

## 明 細 書

発明の名称：

アクアポリン 3 の発現調節を介した腸機能改善用組成物及びその使用

### 技術分野

[0001] 本発明は、アクアポリン 3 の発現調節を介した腸機能改善用組成物及びその使用などに関する。また、本発明は、腸機能改善方法、及び、腸の不快感の軽減方法に関する。

### 背景技術

[0002] アクアポリン (Aquaporin、AQP) は、ヒトの生体内での水の輸送に重要な役割を果たしている。アクアポリンは水を選択的に透過させ、アクアポリンを介した水の移動は、アクアポリンの発現量によって制御されている。アクアポリンは様々な臓器で発現しており、現在までに AQP には AQP0 から AQP12 までの 13 種類が存在することが知られている（非特許文献 1）。

[0003] とりわけ腸管においては AQP3 が主に発現している。AQP3 は水に加え、グリセロールや尿素などの低分子化合物の輸送にも関与し、水分量の制御を担う。いくつかの薬剤を用いた実験から、腸管における AQP3 の発現量を下げることが下痢を引き起こすこと、ならびに AQP3 の発現量を上げることが重度の便秘を引き起こすことが明らかにされている（非特許文献 2）。このように、腸管における AQP3 は、腸管の水輸送において重要な役割を果たす分子である。

[0004] さらに、AQP3 の発現は腸管バリアの維持にも必要であることが知られており（非特許文献 3）、腸管における AQP3 は、腸管バリアの維持にも重要な役割を果たす分子である。

[0005] 一方、ジホモ-γ-リノレン酸 (DGLA) は、n-6 系多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の 1 つであり、肉、卵、魚介類等の各種食品に含まれている。長い年月にわたり摂取してきた実績を有するもので、極めて安全性の高い素

材であるといえる。ただし、その含有量は総じて同じ $n-6$ 系PUFAのア  
ラキドン酸や $n-3$ 系PUFAのEPAやDHAよりも極めて少ない。

[0006] DGLAは、効果的に肥満細胞数の亢進を抑制することが出来ることが知ら  
れており、DGLAが皮膚疾患、喘息、鼻炎等、肥満細胞数の亢進と関連性  
の深い各種疾患に対して有用性が高いことが知られている（特許文献1）。  
また、DGLAは、好酸球の浸潤抑制に極めて有用で、好酸球の浸潤や細胞  
数の増加と関連性の深い各種疾患（アトピー性皮膚炎、湿疹、乾癬等の皮膚  
疾患、気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、過敏性肺臓炎、好酸球  
性肺炎等の呼吸器系疾患、好酸球性胃腸炎、潰瘍性大腸炎等の消化器系疾患  
等）に対して予防または治療効果を有することが知られている（特許文献2  
）。

しかし、DGLAがアクアポリンの機能を亢進することは知られておらず、  
さらに、アクアポリン3の発現調節を介して腸機能を改善することは知られ  
ていない。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0007] 特許文献1：特開2006-306813号公報

特許文献2：特開2006-306812号公報

### 非特許文献

[0008] 非特許文献1：松崎利行． 日本医科大学医学会雑誌． 5． 118-12  
4． 2009．

非特許文献2：Ik arashi N． Int． J． Mol． Sci  
． 17． E1172． 2016．

非特許文献3：Zhang W． FEBS Lett． 585． 311  
3-3119． 2011．

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明の目的は、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物及びその使用を提供することである。また、本発明の目的は、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善方法、及び、アクアポリン3の発現調節を介した腸の不快感の軽減方法を提供することである。

### 課題を解決するための手段

[0010] 本発明者は上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、ジホモγーリノレン酸（DGLA）がアクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善に極めて有用であることを初めて見出し、本発明を完成した。

