

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02005/116053

発行日 平成20年5月15日(2008.5.15)

(43) 国際公開日 **平成17年12月8日(2005.12.8)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 5/083 (2006.01)	C07K 5/083 ZNA	4B024
A61K 38/00 (2006.01)	A61K 37/02	4C083
A61P 17/14 (2006.01)	A61P 17/14	4C084
A61K 8/64 (2006.01)	A61K 8/64	4H045
A61Q 7/00 (2006.01)	A61Q 7/00	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く		

出願番号 特願2006-514022 (P2006-514022)	(71) 出願人 504132272 国立大学法人京都大学 京都府京都市左京区吉田本町36番地1
(21) 国際出願番号 PCT/JP2005/010102	
(22) 国際出願日 平成17年5月26日(2005.5.26)	
(31) 優先権主張番号 特願2004-157848 (P2004-157848)	(74) 代理人 100072051 弁理士 杉村 興作
(32) 優先日 平成16年5月27日(2004.5.27)	(74) 代理人 100107227 弁理士 藤谷 史朗
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	(74) 代理人 100114292 弁理士 来間 清志
	(74) 代理人 100119530 弁理士 富田 和幸
	(72) 発明者 吉川 正明 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規な育毛剤

(57) 【要約】

Met - Pheで示されるペプチド又はMet - Phe - Argで示されるペプチドは育毛促進効果を有することが見出された。よって本発明により、Met - Phe - Argで表される新規ペプチド、及びMet - Pheで示されるペプチド又はMet - Phe - Argで示されるペプチドを有効成分とする育毛剤が提供された。更に上記ペプチドを用いて育毛を促進する方法が提供された。本発明のペプチドの育毛促進効果は経口投与で有効であるために、その利用価値は大きいと考えられる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

Met - Phe - Arg で表される、新規ペプチド。

【請求項 2】

Met - Phe で示されるペプチド又は Met - Phe - Arg で示されるペプチドを有効成分とする育毛剤。

【請求項 3】

毛乳頭細胞における血管内皮細胞増殖因子の遺伝子発現を促進することにより育毛作用を発現する請求項 2 記載の育毛剤。

【請求項 4】

請求項 2 記載の育毛剤を有効成分として含有する育毛医薬品。

【請求項 5】

請求項 2 記載の育毛剤を有効成分として含有する育毛食品。

【請求項 6】

請求項 2 記載の育毛剤を有効成分として含有する育毛化粧品。

【請求項 7】

Met - Phe で示されるペプチド又は Met - Phe - Arg で示されるペプチドを用いて育毛を促進する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

本発明は、Met - Phe - Arg で示される新規ペプチドに関する。更に本発明は Met - Phe で示されるペプチド又は Met - Phe - Arg で示されるペプチドを有効成分とする育毛剤に関する。更に本発明は上記ペプチドを用いて育毛を促進する方法に関する。

【背景技術】

脱毛は生命に関わる問題ではないが、その精神的な影響は非常に大きく、脱毛や抜け毛で悩む人は我が国で約 2300 万人とも言われている。その中で育毛剤を使用している人は約 1 / 4 程であり、多くの人が現在市販されている育毛剤の効果に十分な満足を感じていないのが現状である。毛成長機構や脱毛メカニズムの基礎研究成果に基づいた新たな育毛促進物質の探索とそのメカニズムの解明は現在重要な研究課題の一つであり、脱毛問題で悩む人々の生活の質 (QOL) の改善に貢献することが期待される。

大豆由来の Met - Ile - Thr - Leu で表されるペプチド (MITL) および MITL の配列を分子内に含むいくつかのペプチドが、免疫系の賦活作用 (食慾促進作用、活性酸素促進作用、腫瘍致死因子分泌促進作用) を有する (特開平 7 - 224093 号公報及び特開平 8 - 73374 号公報) ことが知られていた。本発明者らは上記ペプチドが、抗癌剤である etoposide (エトポシド) による脱毛を抑制することを、過去に報告した (特開平 9 - 249535 号公報)。

