

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-109944  
(P2017-109944A)

(43) 公開日 平成29年6月22日(2017.6.22)

(51) Int.Cl.	F 1			テーマコード (参考)
<b>A61K 36/73 (2006.01)</b>	A 61 K 36/73	Z N A		2 B 005
<b>A61K 36/736 (2006.01)</b>	A 61 K 36/736			2 B 150
<b>A61P 43/00 (2006.01)</b>	A 61 P 43/00	1 7 1		4 C 088
<b>A23K 10/30 (2016.01)</b>	A 23 K 10/30			4 C 206
<b>A23K 50/80 (2016.01)</b>	A 23 K 50/80			

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-244661 (P2015-244661)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1 0号
(22) 出願日	平成27年12月15日 (2015.12.15)	(74) 代理人	100076439 弁理士 飯田 敏三
		(74) 代理人	100141771 弁理士 星野 宏和
		(72) 発明者	細井 紗弥佳 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株 式会社研究所内
		(72) 発明者	蓮村 卓広 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株 式会社研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】生体内脂肪酸含量増加剤

## (57) 【要約】

【課題】生体内における脂肪酸の生成を促進して生体内の総脂肪酸量を増加させる生体内脂肪酸含量増加剤、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させる生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させ、生体内の脂肪酸組成を変更する生体内脂肪酸組成変更剤、及び生体内における高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を増加させる高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤を提供する。

【解決手段】セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を有効成分とする、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成変更剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を有効成分とする、生体内脂肪酸含量増加剤。

## 【請求項 2】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を有効成分とする、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤。

## 【請求項 3】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を有効成分とする、生体内脂肪酸組成改变剤。

## 【請求項 4】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を有効成分とする、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤。

## 【請求項 5】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる、魚類生体内での脂肪酸含量の増加方法。

## 【請求項 6】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法。

## 【請求項 7】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる、魚類生体内の脂肪酸組成の改变方法。

## 【請求項 8】

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) 抽出物及びブルーン (*Prunus domestica*) 抽出物からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

ドコサヘキサエン酸（以下、「DHA」ともいう）及びエイコサペンタエン酸（以下、「EPA」ともいう）などの高度不飽和脂肪酸（多価不飽和脂肪酸）は、ヒトの体内では作られにくい栄養素の 1 種である。これら高度不飽和脂肪酸は、血栓性疾患、動脈硬化性疾患、高脂血症、高血圧、アトピー性皮膚炎、老人性痴呆症、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの予防又は改善、学習能力又は記憶力の向上、視力低下の抑制、運動能力の向上、などに効果を示す成分として注目されている。そのため、高度不飽和脂肪酸を含む栄養補助食品が多数販売されている。

10

20

30

40

50

## 【0003】

前記EPAやDHAなどの高度不飽和脂肪酸は、二重結合部位が容易に酸化されて種々の過酸化物や酸化物などに変化し易い性質を有する。そして、これらの過酸化物や酸化物はヒトや動物に対して毒性を示すことが知られている。

そこで、これまでに生体内での高度不飽和脂肪酸の酸化を防止する方法が提案されている。例えば、特許文献1には、L-アスコルビン酸リン酸類及び/又は-トコフェロールリン酸類を含有する動物体の脂質代謝改善剤が記載されている。また特許文献2には、フコキサンチンを生体内のDHA合成の促進剤とする生体内DHA合成促進剤が記載されている。

## 【0004】

一方で、イワシ、アジ、サバ、サケ、ニシンなど魚類の脂肪などに高度不飽和脂肪酸が多く蓄積されている。しかし、魚類自体の多くは、生体内でEPAやDHAなどの高度不飽和脂肪酸を合成する能力が低いことが知られている。そのため、魚類の脂肪に高度不飽和脂肪酸を豊富に蓄積させるには、魚類を飼養する際に、EPAやDHAを多く含む餌を与える必要がある。しかし、EPAやDHAを多く含む餌として、一般に天然の海産魚が原料となった魚油や魚粉が充てられる。そのため、これら天然の海産魚の資源枯渇による環境破壊や、原料価格の高騰などの問題が生じている。さらに、天然の海産魚を餌として高度不飽和脂肪酸を含有する魚類を飼養した場合、海中の有害物質が生物濃縮により生産魚に蓄積される場合がある。

そこで、EPAやDHAを多く含む天然の海産魚を餌として飼養することなく、高度不飽和脂肪酸を生体内に多く蓄積させる方法が求められている。

10

20

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0005】

【特許文献1】特開2001-169731号公報

【特許文献2】特開2007-77067号公報

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0006】

本発明は、生体内における脂肪酸の生成を促進して生体内の総脂肪酸量を増加させる剤の提供を課題とする。

30

また本発明は、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させる剤の提供を課題とする。

また本発明は、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させ、生体内の脂肪酸組成を改変する剤の提供を課題とする。

また本発明は、生体内における高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を増加させる剤の提供を課題とする。

## 【0007】

また本発明は、魚類生体内における脂肪酸の生成を促進して魚類生体内の脂肪酸量を増加させる方法の提供を課題とする。

40

また本発明は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して魚類生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させる方法の提供を課題とする。

また本発明は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して魚類生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させ、生体内の脂肪酸組成を改変する方法の提供を課題とする。

さらに、本発明は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を増加させる方法の提供を課題とする。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0008】

本発明者等は上記課題に鑑み鋭意検討を行った。その結果、セイヨウナシ(*Pyrus communis* L.)抽出物及びブルーン(*Prunus domestica*)抽出物を所定量摂取又は投与す

50

ることで、生体内における脂肪酸の合成、とりわけ高度不飽和脂肪酸合成が有意に促進されることを見出した。そして、これらの抽出物の仔魚や成魚など魚類への摂取又は投与が、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進する作用を有すること、生体内での脂肪酸、とりわけ高度不飽和脂肪酸の生成を促進する作用を有すること、及び生体内での総脂肪酸含量及び高度不飽和脂肪酸含量を増加させる作用を有することを見出した。

本発明はこれらの知見に基づいて完成されたものである。

#### 【0009】

本発明は、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を有効成分とする、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤に関する。10

また本発明は、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる、魚類生体内での脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内の脂肪酸組成の改变方法、及び魚類生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法に関する。

#### 【発明の効果】

#### 【0010】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤は、生体内における脂肪酸の生成を促進して生体内の総脂肪酸量を増加させることができる。

また本発明の生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤は、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させることができる。20

本発明の生体内脂肪酸組成改变剤は、生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させ、生体内の脂肪酸組成を改变することができる。

