

(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
2017年9月21日(21.09.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/159643 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/702 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A23L 33/125 (2016.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2017/010066
- (22) 国際出願日: 2017年3月14日(14.03.2017)
- (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 2016-049561 2016年3月14日(14.03.2016) JP
- (71) 出願人: 物産フードサイエンス株式会社(B FOOD SCIENCE CO., LTD.) [JP/JP]; 〒4780046 愛知県知多市北浜町2-4番1-2 Aichi (JP).
- (72) 発明者: 柄尾 巧(TOCHIO Takumi); 〒4780046 愛知県知多市北浜町2-4番1-2 物産フードサイエンス株式会社内 Aichi (JP). 小西 健太(KONISHI Kenta); 〒4780046 愛知県知多市北浜町2-4番1-2 物産フードサイエンス株式会社内 Ai-

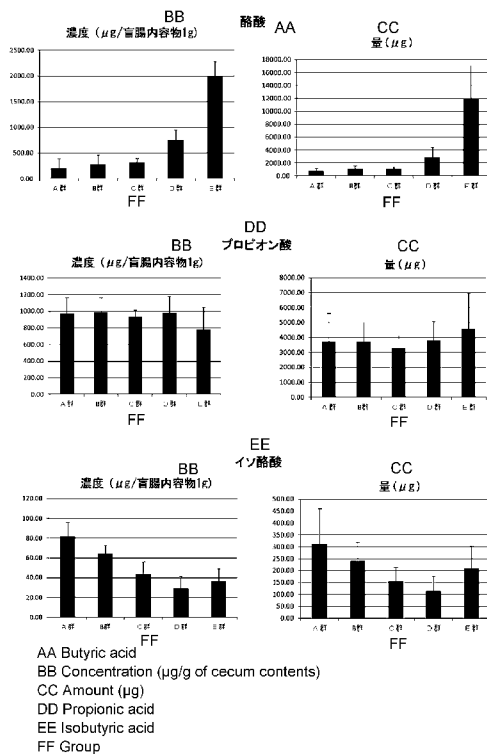
chi (JP). 中村 早岐(NAKAMURA Saki); 〒4780046 愛知県知多市北浜町2-4番1-2 物産フードサイエンス株式会社内 Aichi (JP).

- (74) 代理人: 佐川 慎悟, 外(SAGAWA Shingo et al.); 〒0600042 北海道札幌市中央区大通西5丁目1-1番1号 電通恒産札幌ビル3階 佐川慎悟国際特許事務所 Hokkaido (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, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユー

[続葉有]

(54) Title: AGENT FOR INCREASING INTESTINAL BUTYRIC ACID AND PROLIFERATION AGENT FOR BUTYRIC ACID-PRODUCING BACTERIA

(54) 発明の名称: 腸内酪酸増加剤および酪酸産生菌増殖剤



(57) Abstract: [Problem] To provide: an agent for increasing intestinal butyric acid which is capable of effectively increasing intestinal butyric acid; a food composition for increasing intestinal butyric acid; a proliferation agent for butyric acid-producing bacteria; a food composition for proliferating butyric acid-producing bacteria; a method for increasing intestinal butyric acid; a method for proliferating butyric acid-producing bacteria; a method for treating or preventing intestinal inflammation, fatty liver, diabetes, colon cancer or obesity using the same; and use of 1-kestose for producing a drug for treating or preventing the aforesaid diseases. [Solution] An agent for increasing intestinal butyric acid and a proliferation agent for butyric acid-producing bacteria, each comprising 1-kestose as an active ingredient. According to the present invention, intestinal butyric acid in humans or animals can be easily and effectively increased with little side effects or safety concerns. According to the present invention, furthermore, intestinal inflammation, fatty liver, diabetes, colon cancer or obesity can be prevented or treated by increasing intestinal butyric acid in humans or animals.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2017/159643 A1



ロシア (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, 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))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

【課題】 腸内の酪酸を効果的に増加させることができる腸内酪酸増加剤、腸内酪酸増加用食品組成物、酪酸産生菌増殖剤、酪酸産生菌増殖用食品組成物、腸内酪酸の増加方法、酪酸産生菌の増殖方法、ならびに、これを用いる腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法、およびこれら疾患の治療または予防用医薬品を製造するための１－ケストースの使用を提供する。【解決手段】 １－ケストースを有効成分とする腸内酪酸増加剤および酪酸産生菌増殖剤。本発明によれば、副作用や安全性をほとんど懸念することなく、簡便かつ効果的に、ヒトや動物の腸内の酪酸を増加させることができる。また、本発明によれば、ヒトや動物の腸内の酪酸を増加させることにより、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の予防ないし治療をすることができる。

明 細 書

発明の名称：腸内酪酸増加剤および酪酸産生菌増殖剤

技術分野

[0001] 本発明は、腸内酪酸増加剤、腸内酪酸増加用食品組成物、酪酸産生菌増殖剤、酪酸産生菌増殖用食品組成物、腸内酪酸の増加方法、酪酸産生菌の増殖方法、ならびに、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法、および、これら疾患の治療または予防用医薬品を製造するための１－ケストースの使用に関する。

背景技術

[0002] 酪酸は短鎖脂肪酸の一種であり、ヒトや動物の生体内においては、腸内に生息する酪酸産生菌により生成されている。近年の研究において、酪酸は、抗炎症作用や大腸癌予防作用などの様々な生理作用を有することや、酪酸により各種疾患を予防もしくは改善しうることが報告されている。

[0003] このことから、酪酸を疾患の予防・治療や健康増進に利用することが試みられている。一方で、酪酸は強烈な悪臭を放つ物質であるため、酪酸自体を医薬品や食品に添加するなどして用いることは難しい。そこで、ヒトや動物の腸内において酪酸の量を増加させる取り組みが行われており、例えば、特許文献１には、Ｄ－マンニトールまたはＤ－ソルビトールを有効成分とする腸内酪酸濃度上昇作用を有する食品組成物が、特許文献２には、バチルス・ズブチリス菌体を有効成分とする腸内酪酸産生菌増加剤が、それぞれ開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献１：特開２００４－４９０９３号公報

特許文献２：特開２０１３－１４７４６９号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、腸内の酪酸を効果的に増加させることができる物質や方法は未だ十分に提供されておらず、そのような物質や方法の開発が求められていた。本発明は、このような課題を解決するためになされたものであって、腸内の酪酸を効果的に増加させることができる腸内酪酸増加剤、腸内酪酸増加用食品組成物、酪酸産生菌増殖剤、酪酸産生菌増殖用食品組成物、腸内酪酸の増加方法、酪酸産生菌の増殖方法、ならびに、これを用いる腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法、およびこれら疾患の治療または予防用医薬品を製造するための１－ケストースの使用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] 本発明者らは、鋭意研究の結果、１－ケストースが、腸内の酪酸の量や濃度を増加させること、ならびに腸内の酪酸産生菌の数を増加させることを見出した。そこで、これらの知見に基づいて、下記の各発明を完成した。