DGLAは肉、卵、魚介類等の各種食品に含まれており、長い年月にわたる摂取してきた実績を有するもので、極めて安全性の高い素材であることは上述の通りである。ただし、その含有量は総じて同じn-6系PUFAのアラキドン酸やn-3系PUFAのEPAやDHAよりも極めて少ないことが判明しているが、本出願人はこれまでに特許第3354581号で示す通り、菌株によるDGLA油脂の発酵生産方法を発明することで、構成脂肪酸の約40%がDGLAから成るトリグリセライドを大量調製することを可能にした。

[0011] 本発明は、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物及びその使用を提供するものであり、以下の組成物等に関する。

[1] ジホモγーリノレン酸を有効成分として含有する、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物。

[2] アクアポリン3の発現調節が、アクアポリン3の発現低下抑制である上記[1]に記載の腸機能改善用組成物。

[3] アクアポリン3の発現低下抑制が、アクアポリン3の加齢による発現低下の抑制である上記[2]に記載の腸機能改善用組成物。

[4] 上記腸機能改善用組成物が、飲食品、医薬品又は医薬部外品である上記[1]～[3]のいずれかに記載の腸機能改善用組成物。

[5] 腸の不快感の軽減、腸の調子を整える、腸をすっきりさせる、便の状態の改善、便通の改善、お通じの習慣を改善する、腸の状態改善、腸のバリ

ア機能を高める、腸の機能維持及び低下した腸機能の改善からなる群より選択される1又は2以上の用途に用いられる上記〔1〕～〔4〕のいずれかに記載の腸機能改善用組成物。

〔6〕腸の不快感軽減作用を有する旨の表示を付した、上記〔1〕～〔5〕のいずれかに記載の腸機能改善用組成物。

〔7〕ジホモγーリノレン酸の、アクアポリン3発現調節を介した腸機能改善のための使用。

〔8〕ジホモγーリノレン酸の、アクアポリン3発現調節を介した腸の不快感を軽減させるための使用。

〔9〕ジホモγーリノレン酸を投与する、アクアポリン3発現調節を介した腸機能改善方法。

〔10〕ジホモγーリノレン酸を投与する、アクアポリン3発現調節を介した腸の不快感の軽減方法。

### 発明の効果

〔0012〕本発明によると、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物及びその使用を提供することができる。また、本発明によれば、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善方法及び腸の不快感の軽減方法を提供することができる。

### 図面の簡単な説明

〔0013〕〔図1〕図1は、大腸のリン脂質に含まれる脂肪酸中のDGLAの組成比（％）を示すグラフである。

〔図2〕図2は、アクアポリン3遺伝子の発現解析結果を示すグラフである。

〔図3〕図3は、アクアポリン4遺伝子の発現解析結果を示すグラフである。

### 発明を実施するための形態

〔0014〕＜アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物＞

DGLAは任意の適当な起源に由来することが出来る。しかしながら、DGLA含量の高いことの知られている天然油脂源は殆ど無く、ごく微量であれば牛の肝臓、豚の腎臓、卵黄等から抽出することは可能ではある。近年、微

生物発酵技術が進歩し、微生物、例えば、真菌類、細菌類または酵母に由来していてもよい。

[0015] 適当な真菌類は、ムコラレス (*Mucorales*) 目、例えば、モルティエラ (*Mortierella*)、ピチウム (*Pythium*) またはエントモフトラ (*Entomophthora*) に属するものである。DGLAの好ましい起源は、モルティエラ (*Mortierella*) 由来である。モルティエラ・アルピナ (*Mortierella alpina*) 由来であればより好ましい。DGLA含有油脂は特許第3354581号で示す通りモルティエラ (*Mortierella*) を用いた微生物発酵法により構成脂肪酸の約40%がDGLAから成るトリグリセライドを調製することが出来る。