また本発明の高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、生体内における高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を増加させることができる。

#### 【0011】

また本発明の魚類生体内での脂肪酸含量の増加方法は、魚類生体内における脂肪酸の生成を促進して魚類生体内の脂肪酸量を増加させることができる。

また本発明の魚類生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させることができる。30

また本発明の魚類生体内の脂肪酸組成の改变方法は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸の生成を促進して魚類生体内の高度不飽和脂肪酸量を増加させ、生体内の脂肪酸組成を改变することができる。

さらに、本発明の魚類生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法は、魚類生体内における高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を増加させることができる。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0012】

本明細書において「予防」とは、個体における疾患若しくは症状の発症の防止若しくは遅延、又は個体の疾患若しくは症状の発症の危険性を低下させることをいう。

また、本明細書において「改善」とは、疾患、症状若しくは状態の好転若しくは緩和、疾患、症状若しくは状態の悪化の防止若しくは遅延、又は疾患、症状若しくは状態の進行の逆転、防止若しくは遅延をいう。

また、本明細書において「非治療的」とは、医療行為、すなわち治療による人体への処置行為を含まない概念である。

また、本明細書において、「生体内脂肪酸組成改变」とは、後述する高度不飽和脂肪酸の生体内における含有量を増加させ、生体内の全脂肪酸量に対する高度不飽和脂肪酸の含有比率を上昇させることをいう。

さらに、本明細書において、「生体」とは高度不飽和脂肪酸が存在する任意の組織、器官も包含する。これらの組織及び器官としては、筋肉組織、母乳、脳・網膜などの神経組織、心筋、精子、脂肪組織、肝臓組織などが挙げられる。本発明において「生体」とは、筋肉組織を好ましく指す。

【0013】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を有効成分とする。

また、本発明の脂肪酸含量の増加方法、高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、脂肪酸組成の改変方法、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法は、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を魚類に投与又は摂取させる。

10

【0014】

「高度不飽和脂肪酸」は、不飽和結合を2個以上有する不飽和脂肪酸を指す。代表的な高度不飽和脂肪酸としては、リノール酸、-リノレン酸、エイコサジエン酸、ジホモ-リノレン酸、アラキドン酸、ドコサジエン酸、ドコサテトラエン酸、ドコサペンタエン酸、カレンジン酸などの-6脂肪酸、-リノレン酸(以下、「ALA」ともいう)、ステアリドン酸(以下、「STD」ともいう)、エイコサトリエン酸(以下、「ETE」ともいう)、エイコサテトラエン酸(以下、「ETA」ともいう)、EPA、ドコサペンタエン酸(以下、「DPA」ともいう)、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸などの-3脂肪酸、ミード酸などの-9脂肪酸が知られている。

20

【0015】

生体内での高度不飽和脂肪酸の合成には、主に、脂肪酸伸長酵素と脂肪酸不飽和化酵素が関与する。ここで、「脂肪酸伸長酵素」とは炭素2個分の脂肪酸の伸長に関する酵素であり、「脂肪酸不飽和化酵素」とは脂肪酸の二重結合の形成に関する酵素である。

脂肪酸伸長酵素の例として、ELOVL5、ELOVL2、ELOVL6が知られている。また、脂肪酸不飽和化酵素の例として、FADS2、DEGS2、FAT1が知られている。

30

【0016】

後述の実施例で実証するように、本発明で用いる抽出物が、高度不飽和脂肪酸の合成に関する脂肪酸伸長酵素と脂肪酸不飽和化酵素それぞれをコードする遺伝子(脂肪酸伸長遺伝子及び脂肪酸不飽和化遺伝子)の発現を促進する。具体的には、ELOVL5をコードするelovl5(ELOVL family member 5, elongation of long chain fatty acids)遺伝子、ELOVL2をコードするelovl2(elongation of very long chain fatty acids-like 2)遺伝子を含む-6又は-3脂肪酸伸長遺伝子、並びにFADS2をコードするfads2(fatty acid desaturase 2)遺伝子を含む-6又は-3脂肪酸不飽和化遺伝子の発現を促進する。

30

また、後述の実施例で実証するように、本発明によれば、生体内での高度不飽和脂肪酸の生成を促進し、生体内における高度不飽和脂肪酸量を増加させることで、生体内の脂肪酸組成を改変することができる。具体的には、炭素数が18以上の-6又は-3脂肪酸、好ましくは炭素数が18以上の-3脂肪酸、より好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸、よりさらに好ましくはEPA及びDHA、の生成を促進し、生体内におけるこれら高度不飽和脂肪酸量を増加させることで、生体内の脂肪酸組成を改変することができる。さらに、生体内における総脂肪酸の総量も増加する。

40

なお、本明細書において「高度不飽和脂肪酸」とは、炭素数が18以上の-3脂肪酸(例えば、ALA、STD、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸)、好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸(例えば、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸)、より好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸(例えば、ETA、EPA、DPA、DHA、

50

テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸)、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸(例えば、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸)、よりさらに好ましくはEPA及びDHA、を好ましく指す。

【0017】

次に、本発明で用いる各抽出物について説明する。

本明細書における「セイヨウナシ(*Pyrus communis* L.)」は、バラ(Rosaceae)科ナシ(*Pyrus*)属の植物である。

本明細書における「ブルーン(*Prunus domestica*)」は、バラ科スモモ(*Prunus*)属の植物である。

10

【0018】

本発明で用いる抽出物の製造には、前記植物の任意の部分が使用可能であり、全草、根、塊根、根茎、幹、枝、茎、葉(葉身、葉柄等)、樹皮、樹液、樹脂、花(花弁、子房等)、果実、種子等を用いることができる。また、これらの部位を複数組み合わせて用いてもよい。

セイヨウナシ抽出物の製造には、セイヨウナシの果実を抽出することが好ましい。

ブルーン抽出物の製造には、ブルーンの果実を抽出することが好ましい。

【0019】

本発明に用いる抽出物は、植物抽出等に用いられる通常の抽出方法により得ることができる。抽出方法は適宜設定することができ、上記植物を常温又は加温下にて抽出するか、ソックスレー抽出器等の抽出器具を用いて抽出することにより得ることが好ましい。

20

本発明に用いる抽出物の調製には、前記植物をそのまま又は乾燥粉碎して用いることができる。また、前記植物の水蒸気蒸留物又は圧搾物を抽出物として用いることもでき、これらは精油等より精製したものを用いることもでき、また市販品を利用することもできる。前記植物、又はその水蒸気蒸留物若しくは圧搾物は、いずれかを単独で、又は2種以上を組み合わせて使用してもよい。