[0007] (１) 本発明に係る腸内酪酸増加剤は、１－ケストースを有効成分とする。

[0008] (２) 本発明に係る腸内酪酸増加剤は、１日あたり０．０４ｇ／ｋｇ体重以上の１－ケストースがヒトまたは動物に対して摂取されるように用いられることが好ましい。

[0009] (３) 本発明に係る腸内酪酸増加剤は、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の予防または治療に用いることができる。

[0010] (４) 本発明に係る腸内酪酸増加用食品組成物は、１－ケストースを有効成分とする。

[0011] (５) 本発明に係る酪酸産生菌増殖剤は、１－ケストースを有効成分とする。

[0012] (６) 本発明に係る酪酸産生菌増殖用食品組成物は、１－ケストースを有効成分とする。

[0013] (７) 本発明に係る腸内酪酸の増加方法は、ヒトまたは動物に１－ケストースを摂取させることにより前記ヒトまたは動物の腸内における酪酸の量または濃度を増加させる工程を有する。

[0014] (8) 本発明に係る酪酸産生菌の増殖方法の第1の態様は、ヒトまたは動物に1-ケストースを摂取させることにより前記ヒトまたは動物の腸内における酪酸産生菌の数を増加させる工程を有する。

[0015] (9) 本発明に係る酪酸産生菌の増殖方法の第2の態様は、酪酸産生菌を含む培地に1-ケストースを添加して培養する工程を有する。

[0016] (10) 本発明に係る腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法は、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌もしくは肥満を罹患している、または、罹患する可能性があるヒトもしくは動物に、1-ケストースを摂取させることにより、前記ヒトもしくは動物の腸内における酪酸の量もしくは濃度または酪酸産生菌の数を増加させる工程を有する。

[0017] (11) 本発明に係る1-ケストースの使用は、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防用医薬品を製造するための1-ケストースの使用である。

発明の効果

[0018] 1-ケストースは、オリゴ糖の一種であり、タマネギやニンニク、大麦、ライ麦などの野菜や穀物にも含まれていて、古来より食経験を有する物質である。また、1-ケストースは、変異原性試験、急性毒性試験、亜慢性毒性試験および慢性毒性試験のいずれにおいても毒性が認められていない。これらのことから、1-ケストースの安全性は極めて高いといえる（食品と開発、Vol. 49、No. 12、第9頁、2014年）。また、1-ケストースは、水溶性が高く、砂糖に似た良好な甘味質を有するため、そのまま、あるいは甘味料等として、日常的に簡便に摂取することができるほか、様々な食品や医薬品等に容易に配合することができる。

[0019] したがって、本発明によれば、副作用や安全性をほとんど懸念することなく、簡便かつ効果的に、ヒトや動物の腸内の酪酸を増加させることができる。また、本発明によれば、ヒトや動物の腸内の酪酸を増加させることにより、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の予防ないし治療をすることができる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1] 0～1.34 g/kg体重の摂取量で1-ケストースを摂取させたラット（A～E群）の、盲腸内容物における短鎖脂肪酸（酢酸、イソ吉草酸および吉草酸）の濃度および量を示す表である。

[図2] 0～1.34 g/kg体重の摂取量で1-ケストースを摂取させたラット（A～E群）の、盲腸内容物における短鎖脂肪酸（酪酸、プロピオン酸およびイソ酪酸）の濃度および量を示す棒グラフである。

[図3] 0～1.34 g/kg体重の摂取量で1-ケストースを摂取させたラット（A～E群）の、盲腸内容物における短鎖脂肪酸（酢酸、イソ吉草酸および吉草酸）の濃度および量を示す棒グラフである。

[図4] (I) は、1-ケストースを摂取させていないラット（A群）および摂取させたラット（E群）について、盲腸内容物における各種微生物の16S rDNAコピー数の平均値、標準偏差および有意差を示す表である。(II) は、当該16S rDNAコピー数の平均値および標準偏差を示す棒グラフである。

発明を実施するための形態

[0021] 以下、本発明に係る腸内酪酸増加剤、腸内酪酸増加用食品組成物、酪酸産生菌増殖剤、酪酸産生菌増殖用食品組成物、腸内酪酸の増加方法、酪酸産生菌の増殖方法、ならびに、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法、および、これら疾患の治療または予防用医薬品を製造するための1-ケストースの使用について詳細に説明する。

[0022] 「酪酸 (butyric acid)」は、ブタン酸 (butanoic acid) またはn-ブタン酸 (n-butyric acid)とも呼ばれる直鎖カルボン酸であり、その分子式は $C_4H_8O_2$ 、示性式は $CH_3(CH_2)_2COOH$ である。酪酸は、ヒトや動物の腸内においては、常在する酪酸産生菌により産生されることが知られている。

[0023] ここで、本発明において、「酪酸産生菌」とは、酪酸を産生する微生物をいう。係る微生物として、具体的には、例えば、*Eubacterium H*

aliiや*Butyrivibrio crossotus*、*Coprococcus eutactus*、*Coprococcus catus*、*Clostridium symbiosum*、*Roseburia cecicola*などのクロストリジウム クラスタ14aに含まれる細菌、*Clostridium innocuum*や*Eubacterium tortuosum*、*Eubacterium cylindroides*などのクロストリジウム クラスタ16に含まれる細菌、クロストリジウム・ブチリカム (*Clostridium butyricum*) や*Eubacterium moniliiforme*、*Clostridium acetobutylicum*などのクロストリジウム クラスタ1に含まれる細菌、*Clostridium sporosphaeroides*や*Eubacterium* sp. A2-207などのクロストリジウム クラスタ4に含まれる細菌、*Eubacterium barkeri*や*Eubacterium limosum*などのクロストリジウム クラスタ15に含まれる細菌などを挙げることができる。

[0024] 「1-kestose」は、1分子のグルコースと2分子のフルクトースからなる三糖類のオリゴ糖である。1-kestoseは、スクロースを基質として、特開昭58-201980号公報に開示されているような酵素による酵素反応を行うことにより得ることができる。具体的には、まず、 β -フルクトフラノシダーゼをスクロース溶液に添加し、37℃～50℃で20時間程度静置することにより酵素反応を行って、1-kestose含有反応液を得る。この1-kestose含有反応液を、特開2000-232878号公報で開示されているようなクロマト分離法に供することによって、1-kestoseと他の糖（ブドウ糖、果糖、ショ糖、4糖以上のオリゴ糖）とを分離して精製し、高純度1-kestose溶液を得る。続いて、この高純度1-kestose溶液を濃縮した後、特公平6-70075号公報に開示されているような結晶化法で結晶化することにより、1-kestoseを結晶として得ることができる。

