の方法により求めることができる。

[0020] よって、本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進するメラトニン合成促進剤、並びにエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより抗酸化活性を増強する抗酸化剤を提供する。抗酸化活性は、皮膚などの器官におけるものであってもよい。また、本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有するASMT発現促進剤又はメラトニン合成促進剤又は抗酸化剤を含む組成物も提供する。本発明の組成物は、化粧品組成物又は食品組成物であってもよい。また、本発明の組成物は、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性の亢進、および抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強するための組成物であってもよい。

- [0021] 本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物は、有効成分としてエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を、例えば、10質量%以上、20質量%以上、30質量%以上、40質量%以上、50質量%以上、60質量%以上、70質量%以上、80質量%以上、90質量%以上、95質量%以上、又は99質量%以上含有することがある。ある実施形態では、本発明のASMT発現促進剤又はメラトニン合成促進剤又は抗酸化剤は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩からなることもある。本発明に用いられるエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩は、任意の方法で得ることができ、製法や供給源等に限定されない。
- [0022] 本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物は、外用投与または経口投与することができる。外用投与の形態としては、例えば、クリーム、乳液、液体、シート、スプレー、ゲルなど任意に選択することができる。経口投与の形態としては、例えば、錠剤、サプリメント、飲料、粉末など任意に選択することができる。
- [0023] 本発明の化粧品組成物は、乳液、クリーム、美容液、ローション、パック、洗顔料、石鹸、ボディソープ、シャンプー等の各種化粧品であってもよく、液状、乳液状、クリーム状、固形状、シート状、スプレー状、ゲル状、泡状、パウダー状等の様々な形態であり得る。また、本発明の食品組成物は、粉末、飲料、または錠剤であってもよく、粉末状、液状、固形状、顆粒状、粒状、ペースト状、ゲル状等の様々な形態であり得る。
- [0024] 本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩をASMT発現促進の効果が十分発揮されるような量で含有させることが好ましい。
- [0025] 本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物におけるエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩の配合量は、それらの種類、目的、形態、利用方法などに応じて、適宜決めることができる。
- [0026] 外用投与する場合、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩の投与量は、例えば、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩の配合量は、本発

明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物の総重量当たり0.001~50重量%、0.01~5重量%、0.01~1重量%、0.01~0.1重量%、0.02~0.05重量%等とすることができるがこれらに限定されない。

[0027] 経口投与する場合、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩の配合量は、本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物の総重量当たり0.001~50重量%、0.01~5重量%、0.01~1重量%、0.01~0.1重量%、0.02~0.05重量%等とすることができるがこれらに限定されない。

[0028] また、投与頻度は、4週間に1回、2週間に1回、1週間に1回、3日に1回、2日に1回、1日1回、1日2回、1日3回、1日4回、1日5回、都度投与等任意に選択できるがこれらに限定されない。

[0029] 本発明のASMT発現促進剤、メラトニン合成促進剤、抗酸化剤、又は組成物は、必要に応じて添加剤を任意に選択し併用することができる。添加剤としては賦形剤等を含ませることができる。

[0030] 賦形剤としては、所望の剤型としたときに通常用いられるものであれば何でも良く、例えば、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、デキストリン、シクロデキストリンなどのでんぷん類、結晶セルロース類、乳糖、ブドウ糖、砂糖、還元麦芽糖、水飴、フラクトオリゴ糖、乳化オリゴ糖などの糖類、ソルビトール、エリスリトール、キシリトール、ラクチトール、マンニトールなどの糖アルコール類が挙げられる。これら賦形剤は、単独で又は二種以上組み合わせて使用できる。

[0031] その他の添加剤として、着色剤、保存剤、増粘剤、結合剤、崩壊剤、分散剤、安定化剤、ゲル化剤、酸化防止剤、界面活性剤、保存剤、pH調整剤、油分、水、アルコール類、キレート剤、シリコーン類、紫外線吸収剤、保湿剤、香料、各種薬効成分、防腐剤、中和剤等の公知のものを適宜選択して使用できる。

[0032] また、本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を投与することによりASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進するための方法も

提供する。また、本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を投与することによりASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、皮膚の抗酸化活性の亢進、および皮膚の抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強するための方法も提供する。本発明の方法は、美容を目的とする方法であり、医師や医療従事者による治療ではないことがある。

[0033] さらに、本発明は、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、皮膚の抗酸化活性の亢進、および皮膚の抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強するための医薬の製造におけるエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩の使用も提供する。本発明は、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、皮膚の抗酸化活性の亢進、および皮膚の抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強する方法に使用するためのエクトイン又はその生理学的に許容しうる塩も提供する。

