

(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
2023年11月2日(02.11.2023)



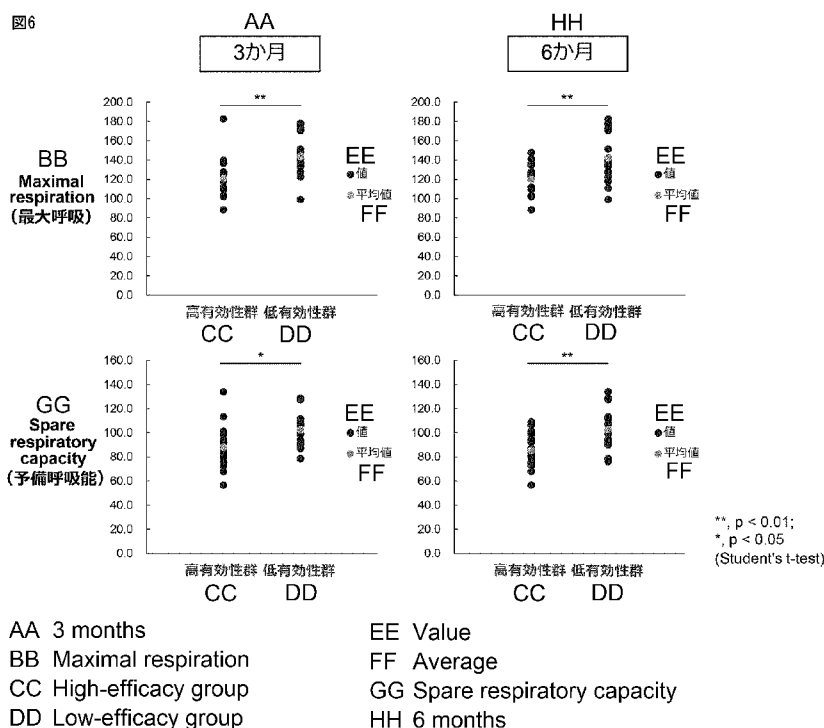
(10) 国際公開番号

WO 2023/210402 A1

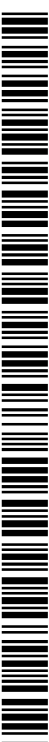
- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/06 (2006.01) A61P 17/14 (2006.01)
A61K 35/36 (2015.01) C12N 5/077 (2010.01)
A61L 27/38 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2023/015123
- (22) 国際出願日: 2023年4月14日(14.04.2023)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2022-075092 2022年4月28日(28.04.2022) JP
- (71) 出願人: 株式会社 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: 樋口 未来(HIGUCHI, Miki); 〒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). 吉田 雄三(YOSHIDA, Yuzo); 〒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).
- (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,

(54) Title: METHOD FOR EVALUATING HAIR REGENERATION ABILITY OF DERMAL SHEATH CUP (DSC) CELLS, COMPOSITION FOR HAIR REGENERATION AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

(54) 発明の名称: 毛球部毛根鞘(DSC)細胞の毛髪再生能を評価する方法、毛髪を再生するための組成物及びその製造方法



(57) Abstract: The present invention provides a method for evaluating the hair regeneration ability of dermal sheath cup (DSC) cells using a mitochondrial respiration level as an indicator. The present invention also provides a composition for hair regeneration that contains DSC cells with a low mitochondrial respiration level, and a method for manufacturing



WO 2023/210402 A1

BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

the same.

(57) 要約 : 本発明は、ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とする、毛球部毛根鞘 (D S C) 細胞の毛髪再生能を評価する方法を提供する。また、本発明は、ミトコンドリア呼吸のレベルが低い毛球部毛根鞘 (D S C) 細胞を含有する、毛髪を再生するための組成物、およびそれを製造する方法を提供する。

明 細 書

発明の名称：

毛球部毛根鞘（D S C）細胞の毛髪再生能を評価する方法、毛髪を再生するための組成物及びその製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、毛球部毛根鞘（D S C）細胞の毛髪再生能を評価する方法、毛髪を再生するための組成物及びその製造方法に関する。

背景技術

[0002] 毛髪は皮膚に存在する毛包によって産生される。毛包とは、毛を取り囲む組織層であり、外胚葉由来の毛母（毛母細胞）、内毛根鞘、外毛根鞘や、中胚葉由来の真皮毛根鞘、毛乳頭などから構成されている。毛乳頭を取り囲む毛母細胞が、毛乳頭から供給される栄養やタンパク質によって誘導されて分裂を繰り返し、角質化することによって毛を形成する。

[0003] 毛髪の発育に問題が生じることで薄毛・脱毛症が生じる。薄毛・脱毛症には、壮年性脱毛症、円形脱毛症、休止期脱毛症などがあり、最も頻度が多いのが壮年性脱毛症である。壮年性脱毛症は、男性において、主に男性ホルモンの影響によって引き起こされるものであり、男性型脱毛症とも呼ばれる。毛は、成長期、退行期及び休止期からなるヘアサイクルを繰り返しながら生え替わる。男性型脱毛症は、このヘアサイクルの中でも成長期が短くなり、細く短い毛髪の割合が増えることで引き起こされる症状である。

[0004] 現在、壮年性脱毛症の治療として、外用剤のミノキシジルや、経口薬のフィナステリドが主に用いられている。これらの治療法は、いずれも有効性や安全性が確認されているが、必ずしも全ての壮年性脱毛症に有効というわけではない。

[0005] その他、壮年性脱毛症の治療として、自家植毛術が実施されている。自家植毛術とは、側頭部や後頭部から採取した毛根を含む毛髪を、自己の脱毛部に移植する術式である。しかしながら、当該術式は、自己の毛髪を別の場所

へ植え替える術式であるため、毛髪の総数を増やすものではない。

[0006] 近年、様々な疾患に対する再生医療技術が開発されており、毛髪再生分野においても新たな技術が研究開発されている。例えば、毛包の中でも、毛包の再外層に位置する真皮毛根鞘、特に毛球部の底部に位置する毛球部毛根鞘 (dermal sheath cup cell : DSC) 細胞には高い毛包誘導能力を有することが示唆されており、マウスを用いた試験でDSC細胞の移植により発毛が認められること、ヒトにおいても脱毛症の治療に有効であることが報告されている (非特許文献1、2)。また、DSC細胞が、発毛において重要な役割を有する毛乳頭 (Dermal papilla : DP) 細胞の前駆細胞であることも示されており、DSC細胞に注目が集まっている (非特許文献3)。

[0007] 毛髪再生の分野において毛包由来の細胞群を用いた治療法が開発されつつあるが、DSC細胞を移植したとしても、必ずしも毛髪を再生する効果を発揮するとは限らない。従って、DSC細胞の毛髪再生効果の有効性に関する指標が同定されれば、それを用いた治療の担保 (品質保証) 及び、細胞の改良、組成物の改良などへの活用により治療改善が期待される。

[0008] これまでに、DSC細胞の毛髪再生能に影響を与える因子として、Wntシグナルや、PDGFRシグナル等が報告されているが、その他の因子についてはほとんど報告されていない (非特許文献4~6)。

[0009] これまでにintactな毛包中の毛球部毛根鞘に特異的に発現する遺伝子を探索したところ、GREM2遺伝子がDSC細胞のマーカーとなり得ることが報告されている (非特許文献7、特許文献1)。

先行技術文献

特許文献

[0010] 特許文献1 : 国際公開第2019/176881号

非特許文献

[0011] 非特許文献1 : McElwee KJ., et al., Cultured peribulbar dermal sheath cells can induce hair follicle development and contribute to the derma

l sheath and dermal papilla. J Invest Dermatol. 2003 Dec;121(6):1267-75.

非特許文献2: Tsuboi R., et al., Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells: A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study. J Am Acad Dermatol. 2020 Jul;83(1):109-116.