[0025] また、１－ケストースは市販のフラクトオリゴ糖に含まれているため、これをそのまま、あるいは、フラクトオリゴ糖から上述の方法により１－ケストースを分離精製して用いてもよい。すなわち、本発明の１－ケストースとして、１－ケストースを含有するオリゴ糖などの１－ケストース含有組成物を用いてもよい。１－ケストース含有組成物を用いる場合、１－ケストースの純度は８０質量％以上であることが好ましく、８５質量％以上であることがより好ましく、９０質量％以上であることがさらに好ましい。なお、本発明において、１－ケストースの「純度」とは、糖の総量を１００％とした場合の、１－ケストースの質量％をいう。

[0026] １－ケストースは、ヒトや動物に摂取させることにより用いる。１－ケストースの摂取量（投与量）としては、例えば、１日あたり０．０４ｇ／ｋｇ体重以上を挙げることができる。係る摂取量は、１日１回に限らず、複数回に分割して摂取してもよい。後述する実施例１に示すように、当該摂取量であれば、腸内の酪酸の濃度や量を顕著に増加させることができる。

[0027] １－ケストースは、ヒトや動物の腸内において、酪酸の量や濃度を増加させる機能を発揮する。また、１－ケストースは、ヒトや動物の腸内において、酪酸産生菌の数を増加させる機能を発揮する。このことから、ヒトや動物に摂取させる方法としては、その腸内に到達させる方法であればよい。そのような方法として、具体的には、１－ケストースを、そのまま、あるいは飲食物や医薬品の形態で、ヒトまたは動物に経口摂取させる方法を挙げることができる。その他、１－ケストースを肛門から直接あるいは挿入したチューブを経由して投与する方法、１－ケストースを経腸栄養剤に添加して、これを、胃や小腸などの消化管に挿入したチューブを経由して経腸栄養法により投与する方法などを挙げることができる。

[0028] 一方、１－ケストースは、*in vitro*において、酪酸産生菌を増殖させるために用いることもできる。この場合は、酪酸産生菌を含む培地に１－ケストースを添加して、当該酪酸産生菌に適した所定の培養条件により培養する方法を挙げることができる。具体的には、例えば、酪酸産生菌としてク

ロストリジウム・ブチリカムを用いる場合は、炭素源として１－ケストースを２重量％、窒素源としてアミノ酸液を２重量％、および、炭酸カルシウムを０．７５重量％含む培地にクロストリジウム・ブチリカムを接種し、３５～３７℃で１６～２４時間嫌気培養する方法を挙げることができる。

[0029] 酪酸は、デキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）によって誘導した潰瘍性大腸炎モデルラットにおいて、腸内への注入により有意な炎症修復作用が確認されている。また、同モデルラットにおいて、酪酸産生菌であるクロストリジウム・ブチリカムＭ５８８芽胞製剤の経口投与により、顕著な炎症軽減効果も確認されている。さらに、ヒトの潰瘍性大腸炎に対しても、酪酸注入療法が行われている（腸内細菌学雑誌、第１９巻第１号、第１－８頁、２００５年；第２頁右欄、Ｆｉｇ４－１および４－２など）。

従って、１－ケストースをヒトや動物に摂取させて、腸内の酪酸の濃度や量、あるいは酪酸産生菌の数を増加させることにより、腸内炎症を予防または治療することができる。また、１－ケストースは、腸内炎症の治療または予防用医薬品を製造するために使用することができる。

[0030] ここで、本発明において、「腸内炎症」とは、腸管において炎症が生じている状態をいい、疾患に至っている状態も含む。腸内炎症から至る疾患としては、炎症性腸疾患が挙げられる。炎症性腸疾患は、潰瘍性大腸炎とクローン病とを指すとして、狭義に解釈する立場と、腸管のあらゆる炎症性疾患を指すとして、広義に解釈する立場とがある（最新内科学大系〈プロGRESS 8〉、消化器疾患、pp 320、1997年、中山書店）。本発明において炎症性腸疾患という場合は、後者の、腸管におけるあらゆる炎症性疾患を意味する。本発明の剤は、腸内炎症のうち、特に、アレルギーを除くものの予防または治療に好適に用いることができる。

[0031] また、酪酸は、ラットにおいて、１日あたり０．０２ｇ／ｋｇ体重の経口投与で、高脂肪食の摂取による肝臓の脂肪変性および炎症を抑制し、血液中のＡＳＴ（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）、ＡＬＴ（アラニンアミノトランスフェラーゼ）、コレステロール、ＬＤＬ（低密度リポタンパ

ク質)、中性脂肪および空腹時血糖の値、ならびにインスリン抵抗性指数 (HOMA-IR) を正常化することが示されている (G. Mattace Raso et al., PLoS ONE, vol. 8, no. 7, e68626, 2013年; Abstract, Result など)。従って、1-ケストースをヒトや動物に摂取させて、腸内の酪酸の濃度や量、あるいは酪酸産生菌の数を増加させることにより、脂肪肝を予防または治療することができる。また、1-ケストースは、脂肪肝の治療または予防用医薬品を製造するために使用することができる。

[0032] また、酪酸は、小児糖尿病モデルラットにおいて、1日あたり500mg/kg体重(酪酸ナトリウムの投与量)の腹腔内投与で、 β 細胞の細胞死を減少させ、 β 細胞の機能および増殖を改善し、グルコースホメオスタシスを改善することが示されている (S. Khan et al., Chem. Biol. Interact., vol. 213, 第1-12頁, 2014年; Abstract など)。従って、1-ケストースをヒトや動物に摂取させて、腸内の酪酸の濃度や量、あるいは酪酸産生菌の数を増加させることにより、糖尿病を予防または治療することができる。また、1-ケストースは、糖尿病の治療または予防用医薬品を製造するために使用することができる。

[0033] また、酪酸は、ヒト由来大腸癌細胞であるLIM1215において、1mmol/Lの終濃度で培地に添加すると、増殖時間の延長や増殖率の低下をもたらすことが示されている (Whitehead RH et al., Gut 27, 第1457-1463頁, 1986年; SUMMARY など)。さらに、酪酸は、大腸の粘膜上皮細胞の異常な増殖を抑制し、変異細胞の細胞死や分化を促進する、異常なタンパク質の転写を抑制する、大腸癌初期の病変である異常多重クリプト (ACF) の発生を抑制するなどにより、大腸癌の発症を抑制することが報告されている (腸内細菌学雑誌, 第16巻第1号, 第35-42頁, 2002年; 第40頁左欄およびTable 5 など)。従って、1-ケストースをヒトや動物に摂取させて腸内の酪酸の濃度や量、

あるいは酪酸産生菌の数を増加させることにより、大腸癌を予防または治療することができる。また、１－ケストースは、大腸癌の治療または予防用医薬品を製造するために使用することができる。