また育毛を目的とする食品としては、アマチャヅルとカキノハと昆布の抽出物を含む食品が知られている。また抗癌剤の副作用としての脱毛症状を抑制、改善または予防する事が可能なウーロン茶抽出物を有効成分とする経口脱毛剤が知られている (特開平 9 - 309840 号公報)。また経口の育毛医薬品として、Type II 5 リダクターゼ阻害剤であるフィナステライド (finasteride) が知られている (J. of American Academy of Dermatology (1998) 39, pp 578 - 589)。しかしながら、当薬剤は男性ホルモンの代謝に作用する薬物であることから、副作用が懸念されており、使用上の注意や制限が多い。

更に本発明者らは MITL の抗脱毛作用の機構を検討している過程で、MITL による免疫促進作用が formyl - Met - Leu - Phe (fMLP) 受容体を介していること、および fMLP 自身が抗脱毛作用を有していることを見出した。更に fMLP の Phe を Trp に置換した誘導体ペプチドである formyl - Met - Leu - Trp (fMLW) 及び Met - Leu - Trp (MLW) について検討を行ったところ、それら

10

20

30

40

50

のペプチドも抗脱毛作用を有していた（特開2002-080494号公報）。

【発明の開示】

しかし脱毛に悩む人が多いことを考えると、上記の化合物の他に更に育毛作用が強い化合物を探索する必要がある。そこでMet - Leu - Phe (MLP)に近縁したペプチドにおいて育毛作用を有するペプチドを探索し、好ましくは経口投与で有効な新規な育毛ペプチドを得ることが本発明の課題である。

そこで本発明者らは種々のペプチドを飼料に混合してマウスに経口摂取させることによりその育毛効果を検討したところ、Met - Phe (MF)で示されるペプチドが育毛促進作用を有することを見出した。また上記ペプチドのC末端にArgを結合させたトリペプチドであるMet - Phe - Arg (MFR)も育毛促進作用を有することを見出した。よって本発明は、Met - Phe - Argで表される新規ペプチド、Met - Pheで示されるペプチド又はMet - Phe - Argで示されるペプチドを有効成分とする育毛剤、及び上記ペプチドを用いて育毛を促進する方法を提供するものである。なおArgは側鎖にアミノ基を有する塩基性アミノ酸であるために、Argが結合しているMFRは、MFと比較して溶解性が向上しているという利点がある。

更に本発明者らは、ヒト頭髪毛乳頭細胞における血管内皮細胞増殖因子mRNAの発現量に対するMFとMFRの効果を検討した。その結果、MF投与群とMFR投与群では、コントロール群と比較して血管内皮細胞増殖因子mRNAの発現量が増加していた。これは、毛乳頭細胞の機能を活性化することを介して、MFとMFRの育毛効果が発現している可能性を示すものである。

本発明により、Met - Phe - Argで表される新規ペプチド、及びMet - Pheで示されるペプチド又はMet - Phe - Argで示されるペプチドを有効成分とする育毛剤が提供された。更に、上記ペプチドを用いて育毛を促進する方法が提供された。本発明のペプチドの育毛促進作用は経口投与で有効であるために簡便に摂取することができ、多くの人々の注意を喚起する可能性が高いと考えられる。上記ペプチドは育毛剤として有効であるために、本発明の知見を利用して、例えば、育毛医薬品、育毛食品、育毛化粧品を開発することが可能である。

【図面の簡単な説明】

図1は、コントロール群とMFR投与群において、マウス背部の育毛促進効果を評価した写真である。

図2は、コントロール群とMFR投与群において、発毛部位の割合の比較を行ったグラフである。

図3は、コントロール群とMF投与群において、発毛部位の割合の比較を行ったグラフである。

図4は、コントロール群、MF投与群、MFR投与群において、ヒト頭髪毛乳頭細胞における血管内皮細胞増殖因子mRNAの発現量を比較したグラフである。

【発明を実施するための最良の形態】

本発明は、Met - Pheで示されるペプチド又はMet - Phe - Argで示されるペプチドを有効成分として含有する育毛剤である。上記のペプチドは育毛促進作用を有するために、当該ペプチドを有効成分として含有することを特徴とする育毛剤を調製することが可能である。また上記のペプチドを用いて育毛を促進する方法もまた本発明の範囲内である。更に本発明のペプチドは、例えば抗癌剤の副作用として起こる脱毛に対して有効な、抗脱毛ペプチドとしても使用することができると考えられ、上記ペプチドをかか方法で使用することも本発明の態様の一つである。上記でいうMetはメチオニン、Pheはフェニルアラニン、Argはアルギニンを示す。かかるアミノ酸はいずれもL-体である。

