

明 細 書

発明の名称：

電解水素水、その製造方法並びにそれを用いた腸管バリア維持機能の活性化方法及び遺伝子発現調節方法

技術分野

[0001] 本発明は、電解水素水、その製造方法並びにそれを用いた腸管バリア維持機能の活性化方法及び遺伝子発現調節方法に関する。

背景技術

[0002] 本出願人は、電解水素水等の各種水素水やそれを含む混合物等の新たな用途や作用機能について種々検討している。例えば、特許文献1では、エタノール溶液と水素水とが混和され、エタノールの濃度が1～4%であり、溶存水素濃度が550～5600ppbであるアルコール性肝障害抑制用の水素水混合物を提案している。この水素水混合物は、安全性が高く、調製が容易かつ安価であり、さらにアルコール性肝障害を効果的に抑制することができる。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2022-126128号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] ところで、細胞に電解水素水を作用させた際に活性化する遺伝子（以下、電解水素水に応答する「応答遺伝子」とも称する）が存在する。応答遺伝子を同定することができれば、応答遺伝子の発現を電解水素水で調節することが期待される。そして、電解水素水による応答遺伝子の発現調節により、応答遺伝子の生物学的機能を電解水素水に付与することができる。

[0005] そこで、本発明は、かかる点に鑑みてなされたものであり、応答遺伝子の

発現を調節することにより、応答遺伝子の生物学的機能を高める活性を有する電解水素水及びその利用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

- [0006] 上記の目的を達成するために鋭意検討した結果、本発明者らは、電解水素水に応答するハブ遺伝子として、免疫制御による腸管バリア維持機能の亢進に作用する4つの応答遺伝子を同定し、本発明の電解水素水を完成するに至った。
- [0007] 本発明の電解水素水は、応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高める活性を有し、上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であることを特徴とする。
- [0008] 本発明の腸管バリア維持機能の活性化方法は、電解水素水を用いて応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高めて活性化する方法であって、上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、溶存水素濃度を1056ppb以上1080ppb以下に調整することを特徴とする。
- [0009] 本発明の腸管バリア維持機能の活性化用電解水素水の製造方法は、応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高めて活性化させる電解水素水の製造方法であって、上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、溶存水素濃度を1056ppb以上1080ppb以下に調整することを特徴とする。
- [0010] 本発明の電解水素水による遺伝子発現調節方法（但し、ヒトに対する医療行為を除く）は、電解水素水を用いて遺伝子の発現を調節する方法であって、上記電解水素水に応答する遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、溶存水素濃度を1056ppb以上1080ppb

b以下に調整し、上記電解水素水の作用によって、上記CUL5 (Cullin 5) 及び上記GOLGA7 (Golgin A7) の遺伝子発現を上昇させる一方、上記has-miR-429及び上記has-miR-200c-3pの遺伝子発現を低下させることを特徴とする。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、応答遺伝子の発現を調節することにより、応答遺伝子の生物学的機能を高める活性を有する電解水素水及びその利用方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図1は、ヒト大腸がん細胞 (Caco-2細胞) において、浄水を基準にした電解水素水による遺伝子の発現変動を示す図である。

[図2]図2は、Caco-2細胞において、電解水素水によって発現が変動した遺伝子について、浄水を基準にした変動量を示す図である。

[図3]図3は、Caco-2細胞における、電解水素水による遺伝子発現変動から、Gene Ontologyに基づいて生理的機能を解析した結果を示す図である。

[図4]図4は、Caco-2細胞における、電解水素水による遺伝子発現変動から、その遺伝子の発現を制御する転写因子を解析した結果を示す図である。

[図5]図5は、Caco-2細胞において、浄水を基準にした電解水素水によるマイクロRNA (microRNA) の発現変動を示す図である。

[図6]図6は、Caco-2細胞において、電解水素水によって発現が変動したmicroRNAについて、浄水を基準にした変動量を示す図である。

[図7]図7は、Caco-2細胞において、電解水素水によって変動するmicroRNAの標的となる遺伝子について、タンパク質の相互作用の観点から発現変動遺伝子-microRNA間ネットワークを解析した結果を示す図である。