非特許文献3: Rahmani W., et al., Hair follicle dermal stem cells regenerate the dermal sheath, repopulate the dermal papilla, and modulate hair type. Dev Cell. 2014 Dec 8;31(5):543-58.

非特許文献4: Tao Y., et al., β -catenin activation in hair follicle dermal stem cells induces ectopic hair outgrowth and skin fibrosis. J Mol Cell Biol. 2019 Jan 1;11(1):26-38.

非特許文献5: Zhou L., et al., Dermal sheath cells contribute to postnatal hair follicle growth and cycling. J Dermatol Sci. 2016 May;82(2):129-31

非特許文献6: Gonzalez R., et al., Platelet-derived growth factor signaling modulates adult hair follicle dermal stem cell maintenance and self-renewal. NPJ Regen Med. 2017 Apr 14;2:11.

非特許文献7: Niiyama S., et al., Gene Expression Profiling of the Intact Dermal Sheath Cup of Human Hair Follicles. Acta Derm Venereol. 2018 Jul 11;98(7):694-698.

非特許文献8: Zhang J. and Zhang Q., Using Seahorse Machine to Measure OCR and ECAR in Cancer Cells. Methods Mol Biol. 2019;1928:353-363.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0012] 本発明は、毛球部毛根鞘（DSC）細胞の毛髪再生能を評価する方法、毛髪を再生するための組成物及びその製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0013] これまで、D S C細胞を同定するためのマーカー候補について探索されてきたが、実際の治療成績とリンクするようなバイオマーカーやパラメーターについては、ほとんど知られていない。
- [0014] 本発明者らは、既に実施済みの臨床研究を詳細に解析することにより、毛髪再生の治療成績能と相関性があるD S C細胞における因子を見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、以下の発明を包含する。
- [0015] [1] ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とする、毛球部毛根鞘（D S C）細胞の毛髪再生能を評価する方法。
- [2] 前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より低い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が高いと評価し、
前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より高い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が低いと評価する、項目1に記載の方法。
- [3] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記D S C細胞の酸素消費速度（O C R）である、項目1又は2に記載の方法。
- [4] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが予備呼吸能である、項目2に記載の方法。
- [5] 前記毛髪再生能が、毛髪径及び／又は毛髪密度を増加させる能力である、項目1～4のいずれか1項に記載の方法。
- [0016] [6] ミトコンドリア呼吸のレベルが低い毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含有する、毛髪を再生するための組成物。
- [7] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記D S C細胞の酸素消費速度（O C R）である、項目6に記載の組成物。
- [8] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが予備呼吸能であり、前記予備呼吸能が所定の閾値以下のD S C細胞を含有する、項目6に記載の組成物。
- [9] 毛髪径及び／又は毛髪密度が増加することを特徴とする、項目6～8のいずれか1項に記載の組成物。
- [0017] [10] 毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含む、毛髪を再生するための組成

物の製造方法であって、

D S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程、を含む、方法。

[11] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程が、低酸素培養を行う工程、並びに／又は、ミトコンドリア複合体阻害剤及び疑似低酸素誘導剤からなる群から1又は複数選択される剤を添加する工程である、項目10に記載の方法。

[12] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記D S C細胞の酸素消費速度（OCR）である、項目10又は11に記載の方法。

[13] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程が、前記D S C細胞の予備呼吸能を所定の閾値以下に低下させる工程である、項目10～12のいずれか1項に記載の方法。

[0018] [14] 請求項10～13のいずれか1項に記載の方法により得られる、毛髪を再生するためのD S C細胞を含む組成物。

[15] 毛髪径及び／又は毛髪密度が増加することを特徴とする、項目14に記載の組成物。

発明の効果

[0019] 本発明者らは、実際の治療成績とリンクしたD S C細胞の因子、すなわちミトコンドリア呼吸のレベルと逆相関することを初めて見出した。ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とし、D S C細胞を評価することにより、治療に用いられる前であってもD S C細胞の治療効果を予測可能となる。また、ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とすることにより、治療効果の高いD S C細胞を製造するプロセス（例えば、培養条件など）を改善することも可能となる。また、D S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルを低下させることにより、毛髪再生能が高い組成物を製造することも可能となる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]D S C細胞を用いた壮年性脱毛症に対する毛髪再生治療の臨床試験の概要。

[図2] D S C細胞の代謝プロファイルの解析方法の概略。

[図3] 各被検体由来 D S C細胞の最大呼吸値及び予備呼吸能値を示す。

[図4] 総毛髪密度又は積算毛髪径と D S C細胞のミトコンドリア呼吸パラメーターとの相関関係。 D S C細胞を図 2 に記載のスケジュールに沿って培養し、細胞外フラックスアナライザー X F e 2 4 によりミトコンドリア呼吸パラメーター（最大呼吸値及び予備呼吸値）を測定した。その後、各被検体の毛髪再生治療の成績（総毛髪密度および積算毛髪径）との相関性を確認した。毛髪再生治療の成績は、総毛髪密度および積算毛髪径の変化率（対 0 か月比 [O M] 、またはプラセボ比 [P] （ D S C細胞を移植しなかった部位））を、移植後、3 か月、6 か月、9 か月、1 2 か月ごとに算出し、これを用いた。ミトコンドリア呼吸パラメーターの活性と毛髪再生治療の成績の相関係数を算出し、これを示す。

[図5] 予備呼吸能により高活性又は低活性の二群に分けた場合の、各被検体由来 D S C細胞における評価項目の比較。 D S C細胞の予備呼吸能の値が $> 90 \text{ pmol} / \text{分}$ となる被検体を「高活性群」； D S C細胞の予備呼吸能の値が $\leq 90 \text{ pmol} / \text{分}$ となる被検体を「低活性群」に分けた。それぞれの群において、 D S C細胞移植 6 か月後の対プラセボ比のスコア化された総毛髪密度又は積算毛髪径を比較した。その結果、ミトコンドリア呼吸の高活性群 / 低活性群において、総毛髪密度に有意な差が認められた。

[図6] 治療成績に基づいて群分けされた被験者群で、 D S C細胞のミトコンドリア呼吸パラメーターを群間で比較した結果。 D S C細胞移植後 3 か月および 6 か月において、治療成績（総毛髪密度、対プラセボ比）が良好、即ち高い有効性を示した被験者群（高有効性群）と、有効性が低かった被験者群（低有効性群）に分け、それぞれの群において D S C細胞のミトコンドリア呼吸パラメーター（最大呼吸・予備呼吸能）の活性を算出し、群間で比較した。治療効果の高い被験者群の D S C細胞において、ミトコンドリア呼吸活性が有意に低いことが示された。 $** p < 0.01$ 、 $* p < 0.05$ (S t u d e n t ' s t - t e s t) 。