[0016] DGLAは、例えば、グリセライド、リン脂質、糖脂質、アルキルエステル、又は遊離脂肪酸の形態で存在する。本発明で使用されるDGLAは、これらのいずれの形態であってもよい。前記グリセライドは、DGLAを構成脂肪酸として含むグリセライドである。前記グリセライドは、例えば、トリグリセライド、ジグリセライド又はモノグリセライドである。好ましくは、前記グリセライドは、トリグリセライド及び／又はジグリセライドである。DGLAを構成脂肪酸として含むグリセライドの一例として、構成脂肪酸の好ましくは30%以上、より好ましくは35%以上をDGLAとするトリグリセライドが挙げられる。

[0017] また、本発明の腸機能改善用組成物は、DGLAに加えて、1種またはそれ以上の付加的なPUFAを供給しても良い。これはDGLAに加えて別のn-6系PUFA (例えばリノール酸 (LA)、 $\gamma$ -リノレン酸 (GLA) など) であってもよいし、n-3系PUFA (例えばEPA、DHA) であってもよい。

本発明に用いるDGLAに変換可能なこの酸の生理的に許容される官能性誘導体としては、DGLAを含むトリグリセライド、ジグリセライド、モノグリセライドとして、あるいはリン脂質、糖脂質として、さらには遊離の脂肪

酸、脂肪酸エステル（例えば、メチルまたはエチルエステル）、ステロールエステルとしての形態で有り得る。

[0018] 好ましくは、PUFAは油中に存在する。これは純粋な油、加工油（例えば、化学的および／または酵素的に処理した油）または濃縮油で有り得る。これら油は10～100%のPUFAを含有しうるが、所望のPUFA、例えばDGLAの含量は、油が微生物由来であれば油中の5%以上、好ましくは10%以上、より好ましくは25%以上であれば良い。この油は1種またはそれ以上のPUFAをこれら百分率の濃度範囲内で含有し得る。この油は、単独の細胞または微生物に由来する単独油であってもよいし、または他の起源に由来する2種またはそれ以上の油の配合油または混合油であってもよい。この油は、例えば、1種またはそれ以上の添加物、例えば酸化防止剤（例えば、トコフェロール、ビタミンE、トコトリエノール、アスコルビン酸誘導体、パルミチン酸塩またはエステル、アスタキサンチン）やセサミン、CoQ10等を含有していてもよい。

[0019] なお、本発明の腸機能改善用組成物における「腸機能改善」は、潰瘍性大腸炎による腸機能低下の改善とは異なることが好ましい。

[0020] 上述の通り、大腸でのアクアポリン3の発現量が低下すると、水分吸収が抑制され、下痢を引き起こすことが明らかにされている。DGLAは、大腸におけるアクアポリン3の発現低下を抑制し、これにより水分吸収を促進し、下痢を防止する作用を有する。また、大腸でのアクアポリン3の発現量が低下すると、腸管バリアが低下することも明らかにされている。DGLAは、アクアポリン3の発現低下を抑制することにより、腸管バリア機能の低下を抑制し、腸管バリア機能を維持する。従って、DGLAは、アクアポリン3の発現を調節することにより腸機能を改善する。本発明において、腸機能改善は大腸の水分吸収促進又は水分吸収低下抑制であってよい。本発明のアクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善用組成物は、アクアポリン3の発現低下抑制を介した腸機能改善用組成物であることが好ましく、腸（好ましくは大腸）におけるアクアポリン3の発現低下抑制を介した腸機能改善用組

成物であることがより好ましい。なお、腸におけるアクアポリン3の発現低下は、潰瘍性大腸炎によるアクアポリン3の発現低下である場合を含まないことが好ましい。

上記アクアポリン3の発現低下抑制を介した腸機能改善用組成物は、アクアポリン3の発現低下が加齢によるものであることが好ましい。

[0021] 本発明は、腸機能が低下したヒト、特に加齢により腸機能が低下したヒトに使用されることが好ましい。本発明の腸機能改善用組成物は、大腸におけるアクアポリン3の発現低下による腸機能の低下に伴う状態又は疾患の、予防又は改善に使用することができる。腸機能の低下に伴う状態又は疾患としては、例えば、便秘、下痢、及びこれらに伴う腸の不快感等が挙げられる。