[0034] また、酪酸は、１日あたり５ｇ／ｋｇ体重（酪酸ナトリウムの投与量）の経口投与で、高脂肪食により肥満を誘導したマウスにおいては体重および体脂肪率を減少させ、肥満していないマウスにおいては高脂肪食の摂食による体重増加および体脂肪率増加を抑制することが示されている（Zhang u o G a oら、D I A B E T E S、V O L. 58、2009年7月、第1509～1517頁；F I G. 1のEおよびF、ならびにF I G. 7のAおよびBなど）。また、同様に、５質量％の酪酸ナトリウムを混合した高脂肪食を摂取させたマウスにおいて、体重の増加および体脂肪率の増加が抑制されることも示されている（H u a V. L i nら、P L o S O N E、V o l. 7、I s s u e 4、e 3 5 2 4 0、2012年4月；F i g. 1のAなど）。従って、１－ケストースをヒトや動物に摂取させて、腸内の酪酸の濃度や量、あるいは酪酸産生菌の数を増加させることにより、肥満を予防または治療することができる。また、１－ケストースは、肥満の治療または予防用医薬品を製造するために使用することができる。

[0035] 本発明の腸内酪酸増加剤および酪酸産生菌増殖剤の具体的な態様としては、例えば、医薬品や医薬部外品、食品添加物、サプリメントなどの健康食品などを挙げることができる。

[0036] １－ケストースを含有する医薬品や医薬部外品、サプリメントの剤型は特に限定されず、投与方法に適した剤型を適宜選択することができる。例えば、経口投与の場合には、散剤、錠剤、糖衣剤、カプセル剤、顆粒剤、ドライシロップ剤、液剤、シロップ剤、ドロップ剤、ドリンク剤等の固形または液状の剤型にすることができる。

[0037] 上記各剤型の医薬品や医薬部外品、サプリメントは、当業者に公知の方法で製造することができる。例えば、散剤であれば、１－ケストース８００ｇおよび乳糖２００ｇをよく混合した後、９０％エタノール３００ｍＬを添加

して湿潤させる。続いて、湿潤粉末を造粒した後、60℃で16時間通風乾燥し、その後、整粒して、適当な細かさの散剤1000g（1-ケストース含有量800mg/1g）を得ることができる。また、錠剤であれば、1-ケストース300g、粉末還元水飴380g、コメデンプン180gおよびデキストリン100gをよく混合した後、90%エタノール300mLを添加して湿潤させる。続いて、湿潤粉末を押し出し造粒した後、60℃で16時間通風乾燥して顆粒を得る。その後、この顆粒を850μmの篩を用いて整粒し、続いて顆粒470gにショ糖脂肪酸エステル50gを添加して混合した後、ロータリー打錠機（6B-2、菊水製作所製）を用いて打錠し、直径8mm、重量200mgの錠剤5000錠（1-ケストース含有量60mg/1錠）を得ることができる。

[0038] 本発明の腸内酪酸増加用食品組成物および酪酸産生菌増殖用食品組成物の具体的な態様としては、例えば、飲料、乳製品、食用に供する顆粒、ペースト、調味料、レトルト食品、ベビーフード、発酵食品、保存食、水産加工品、食肉加工品、穀物加工品などの加工食品、食品添加物、健康食品、動物飼料などを挙げることができる。

[0039] 1-ケストースは、各種の飲食品や食品添加物、動物飼料の通常の製造過程で、添加して用いることができる。1-ケストースの甘味度は30で、その味質・物性・加工性はショ糖に近いことから、各種飲食物の製造過程において、砂糖の一部または全部を1-ケストースに置き換えるなどして、砂糖と同様に扱って各種の飲食品や食品添加物、動物飼料を製造することができる。

[0040] 以下、本発明について、各実施例に基づいて説明する。なお、本発明の技術的範囲は、これらの実施例によって示される特徴に限定されない。また、本実施例においては、所定の純度で1-ケストースを含有する組成物を、「1-ケストース」という。

実施例

[0041] <実施例1> 1-ケストース摂取時の腸内短鎖脂肪酸量の検討

(1) 1-ケストースを経口摂取させたラットの飼育

1-ケストースを0、0.5、1.0、2.5および5質量%となるように配合した飼料を日本クレア社に委託して調製した。飼料の組成を下記に示す。40匹のSDラット（日本エスエルシー社）を8匹ずつ5つの群に分け、A～E群とした。A群には1-ケストースを配合しない飼料を、B～E群には1-ケストースを配合した飼料をそれぞれ自由摂取させながら、30日間飼育した。飼育条件は温度 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、明期12時間（8:00～20:00）および暗期12時間（20:00～8:00）とした。

[0042] 《飼料の組成（単位は質量%）》 コーンスターチ 39.7486、ミルクカゼイン 20、アルファ化コーンスターチ 13.2、グラニュー糖および／または1-ケストース（純度99質量%；物産フードサイエンス社） 10、精製大豆油 7、セルロースパウダー 5、ミネラルミックス 3.5、ビタミンミックス 1、L-シスチン 0.3、重酒石酸コリン 0.25、第3ブチルヒドロキノン 0.0014。

[0043] (2) 腸内短鎖脂肪酸量の検討

本実施例1(1)の各群のラットを解剖して盲腸を摘出し、盲腸の内容物を採取して重量を測定した。次に、盲腸内容物における短鎖脂肪酸（酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、酢酸、イソ吉草酸および吉草酸）の濃度を、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）を用いて測定した。また、短鎖脂肪酸濃度の測定結果を基に、盲腸内容物における短鎖脂肪酸の量を算出した。続いて、各群毎に短鎖脂肪酸濃度および短鎖脂肪酸量の平均値を算出して、棒グラフに表した。その結果を図1～図3に示す。

[0044] なお、ラットにおける薬物の摂取量は、下記の式1により、ヒト成人における摂取量に換算できることが報告されている（特開2014-526521号公報の段落[0065]、Shannon Reagan-Shawら、The FASEB Journal、Vol. 22、2007年3月、第659～661頁）。そこで、当該式1により、ラットにおける1日の1-ケストース摂取量を、ヒト成人におけるものに換算した。その結果も、図1に

併せて示す。

《式1》 ヒト成人における1日の1-ケストース摂取量 (g/kg体重)
= ラットにおける1日の1-ケストースの摂取量 (g/kg体重) × 6/37

[0045] 図1～図3に示すように、酪酸の濃度は、A群では205.86 μg/gであったのに対して、B群では288.09 μg/g (A群と比較して約1.4倍の増加)、C群では314.59 μg/g (A群と比較して約1.5倍の増加)、D群では754.17 μg/g (A群と比較して約3.7倍の増加)、E群では2005.26 μg/g (A群と比較して約10倍の増加)であった。また、酪酸の量は、A群では781.14 μgであったのに対して、B群では1069.37 μg (A群と比較して約1.4倍の増加)、C群では1107.92 μg (A群と比較して約1.4倍の増加)、D群では2891.65 μg (A群と比較して約3.6倍の増加)、E群では11943.88 μg (A群と比較して約14.5倍の増加)であった。すなわち、酪酸の濃度および量は、B～E群のいずれにおいてもA群と比較して顕著に大きかった。