発明を実施するための形態

- [0021] 以下、本発明を実施するための形態について説明するが、本発明の技術的範囲は下記の形態のみに限定されない。なお、本明細書において引用されている先行技術文献は、本明細書においても援用され、その全体が本明細書において取り込まれる。
- [0022] 毛の皮膚内部最深部の膨らんだ部分を毛球部 (hair bulb) といひ、毛球部の中央部にある間葉系細胞からなる部分を毛乳頭 (dermal papilla) という。毛乳頭には毛細血管や神経が入り込んでいて、食物からの栄養や酸素を取り入れ、毛の発生や成長をつかさどっている。毛乳頭に接したところに毛母細胞 (hair matrix cell) があり、毛はこの部位で産生される。すなわち毛母細胞は、毛乳頭に入り込んでいる毛細血管から栄養や酸素を取り込み、分裂を繰り返すことにより毛が形成される。
- [0023] 本明細書において、「毛包 (Hair Follicle: HF)」とは、上皮系細胞であるの毛母 (毛母細胞)、内毛根鞘、外毛根鞘や、間葉系細胞であるの真皮毛根鞘、毛乳頭、及びメラノサイトなどを含む、毛を取り囲む組織層をいう。本発明において使用される組織又は細胞は、いずれの動物由来であってもよいが、脊椎動物由来が好ましく、哺乳動物由来がより好ましく、ヒト由来であることが最も好ましい。
- [0024] 本明細書において、「真皮毛根鞘 (Dermal Sheath: DS)」とは、毛包の最外層を包む一層又は数層の真皮性細胞層 (ビメンチン陽性) よりなる組織であって、平滑筋型 α アクチン (α -SMA) 陽性細胞を含む。真皮毛根鞘は、毛球部の最下端において毛乳頭と連続している。後述するように、本明細書において、真皮毛根鞘には、毛球部毛根鞘と上部真皮毛根層が含まれる。
- [0025] 本明細書において、「毛球部毛根鞘 (dermal sheath cup: DSC)」とは、真皮毛根鞘の一部であり、毛球部の底部に位置する組織をいう (例えば、国際公開第2019/176881号の図1を参照)。

「毛球部毛根鞘 (dermal sheath cup : DSC) 細胞」 (以下、「DSC細胞」という。)とは、毛球部毛根鞘を構成する細胞である。毛球部毛根鞘細胞は、毛乳頭細胞の前駆細胞であることが知られており、毛球部毛根鞘細胞を皮膚に移植することにより、移植部位において毛包が誘導されることが知られている。すなわち、毛包由来の細胞群又は毛包由来の細胞群を含有する毛包を再生するための組成物において、毛球部毛根鞘細胞の割合が高い及び／又はその活性が高い毛包由来の細胞群又は組成物を選択することができれば、より毛包誘導能が高い毛包由来の細胞群又は毛包由来の細胞群を含有する毛包を再生するための組成物を提供することが可能となる。

[0026] 本明細書において、「上部毛根鞘 (Upper Dermal Sheath : UDS) 細胞」とは、真皮毛根鞘のうち、上記の毛球部毛根鞘の部分を除いた組織の細胞をいう。

[0027] 本明細書において、「毛包由来の細胞群」とは、上記の毛包を構成する細胞を含む細胞群をいう。

[0028] 本明細書において、「毛球部毛根鞘 (DSC) 細胞を含有する、毛髪を再生するための組成物」とは、DSC細胞の他、例えば、生体適合可能な物質を含むものである。生体適合可能な物質とは、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝液、細胞培養培地、生体適合性ハイドロゲル (キトサンゲル、コラーゲンゲル、ゼラチン、ペプチドゲル、ラミニンゲル及びフィブリンゲルなど) 等であってもよく、これらに限定されない。本発明の組成物は、DSC細胞の他、1種又は2種以上の他の成分、例えば賦形剤、担体及び／又は希釈剤等と組み合わせた組成物とすることもできる。組成物の組成や形態は任意であり、有効成分や用途等の条件に応じて適切に選択すればよい。当該組成物は、その剤形に応じ、賦形剤、担体及び／又は希釈剤等及び他の成分と適宜組み合わせた処方、常法を用いて製造することができる。

[0029] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、ミトコンドリア呼吸のレベルが低いDSC細胞は毛髪再生効果が高いことを見出し、本発明を完成させるに至

った。

- [0030] 本明細書において、「毛髪再生能」は、毛髪を再生させる能力をいい、例えば、毛髪径（例えば、任意の領域における毛髪径の積算値（積算毛髪径））及び／又は毛髪密度（例えば、任意の領域に存在する毛髪の数（総毛髪密度））によって評価され得る。
- [0031] 本明細書において、「ミトコンドリア呼吸のレベル」とは、細胞がエネルギー酸素を使う呼吸、すなわち好気呼吸の3つの過程（解糖系、クエン酸回路、および電子伝達系）のうち、細胞内小器官であるミトコンドリアが介在するクエン酸回路及び電子伝達系の活性レベルを指す。
- [0032] ミトコンドリア呼吸のレベルは、細胞内活性を測定することで評価することができる。限定されるわけではないが、例えば、細胞の酸素消費速度（OCR値）、細胞外酸性化速度（ECAR値）、又はOCR及びECAR値を測定することによって評価し得る（例えば、非特許文献8を参照のこと）。
- [0033] 細胞内活性は、例えば、Agilent Technologies（旧 Seahorse Bioscience）社製の細胞外フラックスアナライザーXF24（24well用）を用いることによって細胞の主要なエネルギー代謝経路である解糖系、及びミトコンドリアによる好気呼吸の状態を、細胞に対して無侵襲・高感度に経時的計測を行うことができる。また、蛍光又はりん光性酸素プローブを用いたOCR測定方法（例えば、Oxygen Consumption Rate Assay Kit（ケイマンケミカル）、Extracellular Oxygen Consumption Assay（アブカム）の使用等）、酵素法による各種代謝物解析法（例えば、Glycolysis/OXPHOS Assay Kit（同仁化学研究所）の使用等）、又は質量分析によるメタボローム解析法（例えば、LC/TOF-MSの使用等）などの方法を用いることによって細胞内活性を測定することができる。しかしながら、上記装置、キット又は方法は例示であり、細胞内活性の測定には任意の装置、キット又は方法を用いて評価することができるため、細胞内活性の測定は、上記装置、キット

又は方法の利用に限定されない。

[0034] ミトコンドリア呼吸を示すためのパラメーターとしては、例えば、細胞外フラックスアナライザー XFe24 を用いて、所定の処置を行った場合に測定される細胞の酸素消費速度（OCR 値）から算出される基礎呼吸、最大呼吸、予備呼吸能、又は ATP 産生を使用することができる（表 1、図 1 を参照）。

[0035] [表1]

ミトコンドリア呼吸を示すパラメーターの例

パラメーター	概要	算出方法
基礎呼吸 (Basal Respiration)	定常状態の呼吸	定常状態の OCR 値 - 非ミトコンドリア OCR 値 (※) [※ロテノン (ミトコンドリア複合体 I 阻害剤) + アンチマイシン A (ミトコンドリア複合体 III 阻害剤) 添加後の OCR 値]
最大呼吸 (Maximal Respiration)	ストレス付与時の呼吸	FCCP (脱共役剤) 添加時の OCR 値 - 非ミトコンドリア OCR 値
予備呼吸能 (Spare Respiratory Capacity)	最大呼吸と基礎呼吸の差	最大呼吸 - 基礎呼吸
ATP 産生	ATP 産生のレベル	基礎呼吸 - オリゴマイシン (ATP 合成酵素阻害剤) 添加時の OCR 値

[0036] 本明細書において「解糖系」とは、生体（細胞）内に存在する生化学反応経路であり、グルコースをピルビン酸などの有機酸に分解（異化）し、グルコースに含まれる高い結合エネルギーを生物が使いやすい形に変換していくための代謝過程をいう。解糖系は、嫌気呼吸における代謝系の代表的なものである一方で、得られる還元力やピルビン酸が電子伝達系やクエン酸回路に受け渡されることで好気呼吸の一部としても機能する。解糖系の活性レベルは、例えば、上述の細胞外フラックスアナライザー XFe24 を用いて、細胞外酸性化速度（ECAR 値）を測定することによって評価してもよい。

[0037] 一実施態様において、本発明は、ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とする、毛球部毛根鞘（DSC）細胞の毛髪再生能を評価する方法を提供する。本発明により、DSC 細胞又は DSC 細胞を含む細胞群において、ミトコン

ドリア呼吸のレベルを測定することによって、対象に投与する前であっても、毛髪再生能を予め予測することが可能となる。

[0038] 一実施態様において、本発明の毛球部毛根鞘（D S C）細胞の毛髪再生能を評価する方法は、前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より低い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が高いと評価し、前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より高い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が低いと評価するものであってもよい。