実施例

[0034] 次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。

実施例 1

[0035] エクトインのASMT遺伝子発現亢進作用

試料の調製

市販のエクトイン（メルク）を精製水で溶解してフィルター滅菌し、濃度1Mのエクトイン試料を調製した。

[0036] 表皮角化細胞の培養

市販の正常成人皮膚由来角化細胞（クラボウ）を 5×10^5 cells/フラスコとなるようにT75フラスコに接種し、角化細胞用培地（Humedia-KG2、クラボウ）中で37°C、5%CO₂雰囲気下でセミコンフルエントに達するまで培養し、種細胞とした。この角化細胞をトリプシン処理により回収し、24ウェルプレートに 2×10^4 cells/ウェルとなるように接種し、角化細胞用培地（Humedia-KG2、クラ

ボウ) 中で37°C、5%CO₂雰囲気下でコンフルエントに達するまで培養した。

[0037] 試料の添加

コンフルエントに達した表皮角化細胞に、エクトイン試料を培地中濃度が1 mMとなる様に適切な希釈率で添加し、37°C、5%CO₂雰囲気下で培養を続けた。対照として、エクトイン試料を添加しない培地のみで培養を行った。

[0038] 細胞からのRNAの抽出

エクトインを添加してから10時間後に培地を除去し、市販のRNA抽出試薬 (RNeasy Mini Kit、Qiagen) を用いて、細胞の溶解とRNAの抽出を行なった。

[0039] 定量PCR法によるASMT発現量の評価

抽出したRNAを鋳型として、市販の定量PCR試薬 (BrilliantII QRT-PCR kit、Agilent) と定量PCR装置 (Mx-3005P、Agilent) を用いて定量PCRを実施し、ASMT遺伝子の発現量を測定した。内部標準として発現量がほぼ一定であるR PLP0遺伝子の発現量も同時に測定した。PCR用プライマーには各遺伝子に特異的な市販のPCR用プライマー (タカラバイオ社) を用いた。

[0040] 結果を図1に示す。各試料を添加した場合のASMT遺伝子発現量を、対照のASMT遺伝子発現量を1とした比較として示す。図1より、エクトインは、培地のみで培養した場合と比較して非常に高いASMT発現促進作用があることが確認された。

実施例 2

[0041] エクトインのASMT遺伝子発現に対する濃度依存性

試料の調製

市販のエクトイン (メルク) を精製水で溶解してフィルター滅菌し、10重量%のエクトイン試料を調製した。

[0042] 試料の添加

実施例1と同様に培養した表皮角化細胞に、エクトイン試料を培地中濃度が0.005重量%、0.01重量%、0.02重量%、0.05重量%、0.1重量%となる様に適切な希釈率で添加し、37°C、5%CO₂雰囲気下で培養を続けた。

[0043] RNAの抽出

エクトインを添加してから10時間後に培地を除去し、市販のRNA抽出試薬（RNeasy Mini Kit、Qiagen）を用いて、細胞の溶解とRNAの抽出を行なった。

[0044] 定量PCR法によるASMT発現量の評価

抽出したRNAを鋳型として、市販の定量PCR試薬（BrilliantII QRT-PCR kit、Agilent）と定量PCR装置（Mx-3005P、Agilent）を用いて定量PCRを実施し、ASMT遺伝子の発現量を測定した。内部標準として発現量がほぼ一定であるRPLP0遺伝子の発現量も同時に測定した。PCR用プライマーには各遺伝子に特異的な市販のPCR用プライマー（タカラバイオ）を用いた。

[0045] 結果を図2に示す。図2より、0.02重量%のエクトインのASMT遺伝子発現量は、低い濃度のエクトイン（0.005重量%、0.01重量%）と比較して高く、エクトインのASMT発現促進作用は濃度依存性であることが確認された。

実施例 3

[0046] 各種抗酸化物質と比較したエクトインのASMT遺伝子発現亢進作用

試料の調製

実施例1と同様の方法でエクトイン試料を調製した。対照薬剤として、抗酸化作用を有することが知られている物質（グリコシルヘスペリジン、緑茶抽出液、ウーロン茶抽出液）を含有する試料も作成した。市販のグリコシルヘスペリジン（東洋製糖）を精製水で溶解してフィルター滅菌し、100mMのグリコシルヘスペリジン試料を調製した。緑茶抽出液（香栄興業）、ウーロン茶抽出液（サントリー）は市販の抽出液をフィルター滅菌して用いた。

