(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114828867 A
(43)申请公布日 2022.07.29

(21)申请号 202080086153.6
(22)申请日 2020.12.11
(30)优先权数据
2019-225685 2019.12.13 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.06.10
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2020/046227 2020.12.11
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/117857 JA 2021.06.17
(83)生物保藏信息
FERM BP-11262 2010.07.02
(71)申请人 株式会社明治
地址 日本东京都
(72)发明人 利光孝之 指原纪宏 浅见幸夫
(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所(普通合伙) 11277
专利代理师 刘新宇 李茂家
(51)Int.Cl.
A61K 35/747(2006.01)
A23C 9/123(2006.01)
A23L 33/135(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)
C12N 1/20(2006.01)

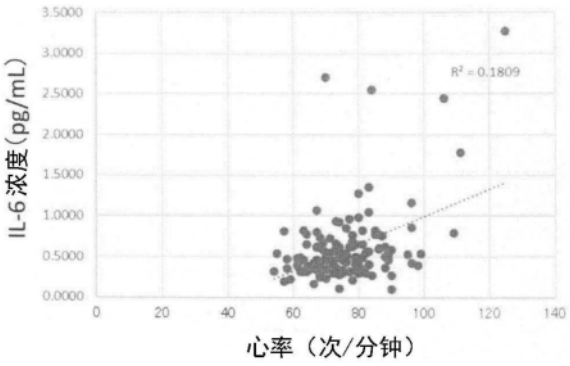
权利要求书1页 说明书12页
序列表1页
PCT/RO/134表1页 附图1页

(54)发明名称

降低心率用组合物

(57)摘要

提供包含属于乳杆菌属的乳酸菌的降低心率用组合物。通过让对象摄取包含属于乳杆菌属的乳酸菌的组合物,从而降低该对象的心率。



CN 114828867 A

1.一种降低心率用组合物,其包含属于乳杆菌属的乳酸菌。

2.根据权利要求1所述的组合物,其用于人。

3.根据权利要求1或2所述的组合物,其中,所述乳酸菌为具有降低血液中的白细胞介素-6的量的活性的乳酸菌。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌能诱导哺乳动物细胞中的白细胞介素-10的产生。

5.根据权利要求4所述的组合物,其中,所述哺乳动物细胞选自骨髓来源树突状细胞和腹腔巨噬细胞。

6.根据权利要求1～5中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌具有与序列号1所示的碱基序列具有90％以上的同源性的16S rRNA基因。

7.根据权利要求1～6中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌为植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)。

8.根据权利要求1～7中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌是以保藏编号FERM BP-11262保藏的植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)OLL2712株。

9.根据权利要求1～8中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌包含乳酸菌的死菌体。

10.根据权利要求1～9中任一项所述的组合物,其中,所述乳酸菌包含乳酸菌的加热处理死菌体。

11.根据权利要求1～10中任一项所述的组合物,其中,所述组合物为食品组合物。

12.根据权利要求1～10中任一项所述的组合物,其中,所述组合物为药物组合物。

13.一种降低对象的心率的方法,其包括让该对象摄取包含属于乳杆菌属的乳酸菌的组合物。

14.用于降低心率、或用于制造降低心率用组合物的、属于乳杆菌属的乳酸菌的应用。

15.用于降低心率的、属于乳杆菌属的乳酸菌。

降低心率用组合物

[0001] 相关申请的参照

[0002] 本专利申请主张基于2019年12月13日申请的日本专利申请2019-225685号的优先权,上述在先专利申请中的全部公开内容通过引用成为本说明书的一部分。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于降低心率的组合物。

背景技术

[0004] 已知静息时的心率(脉搏)数敏感地反映出身体压力/精神压力。另外,据报道,有静息心率越高则由心血管系统疾病、冠心病所致的死亡率越高的倾向,另外有总死亡率也越高的倾向(例如,非专利文献1)。另外,还已知:健康的人在静息时的心率约为80次/分钟(bpm:beats per minute),而超过80bpm的心率会使心血管系统的并发症、发病率和死亡率升高;以及应考虑将80～85bpm以上的心率作为快速性心律失常(心动过速)的基准。因此,心动过速的基准为80bpm以上是合适的,对于这样的对象而言,通过降低静息心率可能会降低心血管系统疾病、冠心病的风险,另外可能会降低死亡率。