[0039] 評価の指標となる所定の閾値は、特定の値が一意的に決定されるものではないが、例えば、毛髪径及び／又は毛髪密度が増加した被検体群におけるそれぞれの被検体に移植されたD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルと、毛髪径及び／又は毛髪密度が増加しなかった被検体群におけるそれぞれの被検体に移植されたD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルとの比較によって決定されるものであってもよい。

[0040] また、一実施態様において、ミトコンドリア呼吸のレベルは予備呼吸能であってもよい。この場合、所定の閾値は、例えば、60 p m o l / 分、65 p m o l / 分、70 p m o l / 分、75 p m o l / 分、80 p m o l / 分、85 p m o l / 分、90 p m o l / 分、95 p m o l / 分、100 p m o l / 分、105 p m o l / 分、又は110 p m o l / 分としてもよい。本発明者らは、移植に用いられるD S C細胞の予備呼吸能が所定の閾値以下のD S C細胞が移植された被検体では、毛髪再生能が高いことを見出した。従って、例えば、D S C細胞の予備呼吸能が所定の閾値より高い場合は、D S C細胞の毛髪再生能が低いと評価し、D S C細胞の予備呼吸能が所定の閾値より低い場合は、D S C細胞の毛髪再生能が高いと評価してもよい。

[0041] D S C細胞の毛髪再生能は、1細胞ごとのD S C細胞における毛髪再生能が評価されてもよく、複数のD S C細胞が含まれる細胞群全体としての毛髪再生能が評価されてもよい。また、複数のD S C細胞が含まれる細胞群全体としての毛髪再生能は、その細胞群に含まれる、ミトコンドリア呼吸のレベ

ルが低いD S C細胞（例えば、ミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値以下のD S C細胞）の割合を測定することによって評価されてもよい。

[0042] 一実施態様において、本発明は、ミトコンドリア呼吸のレベルが低い毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含有する、毛髪を再生するための組成物を提供する。上述のようにミトコンドリア呼吸のレベルが低いD S C細胞は毛髪再生能が高いことから、毛髪再生を所望する部位に本発明の組成物を移植することにより毛髪の再生が期待できる。

[0043] 一実施態様において、本発明に適用されるミトコンドリア呼吸のレベルが低いD S C細胞は、ミトコンドリア呼吸が所定の閾値より低いD S C細胞である。所定の閾値は、特定の値が一意的に決定されるものではないが、例えば、毛髪径及び／又は毛髪密度が増加した被検体群におけるそれぞれの被検体に移植されたD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルと；毛髪径及び／又は毛髪密度が増加しなかった被検体群におけるそれぞれの被検体に移植されたD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルとの比較によって決定されるものであってもよい。例えば、本発明の組成物に含まれるD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルは、毛髪径及び／又は毛髪密度が増加しなかった被検体群におけるD S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルの平均よりも低い（例えば、0.9倍以下、0.8倍以下、0.7倍以下、0.6倍以下、0.5倍以下、0.4倍以下、0.3倍以下、0.2倍以下、0.1倍以下、又は0.05倍以下）ものであってよく、本発明の組成物に含まれる細胞群において、そのようなD S C細胞が、例えば10%以上（例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%又は99%以上）含まれるように選択又は濃縮してもよい。

[0044] 一実施態様において、本発明は、毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含む、毛髪を再生するための組成物の製造方法であって、D S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程、を含む、方法を提供する。

[0045] ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる方法は、公知の方法に従えばよく、例えば、低酸素培養を行う工程、並びに／又は、ミトコンドリア複合体

阻害剤及び疑似低酸素誘導剤からなる群から1又は複数選択される剤を添加する工程を実施することによってミトコンドリア呼吸のレベルを低下させることが可能である。低酸素培養は、例えば、Papandreouらの方法 (Cell Metab. 2006 Mar; 3(3):187-97) を参考に実施してもよく、例えば、10%以下、5%以下、2%以下、1%以下の酸素を含む雰囲気下で、任意の時間 (例えば、少なくとも0.5時間、1時間、2時間、6時間、12時間、18時間、又は24時間) 培養してもよい。ミトコンドリア複合体阻害剤としては、例えば、ミトコンドリア複合体I阻害剤 (例えば、ロテノン (D J Horgan et al., J Biol Chem, 1968 Feb 25;243(4):834-43.) など) や、ミトコンドリア複合体III阻害剤 (例えば、アンチマイシンA (E. C. SLATER, Biochim Biophys Acta., 1973 Dec 7; 301(2):129-54.) など) を用いてもよい。また、疑似低酸素誘導剤としては、例えば、塩化コバルト(II) (CoCl_2)、デフェロキサミン、ジメチルオキサロイルグリシン (Dimethyl oxaloylglycine) (P. Jaakkola et al., Science. 2001 Apr 20;292(5516):468-72.)、L-ミモシン (C. Warnecke et al., FASEB J. 2003 Jun;17(9):1186-8.)、メトホルミン (A. Luengo, et al., BMC Biol. 2014 Oct 24;12:82.)、又はコハク酸 (H. Mao et al., Stem Cells Int. 2020 Mar 10;2020:2016809.) などを用いてもよい。

[0046] 本発明に用いられ得るDSC細胞は、公知の方法 (例えば、Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells: A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study. Tsuboi R, Niiyama S, Irisawa R, Harada K, Nakazawa Y, Kishimoto J. J Am Acad Dermatol. 2020 Jul;83(1):109-116.) を参考とすることにより調製することが可能である。そのようにして得られたDSC細胞を含む細胞群を用いて、ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させることにより、毛髪再生能の高い組成物を製造することができる。

[0047] 一実施態様において、本発明の方法は、DSC細胞の予備呼吸能を、所定の閾値 (例えば、60 pmol/分、65 pmol/分、70 pmol/分

、75 pmol/分、80 pmol/分、85 pmol/分、90 pmol/分、95 pmol/分、100 pmol/分、105 pmol/分、又は110 pmol/分)以下に低下させるものであってもよい。本発明者らは、移植に用いられるDSC細胞の予備呼吸能が所定の閾値以下のDSC細胞が移植された被検体では、毛髪再生能が高いことを見出した。従って、例えば、DSC細胞のミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程は、DSC細胞の予備呼吸能が所定の閾値より低くなるよう調整されてもよい。また、他の態様において、本発明の製造方法によって作製される組成物に含まれる、ミトコンドリア呼吸のレベルが低下したDSC細胞は、毛髪径及び/又は毛髪密度が増加しなかった被検体群におけるDSC細胞のミトコンドリア呼吸のレベルの平均よりも低い(例えば、0.9倍以下、0.8倍以下、0.7倍以下、0.6倍以下、0.5倍以下、0.4倍以下、0.3倍以下、0.2倍以下、0.1倍以下、又は0.05倍以下)ものであってよく、そのようなDSC細胞が、例えば10%以上(例えば、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%又は99%以上)含まれるよう調整されるものであってもよい。

実施例

[0048] 以下に、本発明を実施例に基づいて更に詳しく説明するが、これらは本発明を何ら限定するものではない。

[0049] 1. 方法

1-1. DSC細胞の調製

Tsuboiらの文献(Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells: A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study. Tsuboi R, Niyaama S, Irisawa R, Harada K, Nakazawa Y, Kishimoto J. J Am Acad Dermatol. 2020 Jul;83(1):109-116.)に記載の方法に従って、DSC細胞を調製した(図1)。

[0050] 1-2. 臨床試験の概要

本実施例では、Tsuboiらの文献 (Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells: A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study. Tsuboi R, Niiyama S, Irisawa R, Harada K, Nakazawa Y, Kishimoto J. J Am Acad Dermatol. 2020 Jul;83(1):109-116.) で評価した被検体から採取されたDSC細胞のうち、移植に用いられなかったものを拡大培養して得られたDSC細胞について細胞内活性を測定し、治療成績 (積算毛髪径 (3か月、6か月、9か月、12か月)、総毛髪密度 (3か月、6か月、9か月、12か月)、対プラセボ (DSC細胞移植無し)、対0か月) のスコアとの相関性を解析した。