【0020】

抽出物の調製に用いる抽出溶媒は適宜選択することができ、植物成分の抽出に通常用いられるもの、例えば水;メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類;エチレングリコール、プロピレングリコール、1,2-ブチレングリコール、1,3-ブチレングリコール、1,4-ブチレングリコール、2,3-ブチレングリコール等の多価アルコール類;アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類;酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類;テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等の鎖状及び環状エーテル類;ポリエチレングリコール等のポリエーテル類;ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類;ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の炭化水素類;ベンゼン、トルエン等の芳香族炭化水素類;ピリジン類;超臨界二酸化炭素;油脂、ワックス、その他オイル等が挙げられる。これらは単独で用いてもよいし、2種以上を組み合わせて用いてもよい。

30

洋ナシ抽出物は、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物が好ましく、水又はエタノールによる抽出物がより好ましく、水による抽出物がさらに好ましい。ブルーン抽出物は、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物が好ましく、エタノール又はエタノール水溶液による抽出物がより好ましく、エタノール水溶液による抽出物がさらにこのましい。また、抽出に際して酸やアルカリなどを添加し、抽出溶媒のpHを調整してもよい。

40

【0021】

抽出条件も通常の条件を適用でき、例えば前記植物を0以上、好ましくは4以上、100以下、好ましくは80以下、より好ましくは40以下、で1分以上、好ましくは1時間以上、より好ましくは1日以上、50日以下、好ましくは30日以下、浸漬又は加熱還流すればよい。抽出効率を上げる為、併せて攪拌を行う、あるいは溶媒中でホモジナイズ処理を行ってもよい。用いる抽出溶媒の量は、前記植物の乾燥物換算の重量に対

50

して1倍量以上、好ましくは5倍量以上、100倍量以下、好ましくは50倍量以下、より好ましくは40倍量以下、である。

【0022】

本発明において、前記方法により得られる抽出物をそのまま用いてもよいし、さらに適当な分離手段、例えばゲル濾過、クロマトグラフィー、精密蒸留等により活性の高い画分を分画して用いることもできる。また、得られた抽出物を希釈、濃縮又は凍結乾燥した後、粉末又はペースト状に調製して用いることもできる。また、前記方法により得られた抽出物を、前記抽出溶媒とは異なる溶媒で転溶して用いることもできる。

本発明において「抽出物」とは、前記のような抽出方法で得られた各種溶剤抽出液、その希釈液、その濃縮液、その精製画分、その乾燥末又はその転溶液を含むものである。

10

【0023】

本発明において、前記抽出物のうち1種単独で用いてもよいし、2種を組み合わせて用いてもよい。

【0024】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の形態は適宜選択することができる。例えば、前記有効成分単体を本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤として用いてもよい。あるいは、前記有効成分と、薬学的に許容される担体とを含む本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤を医薬組成物として使用してもよい。あるいは、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤を食品組成物に含有させてもよい。あるいは、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤を飼料組成物に含有させてもよい。

20

ここで、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、前記抽出物単体を有効成分とする態様と、前記抽出物を有効成分として含有し、薬学的に許容される担体や各種添加剤を含有する組成物の態様の、いずれをも包含する。

30

以下、前記抽出物を有効成分として含有し、薬学的に許容される担体や各種添加剤を含有する組成物の態様について説明する。

【0025】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤として医薬組成物を調製する場合は、通常、前記有効成分と好ましくは薬学的に許容される担体を含む製剤として調製する。薬学的に許容される担体とは、一般的に、前記有効成分とは反応しない、不活性の、無毒の、固体若しくは液体の、增量剤、希釈剤又はカプセル化材料等をいい、例えば、水、エタノール、ポリオール類、適切なそれらの混合物、植物性油などの溶媒又は分散媒体などが挙げられる。

40

【0026】

医薬組成物は、経口により、例えば、口腔内に、皮膚に、皮下に、粘膜に、静脈内に、動脈内に、筋肉内に、腹腔内に、腔内に、肺に、脳内に、眼に、及び鼻腔内に投与される。経口投与製剤としては、錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、カプセル剤、チュアブル剤、ペレット剤、シロップ剤、液剤、懸濁剤及び吸入剤などが挙げられる。

【0027】

医薬組成物はさらに医薬分野において慣用の添加剤を含んでいてもよい。そのような添加剤には、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、抗酸化剤、着色剤、矯味剤などがあり、必要に応じて使用できる。長時間作用できるように徐放化するためには、既知の遅延剤等でコーティングすることもできる。必要に応じてその他の添加剤や薬剤、例えば制

50

酸剤、胃粘膜保護剤を加えてもよい。

【0028】

前記医薬組成物は、口腔用組成物、外用組成物、内服組成物などの形態で適用することができ、内服組成物の形態で用いることが好ましい。内服組成物には、前記有効成分の他、その形態に応じて通常の内服組成物に用いられる種々の成分を配合することができる。

【0029】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、食料、飲料、飼料、ペットフードに添加又はこれらと混合して使用することができる。あるいは、そのままで食料、飲料、飼料、又はペットフードとして使用することができる。一般食品の他に、生体内の脂肪酸含量の増加、生体内の高度不飽和脂肪酸含量の増加、生体内の脂肪酸組成の改变、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現促進により治療、予防又は改善しうる疾患又は状態の治療、予防又は改善等をコンセプトとしてその旨を表示した飲食品、すなわち、健康食品、機能性表示食品、病者用食品及び特定保健用食品などに添加又は配合して使用することができる。健康食品、機能性表示食品、病者用食品及び特定保健用食品は、具体的には、細粒剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤、液剤、流動食等の各種製剤形態として使用することができる。製剤形態の食品組成物は、医薬製剤と同様に製造することができ、前記有効成分と、食品として許容できる担体、例えば適当な賦形剤等とを混合した後、慣用の手段を用いて製造することができる。さらに、液状食品組成物、半固体食品組成物、麵類、菓子類、スプレッド類等に、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤を添加又はこれらと混合して、食品組成物を製造することができる。

10

20

30

【0030】

食品組成物には、種々の食品添加物、例えば、酸化防止剤、香料、各種エステル類、有機酸類、有機酸塩類、無機酸類、無機酸塩類、無機塩類、色素類、乳化剤、保存料、調味料、甘味料、酸味料、果汁エキス類、野菜エキス類、花蜜エキス類、pH調整剤、品質安定剤などの添加剤を単独、あるいは併用して配合してもよい。