[0022] 本発明の腸機能改善用組成物は、治療用途（医療用途）又は非治療用途（非医療用途）のいずれにも適用することができる。

本発明の腸機能改善用組成物は、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態とすることができる。本発明の腸機能改善用組成物は、それ自体が、腸内機能改善のための飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等であってもよく、これらに配合して使用される素材又は製剤等であってもよい。

本発明の腸機能改善用組成物は、一例として、剤の形態で提供することができるが、本形態に限定されるものではない。当該剤をそのまま組成物として、又は、当該剤を含む組成物として提供することもできる。本発明の腸機能改善用組成物は、腸機能改善剤ということもできる。

本発明の効果を十分に得る観点から、本発明の腸機能改善用組成物は、好ましくは経口用組成物である。経口用組成物として、飲食品、経口用の医薬品、医薬部外品が挙げられ、好ましくは飲食品又は経口用医薬品であり、より好ましくは飲食品である。

[0023] 本発明の腸機能改善用組成物は、本発明の効果を損なわない限り、ジホモγーリノレン酸（DGLA）に加えて、任意の添加剤、任意の成分を含有することができる。これらの添加剤及び成分は、組成物の形態等に応じて選択することができ、一般的に飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等に使用可能

なものが使用できる。

本発明の腸機能改善用組成物を、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、その製造方法は特に限定されず、一般的な方法により製造することができる。

[0024] 例えば本発明の腸機能改善用組成物を飲食品とする場合、ジホモγーリノレン酸（DGLA）に、飲食品に使用可能な成分（例えば、食品素材、必要に応じて使用される食品添加物等）を配合して、種々の飲食品とすることができる。飲食品は特に限定されず、例えば、一般的な飲食品、健康食品、健康補助食品、健康飲料、機能性表示食品、特定保健用食品、病者用飲食品等が挙げられる。上記健康食品、健康補助食品、機能性表示食品、特定保健用食品等は、例えば、細粒剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、チュアブル剤、シロップ剤、液剤、流動食等の各種製剤形態とすることができる。

[0025] また、本発明の腸機能改善用組成物は、アクアポリン3の発現調節による腸機能の改善効果を有する旨を表示した飲食品の形態とすることができる。

[0026] 本発明の腸機能改善用組成物には腸の不快感軽減作用を有する旨の表示が付されていてもよい。また、本発明の腸機能改善用組成物には、腸機能の改善効果を有する旨の表示が付されていてもよい。このような表示は、例えば、「腸の不快感の軽減」、「腸の調子を整える」、「腸をすっきりさせる」、「便秘や下痢などの便の状態の改善」、「便通の改善」、「お通じの習慣を改善する」、「腸の状態改善」、「腸のバリア機能を高める」、「腸の機能維持」及び「低下した腸機能の改善」からなる群より選択される1又は2以上であることが好ましい。

[0027] また、本発明の腸機能改善用組成物は、腸の不快感の軽減、腸の調子を整える、腸をすっきりさせる、便秘や下痢などの便の状態の改善、便通の改善、お通じの習慣を改善する、腸の状態改善、腸のバリア機能を高める、腸の機能維持及び低下した腸機能の改善からなる群より選択される1又は2以上用途に用いられることが好ましく、なかでも、腸の不快感軽減の用途に用いられることが好ましい。