[0051] 具体的には、それぞれのDSC細胞 5×10^5 個を10%FBS含有DMEM培地 (GIBCO) でサブコンフルエントになるまで培養した。その後、細胞培養用マイクロプレート (XF24用) に、 2×10^4 個/ウェルのDSC細胞を、推奨濃度のグルコース、ピルビン酸、グルタミン酸を含むXF用DMEM培地で播種し一晩培養した。細胞外フラックスアナライザーXF24による細胞のエネルギー代謝活性の評価には、 Seahorse XF ミトストレスキット (Agilent Technologies社) を用い、製品のマニュアルに従って、オリゴマイシン (ATP合成酵素阻害剤、終濃度 $1 \mu\text{M}$)、カルボニルシアニド-p-トリフルオロメトキシフェニルヒドラゾン (FCCP、脱共役剤、終濃度 $3 \mu\text{M}$)、ロテノン (ミトコンドリア複合体I阻害剤、終濃度 $0.5 \mu\text{M}$) およびアンチマイシンA (ミトコンドリア複合体III阻害剤、終濃度 $0.5 \mu\text{M}$) を順次添加し、OCRを測定した (図2)。

[0052] 2. 結果

34名の被検体由来のDSC細胞の細胞内活性 (OCR値、ECAR値) を測定した。それらの値に基づき、最大呼吸及び予備呼吸能を算出した結果、各被検体由来DSC細胞の最大呼吸及び予備呼吸能には、差異が認められた (図3)。

- [0053] そこで、各被検体の総毛髪密度又は積算毛髪径のスコアと、DSC細胞のミトコンドリア呼吸パラメーターの値（最大呼吸及び予備呼吸能）との相関係数を算出した。相関係数の絶対値が0.3より大きい場合を弱い相関、弱い逆相関があると判定し、相関係数の絶対値が0.5より大きい場合を相関、逆相関があると判定した。
- [0054] その結果、特に、総毛髪密度において、最大呼吸と予備呼吸能で負の相関が認められた（図4）。また、それは3か月又は6か月の移植後早期の段階で特に相関が高い傾向が見られた。
- [0055] そこで、DSC細胞の予備呼吸能により二群に分けた場合の治療成績を解析した。DSC細胞の予備呼吸能の値が $>90 \text{ pmol} / \text{分}$ となる被検体群を「高活性群」；DSC細胞の予備呼吸能の値が $\leq 90 \text{ pmol} / \text{分}$ となる被検体群を「低活性群」に分けた。それぞれの群において、DSC細胞移植6か月後の対プラセボ比のスコア化された総毛髪密度又は積算毛髪径を比較した。
- [0056] その結果、ミトコンドリア呼吸の高活性群／低活性群において、総毛髪密度に有意な差が認められた（図5）。
- [0057] さらに、投与後3か月・6か月における治療成績（総毛髪密度、対プラセボ比）を基に、治療成績が高い被験者群（高有効性群）と、低い被験者群（低有効性群）の2群に分け、各群でそれぞれDSC細胞のミトコンドリア呼吸パラメーター（最大呼吸・予備呼吸能）活性を調べ、群間で差が認められるか、有意差検定を実施した。
- [0058] その結果、高い有効性を示す被検体由来のDSC細胞は、ミトコンドリア呼吸活性が有意に低いことが示された（図6）。

請求の範囲

- [請求項1] ミトコンドリア呼吸のレベルを指標とする、毛球部毛根鞘（D S C）細胞の毛髪再生能を評価する方法。
- [請求項2] 前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より低い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が高いと評価し、
前記D S C細胞におけるミトコンドリア呼吸のレベルが所定の閾値より高い場合に、前記D S C細胞の毛髪再生能が低いと評価する、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記D S C細胞の酸素消費速度（O C R）である、請求項1又は2に記載の方法。
- [請求項4] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが予備呼吸能である、請求項2に記載の方法。
- [請求項5] 前記毛髪再生能が、毛髪径及び／又は毛髪密度を増加させる能力である、請求項1又は2項に記載の方法。
- [請求項6] ミトコンドリア呼吸のレベルが低い毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含有する、毛髪を再生するための組成物。
- [請求項7] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記D S C細胞の酸素消費速度（O C R）である、請求項6に記載の組成物。
- [請求項8] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが予備呼吸能であり、前記予備呼吸能が所定の閾値以下のD S C細胞を含有する、請求項6に記載の組成物。
- [請求項9] 毛髪径及び／又は毛髪密度が増加することを特徴とする、請求項6又は7に記載の組成物。
- [請求項10] 毛球部毛根鞘（D S C）細胞を含む、毛髪を再生するための組成物の製造方法であって、
D S C細胞のミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程、を含む、方法。
- [請求項11] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程が、低酸素培養

を行う工程、並びに／又は、ミトコンドリア複合体阻害剤及び疑似低酸素誘導剤からなる群から1又は複数選択される剤を添加する工程である、請求項10に記載の方法。

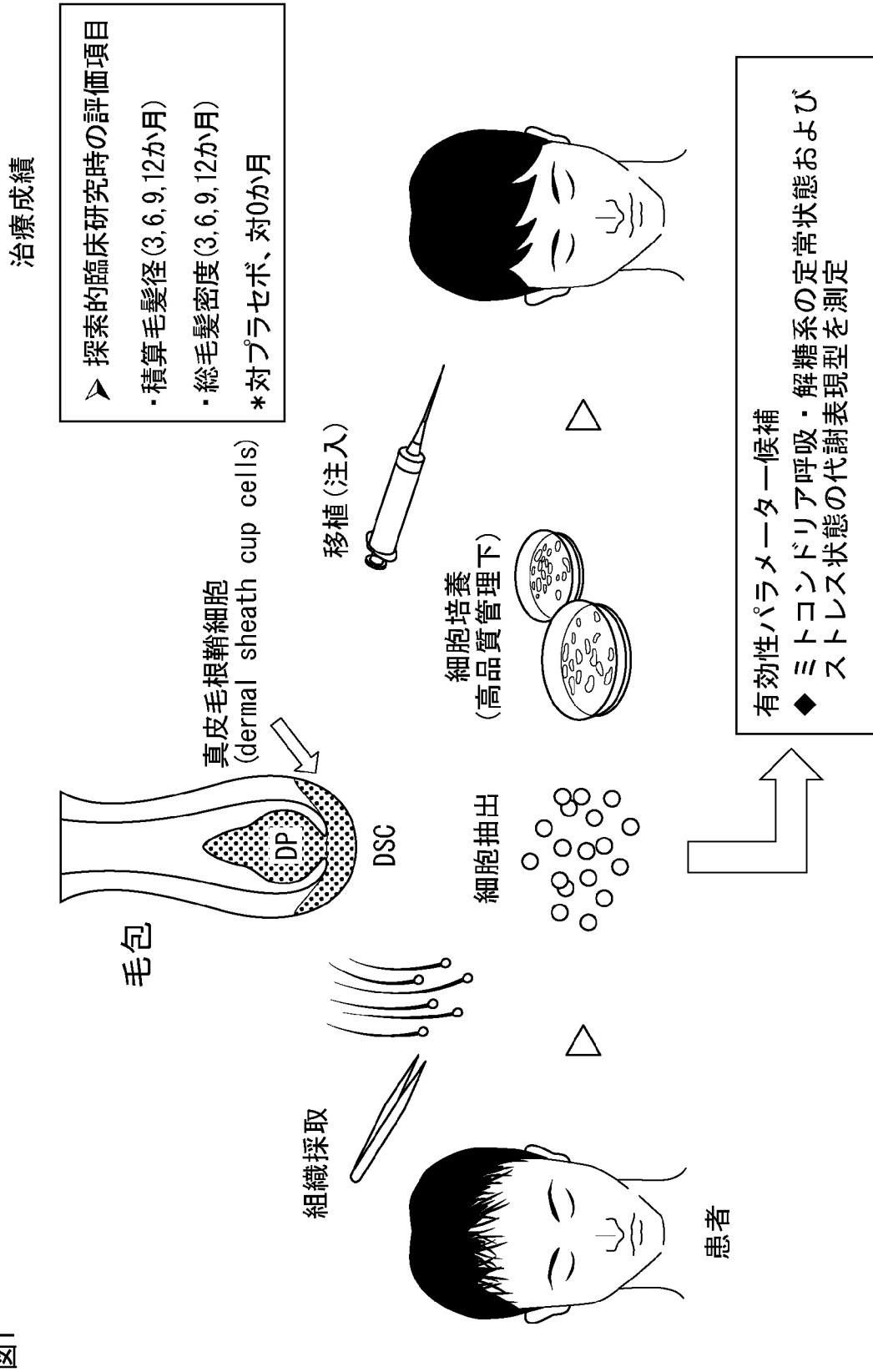
[請求項12] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルが、前記DSC細胞の酸素消費速度(OCR)である、請求項10又は11に記載の方法。