[0005] 另外,已知心率与血压密切相关,已知心率升高会增大患上例如动脉硬化、高血压并发症(例如,心肌梗塞、脑梗塞等)之类疾病的风险。

[0006] 另外,以往已知特定的乳酸菌对会各种生理功能产生影响。例如已知改善小鼠的糖、脂质的代谢(例如,专利文献1、非专利文献2和3)。

[0007] 然而,完全不知晓通过摄取乳酸菌能降低摄取对象的心率。高静息心率会增加心血管系统疾病、冠心病的风险,结果可能成为总死亡率高的主要原因,因此正在寻求有效地降低心率的方法。

[0008] 现有技术文献

[0009] 专利文献

[0010] 专利文献1:国际公开第2012/014971号

[0011] 非专利文献

[0012] 非专利文献1:HEART's Selection(考虑心率)“疫学に学ぶ:心拍数と心血管疾患”、第2011年第43卷第11号第1397～1401页

[0013] 非专利文献2:T.Toshimitsu et al.“Identification of Lactobacillus plantarum strain that meliorates chronic inflammation and metabolic disorders in obese and type 2 diabetic mice”J Dairy Sci,99:933-946,2016

[0014] 非专利文献3:Tohru Sakai et al.“Lactobacillus plantarum OLL2712 regulates glucose metabolism in C57BL/6 mice fed a high-fat diet”J Nutr Sci Vitaminol,59,144-147,2013

发明内容

[0015] 本发明的目的之一在于,提供用于有效地降低对象的心率的组合物。

[0016] 本发明人等进行了深入研究,结果发现:在让对象摄取属于乳杆菌属的乳酸菌时,能够降低该对象的心率。本发明基于这些见解。

[0017] 根据本发明,可提供以下的发明。

[0018] [1]一种降低心率用组合物,其包含属于乳杆菌属的乳酸菌。

[0019] [2]根据[1]所述的组合物,其用于人。

[0020] [3]根据[1]或[2]所述的组合物,其中,前述乳酸菌为具有降低血液中的白细胞介素-6的量的活性的乳酸菌。

[0021] [4]根据[1]～[3]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌能诱导哺乳动物细胞中的白细胞介素-10的产生。

[0022] [5]根据[4]所述的组合物,其中,前述哺乳动物细胞选自骨髓来源树突状细胞和腹腔巨噬细胞。

[0023] [6]根据[1]～[5]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌具有与序列号1所示的碱基序列具有90%以上的同源性的16S rRNA基因。

[0024] [7]根据[1]～[6]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌为植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)。

[0025] [8]根据[1]～[7]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌是以保藏编号FERM BP-11262保藏的植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)OLL2712株。

[0026] [9]根据[1]～[8]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌包含乳酸菌的死菌体。

[0027] [10]根据[1]～[9]中任一项所述的组合物,其中,前述乳酸菌包含乳酸菌的加热处理死菌体。

[0028] [11]根据[1]～[10]中任一项所述的组合物,其中,前述组合物为食品组合物。

[0029] [12]根据[1]～[10]中任一项所述的组合物,其中,前述组合物为药物组合物。

[0030] [13]一种降低对象的心率的方法,其包括让该对象摄取包含属于乳杆菌属的乳酸菌的组合物。

[0031] [14]用于降低心率、或用于制造降低心率用组合物的、属于乳杆菌属的乳酸菌的应用。

[0032] [15]用于降低心率的、属于乳杆菌属的乳酸菌。

[0033] 根据本发明,能够有效地降低以人为代表的对象的心率。

附图说明

[0034] 图1是示出各组合物的摄取开始前(0周)的待检组和对照组的全部待检者的血液中IL-6量与心率的相关性的图。

具体实施方式

[0035] 降低心率用组合物

[0036] 根据本发明的一个实施方式,可提供一种用于降低对象的心率的组合物,其包含

属于乳杆菌属的乳酸菌(以下也简称为“乳酸菌”)。

[0037] 根据一个实施方式,应用本发明的组合物的对象只要本发明可发挥效果就没有特别限定,例如为人、猴子、黑猩猩、牛、马、绵羊和山羊等哺乳类,优选为人。另外,应用对象可以是正常心率的对象,也可以是心率高于正常心率(快速性心律失常)的对象(即,心动过速的对象)。