本発明のペプチドは、ペプチド合成法で取得することができる。即ち、ペプチド合成に通常用いられる方法である液相法または固相法で、ペプチド結合の任意の位置で二分される2種のフラグメントの一方に相当する反応性カルボキシル基を有する原料と、他方のフラグメントに相当する反応性アミノ基を有する原料とを、2 - (1H - Benzotri

10

20

30

40

50

azole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU)等の活性エステルを用いた方法や、カルボジイミドを用いた方法等を用いて縮合させることができる。生成する縮合物が保護基を有する場合、その保護基を除去することによっても製造し得る。

この反応工程において反応に関与すべきでない官能基は、保護基により保護される。アミノ基の保護基としては、例えばベンジルオキシカルボニル(Bz)、t-ブチルオキシカルボニル(Boc)、p-ビフェニルイソプロピロオキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)等が挙げられる。カルボキシル基の保護剤としては例えばアルキルエステル、ベンジルエステル等を形成し得る基が挙げられるが、固相法の場合は、C末端のカルボキシル基はクロロトリチル樹脂、クロルメチル樹脂、オキシメチル樹脂、P-アルコキシベンジルアルコール樹脂等の担体に結合している。縮合反応は、カルボジイミド等の縮合剤の存在下にあるいはN-保護アミノ酸活性エステルまたはペプチド活性エステルを用いて実施する。

縮合反応終了後、保護基は除去されるが、固相法の場合はさらにペプチドのC末端と樹脂との結合を切断する。更に、本発明のペプチドは通常の方法に従い精製される。例えばイオン交換クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等が挙げられる。合成したペプチドの合成はエドマン分解法でC-末端からアミノ酸配列を読み取るプロテインシーケンサー、GC-MS等で分析される。

次に医薬品として用いる場合について説明する。本発明の育毛ペプチドは経口投与で有効であるという利点を有するが、それに限定されるものではなく、投与経路としては、経口投与、非経口投与、直腸内投与のいずれを採用することもできる。本発明の育毛剤は、経口的あるいは非経口的に投与することが可能である。本ペプチドの投与量は化合物の種類、投与方法、投与される者の状態や年齢等により異なるが、1日あたり通常は0.01mg/kg~100mg/kg、好ましくは0.1mg/kg~10mg/kgである。本発明のペプチドは通常、製剤用担体と混合して調製した製剤の形で投与される。製剤用担体としては、製剤分野において常用され、かつ本発明のペプチドと反応しない物質が用いられる。

具体的には、その様な物質の例として乳糖、ブドウ糖、マンニット、デキストリン、シクロデキストリン、デンプン、蔗糖、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、合成ケイ酸アルミニウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルデンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、イオン交換樹脂、メチルセルロース、ゼラチン、アラビアゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、軽質無水ケイ酸、ステアリン酸マグネシウム、タルク、トラガント、ベントナイト、ビーガム、酸化チタン、ソルビタン脂肪酸エステル、ラウリル硫酸ナトリウム、グリセリン、脂肪酸グリセリンエステル、精製ラノリン、グリセロゼラチン、ポリソルベート、マクロゴール、植物油、ロウ、流動パラフィン、白色ワセリン、フルオロカーボン、非イオン性界面活性剤、プロピレングルコール、水等が挙げられる。

剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁剤、座剤、軟膏、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、吸入剤、注射剤等が挙げられる。これらの製剤は常法に従って調製される。尚、液体製剤にあっては、用時、水又は他の適当な溶媒に溶解または懸濁する形であってもよい。また錠剤、顆粒剤は周知の方法でコーティングしてもよい。注射剤の場合には、本発明のペプチドを水に溶解させて調製されるが、必要に応じて生理食塩水あるいはブドウ糖溶液に溶解させてもよく、また緩衝剤や保存剤を添加してもよい。