[請求項13] 前記ミトコンドリア呼吸のレベルを低下させる工程が、前記DSC細胞の予備呼吸能を所定の閾値以下に低下させる工程である、請求項10又は11に記載の方法。

[請求項14] 請求項10又は11に記載の方法により得られる、毛髪を再生するためのDSC細胞を含む組成物。

[請求項15] 毛髪径及び／又は毛髪密度が増加することを特徴とする、請求項14に記載の組成物。

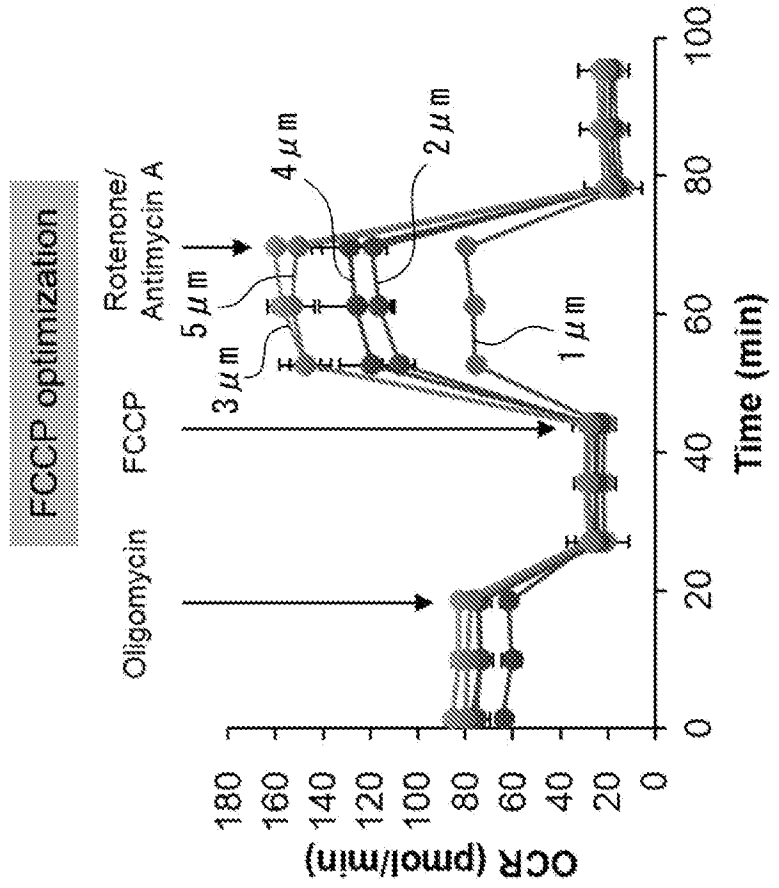
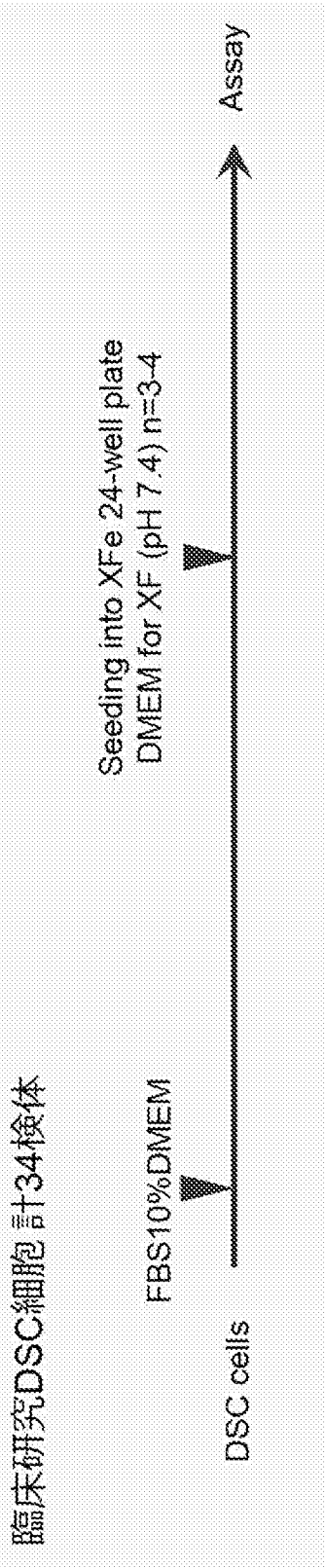
[図1]



臨床研究に用いたDSC細胞 (n=34) を解析。相关性解析を実施

図1

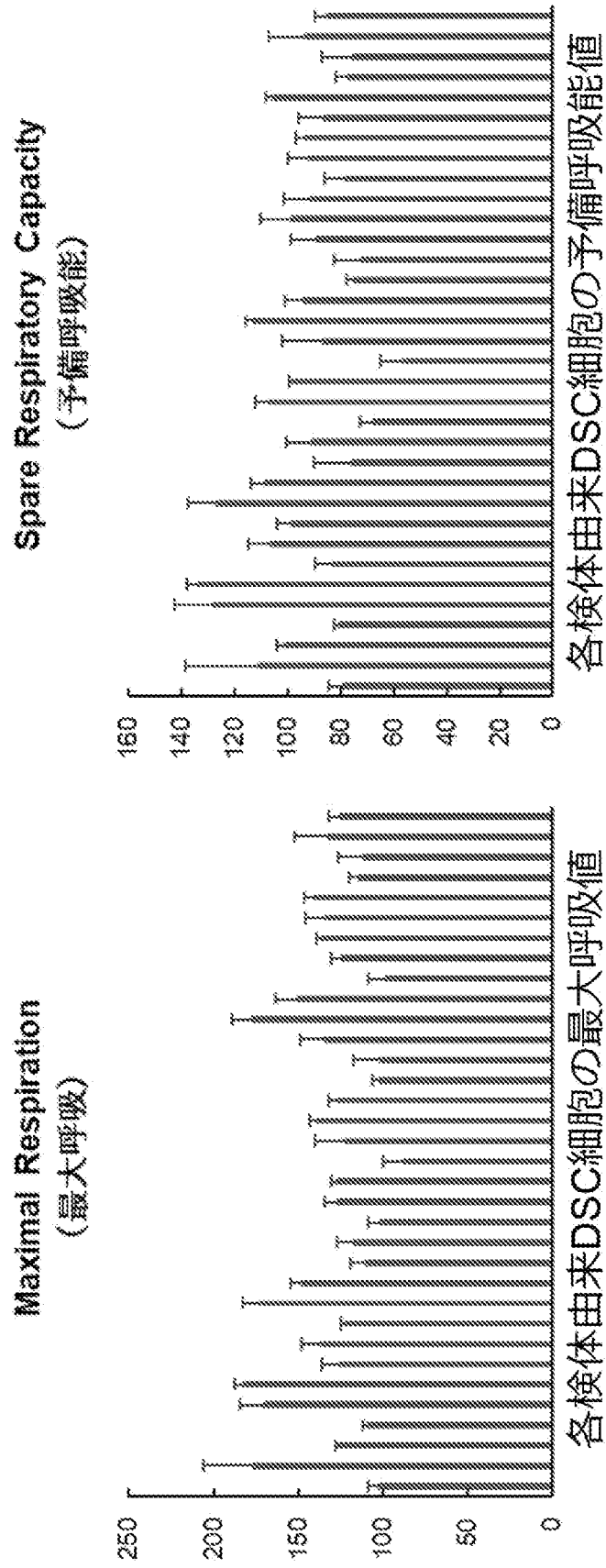
[2]