[0046] なお、酢酸の濃度および量も、B、C、DおよびE群ではA群と比較して有意に大きかった。一方、プロピオン酸およびイソ吉草酸の濃度および量は、B、C、DおよびE群ではA群と比較して有意な差は無かった。イソ酪酸および吉草酸の濃度および量は、B、C、DおよびE群ではA群と比較していずれも有意に小さかった。

[0047] この結果から、1-ケストースを配合した飼料を摂取させたラットでは、盲腸内の酪酸の濃度および量が増大したことが明かになった。すなわち、1-ケストースをヒトや動物に対して摂取させると、腸内の酪酸が増加することが明かになった。また、1日のケストース摂取量が0.27 g/kg体重のラット (B群) において酪酸の濃度および量の顕著な増加が認められたことから、腸内の酪酸を増加させるためには、ヒト成人における1日あたりの1-ケストースの摂取量は、0.04 g/kg体重以上が好ましいことが明

かになった。

[0048] <実施例2> 1-ケストース摂取時の腸内の微生物量の検討

実施例1(1)のA群およびE群のラットの盲腸内容物について、下記の4種の微生物の量をリアルタイムPCR法により測定した。

1. ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 属、
2. クロストリジウム クラスター14a (*Clostridium cluster XIVa*) およびクロストリジウム クラスター14b (*Clostridium cluster XIVb*) (酪酸産生菌群)、
3. ラクトバシラス (*Lactobacillus*) 属、
4. アッカーマンシア・ムシニフィラ (*Akkermansia muciniphila*)。

[0049] 具体的には、まず、A群およびE群の盲腸内容物をビーズ式破碎装置「Fast Prep FP100A」(MP Biomedical社)に供して破碎処理した。続いて、核酸抽出装置「Magtraction (登録商標) System 12 GC」およびその専用試薬「MagDEA (登録商標) DNA 200」(プレシジョン・システム・サイエンス社)を用いて、使用書に従ってゲノムDNAを抽出した。このゲノムDNAを鋳型として、上記4種の微生物の16S rDNAに特異的なプライマー、リアルタイムPCR試薬「SYBR (登録商標) Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus)」(Takara社)およびリアルタイムPCR装置「Rotor-Gene Q」(Qiagen社)を用いてリアルタイムPCRを行い、盲腸内容物1gあたりの各微生物の16S rDNAコピー数を求めた。当該コピー数は、各群ごとに平均値および標準偏差を算出し、棒グラフに表した。その結果を図4に示す。

[0050] なお、各微生物の16S rDNAに特異的なプライマーの配列を以下に示す。

1. ビフィドバクテリウム属

フォワードプライマー; GATTCTGGCTCAGGATGAACGC

(配列番号1)

リバースプライマー; CTGATAGGACGCGACCCCAT (配列番号2)

2. クロストリジウム クラスター14 aおよび14 b (酪酸産生菌群)

フォワードプライマー; GAWGAAGTATYTCGGTATGT (配列番号3)

リバースプライマー; CTACGCWCCCTTTACAC (配列番号4)

3. ラクトバシラス属

フォワードプライマー; CACAATGGACGMAAGTCTGATG (配列番号5)

リバースプライマー; CGCCACTGGTGTTCTTCCAT (配列番号6)

4. アッカーマンシア・ムシニフィラ

フォワードプライマー; CAGCACGTGAAGGTGGGGAC (配列番号7)

リバースプライマー; CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT (配列番号8)

[0051] また、検量線は、各微生物について下記の配列のうちの一部を組み込んだプラスミドDNAを鋳型として、同条件でリアルタイムPCRを行った結果を基に作製したものをを用いた。

1. ビフィドバクテリウム属; *B. longum* subsp. *longum* JCM 1217Tの16S rDNA配列 (配列番号9)

2. クロストリジウム クラスター14 aおよび14 b (酪酸産生菌群): *Clostridium clostridioforme* JCM1291Tの16S rDNA配列 (配列番号10)

3. ラクトバシラス属; *L. casei* JCM 1134Tの16S rDNA配列 (配列番号11)

4. アッカーマンシア・ムシニフィラ; *A. muciniphila* ATCC BAA-835T の 16S rDNA 配列 (配列番号 12)

[0052] 図4に示すように、盲腸内容物1gあたりのクロストリジウム クラスター XIV (酪酸産生菌群) の 16S rDNA コピー数は、A群では 5071250000 (約 0.5×10^9) であったのに対して、E群では 25287500000 (約 2.5×10^9) であった。すなわち、E群の酪酸産生菌群の 16S rDNA コピー数はA群と比較して約5倍の量であり、有意に大きかった。

[0053] なお、従来からケストースの摂取により腸内において増加することが知られているビフィドバクテリウム属 (例えば、特許第4669235号公報) の 16S rDNA コピー数も、E群ではA群と比較して有意に大きかった。一方、ラクトバシラス属およびアッカーマンシア・ムシニフィラの 16S rDNA コピー数は、E群とA群とで有意な差は無かった。

[0054] この結果から、1-ケストースを配合した飼料を摂取させたラットでは、盲腸内の酪酸産生菌の数が増大したことが明かになった。すなわち、1-ケストースをヒトや動物に対して摂取させると、腸内の酪酸産生菌が増殖することが明かになった。