- [0028] 本発明の腸機能改善用組成物中のジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。腸機能改善用組成物中のジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）の含有量は、例えば、成人1人1日当たり5mg～600mgのジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）（遊離DGLA換算）を摂取するのに適当な量であることが好ましい。例えば、DGLAの摂取量（遊離DGLA換算）は、成人1人1日当たり5mg～200mg、あるいは5mg～150mgであってよい。一態様において、本発明の腸機能改善用組成物を飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等におけるDGLAの含有量を上記範囲とすることが好ましい。
- [0029] 本発明の腸機能改善用組成物は、その形態に応じた適当な方法で対象に摂取又は投与することができる。上述の通り、本発明の効果を十分に得る観点から、本発明の腸機能改善用組成物は、好ましくは、経口摂取（経口投与）される。
- [0030] 本発明の腸機能改善用組成物の摂取量（投与量ということもできる）は特に限定されず、腸機能改善効果が得られるような量（有効量）であればよく、投与形態、投与方法、対象の体重等に応じて適宜設定すればよい。一態様において、ヒト（成人）を対象に経口で摂取させる又は投与する場合、腸機能改善用組成物の摂取量は、ジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）の摂取量（遊離DGLA換算）として、1日当たり体重60kgで、好ましくは5～600mgであり、より好ましくは5～200mgである。上記量を、1日1回以上、例えば、1日1回～数回（例えば2～3回）に分けて、摂取させることが好ましい。一態様において、本発明の腸機能改善用組成物は、成人に、体重60kgあたり、1日あたり上記量のジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）を摂取させる又は投与するための経口用組成物であってよい。
- [0031] ジホモ-γ-リノレン酸（DGLA）は、継続的に摂取（投与）されることによって、腸機能改善効果が高まる。従って好ましい態様において、本発明の腸機能改善用組成物は、継続して摂取されるものである。本発明の一実施

態様において、腸機能改善用組成物は、2週間以上継続して摂取されることが好ましく、12週間以上継続して摂取されることがより好ましい。

[0032] 本発明の腸機能改善用組成物を摂取させる対象又は投与する対象（投与対象ということもできる）は、特に限定されない。好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物であり、より好ましくはヒトである。

本発明の腸機能改善用組成物を摂取させる対象として、腸機能改善を必要とする又は希望する対象、腸機能改善を必要又は希望する対象が好ましい。このような対象として、例えば、便秘、下痢、これらによる腸の不快感を有するヒト等が挙げられる。本発明の腸機能改善用組成物は、例えば、腸機能改善により予防又は改善が期待できる状態又は疾患の予防等を目的として、健常者に対して使用することもできる。

本発明の腸機能改善用組成物は、天然物や飲食品に含まれる安全性が高い成分（DGLA）を有効成分として含み、継続的に摂取されることによって高い腸機能改善効果を発揮する。このため本発明の腸機能改善用組成物は、例えば、上記の便秘、下痢、これらによる腸の不快感を有するヒト、健常者等が日常的に経口摂取することにより、腸のアクアポリン3の発現を調節（例えば、発現低下を抑制）し、腸機能の改善に使用するための健康食品、機能性表示食品等として有用である。

[0033] 本発明は、腸機能が低下している対象に対し、ジホモγーリノレン酸（DGLA）の摂取により、大腸におけるアクアポリン3の発現調節を介し、腸機能を改善させ、腸機能低下に起因する又は腸機能低下を伴う状態又は疾患の予防又は改善、健康の保全や維持を目的に用いられることが好ましい。

[0034] 本発明の腸機能改善用組成物及びその使用は、アクアポリン3の発現調節を介して、小腸又は大腸での水分吸収調節機能を改善するものとして有用であるが、小腸又は大腸での水分吸収を促進するものとして有用であり、大腸での水分吸収を促進するものとして特に有用である。