【0031】

飼料としては、牛、豚、鶏、羊、馬、山羊等に用いる家畜用飼料、ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料、ウナギ、ナマズ、コイ、フナ、ウグイ、ワカサギ、オイカワ、タイ、ハマチ、ブリ、ヒラメ、トラフグ、カツオ、マグロ、カンパチ、サケ、マス、タラ、ティラピア、ターボット、サバ、サンマ、フグ、スズキ、アジ、アユ、ウナギ、イワナ、ヤマメ、エビ等に用いる魚介類用飼料、犬、猫、小鳥、リス等に用いるペットフード等の形態が挙げられる。

30

飼料には、肉類、タンパク質、ぬか類、粕類、糖類、ビタミン類、ミネラル類等、飼料原料として一般に用いられる成分を配合してもよい。この他、一般的に飼料に使用されるゲル化剤、保型剤、pH調整剤、調味料、防腐剤、栄養補強剤等も必要に応じて配合することができる。

【0032】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤における前記有効成分の含有量は適宜決定できる。

40

例えば、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の形態が液状の場合、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の総量中、前記有効成分の含有量は乾燥物換算で、0.00001質量%以上が好ましく、0.0001質量%以上がより好ましく、0.001質量%以上がよりさらに好ましい。また、その上限値は、50質量%以下が好ましく、10質量%以下がより好ましく、1質量%以下がさらに好ましく、0.1質量%以下がよりさらに好ましく、0.01質量%以下がよりさらに好ましい。さらに、前記有効成分の含有量の数値範囲は、

50

0.00001～50質量%が好ましく、0.0001～50質量%がより好ましく、0.0001～10質量%がよりさらに好ましく、0.001～1質量%がよりさらに好ましく、0.001～0.1質量%がよりさらに好ましく、0.001～0.01質量%がよりさらに好ましい。

また、本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、又は度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の形態が固体物、半固体物又は粉末状の場合、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、又は度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の総量中、前記有効成分の含有量は乾燥物換算で、通常0.001質量%以上が好ましく、0.05質量%以上がより好ましく、0.5質量%以上がよりさらに好ましく、1質量%以上がよりさらに好ましい。また、その上限値は、100質量%以下が好ましく、50質量%以下がより好ましく、10質量%以下がさらに好ましい。さらに、前記有効成分の含有量の数値範囲は、0.001～100質量%が好ましく、0.05～100質量%がより好ましく、0.5～50質量%がよりさらに好ましく、1～10質量%がさらに好ましい。

#### 【0033】

本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の投与又は摂取対象は、好ましくは温血脊椎動物又は魚介類であり、より好ましくは哺乳動物又は魚介類である。本明細書において哺乳動物は、例えば、ヒト、並びにサル、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタなどの非ヒト哺乳動物が挙げられる。また、魚介類としては、ウナギ、ナマズ、コイ、フナ、ウグイ、ワカサギ、オイカワ、タイ、ハマチ、ブリ、ヒラメ、トラフグ、カツオ、マグロ、カンパチ、サケ、マス、タラ、ティラピア、ターボット、サバ、サンマ、フグ、スズキ、アジ、アユ、ウナギ、イワナ、ヤマメ、エビなどが挙げられる。本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、ヒト又は魚介類への投与に好適である。

本発明に用いる前記抽出物、並びに本発明の生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤は、血栓性疾患、動脈硬化性疾患、高脂血症、高血圧、アトピー性皮膚炎、老人性痴呆症、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの予防若しくは改善、学習能力若しくは記憶力の向上、視力低下の抑制、又は運動能力の向上を所望する対象に適用することができる。前記対象としては、ヒト、畜産動物及び魚介類が好ましい。

#### 【0034】

本発明の生体内脂肪酸組成の改変方法、生体内高度不飽和脂肪酸生成の促進方法、及び生体内高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法において、投与又は摂取する前記有効成分の投与量は、個体の状態、体重、性別、年齢、素材の活性、投与又は摂取経路、投与又は摂取スケジュール、製剤形態又はその他の要因により適宜決定することができる。例えば、前記有効成分の投与又は摂取量は、1mg/kg体重/日以上が好ましく、10mg/kg体重/日以上がより好ましい。また、その上限値は5,000mg/kg体重/日以下が好ましく、1,000mg/kg体重/日以下がより好ましい。さらに、前記有効成分の投与又は摂取量の数値範囲は、1～5,000mg/kg体重/日が好ましく、10～1,000mg/kg体重/日がより好ましい。また、前記有効成分は、1日1回～数回に分け、又は任意の期間及び間隔で摂取・投与され得る。

#### 【0035】

上述した実施形態に関し、本発明はさらに以下の剤、製造方法、方法及び使用を開示する。

#### 【0036】

<1>セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を有効成分とする、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改変剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤。

#### 【0037】

<2>前記高度不飽和脂肪酸が、-6、-3又は-9脂肪酸、好ましくは炭素数が

10

20

30

40

50

18以上の-6又は-3脂肪酸、より好ましくは炭素数が18以上の-3脂肪酸、具体的には、ALA、STD、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペントエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸、具体的には、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペントエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸、具体的には、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペントエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、さらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸、具体的には、EPA、DPA、DHA、テトラコサペントエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくはEPA及びDHAからなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<1>項に記載の剤。

<3>前記高度不飽和脂肪酸合成遺伝子が、脂肪酸伸長遺伝子及び脂肪酸不飽和化遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、好ましくは~~elov15~~遺伝子、~~elov12~~遺伝子、及び~~fads2~~遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<1>又は<2>項に記載の剤。

<4>前記セイヨウナシ抽出物がセイヨウナシの果実の抽出物である、前記<1>~<3>のいずれか1項に記載の剤。

<5>前記セイヨウナシ抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物、好ましくは水又はエタノールによる抽出物、より好ましくは水、による抽出物である、前記<4>項に記載の剤。

<6>前記ブルーン抽出物がブルーンの果実の抽出物である、前記<1>~<3>のいずれか1項に記載の剤。

<7>前記ブルーン抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液、好ましくはエタノール又はエタノール水溶液による抽出物、より好ましくはエタノール水溶液、による抽出物である、前記<6>項に記載の剤。

<8>前記剤の形態が液状である、前記<1>~<7>のいずれか1項に記載の剤。

<9>前記剤の総量中、前記有効成分の含有量が乾燥物換算で、0.00001質量%以上、好ましくは0.0001質量%以上、より好ましくは0.001質量%以上、であり、50質量%以下、好ましくは10質量%以下、より好ましくは1質量%以下、より好ましくは0.1%質量%以下、より好ましくは0.01質量%以下、である、前記<8>項に記載の剤。