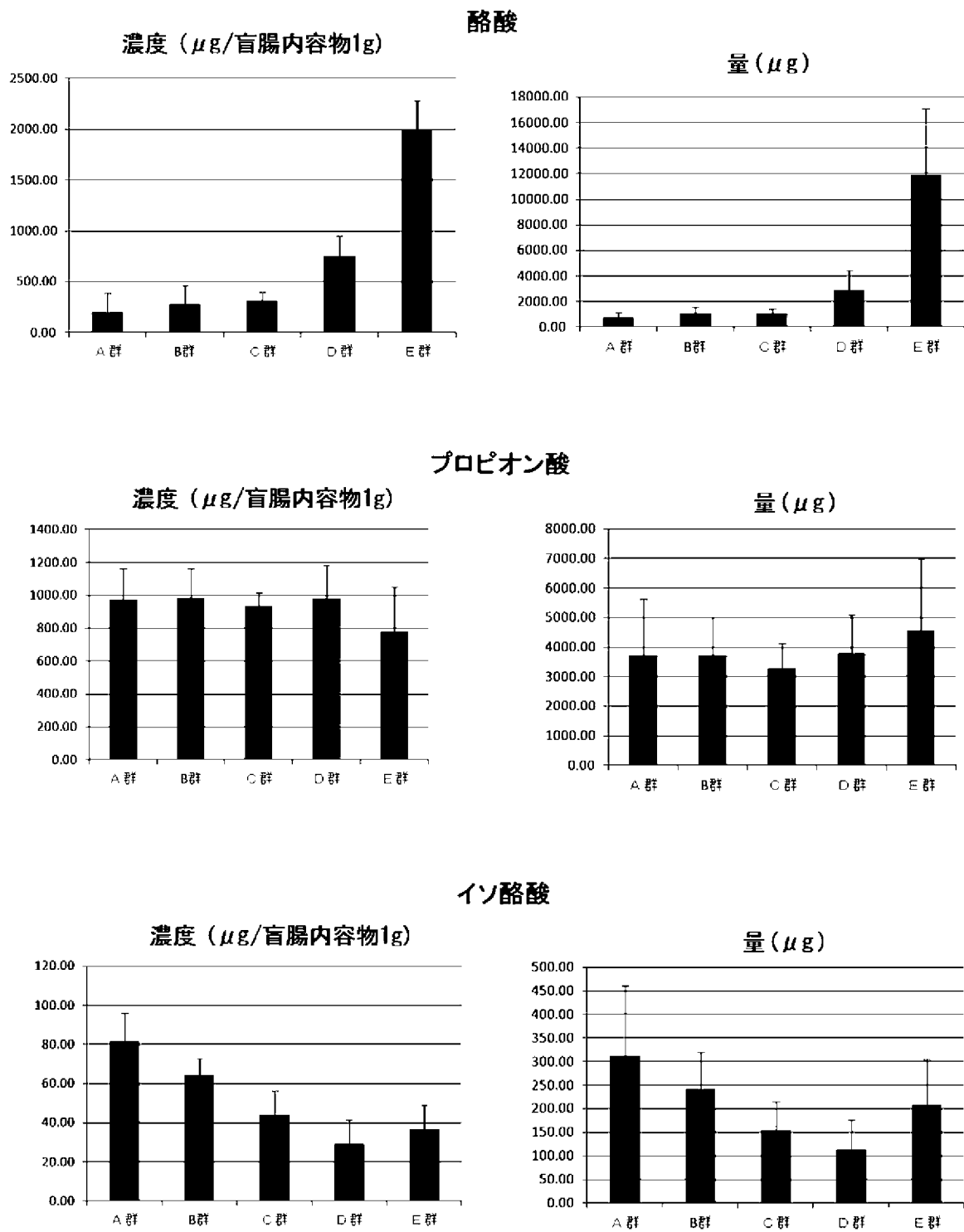
請求の範囲

- [請求項1] 1-kestoseを有効成分とする腸内酪酸増加剤。
- [請求項2] 1日あたり0.04g/kg体重以上の1-kestoseがヒトまたは動物に対して摂取されるように用いられることを特徴とする、請求項1に記載の腸内酪酸増加剤。
- [請求項3] 腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の予防または治療に用いられることを特徴とする、請求項1または請求項2に記載の腸内酪酸増加剤。
- [請求項4] 1-kestoseを有効成分とする腸内酪酸増加用食品組成物。
- [請求項5] 1-kestoseを有効成分とする酪酸産生菌増殖剤。
- [請求項6] 1-kestoseを有効成分とする酪酸産生菌増殖用食品組成物。
- [請求項7] ヒトまたは動物に1-kestoseを摂取させることにより前記ヒトまたは動物の腸内における酪酸の量または濃度を増加させる工程を有する、腸内酪酸の増加方法。
- [請求項8] ヒトまたは動物に1-kestoseを摂取させることにより前記ヒトまたは動物の腸内における酪酸産生菌の数を増加させる工程を有する、酪酸産生菌の増殖方法。
- [請求項9] 酪酸産生菌を含む培地に1-kestoseを添加して培養する工程を有する、酪酸産生菌の増殖方法。
- [請求項10] 腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌もしくは肥満を罹患している、または、罹患する可能性があるヒトもしくは動物に、1-kestoseを摂取させることにより、前記ヒトもしくは動物の腸内における酪酸の量もしくは濃度または酪酸産生菌の数を増加させる工程を有する、腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防方法。
- [請求項11] 腸内炎症、脂肪肝、糖尿病、大腸癌または肥満の治療または予防用医薬品を製造するための1-kestoseの使用。

[図1]

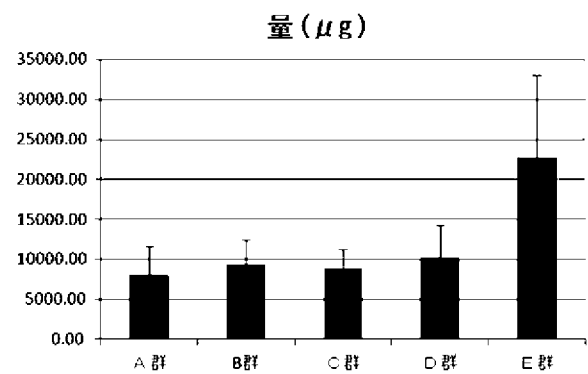
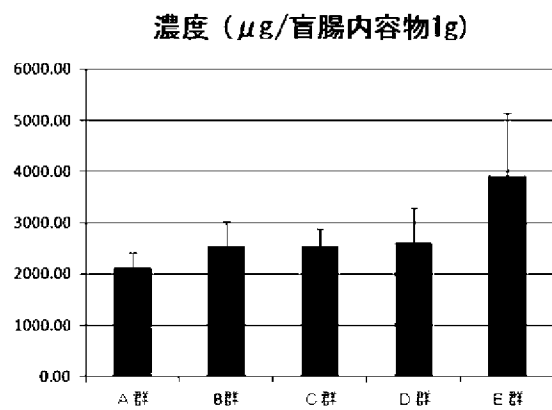
短鎖脂肪酸の濃度および量												
	1日の飼料摂取量 (g/体重)	ラットにおける1日の1-オース酸摂取量 (g/体重)	4-成人における1日の1-オース酸摂取量 (g/体重)	盲腸内容物の重量(g)			酪酸	プロピオン酸	イノ酸	酢酸	γ-酪酸	吉草酸
					濃度(μg/g 腸内容物)	量(μg)						
A群 (1-オーストース配合無し)	0.05	0.00	0.00	3.83	平均	205.86	977.07	81.77	2130.79	55.83	93.14	
					標準偏差	46.09	184.52	14.23	283.45	23.60	24.13	
					平均	781.14	3747.81	311.94	8043.63	249.52	365.59	
					標準偏差	378.82	1891.32	148.94	3600.72	270.66	208.04	
B群 (1-オーストース0.5%配合)	0.05	0.27	0.04	3.71	平均	288.09	988.82	64.18	2542.87	37.05	80.14	
					標準偏差	108.74	174.39	8.64	499.18	8.68	18.89	
					平均	1069.37	3732.56	241.66	9435.67	142.02	306.51	
					標準偏差	487.93	1286.15	78.89	2950.95	60.08	125.22	
C群 (1-オーストース1%配合)	0.05	0.54	0.09	3.49	平均	314.59	938.04	43.87	2530.36	24.54	70.19	
					標準偏差	69.75	80.63	12.38	351.37	7.80	22.48	
					平均	1107.92	3291.69	154.62	8870.32	85.83	248.89	
					標準偏差	352.03	824.25	61.06	2370.66	33.07	111.63	
D群 (1-オーストース2.5%配合)	0.05	1.34	0.22	3.81	平均	754.17	980.09	29.35	2616.78	20.93	57.04	
					標準偏差	358.70	200.67	12.29	683.43	9.68	19.41	
					平均	2891.65	3789.36	114.02	10163.86	81.73	218.62	
					標準偏差	1543.92	1313.64	62.06	4075.26	48.66	99.85	
E群 (1-オーストース5%配合)	0.05	2.71	0.44	5.73	平均	2005.26	778.52	36.79	3927.02	36.18	48.72	
					標準偏差	472.42	273.22	12.38	1213.93	8.53	17.01	
					平均	11943.88	4568.92	208.41	22739.42	207.21	268.23	
					標準偏差	5159.76	2438.90	96.56	10336.24	81.12	111.21	