[0047] 実施例1と同様に培養した表皮角化細胞に、上記で得た各試料を、培地中の濃度がエクトイン1mM、グリコシルヘスペリジン100 μ M、緑茶抽出液0.1%、ウーロン茶抽出液0.1%となるように、適切な希釈率で培地に添加した。これらの添加濃度はいずれも外用剤に使用する一般的な濃度である。試料を添加後、細胞を実施例1と同様にして培養し、ASMT発現量を評価した。また、試料を添加せず培地のみで培養したものを薬剤無添加の対照とした。

[0048] 結果を図3に示す。図3より、エクトインのASMT遺伝子発現量は、緑茶抽出液、ウーロン茶抽出液、より高い濃度のグリコシルヘスペリジンと比較し

ても高いことが確認された。

産業上の利用可能性

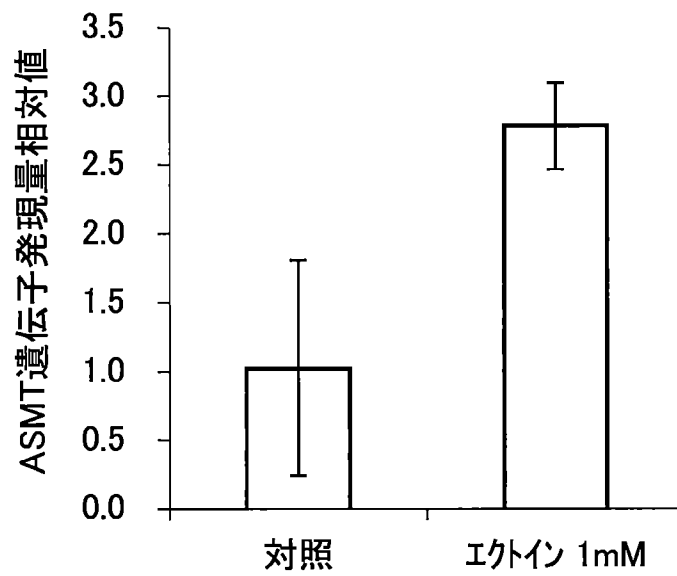
[0049] 本発明は、エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有するASMT発現促進剤の投与により、ASMT遺伝子の発現を促進することができ、ASMT遺伝子発現の促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性の亢進、および抗炎症活性の亢進といった作用を増強することができる。

請求の範囲

- [請求項1] エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有するASMT発現促進剤。
- [請求項2] エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進するメラトニン合成促進剤。
- [請求項3] エクトイン又はその生理学的に許容しうる塩を有効成分として含有し、ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより抗酸化活性を亢進する抗酸化剤。
- [請求項4] 請求項1に記載のASMT発現促進剤を含む組成物。
- [請求項5] 請求項2に記載のメラトニン合成促進剤を含む組成物。
- [請求項6] 請求項3に記載の抗酸化剤を含む組成物。
- [請求項7] ASMT発現促進を介してメラトニンの合成を促進することにより、睡眠障害の改善、認知機能の向上、気分障害の改善、抗酸化活性の亢進、および抗炎症活性の亢進から選択される1又は複数の作用を増強するための、請求項4又は5に記載の組成物。
- [請求項8] 化粧品組成物又は食品組成物である、請求項4～7のいずれか1項に記載の組成物。

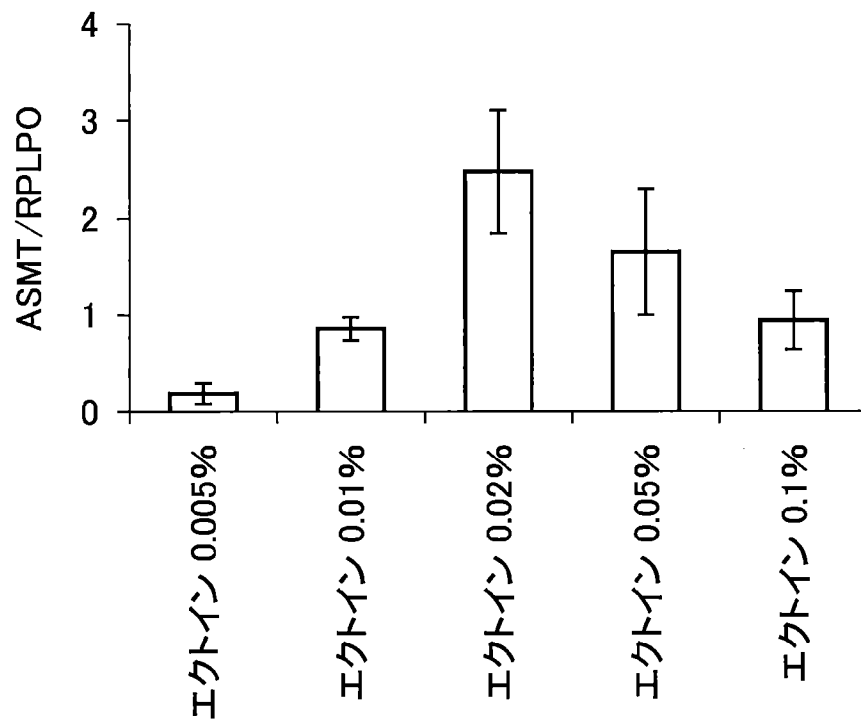
[図1]