[図8]図8は、Caco-2細胞において、電解水素水に応答するハブ遺伝子に共通する転写因子を解析した結果の図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明者らは、後述の実施例に記載のRNAシーケンス (RNA-seq) の解析結果に基づき、電解水素水によって応答する遺伝子の差次的発現を

スクリーニングし、そこで同定した遺伝子の生物学的機能を、遺伝子オントロジー (gene ontology : GO) 解析や分子間相互作用ネットワーク解析により見出した。本発明の電解水素水は、これら知見に基づいて完成されたものである。

[0014] 電解水素水に応答するハブ遺伝子は、CUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pである (以下まとめて「特定応答遺伝子」とも称する)。本発明の電解水素水では、応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であることに特定されている (以下「応答遺伝子特定電解水素水」とも称する)。

[0015] CUL5 (Cullin 5) とGOLGA7 (Golgin A7) は、電解水素水の作用によって、遺伝子発現が上昇する。一方、has-miR-429とhas-miR-200c-3pは、電解水素水の作用によって、遺伝子発現が低下する。即ち、これら特定応答遺伝子は、電解水素水を利用して、発現量の調節が可能である。

[0016] なお、転写因子KLF5は、CUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pを標的とする。応答遺伝子特定電解水素水の腸管上皮様細胞における特定応答遺伝子は、KLF5の制御を受けると考えられる。

[0017] そして、特定応答遺伝子の電解水素水による発現調節は、特定応答遺伝子の生物学的機能である免疫制御による腸管バリア維持機能の亢進に作用する。換言すると、応答遺伝子特定電解水素水は、特定応答遺伝子の発現上昇又は発現低下を調節することにより、腸管バリア維持機能を高める活性を有するといえる。

[0018] なお、特定応答遺伝子が腸機能に影響を与えることは、例えば以下の論文に記載されている。

1) Yu, T., et al., Overexpression of miR-429 impairs intestinal barrier function in diabetic mice by down-regulating occludin expression, Cell Tissue Res, 2016. 366(2): p. 341-352.

2) He, S., et al., Ferulic Acid Ameliorates Lipopolysaccharide-Induce

d Barrier Dysfunction via MicroRNA-200c-3p-Mediated Activation of PI3K/AKT Pathway in Caco-2 Cells. Front Pharmacol, 2020. 11: p. 376.

3) Mo, J.S., et al., MicroRNA 429 Regulates Mucin Gene Expression and Secretion in Murine Model of Colitis. J Crohns Colitis, 2016. 10(7): p. 837-49.

4) Chen, J., et al., The roles of miR-200c in colon cancer and associated molecular mechanisms. Tumour Biol, 2014. 35(7): p. 6475-83.。

[0019] また、応答遺伝子特定電解水素水では、腸管バリア維持機能の亢進によって、オートファジーの活性化又は抑制の制御や癌進行の予防等に機能することが期待される。

[0020] オートファジーは、細胞内のリサイクリングシステム（リソソームによる分解系）であり、細胞内成分を分解することで細胞内成分の浄化や有害物を除去し、発がん等の様々な疾患の予防に働いている。またオートファジーは、細胞内成分の分解機構としての役割の他に、細胞内成分の分泌による生体機構の調節に機能している役割があることも分かっている。特に、分泌性オートファジー（エキソファジー、分泌物の細胞外放出）は、様々な疾患と関係する炎症の調節や代謝物のやり取り等に関与することが明らかになっている。

[0021] miR-200cファミリーは癌の進行に影響を及ぼす可能性が報告されている。miR-200cの過剰発現は、癌の増殖、遊走、浸潤等を促進する。一方、miR-200cの発現減少は、癌の増殖、遊走、浸潤等を抑制することが実証されている。そのため、応答遺伝子特定電解水素水では、特定応答遺伝子hsa-miR-200c-3pの発現抑制を介して、免疫制御による腸管バリア維持機能の亢進に作用するだけでなく、さらに癌の予防に機能する可能性がある。

[0022] また、hsa-miR-200c-3pの発現の低下により、足場を形成する細胞外基質の一つであるフィブロネクチンへの細胞接着が促進されることが報告されている。そのため、応答遺伝子特定電解水素水では、特定応答遺伝子hsa-miR-200c-3pの発現抑制を介して、細胞間接着の形成を維持する可能性がある。