[図2]

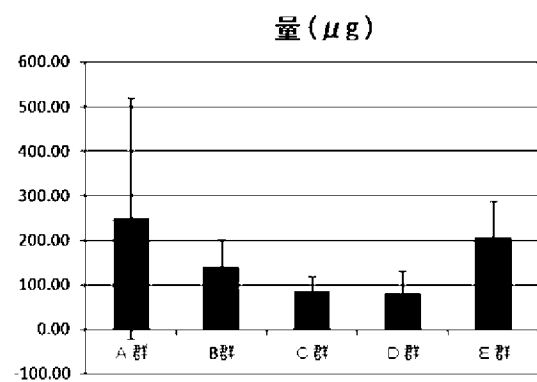
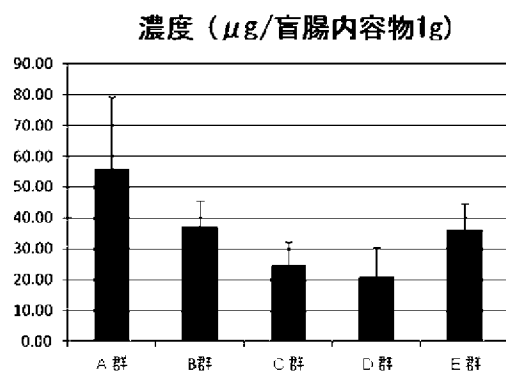


[図3]

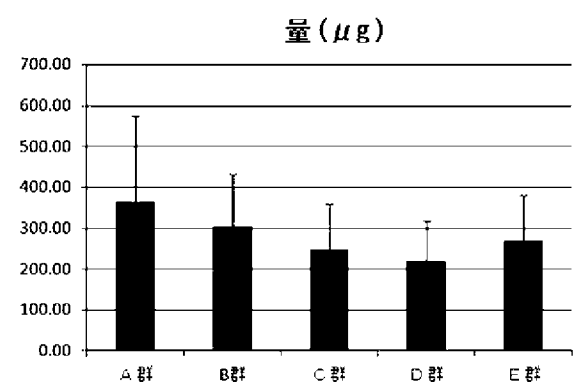
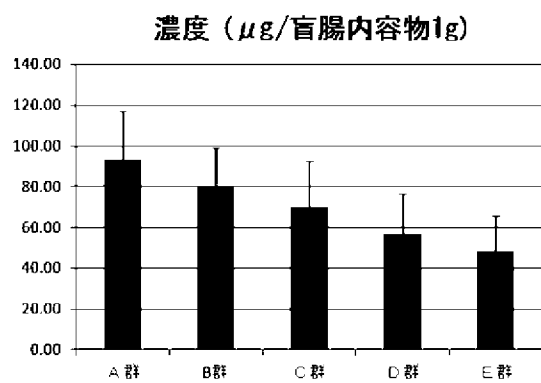
酢酸



イソ吉草酸



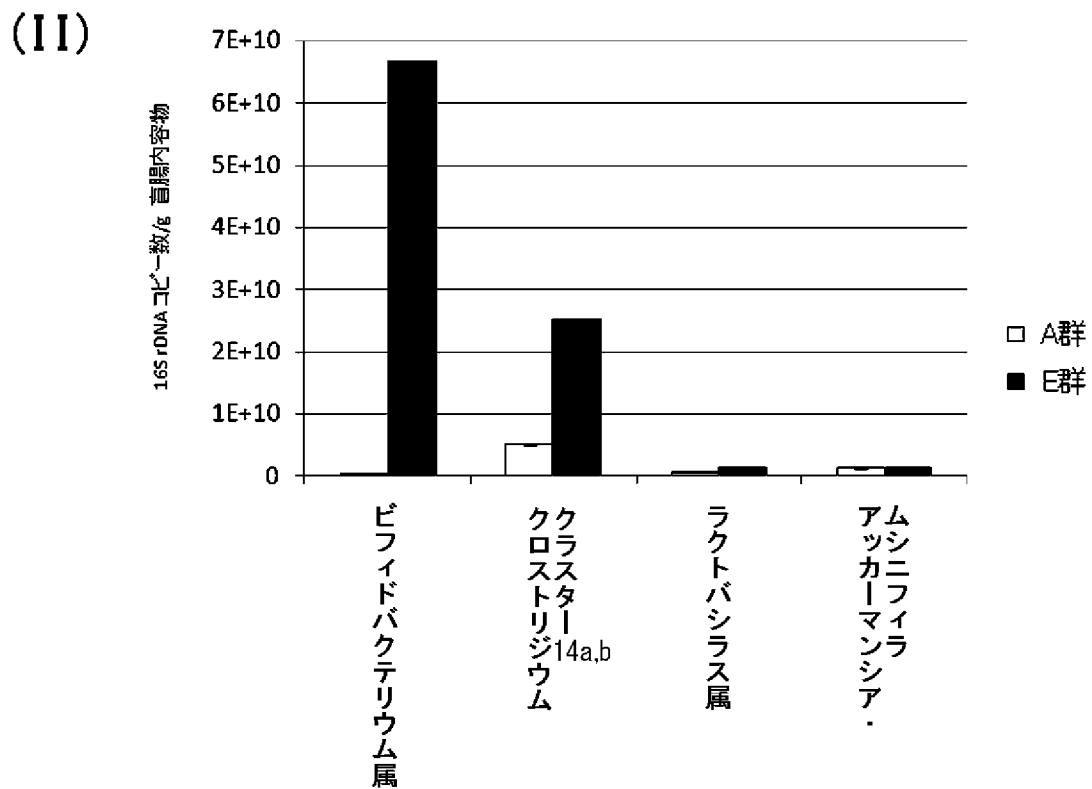
吉草酸



[図4]