<10>前記剤の形態が固形物、半固形物又は粉末状である、前記<1>~<7>のいずれか1項に記載の剤。

<11>前記剤の総量中、前記有効成分の含有量が乾燥物換算で、0.001質量%以上、好ましくは0.05質量%以上、より好ましくは0.5質量%以上、よりさらに好ましくは1質量%以上、であり、100質量%以下、好ましくは50質量%以下、より好ましくは10質量%以下、である、前記<10>項に記載の剤。

### 【0038】

<12>生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤としての、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物の使用。

<13>生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の製造のための、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物の使用。

<14>セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を、生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成改变剤、又は高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤として使用する方法。

<15>セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を適用する、魚類生体内での脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内の脂肪酸組成の改变方法、又は魚類生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法。

10

20

30

40

50

<16>セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を適用する、生体内での脂肪酸含量の増加方法、生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、生体内の脂肪酸組成の改変方法、又は生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法。

<17>前記抽出物を血栓性疾患、動脈硬化性疾患、高脂血症、高血圧、アトピー性皮膚炎、老人性痴呆症、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの予防若しくは改善、学習能力若しくは記憶力の向上、視力低下の抑制、又は運動能力の向上を所望する対象に適用する、前記<12>～<16>のいずれか1項に記載の方法。

<18>前記高度不飽和脂肪酸が、-6、-3又は-9脂肪酸、好ましくは炭素数が18以上の-6又は-3脂肪酸、より好ましくは炭素数が18以上の-3脂肪酸、具体的には、ALA、STD、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸、具体的には、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸、具体的には、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、さらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸、具体的には、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくはEPA及びDHAからなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<12>～<17>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<19>前記高度不飽和脂肪酸合成遺伝子が、脂肪酸伸長遺伝子及び脂肪酸不飽和化遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、好ましくは~~elov15~~遺伝子、~~elov12~~遺伝子、及び~~fads2~~遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<12>～<18>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<20>前記セイヨウナシ抽出物がセイヨウナシの果実の抽出物である、前記<12>～<19>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<21>前記セイヨウナシ抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物、好ましくは水又はエタノールによる抽出物、より好ましくは水、による抽出物である、前記<20>項に記載の使用又は方法。

<22>前記プルーン抽出物がプルーンの果実の抽出物である、前記<12>～<19>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<23>前記プルーン抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液、好ましくはエタノール又はエタノール水溶液による抽出物、より好ましくはエタノール水溶液、による抽出物である、前記<22>項に記載の使用又は方法。

<24>前記抽出物又は剤の形態が液状である、前記<12>～<23>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<25>前記剤の総量中、前記有効成分の含有量が乾燥物換算で、0.00001質量%以上、好ましくは0.0001質量%以上、より好ましくは0.001質量%以上、であり、50質量%以下、好ましくは10質量%以下、より好ましくは1質量%以下、より好ましくは0.1質量%以下、より好ましくは0.01質量%以下、である、前記<24>項に記載の使用又は方法。

<26>前記抽出物又は剤の形態の形態が固体物、半固体物又は粉末状である、前記<12>～<23>のいずれか1項に記載の使用又は方法。

<27>前記剤の総量中、前記有効成分の含有量が乾燥物換算で、0.001質量%以上、好ましくは0.05質量%以上、より好ましくは0.5質量%以上、よりさらに好ましくは1質量%以上、であり、100質量%以下、好ましくは50質量%以下、より好ましくは10質量%以下、である、前記<26>項に記載の使用又は方法。

【0039】

<28>生体内での脂肪酸含量の増加方法、生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、生体内の脂肪酸組成の改変方法、又は生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促

10

20

30

40

50

進方法のために用いる、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物。

<29>生体内での脂肪酸含量の増加薬、生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加薬、生体内の脂肪酸組成の改変薬、又は生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進薬の製造のための、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物の使用。

<30>生体内での脂肪酸含量の増加、生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加、生体内の脂肪酸組成の改変、又は生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進の非治療的な処置方法のために用いる、セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物の使用。

<31>前記抽出物を医薬組成物の形態で適用する、前記<28>～<30>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<32>前記抽出物を内服組成物の形態で適用する、前記<28>～<30>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<33>前記抽出物を食品、飲料、又は飼料の形態で適用する、前記<28>～<30>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<34>前記抽出物を血栓性疾患、動脈硬化性疾患、高脂血症、高血圧、アトピー性皮膚炎、老人性痴呆症、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの予防若しくは改善、学習能力若しくは記憶力の向上、視力低下の抑制、又は運動能力の向上を所望する対象に適用する、前記<28>～<33>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<35>前記高度不飽和脂肪酸が、-6、-3又は-9脂肪酸、好ましくは炭素数が18以上の-6又は-3脂肪酸、より好ましくは炭素数が18以上の-3脂肪酸、具体的には、ALA、STD、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸、具体的には、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸、具体的には、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、さらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸、具体的には、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくはEPA及びDHAからなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<28>～<34>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<36>前記高度不飽和脂肪酸合成遺伝子が、脂肪酸伸長遺伝子及び脂肪酸不飽和化遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、好ましくは~~elov15~~遺伝子、~~elov12~~遺伝子、及び~~fads2~~遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<28>～<35>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<37>前記セイヨウナシ抽出物がセイヨウナシの果実の抽出物である、前記<28>～<36>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<38>前記セイヨウナシ抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物、好ましくは水又はエタノールによる抽出物、より好ましくは水、による抽出物である、前記<37>項に記載の使用又は方法。

<39>前記ブルーン抽出物がブルーンの果実の抽出物である、前記<28>～<36>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<40>前記ブルーン抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液、好ましくはエタノール又はエタノール水溶液による抽出物、より好ましくはエタノール水溶液、による抽出物である、前記<39>項に記載の使用又は方法。

<41>前記抽出物の形態が液状である、前記<28>～<40>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<42>前記抽出物の含有量が乾燥物換算で、0.00001質量%以上、好ましくは0.0001質

10

20

30

40

50

量%以上、より好ましくは0.001質量%以上、であり、50質量%以下、好ましくは10質量%以下、より好ましくは1質量%以下、より好ましくは0.1%質量%以下、より好ましくは0.01質量%以下、である、前記<41>項に記載の抽出物又は使用。

<43>前記抽出物の形態が固形物、半固形物又は粉末状である、前記<28>～<40>のいずれか1項に記載の抽出物又は使用。

<44>前記抽出物の含有量が乾燥物換算で、0.001質量%以上、好ましくは0.05質量%以上、より好ましくは0.5質量%以上、よりさらに好ましくは1質量%以上、であり、100質量%以下、好ましくは50質量%以下、より好ましくは10質量%以下、である、前記<43>項に記載の抽出物又は使用。