- [0023] miR-429ファミリーは、miR-200ファミリーのメンバーであり、同様の機能を有することが知られている。そのため、応答遺伝子特定電解水素水では、特定応答遺伝子has-miR-429の発現抑制を介して、腸のバリア機能の維持に機能すると考えられる。マウスのin vivo研究では、miR-429がバリア機能に關与する遺伝子の発現を低下させることで、腸管バリア機能を損なうことが報告されている。
- [0024] miR-200c又はmiR-429の発現上昇は、細胞の炎症応答を促進することが、糖尿病マウスモデルにおいて分かっている。
- [0025] 応答遺伝子特定電解水素水は、一般に市販されている水素生成装置（電解水生成装置等）を用いて製造できる。そのため、応答遺伝子特定電解水素水は、安全性が高く市販の装置で調製が容易かつ安価であるといえる。
- [0026] 応答遺伝子特定電解水素水における溶存水素濃度は、特定応答遺伝子の発現を調節する観点から、好ましくは550ppb以上5600ppb以下、より好ましくは800ppb以上1320ppb以下、さらに好ましくは1056ppb以上1080ppb以下である。
- [0027] 以上のように構成される応答遺伝子特定電解水素水は、応答遺伝子として特定されたCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子の発現を調節することにより、これらハブ遺伝子の生物学的機能である腸管バリア維持機能を高める活性を有する。

実施例

- [0028] 以下に、本発明を実施例に基づいて説明する。なお、本発明は、これらの実施例に限定されるものではなく、これらの実施例を本発明の趣旨に基づいて変形、変更することが可能であり、それらを本発明の範囲から除外するものではない。

- [0029] <電解水素水の製造>

電解水生成装置（日本トリム社製、商品名：TRIMION GRACE）を用いて、温度が22℃、流速が1.5 L/minの条件で、溶存水素濃度

のレベル4の電解水素水を得るとともに、マイクロカーボンによってろ過された浄水を得た。

[0030] 次に、レベル4の電解水素水のpH、及び溶存水素濃度の測定を行った。なお、pHの測定にはpHメータ（HORIABA社製、商品名：LAQUA act D-71）を用いて行い、溶存水素濃度の測定は、溶存水素計DH-35A（東亜DKK社製）を用いて行った。

・レベル4：1320ppb（～1350ppb）、pH10。

[0031] <電解水素水の処理用培地（電解水素水培地）の作製>

粉体より調整した5×ダルベッコ変法イーグル培地（以下「DMEM」という、Wako、044-29765）を、上述の浄水またはレベル4の電解水素水で5倍に希釈し、電解水素水の処理用培地（すなわち、20%の5×DMEMと、80%の電解水素水または浄水を混和した水素水混合物である処理用培地）として用いた。レベル4の電解水素水培地における溶存水素濃度は、以下の通りである。

・レベル4：1320ppb（～1350ppb） $\times 4/5 = 1056$ ppb（～1080ppb）。

[0032] <細胞培養>

ヒト結腸上皮癌細胞株であるCaco2細胞（理研BRC）を、10%ウシ胎児血清（FBS；Sigma-Aldrich、F7524）および1%ペニシリン-ストレプトマイシン（Wako、168-23191）含む電解水素水培地で37℃、5%CO₂雰囲気中で培養した。

[0033] <トランスクリプトームシーケンシング>

6つの独立したウェルから抽出したサンプルをRNA-seq解析用に用いた。NEB Next（登録商標）UltraTM RNA Library Prep Kit for Illumina（登録商標）（New England Biolabs）を用いて、cDNAライブラリーを構築した。精製、末端修復、A-tailing、シーケンスアダプターライゲーション、サイズ選択、PCR濃縮を数回繰り返し、最終的なcDNAライブラリーを調製した。RNAシーケンスは、Novogene社のNovaSeq 6000 Systemでライブラリーに対して実施した。リードはTopHat 2を使用して参照配列にマッピングした。トランスクリ