[0038] 本说明书中“正常心率”是指:未患有疾病(例如,呼吸系统疾病、心脏病、精神疾病、发热等)、死亡风险小的对象在静息时的心率,可能因成为对象的物种、年龄、性别等而不同。另一方面,对象的心率高于正常心率的范围的情况可以称为心动过速。例如,人的正常心率为50～80次/分钟,超过该范围的情况可以称为心动过速。

[0039] 本说明书中,“降低”对象的心率是指:让对象摄取乳酸菌或包含乳酸菌的组合物或对对象给予乳酸菌或包含乳酸菌的组合物时,与未摄取或给予组合物的对照相比,摄取或给予了组合物的对象的心率统计学上显著(即,超过误差的范围)降低、或心率趋于升高的对象的心率升高得到抑制、维持在统计学上显著低的水平。需要说明的是,对于心率的统计学分析,可以使用本领域技术人员公知的统计学分析方法,关于各组之间的比较,可以通过曼-惠特尼U检验来进行,关于同一组内的比较(例如,同一组内的组合物摄取前后的比较),可以通过Wilcoxon符号秩检验来进行。具体可利用实施例中记载的方法来确定有无降低心率效果。

[0040] 本发明的组合物对于高血压、快速性心律失常等心动过速的对象、心率有升高倾向的对象显示出显著的降低心率效果,与未应用本发明的组合物时的心率相比,例如使心率降低0.5～35%、优选降低0.5～20%、更优选降低0.5～15%、进一步优选降低1～10%、更进一步优选降低1～5%的范围。另外,本发明的组合物对正常心率的对象也显示出降低心率效果,但这是平稳的效果,不会导致急剧的降低、如心动过缓那样异常的降低,例如使心率降低0.5～12%、优选降低1～10%、更优选降低1～4%的范围。由于本发明的组合物能够降低或维持对象的心率而使其维持在正常的范围内,因此能够用于改善起因于心血管系统疾病(例如,心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、动脉硬化等)、冠心病、高血压并发症(高血压性心肌肥大、充血性心力衰竭、脑出血、脑梗塞、高血压性肾损伤)等的症状。根据本发明的优选方式,起因于心血管系统疾病的症状的改善包括心率升高的抑制或心率的降低。需要说明的是,本说明书中,“改善”包括治疗或预防。另外,“治疗”不仅包括通过医疗行为使异常或疾病的进展或恶化停止、缓和或延迟,还包括通过非医疗行为使异常或疾病的进展或恶化停止、缓和或延迟。另外,“预防”包括对于异常或疾病的可预期的恶化做好准备,通过非医疗行为或医疗行为防止异常或疾病的发生或复发。

[0041] 根据本发明的一个实施方式,本发明的组合物中含有的属于乳杆菌属的乳酸菌优选为具有降低血液中白细胞介素-6(IL-6)的量的活性的乳酸菌。对于本领域技术人员而言,具有降低血液中IL-6量的活性的乳酸菌有助于降低心率是令人惊讶的事实。

[0042] 本说明书中,“降低”IL-6的量是指:让对象摄取乳酸菌或包含乳酸菌的组合物或对对象给予乳酸菌或包含乳酸菌的组合物时,与未摄取或给予组合物的对象相比,摄取或给予了组合物的对象的IL-6的量在统计学上显著(即,超过误差的范围)降低、或IL-6的量趋于增大的对象的IL-6量的增大得到抑制、维持在统计学上显著低的水平、或者IL-6的量的统计学上显著增大得到抑制。因此,根据1个优选的实施方式,“降低血液中IL-6量的活

性”为“抑制血液中IL-6量增加的活性”。需要说明的是，血液中IL-6量的统计分析可以使用本领域技术人员公知的统计学分析方法，关于各组之间的比较，可以通过曼-惠特尼U检验来进行，关于同一组内的比较(例如，同一组内的组合物摄取前后的比较)，可以通过Wilcoxon符号秩检验来进行。有无降低血液中IL-6量的活性具体可利用实施例中记载的方法来确定。