【0040】

<45>セイヨウナシ抽出物及びブルーン抽出物からなる群より選ばれる少なくとも1種の抽出物を投与又は摂取させる、魚類生体内での脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、魚類生体内の脂肪酸組成の改変方法、魚類生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法、非治療的な生体内での脂肪酸含量の増加方法、非治療的な生体内での高度不飽和脂肪酸含量の増加方法、非治療的な生体内の脂肪酸組成の改変方法、又は非治療的な生体内での高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現の促進方法。

<46>前記高度不飽和脂肪酸が、-6、-3又は-9脂肪酸、好ましくは炭素数が18以上の-6又は-3脂肪酸、より好ましくは炭素数が18以上の-3脂肪酸、具体的には、ALA、STD、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上の-3脂肪酸、具体的には、ETE、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を4個以上有する-3脂肪酸、具体的には、ETA、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、及びテトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、さらに好ましくは炭素数が20以上で二重結合を5個又は6個有する-3脂肪酸、具体的には、EPA、DPA、DHA、テトラコサペンタエン酸、テトラコサヘキサエン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種、よりさらに好ましくはEPA及びDHAからなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<45>項に記載の方法。

<47>前記高度不飽和脂肪酸合成遺伝子が、脂肪酸伸長遺伝子及び脂肪酸不飽和化遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、好ましくは~~elov15~~遺伝子、~~elov12~~遺伝子、及び~~fads2~~遺伝子からなる群より選ばれる少なくとも1種、である、前記<45>又は<46>項に記載の方法。

<48>前記セイヨウナシ抽出物がセイヨウナシの果実の抽出物である、前記<45>～<47>のいずれか1項に記載の方法。

<49>前記セイヨウナシ抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液による抽出物、好ましくは水又はエタノールによる抽出物、より好ましくは水、による抽出物である、前記<48>項に記載の方法。

<50>前記ブルーン抽出物がブルーンの果実の抽出物である、前記<45>～<47>のいずれか1項に記載の方法。

<51>前記ブルーン抽出物が、水、エタノール、又はエタノール水溶液、好ましくはエタノール又はエタノール水溶液による抽出物、より好ましくはエタノール水溶液、による抽出物である、前記<50>項に記載の方法。

<52>前記抽出物の投与又は摂取量が、1mg/kg体重/日以上、好ましくは10mg/kg体重/日以上、であり、5,000mg/kg体重/日以下、好ましくは1,000mg/kg体重/日以下、である、前記<45>～<51>のいずれか1項に記載の方法。

<53>前記抽出物を血栓性疾患、動脈硬化性疾患、高脂血症、高血圧、アトピー性皮膚炎、老人性痴呆症、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの予防若しくは改善、学習能力若しくは記憶力の向上、視力低下の抑制、又は運動能力の向上を所望する対象に適用する、

10

20

30

40

50

前記 <45> ~ <52> のいずれか 1 項に記載の方法。

【実施例】

【0041】

以下、本発明を実施例に基づきさらに詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

【0042】

調製例 1 - 1 セイヨウナシの50%エタノール水抽出物の調製

セイヨウナシ (*Pyrus communis* L.) の新鮮果実 (山形県産) から皮、種及び芯を除去した後に切り分け、凍結乾燥を行い、乾燥品を得た (新鮮果実100gより乾燥品14gが得られた)。

前記乾燥品を原料として10gを量りとり、50% (v/v) エタノール水100mLを加え、室温で静置条件下、7~30日間浸漬した。抽出液をろ過した後、減圧濃縮及び凍結乾燥を行い、セイヨウナシの50%エタノール水抽出物を得た (固体收量: 4.96g)。

【0043】

調製例 1 - 2 セイヨウナシの99.5%エタノール抽出物の調製

セイヨウナシの新鮮果実 (山形県産) から皮、種及び芯を除去した後に切り分け、凍結乾燥を行い、乾燥品を得た (新鮮果実100gより乾燥品14gが得られた)。

前記乾燥品を原料として10gを量りとり、99.5% (v/v) エタノール100mLを加え、室温で静置条件下、7~30日間浸漬した。抽出液をろ過した後、減圧濃縮及び凍結乾燥を行い、セイヨウナシの99.5%エタノール抽出物を得た (固体收量: 2.86g)。

【0044】

調製例 1 - 3 セイヨウナシの熱水抽出物の調製

セイヨウナシの新鮮果実 (山形県産) を切り分け、切り分けた果実を原料として74gを量りとり、イオン交換水120mLを加え、95~100 の温度で、60分間攪拌しながら抽出した。抽出液をろ過した後凍結乾燥し、セイヨウナシの熱水抽出物を得た (固体收量: 5.83g)。

【0045】

調製例 2 - 1 プルーンの50%エタノール水抽出物の調製

プルーン (*Prunus domestica*) の果実乾燥品 (アメリカ産) を原料として10gを量りとり、50% (v/v) エタノール水100mLを加え、室温で静置条件下、7~30日間浸漬した。抽出液をろ過した後、減圧濃縮及び凍結乾燥を行い、プルーンの50%エタノール水抽出物を得た (固体收量: 4.35g)。

【0046】

調製例 2 - 2 プルーンの99.5%エタノール抽出物の調製

プルーンの果実乾燥品 (アメリカ産) を原料として10gを量りとり、99.5% (v/v) エタノール100mLを加え、室温で静置条件下、7~30日間浸漬した。抽出液をろ過した後、減圧濃縮及び凍結乾燥を行い、プルーンの99.5%エタノール抽出物を得た (固体收量: 0.78g)。

【0047】

調製例 2 - 3 プルーンの熱水抽出物の調製

プルーンの果実乾燥品 (アメリカ産) を原料として10gを量りとり、イオン交換水120mLを加え、95~100 の温度で、60分間攪拌しながら抽出した。抽出液をろ過した後凍結乾燥し、プルーンの熱水抽出物を得た (固体收量: 4.96g)。

【0048】

試験例 1 高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現量の分析

正常に受精し孵化したことを確認した受精後 3 日目のゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) 仔魚を表面無処理 6 穴プレートに 15~18 匹 / ウェルずつ、仔魚用飼育水と共に移した。そして、各ウェル中の仔魚用飼育水を前記調製例で調製した各サンプルと置換し、さらに 1.25 日間飼育した。