これらの製剤は、本発明のペプチドを0.01%~100重量%、好ましくは1~90重量%の割合で含有することができる。これらの製剤はまた、治療上価値のある他の成分を含有していてもよい。

経口投与用の固形製剤を製造するには、有効成分と賦形剤成分例えば乳糖、澱粉、結晶セルロース、乳酸カルシウム、無水ケイ酸などと混合して散剤とするか、さらに必要に応じて白糖、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンなどの結合剤、カルボ

10

20

30

40

50

キシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウムなどの崩壊剤などを加えて湿式又は乾式造粒して顆粒剤とする。錠剤を製造するには、これらの散剤及び顆粒剤をそのまま或いはステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤を加えて打錠すればよい。これらの顆粒又は錠剤はヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタクリル酸 - メタクリル酸メチルポリマーなどの腸溶剤基剤で被覆して腸溶剤製剤、あるいはエチルセルロース、カルナウバロウ、硬化油などで被覆して持続性製剤とすることもできる。また、カプセル剤を製造するには、散剤又は顆粒剤を硬カプセルに充填するか、有効成分をそのまま或いはグリセリン、ポリエチレングリコール、ゴマ油、オリーブ油などに溶解した後ゼラチン膜で被覆し軟カプセルとすることができる。

経口投与用の液状製剤を製造するには、有効成分と白糖、ソルビトール、グリセリンなどの甘味剤とを水に溶解して透明なシロップ剤、更に精油、エタノールなどを加えてエリキシル剤とするか、アラビアゴム、トラガント、ポリソルベート 80、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどを加えて乳剤又は懸濁剤としてもよい。これらの液状製剤には所望により矯味剤、着色剤、保存剤などを加えてもよい。

注射剤を製造するには、有効成分を必要に応じて塩酸、水酸化ナトリウム、乳糖、乳酸、ナトリウム、リン酸一水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウムなどの pH 調整剤、塩化ナトリウム、ぶどう糖などの等張化剤と共に注射用蒸留水に溶解し、無菌濾過してアンブルに充填するか、更にマンニトール、デキストリン、シクロデキストリン、ゼラチンなどを加えて真空凍結乾燥し、用事溶解型の注射剤としてもよい。また、有効成分にレチシン、ポリソルベート 80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などを加えて水中で乳化せしめ注射剤用乳剤とすることもできる。

直腸投与剤を製造するには、有効成分をカカオ脂、脂肪酸のトリ、ジ及びモノグリセリド、ポリエチレングリコールなどの座剤用基材と共に加湿して溶解し型に流し込んで冷却するか、有効成分をポリエチレングリコール、大豆油などに溶解した後、ゼラチン膜で被覆すればよい。

皮膚用外用剤を製造するには、有効成分を白色ワセリン、ミツロウ、流動パラフィン、ポリエチレングリコールなどに加えて必要ならば加湿して練合し軟膏剤とするか、ロジン、アクリル酸アルキルエステル重合体などの粘着剤と練合した後ポリアルキルなどの不織布に展延してテープ剤とする。

更に本発明の育毛ペプチドを種々の飲食物や所謂サプリメントの形で投与することもできる。本発明の育毛ペプチドを一般に飲食されている物や調味料などの中に配合することが可能であり、そのような飲食物は通常の方法で製造させるものであって特に限定されるものではない。

また本発明の育毛ペプチドをヘアクリーム、ヘアリキッドあるいはゲルなどの種々の形態で化粧品中に配合して育毛化粧品とすることも可能である。なおクリーム状、エマルジョン状あるいはゲル状の育毛化粧品とする際に、一般的に使用される種々の添加剤を配合することができる。かかる添加剤は特に限定されるものではないが、水、エタノール、プロパノールおよびイソプロパノール等の低級脂肪族アルコール、あるいはグリセリンおよび 1、2 - プロピレングリコールのようなグリコールなどの溶媒を配合することが可能である。更にその他に、アルキルトリメチルアンモニウム塩、アルキルベタイン、オキシエチル化脂肪族アルコール、脂肪酸アルカノールアミド、オキシエチル化脂肪酸エステルなどのカチオン性、両性あるいは非イオン性界面活性剤からなる湿潤剤ないしは乳化剤、香油、エチレングリコールジステアレートなどの乳白剤、2、4、4トリクロル - 2 - ヒドロキシジフェニルエーテルあるいはメチルイソチアゾリゾンのような殺菌剤ないしは防カビ剤、緩衝剤、保湿剤や酸化防止剤を適宜使用することができる。