[0043] 另外，根据本发明的一个实施方式，属于乳杆菌属的乳酸菌优选为能诱导哺乳动物细胞中的白细胞介素-10(IL-10)的产生的乳酸菌。使用能诱导IL-10的产生的乳酸菌有利于在降低摄取其的哺乳动物的心率的同时抑制炎症。上述哺乳动物细胞优选选自骨髓来源树突状细胞和腹腔巨噬细胞。属于乳杆菌属的乳酸菌的诱导IL-10的产生的活性的确认可以通过实施例中记载的方法来进行。

[0044] 本发明的组合物中包含的乳酸菌只要是属于乳杆菌属的乳酸菌就可以没有限制地使用。作为属于乳杆菌属的乳酸菌，例如可列举出德氏乳杆菌保加利亚亚种(Lactobacillus delbrueckii subsp.burgaricus)、德氏乳杆菌乳亚种(Lactobacillus delbrueckii subsp.lactis)、干酪乳杆菌(Lactobacillus casei)、瑞士乳杆菌(Lactobacillus helveticus)、嗜酸乳杆菌(Lactobacillus acidophilus)、卷曲乳杆菌(Lactobacillus crispatus)、噬淀粉乳杆菌(Lactobacillus amylovorus)、鸡乳杆菌(Lactobacillus gallinarum)、加氏乳杆菌(Lactobacillus gasseri)、口乳杆菌(Lactobacillus oris)、鼠李糖乳杆菌(Lactobacillus rhamnosus)、约氏乳杆菌(Lactobacillus johnsonii)、发酵乳杆菌(Lactobacillus fermentum)、短乳杆菌(Lactobacillus brevis)、植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)、戊糖乳杆菌(Lactobacillus pentosus)、类植物乳杆菌(Lactobacillus paraplantarum)、副柯林氏乳杆菌(Lactobacillus paracollinoides)、黑氏乳杆菌(Lactobacillus hammesii)等。作为上述乳酸菌，优选使用植物乳杆菌、更优选使用植物乳杆菌OLL2712株。

[0045] 植物乳杆菌OLL2712株于2010年7月2日保藏于独立行政法人产业技术综合研究所专利生物保藏中心(日本国茨城县筑波市东1丁目1番地1中央第6)，之后转为国际保藏并赋予了保藏号FERM BP-11262。需要说明的是，如Budapest Notification No.282(http://www.wipo.int/treaties/en/notifications/budapest/treaty_budapest_282.html)所记载那样，国家高级工业科学技术学院，国际专利生物保藏中心(IPOD、NITE)由独立行政法人产业技术综合研究所专利生物保藏中心(IPOD、AIST)承接了专利微生物保藏业务，因此植物乳杆菌OLL2712株目前以保藏号:FERM BP-11262保藏于国家高级工业科学技术学院，国际专利生物保藏中心(IPOD、NITE)(日本国千叶县木更津市上总镰足2-5-8 120号室)。

[0046] 作为本发明的组合物中包含的乳酸菌，也可以使用与上述保藏菌株实质上同等的菌株。实质上同等的菌株例如是指属于上述的乳杆菌属的乳酸菌的、其16S rRNA基因的碱基序列与上述保藏菌株的16S rRNA基因的碱基序列(序列号1)具有90％以上、优选具有95％以上、更优选具有98％以上、更进一步优选具有99％以上的同源性、并且优选具有与上述菌株相同菌学性质的菌株。从具有降低对象(例如，人等)的血液中IL-6量的活性的方面考虑，具有相同菌学性质的菌株优选为具有与上述保藏菌株相同程度的活性的菌株。另外，从对优选乳动物细胞、更优选哺乳动物的骨髓来源树突状细胞或腹腔巨噬细胞具有诱导IL-10的产生的活性的方面考虑，具有相同菌学性质的菌株为具有与上述保藏菌株相同程

度的活性的菌株。进而，作为本发明的组合物中包含的乳酸菌，只要可发挥本发明的效果，也可以是由保藏菌株或与其实质上同等的菌株通过突变处理、基因重组、自然突变株的选择等育种而得的菌株。