なお、前記調製例で調製した各サンプルは、まず各抽出物を濃度が 1% (w/v) となるよう

10

20

30

40

50

に、各種溶媒に再溶解した。再溶解に使用した溶媒は、50%エタノール水抽出物は50% (v/v) エタノール水、99.5%エタノール抽出物は99.5% (v/v) エタノール、熱水抽出物は10% (v/v) エタノール水とした。そして、それらの終濃度が0.001%となるよう、各サンプルの濃度を適宜調整し試験サンプルとした。コントロールには溶媒(水)を用いた。

## 【0049】

飼育終了後、各ウェルの仔魚を1.5 mLチューブに移し、仔魚を安楽殺した。チューブに入った溶液を出来うる限り取り除き、RNA later (商品名、Qiagen社製) 1 mLを加え、4℃で保存した。なお、これらの操作は速やかに、かつ仔魚を傷つけないよう細心の注意を払い行った。

## 【0050】

保存した各検体4匹を1サンプルとし、RNeasy Lipid Tissue Mini Kit (商品名、Qiagen社製)を用いて、添付プロトコルに従いTotal RNAの抽出を行った。得られたRNAサンプルは-80℃で保存した。

抽出した各サンプルのTotal RNAのRNA濃度をそろえ、65、10分間の熱処理後、High Capacity RNA-to-cDNA (商品名、Applied Biosystems社製)を用いて、添付プロトコルに従いcDNAの合成を行った。得られたcDNAサンプルは-20℃で保存した。

## 【0051】

合成したcDNAを鑄型とし、TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (商品名、Applied Biosystems社製)又はFast SYBR (登録商標) Green Master Mix (Applied Biosystems社製)を用いて、ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems社製)により、fads2遺伝子、elovl5遺伝子及びelovl2遺伝子について定量的PCRを行った。なお、各遺伝子のPCR反応は下記に示すプライマープローブセットを用いた。

- ・Ef1 (elongation factor 1-alpha) Taqmanプライマープローブセット (Dr03432748\_m1、Applied Biosystems社製)
- ・fads2 taqmanプライマープローブセット (Dr03099351\_m1、Applied Biosystems社製)
- ・elovl5 taqmanプライマープローブセット (Dr03094288\_m1、Applied Biosystems社製)
- ・elovl2 プライマーセット

(Forward primer: CACTGGACGAAGTTGGTGAA (配列番号1)、Reverse primer: GTTGAGGACACACCACAGA (配列番号2) )

得られた解析結果はEf1の発現量を基準として補正し、各遺伝子の相対的mRNA発現量として示した。なお、各サンプルを用いずにゼブラフィッシュを飼育しなかった場合をコントロールとした。その結果を表1及び2に示す。

## 【0052】

## 【表1】

表1

		fads2	elovl5	elovl2
コントロール		1.000±0.102	1.000±0.024	1.000±0.105
セイヨウナシ 抽出物	熱水	1.370±0.115	1.076±0.136	1.313±0.047
	50%エタノール水	0.940±0.009	1.120±0.024	1.012±0.108
	99.5%エタノール	1.367±0.044	1.052±0.055	1.335±0.091

(n=3,平均値±SE)

## 【0053】

## 【表2】

表2

		<u>fads2</u>	<u>elovl5</u>	<u>elovl2</u>
コントロール		1.000±0.088	1.000±0.017	1.000±0.061
プルーン 抽出物	熱水	1.063±0.115	1.003±0.059	0.956±0.045
	50%エタノール水	1.497±0.401	1.104±0.081	1.076±0.080
	99.5%エタノール	1.156±0.110	1.079±0.007	1.080±0.062

(n=3, 平均値±SE)

## 【0054】

10

表1及び2から明らかなように、セイヨウナシの各抽出物群、プルーンの各抽出物群において、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現が亢進する傾向が確認された。

特にセイヨウナシ抽出物群では、熱水抽出物群及び99.5%エタノール抽出物群において、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現が顕著に亢進された。また、プルーン抽出物群では、50%エタノール抽出物群において、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現が顕著に亢進された。よって下記試験例2では、セイヨウナシの熱水抽出物とプルーンの50%エタノール抽出物を用いることとした。

## 【0055】

20

## 試験例2 高度不飽和脂肪酸の組成比と含有量の分析

明期14時間、暗期10時間を1サイクルとし、水温を26~28℃に設定し、循環式水質浄化システムを用いて、雄のゼブラフィッシュの成魚を約5ヶ月齢となるまで飼育した。平均体重が等しくなるよう8匹を1群(1ケージ)とし、3群(コントロール群、セイヨウナシ抽出物群、プルーン抽出物群)のゼブラフィッシュを準備した。

飼料としては、前記調製例で調製した各試験サンプルを含有するゼブラフィッシュ用飼料(前記試験サンプル5%(w/w)、ゼブラフィッシュ用標準飼料(商品名:おとひめB2、日進丸紅飼料社製)35%(w/w)、グルテン40%(w/w)、アマニ油20%(w/w))を用いた。コントロールには試験サンプルの代わりに標準飼料を用いた。飼料の摂餌量は5mg/匹/回とし、1日2回(朝・夕)給餌して全量をゼブラフィッシュに摂食させた。

ゼブラフィッシュの飼育には、1.7Lケージを用いた。ゼブラフィッシュの飼育は3週間行った。飼育最終日は、朝餌(8:30)を給餌したのち、午後(13:00)に過剰麻酔にて安楽死させ、背側筋肉を-80℃にて凍結保存した。

## 【0056】

30

回収した筋肉サンプルを15時間程度凍結乾燥し、秤量(dry weight)した。そこへガラスピーブを加えた後、0.05%ジブチルヒドロキシトルエン含有メタノール0.4mLと脱イオン水0.4mLを加えて、粉碎処理(2min、30回/s)を行った。得られた懸濁液にクロロホルム0.8mLを加えて、再度粉碎処理を行い、20℃で10,000rpmの遠心分離を2分間行った。下層のクロロホルム層を10mLガラス遠沈管に回収し、2mLチューブに残った沈殿へ再度クロロホルム0.8mLを加えて遠心後、同じ遠沈管へクロロホルム層を回収した。

10mLガラス遠沈管の上にロートを置き、2S濾紙(ロート)を敷き、濾紙上に脱水処理に十分な量のNaSO<sub>4</sub>を入れておいたものへ、クロロホルム0.8mLを加えた。濾過を確認した後、回収したクロロホルム層をNaSO<sub>4</sub>上へ少量ずつ加えて、濾過した。そして、ガラス遠沈管を0.8mLクロロホルムで共洗いし、溶液を濾過したのち、濾紙を0.8mLクロロホルムで2回濾過し洗净した。回収したクロロホルム層を-20℃で保存した。