図1



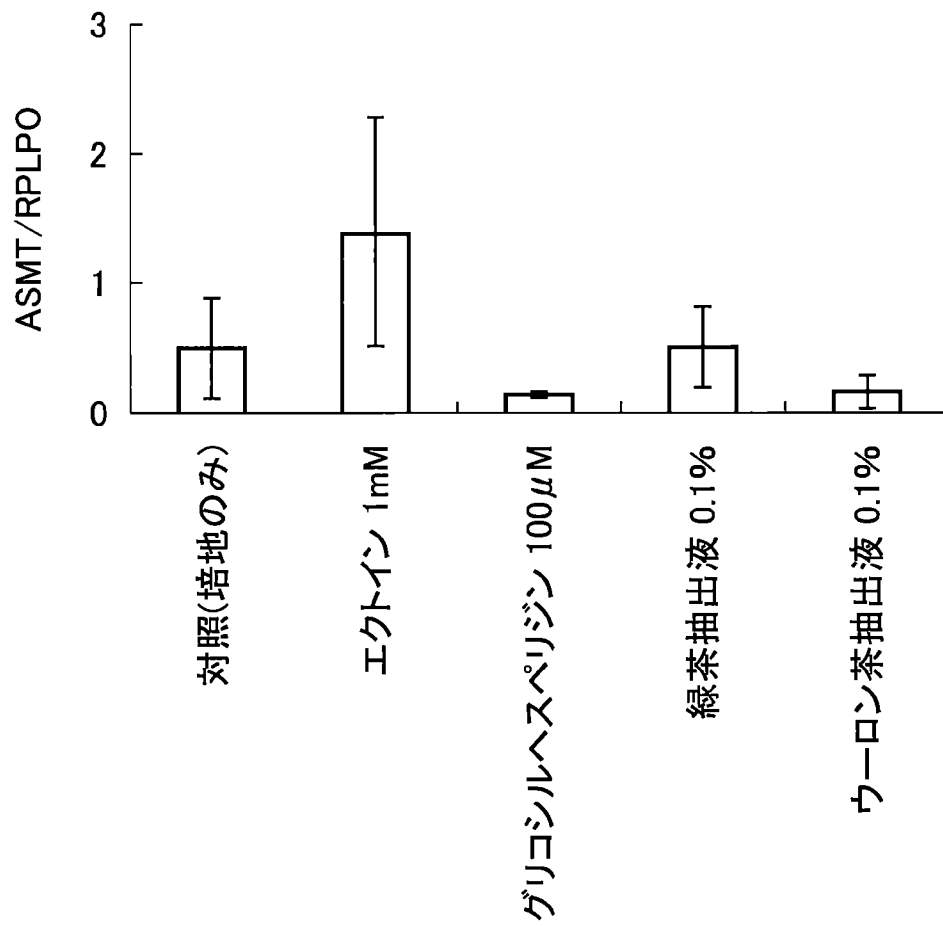
[図2]

図2



[図3]

図3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/014614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. A61K31/505 (2006.01) i, A61K8/49 (2006.01) i, A61P25/00 (2006.01) i, A61P29/00 (2006.01) i, A61Q19/00 (2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl. A61K31/505, A61K8/49, A61P25/00, A61P29/00, A61Q19/00

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 1971-2018
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2018
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2018

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

JSTplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/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	JP 2011-510944 A (BITOP AKTIENGESELLSCHAFT) 07	1-8
Y	April 2011, paragraphs [0002], [0003], [0005], [0011], examples & US 2011/0269784 A1, paragraphs [0002], [0003], [0005], [0011], examples & WO 2009/095269 A1 & EP 2237782 A1	1, 2, 4-8
X	WILKOWSKA, A., et al., Evaluation of safety and efficacy of Dermaveel in treatment of atopic dermatitis, <i>Alergologia POLSKA-Polish Journal of Allergology</i> , 2015, vol. 2, pp. 128-133, ISSN 2353-3854, abstract	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“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
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“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
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“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
“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)	“&” document member of the same patent family
“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	