(I)		ビフィドバクテリウム属	クロストリジウム クラスター14a,b	ラクトバシラス属	アッカーマンシア・ ムシニフィラ
A群	平均値	11825000	5071250000	644375000	1208875000
	標準偏差	0.13	0.22	0.30	0.41
E群	平均値	66648750000	25287500000	1314125000	1307571429
	標準偏差	0.54	0.16	0.49	0.38
TTEST		3.14235E-11	3.02464E-06	0.451247075	0.848766779
有意差		○	○	×	×

単位:16S rDNAコピー数/g 盲腸内容物



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/010066

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/702(2006.01)i, A23L33/125(2016.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12N1/20(2006.01)i

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)

A61K31/00-33/44, A23L33/00-33/29, A61P1/00-43/00, C12N1/00-7/08

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	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII),
CAPLUS/REGISTRY/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.
A	SUZUKI, Nobuyuki et al., Superiority of 1-kestose, the Smallest Fructo-oligosaccharide, to a Synthetic Mixture of Fructo-oligosaccharides in the Selective Stimulating Activity on Bifidobacteria, Bioscience and Microflora, 2006, Vol. 25, No. 3, p. 109-116, ISSN 1349-8355, particularly, p.110, left column, lines 9 - 29, p.111, right column, lines 13 - p.112, left column, lines 5, Table 1	1-11
A	JP 2007-512840 A (The Iams Co.), 24 May 2007 (24.05.2007), claims; paragraph [0030] & US 2005/0118299 A1 claims; paragraph [0031] & WO 2005/053427 A1	1-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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
24 April 2017 (24.04.17)

Date of mailing of the international search report
16 May 2017 (16.05.17)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/010066

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-049093 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 19 February 2004 (19.02.2004), paragraph [0001] (Family: none)	1-11
A	JP 2013-147469 A (Calpis Co., Ltd.), 01 August 2013 (01.08.2013), paragraph [0004] (Family: none)	1-11
A	JP 2006-321786 A (The Hokuren Federation of Agricultural Cooperations, Japan), 30 November 2006 (30.11.2006), claims & EP 1878738 A1 claims & WO 2006/115136 A1	1-11
A	JP 2005-306781 A (The Hokuren Federation of Agricultural Cooperations, Japan), 04 November 2005 (04.11.2005), claims (Family: none)	1-11
A	KIHARA, Minoru et al., Production of short-chain fatty acids and gas from various oligosaccharides by gut microbes of carp (Cyprinus carpio L.) in micro-scale batch culture, Comparative Biochemistry and Physiology - Part A, 2002, Vol. 132, No. 2, p. 333-340, ISSN 1095-6433, particularly, Abstract	1-11
A	MURAI, Kenji et al., Effect of Oral Administration to Rats of Various Undigestible Saccharides on Fecal pH, Water Contents and Enzyme Activities, Bifidobacteria and Microflora, 1994, Vol. 13, No. 2, p. 91-98, ISSN 1884-512, particularly, Abstract	1-11
A	KILIAN, Stephanus et al., The effects of the novel bifidogenic trisaccharide, neokestose, on the human colonic microbiota, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2002, Vol. 18, No. 7, p. 637-644, ISSN 1573-0972, particularly, Summary	1-11
A	BUYUKTORTOP, Asuman Sahin et al., Determination and Comparison of Interaction Between Fructo-oligosaccharide Components and Lactobacillus acidophilus, SDU Journal of Science (E-Journal), 2012, Vol. 7, No. 1, p. 15-22, ISSN 1306-7575, particularly, Abstract	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/010066

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Yasunori FUKUMORI et al., "1-Kestose no Kinosei ni Tsuite", Proceedings of the Research Society of Japan Sugar Refineries' Technologists, 2004, vol.52, pages 13 to 18, ISSN 0370-9841, particularly, Results, Study	1-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/702(2006.01)i, A23L33/125(2016.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12N1/20(2006.01)i

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. A61K31/00-33/44, A23L33/00-33/29, A61P1/00-43/00, C12N1/00-7/08

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	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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/REGISTRY/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
A	SUZUKI, Nobuyuki et al., Superiority of l-kestose, the Smallest Fructo-oligosaccharide, to a Synthetic Mixture of Fructo-oligosaccharides in the Selective Stimulating Activity on Bifidobacteria, Bioscience and Microflora, 2006, Vol. 25, No. 3, p. 109-116, ISSN 1349-8355, 特に p.110, left column, lines 9 - 29, p.111, right column, lines 13 - p.112, left column, lines 5, Table 1	1-11

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ 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

24.04.2017

国際調査報告の発送日

16.05.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
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)

常見 優

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

3340

C (続き) . 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
A	JP 2007-512840 A (ザ・アイムス・カンパニー) 2007.05.24, 特許請求の範囲、[0030] & US 2005/0118299 A1, claims, [0031] & WO 2005/053427 A1	1-11
A	JP 2004-049093 A (明治乳業株式会社) 2004.02.19, [0001] (ファミリーなし)	1-11
A	JP 2013-147469 A (カルピス株式会社) 2013.08.01, [0004] (ファミリーなし)	1-11
A	JP 2006-321786 A (ホクレン農業協同組合連合会) 2006.11.30, 特許請求の範囲 & EP 1878738 A1, claims & WO 2006/115136 A1	1-11
A	JP 2005-306781 A (ホクレン農業協同組合連合会) 2005.11.04, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-11
A	KIHARA, Minoru et al., Production of short-chain fatty acids and gas from various oligosaccharides by gut microbes of carp (Cyprinus carpio L.) in micro-scale batch culture, Comparative Biochemistry and Physiology - Part A, 2002, Vol. 132, No. 2, p. 333-340, ISSN 1095-6433, 特に Abstract	1-11
A	MURAI, Kenji et al., Effect of Oral Administration to Rats of Various Undigestible Saccharides on Fecal pH, Water Contents and Enzyme Activities, Bifidobacteria and Microflora, 1994, Vol. 13, No. 2, p. 91-98, ISSN 1884-512, 特に Abstract	1-11
A	KILIAN, Stephanus et al., The effects of the novel bifidogenic trisaccharide, neokestose, on the human colonic microbiota, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2002, Vol. 18, No. 7, p. 637-644, ISSN 1573-0972, 特に Summary	1-11
A	BUYUKTORTOP, Asuman Sahin et al., Determination and Comparison of Interaction Between Fructo-oligosaccharide Components and Lactobacillus acidophilus, SDU Journal of Science (E-Journal), 2012, Vol. 7, No. 1, p. 15-22, ISSN 1306-7575, 特に Abstract	1-11

C（続き）． 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
A	福森保則 ほか，1-ケストースの機能性について，精糖技術研究会誌，2004，Vol. 52，p. 13-18，ISSN 0370-9841，特に結果および考察	1-11