- 事前検討により製品推奨条件となる
至適細胞数および試薬 (FCCP) 濃度を設定

[図3]

図3



[図4]

図4



〔総毛髪密度〕

〔積算毛髪径〕

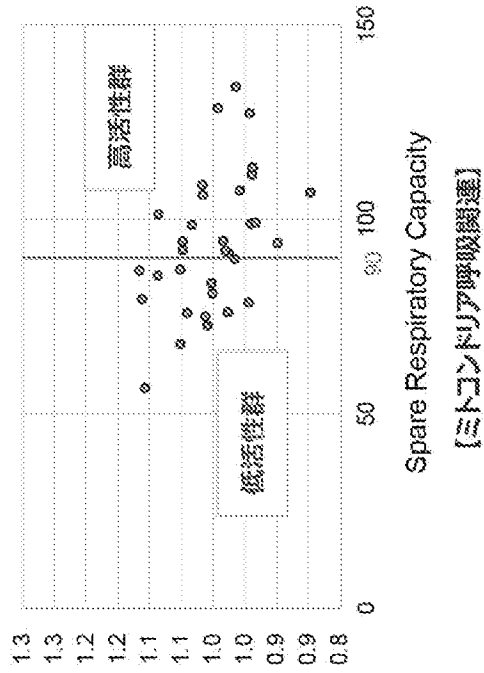
〔ミトコンドリア呼吸 パラメーター〕	3M/OM		3M/Place bo		6M/OM		6M/Place bo		9M/OM		9M/Place bo		12M/OM		12M/Place ebo	
	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo	bo
Maximal Respiration	-0.442	-0.307	-0.299	-0.413	-0.480	-0.179	-0.214	-0.031	-0.377	-0.212	0.043	-0.162	-0.377	-0.271	-0.221	-0.043
Spare Respiratory Capacity	-0.471	-0.373	-0.319	-0.463	-0.430	-0.162	-0.269	-0.229	-0.325	-0.262	0.031	-0.169	-0.262	-0.093	-0.247	-0.167

【図5】

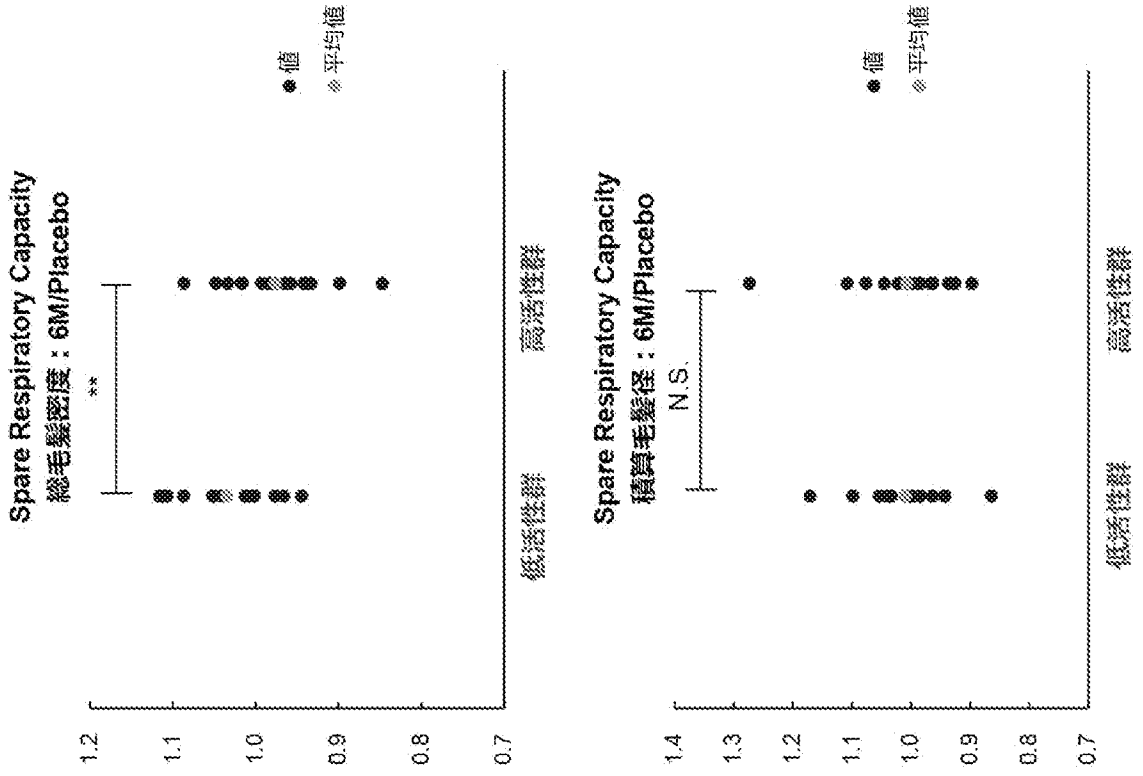
【 Spare Respiratory Capacity 二群間比較】

* Spare Respiratory Capacityの値が
 > 90: 高活性、≤ 90: 低活性と群分け
 ...6M/Placeboの有効性について検定により二群間比較

(総毛髪密度：6M/Placeboドットプロット)