## 【0057】

40

次に各サンプルの加水分解とメチル化を行うため、内標としてヘンエイコサン酸(C:21:0)のクロロホルム溶液(濃度1mg/mL)100μLを各チューブに加えた。そのサンプルを窒素気流で乾固し、0.5N水酸化ナトリウム/メタノール溶液0.4mLを添加し、超音波での分散と80℃での加熱を5分程度繰り返した。その際、処理後沈殿が無くなる、もしくは完全に分散する事を確認した。

さらにこの溶液へ、三フッ化ホウ素/メタノール溶液0.4mLを添加し、80℃で2分間反応

50

させ、溶液が透明になったことを確認したのち、ヘキサン2mLを添加して激しく混和した。そして、80℃で1分間反応させ、飽和食塩水0.4mLを添加し激しく混和し、その後静置した。再度、ヘキサン2mLを添加して激しく混和し、80℃で1分間反応させた後、飽和食塩水0.4mLを添加し激しく混和した。

最後に、20℃で1,000rpmの遠心分離を0.5分間行い、ヘキサン層の脱水及び濾過処理を行った。この際、新しいガラスチューブにロートを立て、2S濾紙を入れNaSO<sub>4</sub>を乗せた。はじめにヘキサン0.8mLで濾紙を浸漬後、ピペットを用いてヘキサン層をゆっくり添加した。そして、ヘキサン1.5mL程度でカラムを共洗いし、集めた溶液を窒素気流で乾固し、クロロホルム1,000μLで再溶した。

【0058】

10

上記のように作成したGCサンプルのうち、100μLを用いて、下記の条件下でGC解析を行った。

(GC Condition)

Gas Chromatography : Shimadzu GC-17<sup>a</sup> (商品名)

Column : HR-SS-10 (商品名) 25m × 0.25mm

Column temp : 150 ~ 220

Program rate : 3 /min

Injection : 250 (split ratio : 47:1)

Detector : FID (商品名)、250

Carrier gas : He (1.81mL/min)

Sample volume : 1 μL

20

GC解析で得られたスペクトルから、各脂肪酸由来のピークの面積を算出した。そして、算出したピーク面積から、総脂肪酸量、n3系高度不飽和脂肪酸量（α-リノレン酸量、ステアリドン酸量、EPA量、DPA量、及びDHA量の合計）、並びにDHAとEPAの総量を算出した（筋肉乾燥重量当たりの重量）。その際の検定はStudent t-test用いた。

その結果を表3に示す。

【0059】

30

【表3】

表3

サンプル	総脂肪酸量 (μg/mg dry weight)	n3系高度不飽和 脂肪酸量 <sup>1</sup> (μg/mg dry weight)	DHA&EPA 量 (μg/mg dry weight)
コントロール	44.04±5.51	15.68±1.57	10.64±0.86
セイヨウナシ抽出物 (熱水抽出物)	65.68±5.17*	22.59±1.63*	13.89±0.98*

<sup>1</sup>n3系高度不飽和脂肪酸量: α-リノレン酸量、ステアドリン酸量、EPA量、DPA量、DHA量の合計  
(n=8, 平均値±SE, \*p<0.05)

【0060】

40

【表4】

表4

サンプル	総脂肪酸量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight)	n3系高度不飽和 脂肪酸量 <sup>1</sup> ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight)	DHA&EPA量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight)
コントロール	44.04 $\pm$ 5.51	15.68 $\pm$ 1.57	10.64 $\pm$ 0.86
プルーン抽出物 (50%エタノール水抽出物)	59.47 $\pm$ 3.77*	20.89 $\pm$ 1.42*	13.30 $\pm$ 0.87

<sup>1</sup>n3系高度不飽和脂肪酸量:  $\alpha$ -リノレン酸量、ステアドリン酸量、EPA量、DPA量、DHA量の合計  
(n=8, 平均値 $\pm$ SE, \*p<0.05)

10

## 【0061】

表3及び4から明らかなように、筋肉乾燥重量あたりの総脂肪酸量、n3系高度不飽和脂肪酸量が、セイヨウナシ抽出物群及びプルーン抽出物群の両者で有意に増加した。また健康価値の高いDHAとEPAの総量が、セイヨウナシ抽出物群では有意に増加し、プルーン抽出物群では有意傾向をもって増加した (p=0.062)。

## 【0062】

以上のように、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物はそれぞれ、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子の発現を促進して当該遺伝子の発現量を亢進させる作用を有する。したがって、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物をそれぞれ、高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤の有効成分とすることができます。

20

また、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物はそれぞれ、生体内での高度不飽和脂肪酸の生成を促進して生体内の総脂肪酸量及び高度不飽和脂肪酸量を増加させる作用を有する。したがって、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物をそれぞれ、生体内脂肪酸含量増加剤又は生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤の有効成分とすることができます。さらに、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物はそれぞれ、生体内での不飽和脂肪酸の含有量を増加させる作用を有する。したがって、セイヨウナシ抽出物及びプルーン抽出物をそれぞれ、生体内の総脂肪酸量に対する不飽和脂肪酸量の割合を増加し生体内の脂肪酸組成を変える、生体内脂肪酸組成変化剤の有効成分とすることができます。

30

さらには、前記生体内脂肪酸含量増加剤、生体内高度不飽和脂肪酸含量増加剤、生体内脂肪酸組成変化剤、及び高度不飽和脂肪酸合成遺伝子発現促進剤はそれぞれ、脂肪酸量、特に高度不飽和脂肪酸量の豊富な魚類などの飼育方法に好適に用いることができる。

## 【配列表】

2017109944000001.app

## 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 K 31/202 (2006.01) A 6 1 K 31/202

(72)発明者 目黒 真一  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

(72)発明者 橋爪 浩二郎  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

F ターム(参考) 2B005 GA01 GA02 GA04 GA06 LB07 MA01 MA03 MA05  
2B150 AA01 AA02 AA03 AA05 AA06 AA07 AA08 AB05 AB10 BA03  
BC06 BD01 BD06 BE01 BE03 CE25 DD42 DD43 DD44 DD45  
DD57  
4C088 AB51 AC01 AC03 AC04 AC05 AC06 AC08 AC11 AC13 BA08  
BA09 BA10 CA03 MA52 NA14 ZC33 ZC65  
4C206 AA04 DA05 MA72 ZA15 ZA36 ZA42 ZA45 ZA89 ZB08 ZB11  
ZB13 ZC33