Date of the actual completion of the international search 08.05.2018	Date of mailing of the international search report 22.05.2018
---	--

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/JP2018/014614

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	HENSLEY, K., et al. Nitric Oxide and Derived Species as Toxic Agents in Stroke, AIDS Dementia, and Chronic Neurodegenerative Disorders, Chem. Res. Toxicol., 1997, vol.10, pp. 527-532, ISSN 0893-228x, Nitric Oxide in AIDS Dementia and Neurodegenerative Disease, paragraph 2	1, 2, 4-8 3
Y A	YILDIZ, F. et al. Antidepressant-like effect of 7-nitroindazole in the forced swimming test in rats, Psychopharmacology, 2000, vol. 149, pp. 41-44, ISSN 1432-2072, Introduction, paragraph 3	1, 2, 4-8 3
A	JP 2014-055127 A (SHISEIDO CO., LTD.) 27 March 2014, entire text & US 2015/0190336 A1, entire text & WO 2014/024518 A1 & EP 2883548 A1 & CN 104519894 A & KR 10-2015-0042156 A	1-8
A	JP 2002-302444 A (SHISEIDO CO., LTD.) 18 October 2002, entire text (Family: none)	1-8
A	JP 2002-522366 A (MERCK PATENT GMBH) 23 July 2002, entire text & US 2003/0157040 A1, entire text & WO 2000/007558 A1 & EP 1100456 A1	1-8
A	JP 2014-526448 A (BITOP AG) 06 October 2014, entire text & US 2014/0315869 A1, entire text & WO 2013/034299 A1 & EP 2753330 A1 & CN 103857394 A	1-8

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. A61K31/505(2006.01)i, A61K8/49(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i</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>Int.Cl. A61K31/505, A61K8/49, A61P25/00, A61P29/00, A61Q19/00</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> <p>日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2018年 日本国実用新案登録公報 1996-2018年 日本国登録実用新案公報 1994-2018年</p>			
<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), CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)</p>			
<p>C. 関連すると認められる文献</p>			
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 2011-510944 A (ビトッパ アクツイエンゲゼルシャフト)	1-8	
Y	2011.04.07, 段落0002, 0003, 0005, 0011, 実施例 & US 2011/0269784 A1, Paragraphs [0002], [0003], [0005], [0011], Examples & WO 2009/095269 A1 & EP 2237782 A1	1, 2, 4-8	
X	WILKOWSKA, A., et al., Evaluation of safety and efficacy of Dermaveel in treatment of atopic dermatitis, Alergologia POLSKA-Polish Journal of Allergology, 2015, Vol.2, p.128-133, ISSN 2353-3854, 要旨	1-8	
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。</p>		<p><input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</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</p>		<p>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矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</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>08.05.2018</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p>22.05.2018</p>	
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁 (ISA/J P)</p> <p>郵便番号 100-8915</p> <p>東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p>井関 めぐみ</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3452</p>	<p>4C 5574</p>

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	HENSLEY, K., et al., Nitric Oxide and Derived Species as Toxic Agents in Stroke, AIDS Dementia, and Chronic Neurodegenerative Disorders, Chem. Res. Toxicol., 1997, Vol.10, p.527-532, ISSN 0893-228x, 「Nitric Oxide in AIDS Dementia and Neurodegenerative Diseases」の項の第2段落	1, 2, 4-8 3
Y A	YILDIZ, F. et al., Antidepressant-like effect of 7-nitroindazole in the forced swimming test in rats, Psychopharmacology, 2000, Vol.149, p.41-44, ISSN 1432-2072, Introductionの項の第3段落	1, 2, 4-8 3
A	JP 2014-055127 A (株式会社 資生堂) 2014.03.27, 全文 & US 2015/0190336 A1, 全文 & WO 2014/024518 A1 & EP 2883548 A1 & CN 104519894 A & KR 10-2015-0042156 A	1-8
A	JP 2002-302444 A (株式会社資生堂) 2002.10.18, 全文 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 2002-522366 A (メルク パテント ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフトング) 2002.07.23, 全文 & US 2003/0157040 A1, 全文 & WO 2000/007558 A1 & EP 1100456 A1	1-8
A	JP 2014-526448 A (ビトップ アーゲー) 2014.10.06, 全文 & US 2014/0315869 A1, 全文 & WO 2013/034299 A1 & EP 2753330 A1 & CN 103857394 A	1-8