[0047] 作为本发明的组合物中包含的乳酸菌，除了可列举出乳酸菌的菌体本身之外，例如可列举出包含乳酸菌的菌体的培养物等。作为乳酸菌的菌体，可以使用活菌体和死菌体中的任意者，但优选为死菌体，更优选为通过对活菌体进行加热处理而得到的死菌体(加热处理死菌体)。即，本发明的组合物中包含的乳酸菌中优选包含死菌体、更优选包含加热处理死菌体。另外，乳酸菌的传代次数只要发挥本发明的效果就没有特别限定，例如为1～30、优选为5～15、更优选为11～13。

[0048] 作为乳酸菌的培养条件，只要发挥本发明的效果就没有特别限定，可以设为通常培养乳酸菌的条件。例如，作为培养基，可以使用如下培养基：将乳清粉末、乳清蛋白浓缩物溶解于灭菌水中，通过蛋白酶A消化后，添加酵母提取物、鱼提取物和$MnSO_4$，进而添加各种营养素(维生素、矿物质、脂肪酸酯)，通过NaOH将pH调节至6.7后，通过高压釜进行灭菌而得到的培养基。另外，培养时的pH可以设为4.8～6.8。可以使用K_2CO_3调节pH。培养中的温度可以设为29～40℃。

[0049] 用于得到加热处理死菌体的加热处理只要发挥本发明的效果就没有特别限定，在通常用于对乳酸菌进行杀菌的条件下进行。

[0050] 作为乳酸菌，除了上述加热处理之外，例如也可以使用进行浓缩、稀释、冷冻、干燥、粉末化等处理所得者。

[0051] 作为本发明的组合物中包含的乳酸菌，可以使用通过上述的培养、各种处理而制备的物质，也可以使用含有乳酸菌的市售的组合物。

[0052] 本发明的组合物中，组合物的每单位质量的乳酸菌个数只要发挥本发明的效果就没有特别限定，优选为10^6～10^{14}个/g、更优选为10^7～10^{13}个/g、更进一步优选为10^8～10^{12}个/g、特别优选为10^8～10^{10}个/g。另外，本发明的组合物中，组合物中的固体成分的每单位质量的菌体干燥质量优选为0.01～100质量%、更优选为1～80质量%、更进一步优选为10～40质量%。

[0053] 本发明的组合物只要不影响本发明的效果，就还可以包含除乳酸菌以外的成分。作为除乳酸菌以外的成分，例如可列举出培养基成分、适于经口经管摄取的添加物、水等溶剂、糖质、蛋白质、脂质、维生素类、矿物质类、生物必需微量金属(硫酸锰、硫酸锌、氯化镁、碳酸钾等)、香料、食品卫生上或药学上可接受的载体、食品添加物等。

[0054] 作为糖质，例如可列举出糖类、加工淀粉(糊精、可溶性淀粉、英国淀粉、氧化淀粉、淀粉酯、淀粉醚等)、膳食纤维等。

[0055] 作为蛋白质，例如可列举出全脂奶粉、脱脂奶粉、部分脱脂奶粉、酪蛋白、乳清粉末、乳清蛋白、乳清蛋白浓缩物、乳清蛋白分离物、α-酪蛋白、β-酪蛋白、κ-酪蛋白、β-乳球蛋白、α-乳清蛋白、乳铁蛋白、大豆蛋白、鸡蛋蛋白、肉蛋白等动植物性蛋白、它们的水解物、黄油、乳性矿物质、奶油、乳清、非蛋白态氮、唾液酸、磷脂、乳糖等各种乳来源成分等。

[0056] 作为脂质，例如可列举出猪油、鱼油等、它们的分提油、氢化油、酯交换油等动物性油脂、棕榈油、红花油、玉米油、菜籽油、椰油、它们的分提油、氢化油、酯交换油等植物性油脂等。

[0057] 作为维生素类，例如可列举出维生素A、胡萝卜素类、维生素B族、维生素C、维生素D族、维生素E、维生素K族、维生素P、维生素Q、尼亚新(Niacin)、烟酸、泛酸、生物素、肌醇、胆碱、叶酸等。