ところで本発明のペプチドである MF あるいは MFR をタンデムに結合させたペプチドを製造することも可能であると考えられる。かかるタンデムなペプチドは、 $(MF)_n$ 又は $(MFR)_n$ (ここで n はペプチドの繰り返し単位) で示されるペプチドであり、具体的には MF MF、MF MF MF、MFR MFR、MFR MFR MFR などを挙げることができる。しかし n の数は 2 または 3 に限定されるものではなく、もっと長いオリゴペプチ

10

20

30

40

50

ドを製造することもできる。なおかかるペプチドは、上記において述べた通常の化学的なペプチド合成方法によって得ることができる。

かかるタンデムなオリゴペプチドを経口的に摂取すると、消化酵素の作用により消化管内で育毛ペプチドであるMF又はMFRを遊離するであろうと予測される。なおMFRは、C末端にアルギニン残基を有するために消化管内でトリプシンにより切断されて遊離するという点で有利である。なお消化管内でタンデムなオリゴペプチドから本発明の育毛ペプチドを遊離させる場合には、徐々に消化管内でMF又はMFRが遊離するために、生体内で有効な濃度を長時間維持できる可能性があるために、本発明において好ましい態様であると考えられる。

なお以下の実施例において本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

実施例1：MFとMFRの育毛促進作用

毛包は一定の周期で常に生えかわる器官であり、毛周期は成長期(Anagen)、退行期(Catagen)、休止期(Telogen)から構成される。C3H/Heマウスにおいては7週齢から50日間、毛周期はTelogen期に同調していることが知られている。

本発明においては、毛周期がTelogen期にある7週齢の雄性C3H/Heマウスの背部をバリカンとシェーバーにより脱毛し、8週齢より1mg/kgに相当するMFRを粉末飼料に混合し、自由に摂取させた。

MFR混合飼料を14日間投与した後に、育毛促進作用について評価を行った。図1にマウス背部の写真を示す。図1において上段はコントロール群のマウスの写真であり、下段は1.5mg/kgのMFRを投与した群のマウスの写真である。また図2は、MFRを0.15mg/kg、1.5mg/kg、4.5mg/kg、15mg/kg経口投与した結果である。図2のグラフにおいて縦軸はマウスの背部全体のうち、発毛部分の割合(%)を示す。図1と図2より判る様に、MFR投与群においてはコントロール群と比較して育毛が促進していることが認められ、図2において示したように両群の差は5%の危険率で統計学的に有意であった。

また同様にしてジペプチドであるMFの効果も測定した。発毛部位の割合を1群5匹のマウスを用いて平均値を計算して比較したところ、コントロール群では60%、MF1mg/kgを投与した群では87.8%、MF10mg/kgを投与した群では71%であり、コントロール群と比較して発毛部位が増加する効果が認められた。なお図3はその結果をグラフで表したものである(エラーバーはS.E)。

実施例2：ヒト頭髪毛乳頭細胞における血管内皮細胞増殖因子mRNAの発現解析

毛髪は毛周期は毛乳頭細胞によってコントロールされており、その毛乳頭細胞から分泌される血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の働きで、無数の毛細血管網が毛根周囲や毛乳頭に形成されている。そして、薄毛や脱毛が起こっている毛髪においては毛乳頭の機能が衰え、血管増殖因子の分泌が低下し、毛乳頭の毛細血管網が衰退している。そのように衰退した毛細血管網においては、そこからの栄養補給が不十分となっている。そこでヒト頭髪毛乳頭細胞を用いて、MFとMFRを投与することにより引き起こされるVEGFのmRNA量の変化を検討した。VEGFのmRNA量は毛乳頭細胞の機能の指標となり、毛周期が健全であるかの評価をすることができる。なお抗脱毛として現在使用されているミノキシジルはVEGFの産生を促進するといわれている。