[0035] 本発明は、ジホモγーリノレン酸（DGLA）を投与する腸機能改善方法も包含する。本発明の腸機能改善方法は、DGLAを含む腸機能改善用組成

物を経口投与することにより実施されることが好ましい。

- [0036] また本発明は、ジホモγーリノレン酸の、アクアポリン3発現調節を介した腸機能改善のための使用でもある。本使用は、ジホモγーリノレン酸の経口摂取による使用であることが好ましい。
- [0037] また本発明は、ジホモγーリノレン酸の、アクアポリン3発現調節を介した腸の不快感を軽減させるための使用でもある。本使用は、ジホモγーリノレン酸の経口摂取による使用であることが好ましい。
- [0038] また本発明は、ジホモγーリノレン酸を投与する、アクアポリン3発現調節を介した腸機能改善方法でもある。本方法は、ジホモγーリノレン酸の経口投与であることが好ましい。
- [0039] また本発明は、ジホモγーリノレン酸を投与する、アクアポリン3発現調節を介した腸の不快感を軽減方法でもある。本方法は、ジホモγーリノレン酸の経口投与であることが好ましい。
- [0040] 本発明の腸機能改善用組成物及びその使用は、小腸又は大腸の機能改善用組成物及びその使用であってよく、大腸の機能改善用組成物及びその使用であることが好ましい。また、本発明の腸機能改善方法及び腸の不快感の軽減方法は、小腸又は大腸の機能改善用組成物を投与する方法であってよく、大腸の機能改善用組成物を投与する方法であることが好ましい。

## 実施例

- [0041] 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、これにより本発明の範囲を限定するものではない。なお、本発明において「%」は特に断らない限り「重量%」を意味する。

### [0042] <実施例1>

DGLAの摂取が、加齢にともない低下する腸管機能に対する何らかの作用を有するか否かを検討するために、DGLA油脂である特許第3354581号で示す方法で調製した構成脂肪酸の約40%をDGLAとするトリグリセライドを用いて、実験動物におけるその有用性を検討した。本動物実験は、動物愛護管理法他関連法令を遵守し、社内動物実験委員会の審査を経て機

関の長が承認した計画に基づき実施した。

- [0043] 実験では、若齢（3ヶ月齢）、及び老齢（17～26ヶ月齢）のマウス（雄性C57BL/6J）を用いた。群構成は若齢対照食群（10匹）、老齢対照食群（14匹）、老齢DGLA食群（12匹）を設定した。表1に示す以下の2種類の飼料を調製し、若齢対照食群及び老齢対照食群には対照食を、老齢DGLA食群にはDGLA食を12週間自由摂食させた。DGLA食は、飼料中に上記トリグリセライドを0.5%添加し、飼料中のDGLA（遊離脂肪酸量として算出）として約0.2%含まれるように設定した。対照食とDGLA食は、DGLA以外の他の脂肪酸組成比がほぼ同じになるように調製した。また、若齢対照食群、老齢対照食群、老齢DGLA食群のいずれの群も、平均1日摂餌量が約3gであった。なお、マウス体重が平均約30gであったことから、この実験におけるDGLA摂取量を算出すると1日あたり約200mg/kgであることが推察された。
- [0044] また、動物は、実験終了の12週間の摂食後に、麻酔下で安楽死させたのち、大腸を採取した。大腸組織はその後、脂肪酸の分析ならびに遺伝子発現の評価に供した。
- [0045] 採取した大腸から、Folch法により、組織中の全脂質を抽出・精製した。続いて、薄層クロマトグラフィー（ヘキサン：ジエチルエーテル＝7：3）を用いてリン脂質画分を分取し、この画分について、塩酸メタノールを用いてメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー（Agilent 7890B）による分析に供した。得られたピーク面積に基づき、大腸におけるリン脂質に含まれる脂肪酸中のDGLAの組成比（%）を算出した。得られた結果を図1に示す。
- [0046] また、大腸について、アクアポリン遺伝子の発現量の測定を行った。凍結された大腸から、ISOGEN（ニッポンジーン）を用いてtotal RNAを抽出した。得られたtotal RNAをHigh Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Thermo Fisher Scientific）を用いて逆転写を行った。

。遺伝子特異的プライマーおよびTaqMan（登録商標）Fast Universal PCR Master Mix（Thermo Fisher Scientific）を用いて、StepOnePlus（登録商標）リアルタイムPCRシステム（Thermo Fisher Scientific）にて定量的PCRを行った。得られた結果を図2及び図3に示す。なお、結果は、18Sの発現レベルを用いて補正し、任意単位で表した。検出に用いた遺伝子特異的プライマーを表3に示す。