[0058] 作为矿物质类，例如可列举出钙、钾、镁、钠、铜、铁、锰、锌、硒等。

[0059] 如上所述，本发明的组合物可以通过配混属于乳杆菌属的乳酸菌、及药学上可接受的载体和/或添加物、食品卫生上可接受的载体和/或添加物等而制造。因此，根据本发明的另一方式，可提供降低心率用组合物的制造方法，其包括配混属于乳杆菌属的乳酸菌的工序。

[0060] 根据本发明的一个实施方式，可以以食品组合物的形式提供本发明的降低心率用组合物。本发明的食品组合物也可以用于促进心率降低用途、抑制心率升高用途、维持正常心率用途、心血管系统疾病(例如，心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、动脉硬化等)、冠心病、高血压并发症(高血压性心肌肥大、充血性心力衰竭、脑出血、脑梗塞、高血压性肾损伤)等疾病的预防和/或治疗用途。

[0061] 本发明的食品组合物只要是可含有乳酸菌的食品就可以是任何形态，可以是溶液、悬浮液、乳浊液、粉末、糊剂、半固体成型物、固体成型物等能经口或经管摄取的形态。作为具体的食品，例如可列举出牛奶、乳饮料、清凉饮料、发酵乳、乳酸菌饮料、乳性饮料、酸奶、干酪、冰淇淋、冰甜点、巧克力、压片(压片糖)、软糖、糖果、面包、饼干(biscuits)、薄脆饼、比萨饼、配方奶粉、液态奶、流食、患者用食品、营养食品、冷冻食品、加工食品、调味剂等市售食品等。

[0062] 本发明的食品组合物可以制成标示有促进心率降低用途、抑制心率升高用途、维持正常心率用途、促进降低心血管系统疾病风险用途、促进降低冠心病风险用途、促进降低高血压并发症风险用途、促进IL-10产生用途、抑制IL-6产生用途、副交感神经的激活用途等用途的饮食品。具体而言，饮食品可以标示“促进心率降低用途”、“抑制心率升高用途”、“维持正常心率用途”、“预防心血管系统疾病用途”、“预防冠心病用途”、“预防高血压并发症用途”、“促进IL-10产生用途”、“抑制IL-6产生用途”、“副交感神经激活用途”、“有助放松”等。另外，即使是除这些以外的标示，只要是表示通过促进IL-10产生、抑制IL-6产生所产生的效果的措辞，就可以同样地使用。

[0063] 本说明书中“标示”是指：用于使需要者知悉上述用途的全部行为，只要是可想起/类推上述用途的表现方式则不论标示目的、标示内容、标示对象物/介质等如何，均相当于本发明的“标示”行为。然而，优选通过使需要者直接意识到上述用途的表现方式来进行标示。

[0064] 作为标示，标示内容优选为得到行政等许可的标示(例如，基于行政规定的各种制度而得到许可、并以基于这种许可的形态进行的标示)。可例示出作为健康食品、功能性食品、功能性标示食品、经肠营养食品、特殊用途食品、患者用食品、营养功能食品、药物用准药物等的标示，此外可以示例出经厚生劳动省许可的标示，例如特定保健用食品、与这些类似的制度许可的标示。作为后者的例子，可以示例出作为特定保健用食品的标示、作为附加条件的特定保健用食品的标示、对身体的结构、功能带来影响的标示、疾病风险降低标示等。进一步详细而言，可以示例出作为健康增进法实施细则(平成15年4月30日日本厚生劳动省令第86号)中规定的特定保健用食品的标示(特别是保健用途的标示)及与其类似的标

示等。

[0065] 根据本发明的另一方式，可以以药物组合物的形式提供本发明的降低心率用组合物。本发明的药物组合物也可以是促进心率降低用途、抑制心率升高用途、维持正常心率用途、心血管系统疾病(例如，心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、动脉硬化等)、冠心病、高血压并发症(高血压性心肌肥大、充血性心力衰竭、脑出血、脑梗塞、高血压性肾损伤)等疾病的预防和/或治疗用途。除含有乳酸菌以外，本发明的药物组合物可以依据该食品的通常的制造步骤来制造。此处，药物组合物是指依据常规方法将本发明的组合物制成经口制剂或非经口制剂而成的物质。制剂化时，为了进行制剂化，也可以组合使用可接受的添加剂。作为用于进行制剂化的可接受的添加剂，例如可列举出赋形剂、稳定剂、防腐剂、湿润剂、乳化剂、润滑剂、甜味剂、着色料、香料、缓冲剂、抗氧化剂、pH调节剂等。在药物组合物为经口制剂的情况下，可采取片剂、散剂、细粒剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂、缓释剂等固体制剂、溶液、悬浮液、乳浊液等液体制剂的形态。另外，在药物组合物为非经口制剂的情况下，可采取注射剂、栓剂的形态。需要说明的是，从摄取对象容易摄取(容易给予患者)的方面考虑，药物组合物优选为经口制剂。