東洋紡株式会社からヒト頭髪毛乳頭細胞を購入し、継代数5代目の細胞を実験に供した。ウシI型コラーゲン(東洋紡株式会社)によってコーティングした容器で、毛乳頭細胞増殖培地(東洋紡株式会社)を用いて、細胞培養を行なった。毛乳頭増殖培地として、各種アミノ酸、ビタミン、ゲンタマイシンを含む毛乳頭細胞基礎培地(PCGM)、1%ウシ脳下垂体抽出液、1%ウシ胎児血清、0.5%インシュリン・トランスフェリン・トリヨードサイロニン混液、0.5%サイプロテロンアセテート溶液を含む組成の培地を用いた。37℃、湿度100%、5%CO₂の条件下で細胞をインキュベーター中で培養し、

10

20

30

40

50

一日おきに培地交換を行なった。細胞がサブコンフルエントに達したら、トリプシン/EDTA溶液を含むサブカルチャー試薬セット（東洋紡株式会社）を用いて継代を行なった。

継代数5代目の細胞を 5×10^4 細胞/5ml培地の濃度で 21 cm^2 の培養皿に播いた。23時間後に培地を交換し、その1時間後に本発明で使用するペプチド(MF、MFR)またはミノキシジルなどの薬剤を培地中に添加し、24時間培養した。なお、ミノキシジル(シグマ)は培地中で分解されやすいため、 $10 \mu\text{M}$ のミノキシジル $25 \mu\text{l}$ 溶液を6時間毎に添加した。薬剤を添加してから24時間後にサンプリングを行い、回収した細胞から、RNeasy Mini kit(キアゲン)を用いてtotal RNAを抽出した。VEGFのmRNA発現量を解析するために、細胞から抽出したtotal RNAのうち8ngを定量的RT-PCR(ABI Prism 7000、アプライトバイオシステム)に供した。内部標準として β -アクチンを用いた。

各細胞から抽出したtotal RNA、プライマー、SYBY Green PCR Mix、RNaseインヒビター、Multiscribe Reverse Transcriptase(全てアプライトバイオシステム)を含む $50 \mu\text{l}$ の反応混合液中でRT-PCRを行なった。Primer Express(アプライトバイオシステム)を用いて、ヒト β -アクチンおよびVEGFに対して特異的なプライマーを設計した。使用したプライマーの構造を下記に示す。

ヒト β -アクチン(NM_001101)

forward primer: TGTCCACCTTCCAGCAGATGT

reverse primer: AGTCCGCCTAGAA GCATTTGC

ヒトVEGF(NM_003376)

forward primer: AACACAGACTCGCGTTGCAA

reverse primer: CGGCTTGTCA CATCTGCAAGT

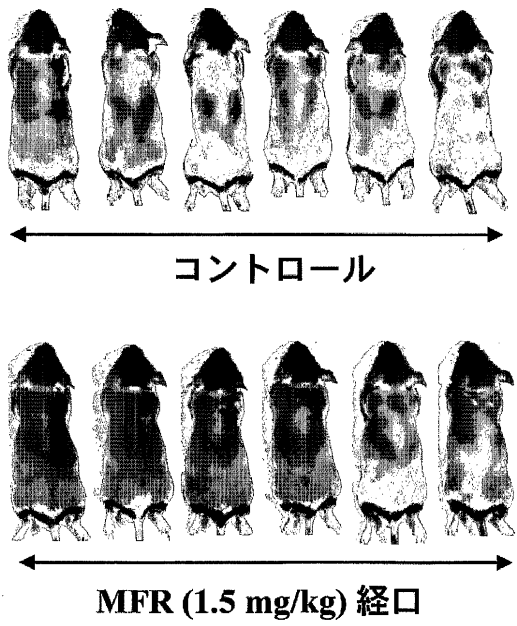
上記において述べた方法でVEGF mRNAの発現量を測定し、コントロール群、ミノキシジル投与群($30 \mu\text{M}$)、MF投与群($3 \mu\text{M}$ 、 $30 \mu\text{M}$)、MFR投与群($3 \mu\text{M}$ 、 $30 \mu\text{M}$)において測定結果を比較した。コントロール群で得られた値を1として、他の群において測定されたVEGF mRNAの量の比を図4に示す。MFを $3 \mu\text{M}$ 投与した群とMFRを $3 \mu\text{M}$ 投与した群においては、コントロール群と比較してVEGF mRNAの量の明らかな増加が認められた。そしてその増加はミノキシジルを $30 \mu\text{M}$ 投与した群以上であった。更にMFを $30 \mu\text{M}$ 投与した群とMFRを $30 \mu\text{M}$ 投与した群においても、VEGF mRNAの発現量はコントロール群と比較して増加していた。よってミノキシジルと同様に、MFとMFRはVEGF mRNAの発現量を増加させた。