プトームシーケンスのために、ACWグループとEHW-exposureグループからランダムに3つのサンプルを選択した。胸腺標本から全RNAを抽出するために、TRIzolTM試薬 (Invitrogen) を使用した。NEB Next Multiplex Directional RNA Library Prep KitおよびNEB Small RNA Library Kitを用い、全RNAを配列決定した。全RNAを、定量および同定後、mRNAおよびマイクロRNA (microRNA) ライブラリーの合成のための入力材料として使用した。すべてのトランスクリプトーム配列解析は、Illumina HiSeqTM 2500プラットフォームで行った。

[0034] <差次的発現遺伝子解析>

EBSeq toolkit を用いて差次的発現遺伝子をスクリーニングし、Benjamin-Hochberg検定によるFDR < 0.05で発現変動遺伝子を同定した。その結果を図1～4に示す。また、マイクロRNA (microRNA) による結果を図5及び6に示す。

[0035] 図1は、ヒト大腸がん細胞 (Caco-2細胞) において、浄水 (ACW) を基準にした電解水素水 (EHW) による遺伝子 (mRNA) の発現変動を示すVolcano plotである。図1の縦軸は、統計学的な有意水準を示し、数値が高いほど統計的に有意であることを示す。図1の横軸は、電解水素水による遺伝子 (mRNA) の発現量を示し、数値が0よりも小さいものは発現量が低下した遺伝子を示し、一方、数値が0よりも大きいものは発現量が上昇した遺伝子を示す。図1より、浄水と電解水素水の間で、82個の発現変動遺伝子 (Differentially Expressed Genes : DEG) を抽出した (False Discovery Rate : FDR) において $p < 0.05$ で抽出)。82個のうち、44個は遺伝子発現の上昇 (mRNAレベルの増加) を示す発現変動遺伝子 (ARNTL2、MACC1、LIN7C、EEA1、ARL5B、STARD4等) である。一方、38個は遺伝子発現の低下 (mRNAレベルの減少) を示す発現変動遺伝子 (RPS28、MT-ND5、RPL13、RPL31、C21orf33等) である。

[0036] 図2は、ヒト大腸がん細胞 (Caco-2細胞) において、電解水素水 (EHW) によって発現が変動した遺伝子について、浄水 (ACW) を基準にした変動量 (変動の度合い) を色の濃淡等で示すHeatmapである。Heatmapは2セット分の互いに独立した実験データを標準化して比較した。なお、図2中の英文字は遺

伝子名を表す。図2において、上側は電解水素水で発現が上昇した遺伝子（M ANEA～PUS7L）を示し、下側は電解水素水で発現が低下した遺伝子（MT-ND5～GALK1）を示す。

[0037] 図3は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）における、Gene Ontology (GO) に基づく生物学的機能解析を示す。具体的には、図3は、電解水素水（EHW）による遺伝子発現変動から、GOに基づいて生理的機能（図3の上から順に、分子機能（Molecular Functions）、生物学的プロセス（Biological Processes）及び細胞組成（Cellular Components））を解析した結果を示す。GO解析には、R言語を用いた統計分析ソフトのアプリケーションであるclusterProfilerパッケージを使用した。GO解析では、 $p < 0.05$ でp値が最も小さい上位10個を選択し可視化した。図3より、電解水素水で発現変動が見られた遺伝子では、タンパク質合成、輸送、細胞間接着に関連したGO Term（機能用語）が上位にプロファイルされた。具体的には、タンパク質合成のGO Termとしては、例えば、rRNA binding、large ribosomal subunit rRNA binding、translation、ribosome assembly、peptide biosynthetic process、cytoplasmic translation、cellular macromolecule biosynthetic process、small ribosomal subunit、ribosome、polysomal ribosome、large ribosomal subunit、cytosolic small ribosomal subunit等が挙げられる。輸送のGO Termとしては、例えば、proton transmembrane transporter activity、oxidoreduction-driven active transmembrane transporter activity、active ion transmembrane transporter activity等が挙げられる。細胞間接着のGO Termとしては、例えば、focal adhesion、cell-substrate junction等が挙げられる。