[0047] 表1：各飼料の成分表（単位：g）

[0048] [表1]

| 原料名（1000g当たり）     | 対照食     | DGLA食    |
|-------------------|---------|----------|
| カゼイン              | 140.00  | 140.00   |
| レーシチン             | 1.80    | 1.80     |
| コーンスターチ           | 465.69  | 465.69   |
| $\alpha$ -コーンスターチ | 155.00  | 155.00   |
| シュークロース           | 100.00  | 100.00   |
| セルロースパウダー         | 50.00   | 50.00    |
| AIN-93Mミネラル混合     | 35.00   | 35.00    |
| AIN-93ビタミン混合      | 10.00   | 10.00    |
| 重酒石酸コリン           | 2.50    | 2.50     |
| 第三ブチルヒドロキノン       | 0.01    | 0.01     |
| パーム油              | 21.14   | 21.00    |
| 大豆油               | 11.43   | 6.00     |
| 亜麻仁油              | 7.43    | 8.00     |
| DGLA-TG（*1）       | 0.00    | 5.00（*2） |
| 合計                | 1000.00 | 1000.00  |

\*1：構成脂肪酸の約40%をDGLAとするトリグリセライド

\*2：遊離DGLA量として飼料中の約0.2%に相当

[0049] 表2：体重推移（単位：g、平均値±標準誤差）

[0050] [表2]

|                | 摂取開始時    | 摂取4週目    | 摂取8週目    | 摂取12週目   |
|----------------|----------|----------|----------|----------|
| 若齢対照食群（N=10）   | 24.8±0.3 | 26.4±0.3 | 28.7±0.7 | 31.2±1.0 |
| 老齢対照食群（N=14）   | 34.3±0.8 | 33.2±1.0 | 32.4±1.1 | 31.5±0.9 |
| 老齢DGLA食群（N=12） | 36.1±0.8 | 35.7±1.2 | 34.6±0.8 | 32.6±0.5 |

[0051] [表3]

| 遺伝子名 | Entrez Gene ID | 製造元                      | プライマー          |
|------|----------------|--------------------------|----------------|
| Aqp3 | 11828          | Thermo Fisher Scientific | Mm01208559__m1 |
| Aqp4 | 11829          | Thermo Fisher Scientific | Mm00802131__m1 |

## [0052] (結果)

老齡対照食群と比較して、老齡DGLA食群に体重推移(表2)や一般状態の異常はみられなかった。

大腸のリン脂質に含まれる脂肪酸中のDGLAの組成比(%) (平均値±標準誤差)を図2に示す。有意差検定は、Dunnett's Testで行った(対老齡対照食群、\* :  $p < 0.05$ )。DGLA食の摂取により、大腸のリン脂質に含まれるDGLAの組成比は増加した(若齡対照食群 :  $3.82 \pm 0.14\%$ 、老齡対照食群 :  $3.71 \pm 0.13\%$ 、老齡DGLA食群 :  $4.30 \pm 0.11\%$ )。以上のことから、DGLAの摂取は大腸におけるリン脂質を構成する脂肪酸に含まれるDGLAの組成比を増加させることが示された。

## [0053] また、大腸におけるアクアポリン遺伝子の発現解析の結果を図2及び図3に示す。

図2は、アクアポリン3遺伝子(Aqp3)の発現解析結果(平均±標準誤差、\* :  $p < 0.05$  (対老齡対照食群))であり、これを確認するとDGLAは加齢に伴うアクアポリン3の発現低下を抑制した。他方、図3は、アクアポリン4遺伝子(Aqp4)の発現解析結果(平均±標準誤差)であり、これを確認するとDGLAはアクアポリン4の発現量には影響を及ぼさなかった。

## [0054] 以上より、大腸においてアクアポリン3の加齢に伴う発現低下の抑制をすることが確認された。すなわち、DGLAは、アクアポリン3の発現調節を介した腸機能改善に有効であることが確認された。