【産業上の利用可能性】

本発明により、Met-Phe-Argで表される新規ペプチド、及びMet-Pheで示されるペプチド又はMet-Phe-Argで示されるペプチドを有効成分として含有する育毛剤が提供された。本発明の知見を利用して、当該ペプチドを有効成分と含有する育毛医薬品、育毛医薬品や育毛化粧品を開発することが可能であると考えられる。

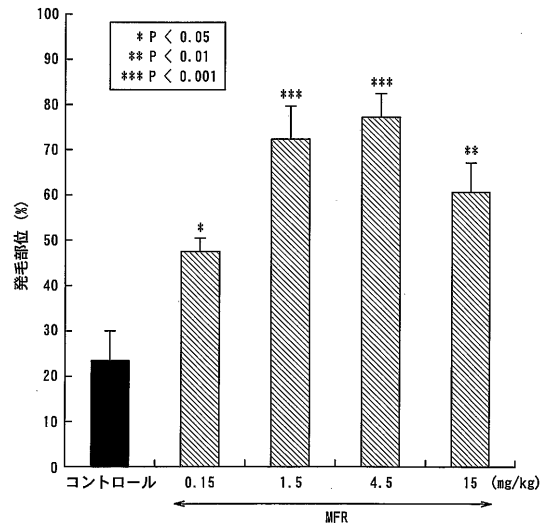
【 図 1 】

FIG. 1



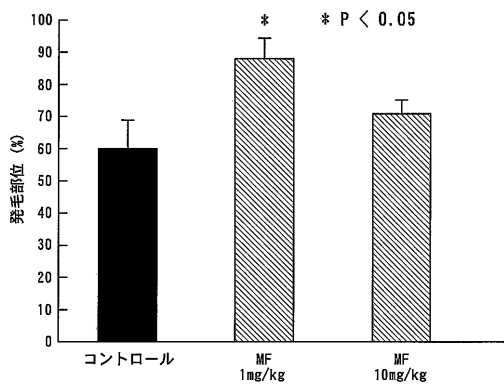
【 図 2 】

FIG. 2



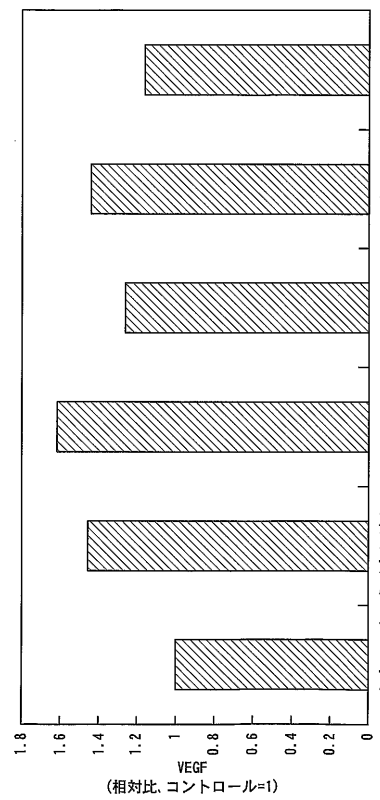
【 図 3 】

FIG. 3



【 図 4 】

FIG. 4



【配列表】

2005116053000001.xml

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2005/010102
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁷ C07K5/08, 5/06, A23L1/305, A61K7/06, 38/05, 38/06, A61P17/14		
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. ⁷ C07K5/08, 5/06, A23L1/305, A61K7/06, 38/05, 38/06, A61P17/14		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) BIOSIS (STN), CA (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), SwissProt/PIR/Geneseq, JSTPlus (JOIS)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 6-166697 A (Senmi Ekisu CO., Ltd.), 14 June, 1994 (14.06.94), (Family: none)	1-7
A	JP 2002-080494 A (President of The Kyoto University), 19 March, 2002 (19.03.02), (Family: none)	1-7
A	JP 2002-080393 A (President of The Kyoto University), 19 March, 2002 (19.03.02), (Family: none)	1-7
A	JP 6-305941 A (Purosaito Corp.), 01 November, 1994 (01.11.94), (Family: none)	1-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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	"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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	"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
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 16 June, 2005 (16.06.05)	Date of mailing of the international search report 05 July, 2005 (05.07.05)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/010102

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2001/94382 A1 (Sumitomo Electric Industries, Ltd.), 13 December, 2001 (13.12.01), & AU 200162689 A & EP 1288221 A1 & KR 2003032963 A & JP 2002-501930 X & CN 1433429 A	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/010102

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Peptides showing a hair growth stimulating effect had been publicly known before the application of the present case. Thus, the matter common to the inventions of the present case relating to the peptide Met-Phe-Arg and the peptide Met-Phe falls within the category of prior art and, therefore, cannot be considered as a special technical matter in the meaning within PCT Rule 13.2.

Such being the case, the inventions of the present case cannot be considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