[0038] 図4は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）における、発現変動遺伝子（DEG）を制御する転写因子の解析（エンリッチメント解析、ChIP-X Enrichment Analysis 3: ChEA3）を示す。具体的には、図4は、電解水素水（EHW）による遺伝子発現変動から、その遺伝子の発現を制御する転写因子を解析した結果を示す。転写因子のエンリッチメント解析には、ChIP-X Enrichment Analysis 3 (ChEA3) を使用した。ChEA3解析では、 $p < 0.05$ でp値が最も小さい上位

10個を選択し可視化した。図4より、皮膚のバリア機能（腸管バリア機能）の亢進に関連する転写因子：Gut-Enriched Krueppel-Like Factor (KLF4) が電解水素水の発現変動遺伝子を標的とする転写因子として濃縮されていた。KLF4は大腸がん抑制因子としての機能も示唆されている。

[0039] 図5は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）において、浄水（ACW）を基準にした電解水素水（EHW）によるmicroRNAの発現変動を示すVolcano plotである。図5の縦軸は、図1と同様に、統計学的な有意水準を示し、数値が高いほど統計的に有意であることを示す。図5の横軸は、電解水素水によるmicroRNAの発現量を示し、数値が0よりも小さいものは発現量が低下したmicroRNAを示し、一方、数値が0よりも大きいものは発現量が上昇したmicroRNAを示す。図5より、浄水と電解水素水の間で、50個の発現変動遺伝子（DEG）を抽出した（FDRにおいて $p < 0.05$ で抽出）。50個のうち、27個はmicroRNAの発現増加を示す発現変動遺伝子（hsa-miR-148a-3p、hsa-miR-215-5p、hsa-miR-192-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-3529-3p、hsa-miR-206等）である。一方、23個はmicroRNAの発現減少を示す発現変動遺伝子（hsa-miR-373-3p、hsa-miR-372-3p、hsa-miR-30d-5p、hsa-miR-200c-3p、hsa-miR-7-5p、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-7-5p、hsa-miR-516b-5p等）である。

[0040] 図6は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）において、電解水素水（EHW）によって発現が変動したmicroRNAについて、浄水（ACW）を基準にした変動量（変動の度合い）を色の濃淡等で示すHeatmapである。Heatmapは2セット分の互いに独立した実験データを標準化して比較した。なお、図5中の英文字は遺伝子名を表す。図5において、上側は電解水素水で発現が上昇したmicroRNA（hsa-miR-192-5p～hsa-miR-200a-5p）を示し、下側は電解水素水で発現が低下したmicroRNA（hsa-miR-194-5p～hsa-miR-182-5p）を示す。

[0041] <遺伝子予測及び相互作用ネットワークの構築>

発現変動遺伝子からTargetScan (https://www.targetscan.org/vert_72/) に基づいて、microRNAの標的を予測し、mRNA-microRNA関連ネットワークを構築した。TargetScanはmicroRNAの標的予測アルゴリズムとそのデータベース

をいう。また、相互作用ネットワーク内のハブ遺伝子を同定するためにMCODEを用いた。MCODEはタンパク質間相互作用（PPI）ネットワークからタンパク質複合体を発見するための手法をいう。その結果を図7に示す。

[0042] 図7は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）において、TargetScanとMCODEによるmRNA-microRNAの相互作用解析を示す。具体的には、図4は、TargetScanを用いて、電解水素水（EHW）によって変動するmicroRNAの標的となるmRNAを、電解水素水の変動遺伝子からスクリーニングし、さらに、MCODEを用いて、タンパク質間相互作用（PPI）ネットワークを解析した結果、換言すると、そのネットワークを示す。図7より、CUL5（Cullin 5）、GOLGA7（Golgin A7）、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pをハブ遺伝子として選出した。なお、CUL5とGOLGA7は発現の増加を示す発現変動遺伝子である。一方、has-miR-429とhas-miR-200c-3pは発現の減少を示す発現変動遺伝子である。

[0043] <転写因子（TF）を制御するハブ遺伝子の予測・選択>

mRNA-microRNA相互作用を見つける際にTFを遺伝子とみなした。TF-mRNAとTF-microRNAのペアは、以下3つの転写因子データベース：

- ・ hTFtarget (<https://ngdc.cncb.ac.cn/databasecommons/database/id/6946>)
- ・ motifmap (<http://motifmap.ics.uci.edu/>)
- ・ TransmiR v2.0 (<http://www.cuilab.cn/transmir>)