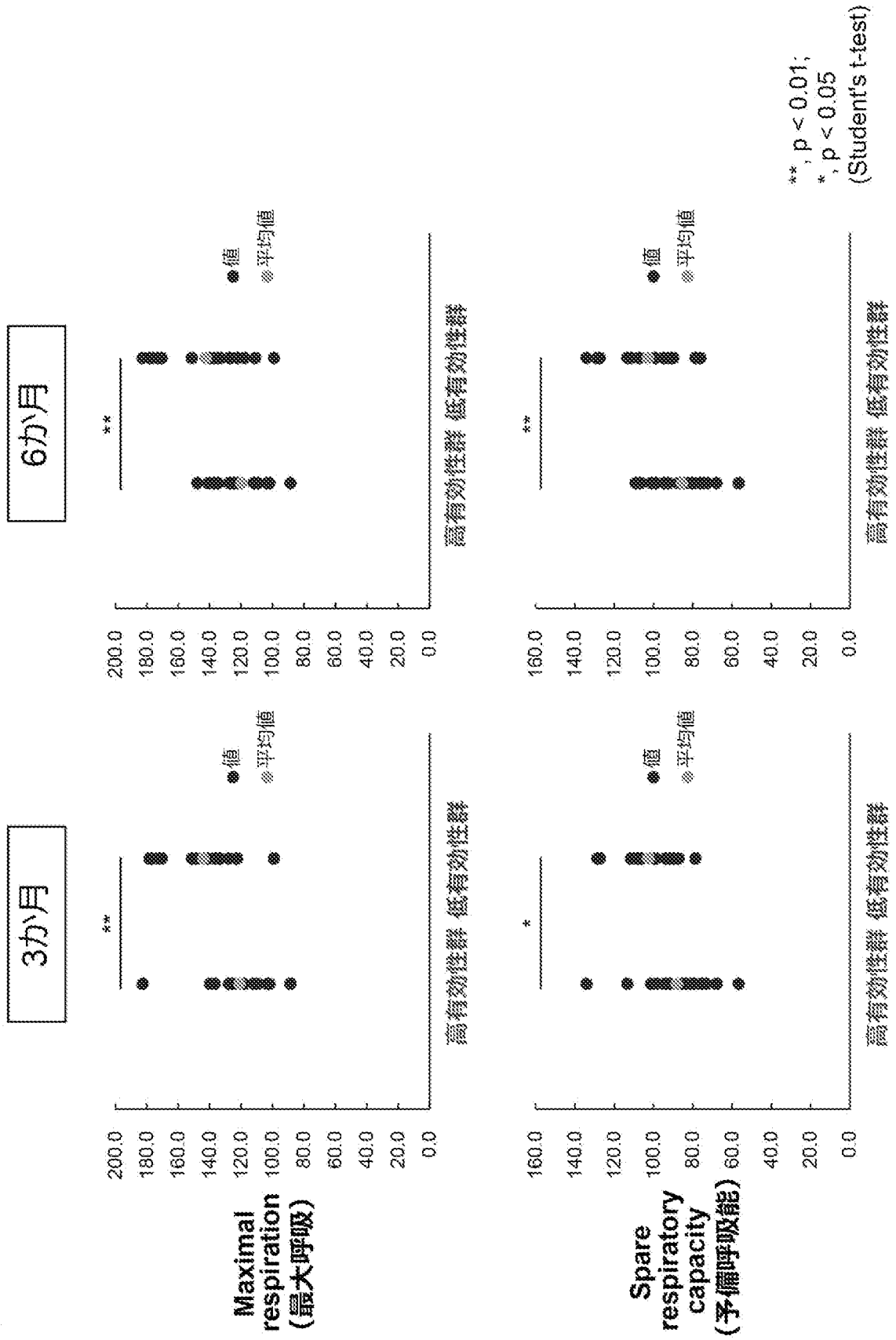


** , p < 0.01; * , p < 0.05
 (Student's t-test)



[図6]

図6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/015123

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>C12Q 1/06</i> (2006.01)i; <i>A61K 35/36</i> (2015.01)i; <i>A61L 27/38</i> (2006.01)i; <i>A61P 17/14</i> (2006.01)i; <i>C12N 5/077</i> (2010.01)i FI: C12Q1/06; C12N5/077; A61K35/36; A61P17/14; A61L27/38 300; A61L27/38 100		
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) C12Q1/06; A61K35/36; A61L27/38; A61P17/14; C12N5/077		
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 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/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	TSUBOI, R. et al. Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells:A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study. J Am Acad Dermatol. 2020, vol. 83, no. 1, pp. 109-116, doi:10.1016/j.jaad.2020.02.033 abstract, METOHDS, fig. 1-4	6-9
Y		10-15
Y	WO 2014/200068 A1 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 18 December 2014 (2014-12-18) claims, example 2, paragraphs [0014], [0053]	10-15
A	WO 2019/176881 A1 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 19 September 2019 (2019-09-19) entire text	1-15
A	JP 2016-514969 A (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 26 May 2016 (2016-05-26) entire text	1-15
A	JP 2003-70466 A (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 11 March 2003 (2003-03-11) entire text	1-15
A	WO 2021/015209 A1 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 28 January 2021 (2021-01-28) entire text	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 08 June 2023		Date of mailing of the international search report 27 June 2023
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/JP2023/015123

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	JP 2022-182154 A (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 08 December 2022 (2022-12-08) entire text	1-15
P, A	WO 2023/058429 A1 (NAT UNIV CORP YOKOHAMA NAT UNIV) 13 April 2023 (2023-04-13) entire text	1-15
P, A	WO 2022/191149 A1 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) 15 September 2022 (2022-09-15) entire text	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2023/015123

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2014/200068	A1	18 December 2014	(Family: none)	
WO	2019/176881	A1	19 September 2019	US 2021/0003560 whole document	A1
				EP 3766985	A1
				CN 111836901	A
				KR 10-2020-0130239	A
JP	2016-514969	A	26 May 2016	US 2014/0286922 whole document	A1
				WO 2014/152086	A1
				EP 2976002	A1
JP	2003-70466	A	11 March 2003	(Family: none)	
WO	2021/015209	A1	28 January 2021	CN 114158274	A
JP	2022-182154	A	08 December 2022	(Family: none)	
WO	2023/058429	A1	13 April 2023	(Family: none)	
WO	2022/191149	A1	15 September 2022	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12Q 1/06(2006.01)i; A61K 35/36(2015.01)i; A61L 27/38(2006.01)i; A61P 17/14(2006.01)i; C12N 5/077(2010.01)i FI: C12Q1/06; C12N5/077; A61K35/36; A61P17/14; A61L27/38 300; A61L27/38 100		
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）） C12Q1/06; A61K35/36; A61L27/38; A61P17/14; C12N5/077 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2023年 日本国実用新案登録公報 1996-2023年 日本国登録実用新案公報 1994-2023年 国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	TSUBOI R. et al., Autologous cell-based therapy for male and female pattern hair loss using dermal sheath cup cells:A randomized placebo-controlled double-blinded dose-finding clinical study, J Am Acad Dermatol., 2020, Vol.83, No.1, pp.109-116, doi:10.1016/j.jaad.2020.02.033 Abstract, METOHDS, Figs. 1-4	6-9
Y		10-15
Y	WO 2014/200068 A1 (株式会社資生堂) 18.12.2014 (2014-12-18) 特許請求の範囲、実施例2、[0014]、[0053]	10-15
A	WO 2019/176881 A1 (株式会社資生堂) 19.09.2019 (2019-09-19) 全文	1-15
A	JP 2016-514969 A (ザ プロクター アンド ギャンブル カンパニー) 26.05.2016 (2016-05-26) 全文	1-15
A	JP 2003-70466 A (株式会社資生堂) 11.03.2003 (2003-03-11) 全文	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的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	08.06.2023	国際調査報告の発送日 27.06.2023
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） 山本 匡子 4N 3038 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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	WO 2021/015209 A1 (株式会社 資生堂) 28.01.2021 (2021 - 01 - 28) 全文	1-15
P, A	JP 2022-182154 A (株式会社 資生堂) 08.12.2022 (2022 - 12 - 08) 全文	1-15
P, A	WO 2023/058429 A1 (国立大学法人横浜国立大学) 13.04.2023 (2023 - 04 - 13) 全文	1-15
P, A	WO 2022/191149 A1 (株式会社 資生堂) 15.09.2022 (2022 - 09 - 15) 全文	1-15

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/JP2023/015123

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2014/200068 A1	18.12.2014	(ファミリーなし)	
WO 2019/176881 A1	19.09.2019	US 2021/0003560 A1 whole document EP 3766985 A1 CN 111836901 A KR 10-2020-0130239 A	
JP 2016-514969 A	26.05.2016	US 2014/0286922 A1 whole document WO 2014/152086 A1 EP 2976002 A1	
JP 2003-70466 A	11.03.2003	(ファミリーなし)	
WO 2021/015209 A1	28.01.2021	CN 114158274 A	
JP 2022-182154 A	08.12.2022	(ファミリーなし)	
WO 2023/058429 A1	13.04.2023	(ファミリーなし)	
WO 2022/191149 A1	15.09.2022	(ファミリーなし)	