As discussed above, the present case has two groups of inventions relating respectively to the two peptides. (continued to extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/010102

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

Referential documents: JP 2002-080494, JP 2002-080393

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/010102
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl.7 C07K5/08, 5/06, A23L1/305, A61K7/06, 38/05, 38/06, A61P17/14		
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)) Int.Cl.7 C07K5/08, 5/06, A23L1/305, A61K7/06, 38/05, 38/06, A61P17/14		
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 1971-2005年 日本国実用新案登録公報 1996-2005年 日本国登録実用新案公報 1994-2005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) BIOSIS (STN), CA (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), SwissProt/PIR/Geneseq, JSTPlus (JOIS)		
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 請求の範囲の番号
A	JP 6-166697 A (仙味エキス株式会社) 1994.06.14 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2002-080494 A (京都大学長) 2002.03.19 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2002-080393 A (京都大学長) 2002.03.19 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 6-305941 A (ブライトコーポレーション) 1994.11.01 (ファミリーなし)	1-7
A	WO 2001/94382 A1 (住友電気工業株式会社) 2001.12.13, & AU 200162689 A & EP 1288221 A1 & KR 2003032963 A & JP 2002-501930 X & CN 1433429 A	1-7
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input 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 「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 16.06.2005	国際調査報告の発送日 05.7.2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 佐久 敬 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 3037

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2005/010102

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

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

育毛作用を示すペプチドは本願出願前公知である。したがって、本願発明に係るMet-Phe-ArgなるペプチドとMet-Pheなるペプチドに係る各発明に共通する技術的事項は先行技術の域を出るものではなく、PCT規則13.2における特別な技術的事項であるとはいえない。

よって、本願発明は単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

なお、本願発明は上述したとおり、二つのペプチドに係る二個の発明からなるものである。

参考文献：JP 2002-080494、JP 2002-080393

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2004年1月)

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)
A 6 1 P 43/00	(2006.01)		A 6 1 P	43/00	1 1 1	
C 1 2 N 15/09	(2006.01)		C 1 2 N	15/00		A
C 0 7 K 5/062	(2006.01)		C 0 7 K	5/062		

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 釣木 隆弘

京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内

(72) 発明者 伊藤 綾香

京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 CA01 CA12 HA14

4C083 AD411 CC37 EE22

4C084 BA01 BA08 BA14 MA52 MA63 NA14 ZA922 ZC412

4H045 AA10 AA20 AA30 BA11 BA12 EA15 EA28 FA20 GA21

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。