を用いて取得した。その結果を図8に示す。

[0044] 図8は、ヒト大腸がん細胞（Caco-2細胞）において、上記3つの転写因子データベースを活用した、電解水素水（EHW）に応答するハブ遺伝子に共通する転写因子を解析した結果を示す。具体的には、図8は、上記で同定した4つのハブ遺伝子（CUL5、GOLGA7、has-miR-429、has-miR-200c-3p）に共通する転写因子を解析した結果を示す。図8より、上記3つの転写因子データベースの照合から、CUL5、GOLGA7、has-miR-429、has-miR-200c-3pの4つのハブ遺伝子を制御する共通の転写因子として、以下の表1に示す16個の転写因子を見出した。転写因子の中でも、特に「KLF4」（Krueppel-Like Factor

4) は、腸管上皮におけるCUL5、GOLGA7、has-miR-429及び／又はhas-miR-200c-3pの制御に関係している可能性が高いと考えられる。

[0045] [表1]

symbol	gene name
E2F1	E2F transcription factor 1
EP300	E1A Binding Protein P300
HDAC2	Histone Deacetylase 2
MAX	MYC Associated Factor X
MYB	MYB Proto-Oncogene
MYC	MYC Proto-Oncogene
SP1	Sp1 Transcription Factor
TFAP4	Transcription Factor AP-4
EGR1	Early Growth Response 1
KDM5B	KDM5B lysine demethylase 5B
FOXA1	Forkhead box protein A1 (FOXA1)
AR	androgen receptor
KLF5	KLF5 Kruppel like factor 5
SRF	SRF serum response factor
KLF4	Kruppel Like Factor 4
TP53	Tumor Protein P53

[0046] <まとめ>

上記の解析により、溶存水素濃度が1 0 5 6 p p b以上1 0 8 0 p p b以下である電解水素水に応答するハブ遺伝子として、CUL5 (Cullin 5) 、GOLGA7 (Golgin A7) 、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pの4つの応答遺伝子が同定された。本発明の電解水素水は、これら応答遺伝子の発現上昇又は発現低下を調節することにより、免疫制御による腸管バリア維持機能の亢進に作用する、即ち、腸管バリア維持機能を高める活性を有する。

産業上の利用可能性

[0047] 本発明の活用例としては、腸管バリア維持機能を高める活性を有する電解水素水が挙げられる。

請求の範囲

- [請求項1] 応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高める活性を有し、
 上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であることを特徴とする電解水素水。
- [請求項2] 溶存水素濃度が1 0 5 6 p p b以上1 0 8 0 p p b以下であることを特徴とする請求項1に記載の電解水素水。
- [請求項3] 電解水素水を用いて応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高めて活性化する方法であって、
 上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、
 溶存水素濃度を1 0 5 6 p p b以上1 0 8 0 p p b以下に調整することを特徴とする電解水素水による腸管バリア維持機能の活性化方法。
- [請求項4] 応答遺伝子の発現を調節することにより、腸管バリア維持機能を高めて活性化させる電解水素水の製造方法であって、
 上記応答遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、
 溶存水素濃度を1 0 5 6 p p b以上1 0 8 0 p p b以下に調整することを特徴とする腸管バリア維持機能の活性化用電解水素水の製造方法。
- [請求項5] 電解水素水を用いて遺伝子の発現を調節する方法であって、
 上記電解水素水に応答する遺伝子がCUL5 (Cullin 5)、GOLGA7 (Golgin A7)、has-miR-429及びhas-miR-200c-3pからなる群より選択される少なくとも一種のハブ遺伝子であり、

溶存水素濃度を 1 0 5 6 p p b 以上 1 0 8 0 p p b 以下に調整し、
上記電解水素水の作用によって、上記CUL5 (Cullin 5) 及び上記GOLGA7 (Golgin A7) の遺伝子発現を上昇させる一方、上記has-miR-429
及び上記has-miR-200c-3pの遺伝子発現を低下させることを特徴とする
電解水素水による遺伝子発現調節方法（但し、ヒトに対する医療行為を除く）。