[0066] 本发明的组合物的摄取量为只要发挥本发明的效果就没有特别限定，可以根据摄取对象的年龄、健康状态、体重等进行适宜调整。典型的是，每天0.01～10000mg/kg体重，优选为0.1～1000mg/kg体重、更优选为0.5～300mg/kg体重、更进一步优选为1～100mg/kg体重。另外，以乳酸菌的菌体干燥质量计，优选为0.001～1000mg/kg体重、更优选为0.01～100mg/kg体重、更优选为0.05～30mg/kg体重、更进一步优选为0.1～10mg/kg体重。另外，以乳酸菌的个数计，优选为10^4～10^{12}个/kg体重、更优选为10^5～10^{11}个/kg体重、更进一步优选为10^6～10^{10}个/kg体重、特别优选为10^6～10^8个/kg体重。

[0067] 对于本发明的组合物，为了更进一步发挥其效果，优选长期持续性摄取(给予)，具体而言，优选持续摄取(给予)3天以上，更优选持续摄取(给予)1周以上。作为摄取(给予)期间，例如可列举出1～6周、1～12周、2～10周、4～10周、4～12周等。本说明书中“持续”是指：每天持续摄取规定量的本发明的组合物。

[0068] 根据本发明的另一方式，可提供降低对象的心率的方法，其包括让该对象摄取有效量的属于乳杆菌属的乳酸菌和/或包含属于乳杆菌属的乳酸菌的组合物。

[0069] 前述方法中的乳酸菌和/或组合物的摄取对象只要是需要降低心率的对象就没有特别限定，例如是具有快速性心律失常的症状的对象、心率有升高倾向的对象。

[0070] 在降低心率的方法中，上述乳酸菌和/或组合物的摄取量和摄取期间只要发挥本发明的效果就没有特别限定，可以根据摄取对象的年龄、健康状态、体重等进行适宜调整。典型的是，本发明的方法中，上述乳酸菌和/或组合物的摄取量和摄取期间可以与本发明的组合物中的乳酸菌的摄取量和摄取期间同样。

[0071] 根据本发明的另一方式，可提供治疗和/或预防由对象的心率升高所引起的疾病和/或障碍的方法，其包括让该对象摄取有效量的属于乳杆菌属的乳酸菌和/或包含属于乳杆菌属的乳酸菌的组合物。

[0072] 作为由心率升高引起的疾病、障碍，没有特别限定，例如可列举出心血管系统疾病(例如，心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、动脉硬化等)、冠心病、高血压并发症(高血压性心肌肥大、充血性心力衰竭、脑出血、脑梗塞、高血压性肾损伤)等。

[0073] 根据本发明的另一方式,可提供用于降低心率的、属于乳杆菌属的乳酸菌的应用。

[0074] 根据本发明的另一方式,可提供用于制造降低心率用组合物的、属于乳杆菌属的乳酸菌的应用。

[0075] 根据本发明的另一方式,可提供用于降低心率的、属于乳杆菌属的乳酸菌。

[0076] 作为上述的另一方式中使用的属于乳杆菌属的乳酸菌,可以使用上述的本发明的组合物中使用的属于乳杆菌属的乳酸菌。

[0077] 实施例

[0078] 基于以下的例子具体说明本发明,但是本发明不受这些例子限定。

[0079] 例1:含有乳酸菌的组合物的降低心率效果的确认

[0080] (1)待检者的选择(筛选)

[0081] 基于以下的选择基准A和排除基准B,选择了用于降低心率效果的确认试验的待检者。

[0082] A:选择基准

[0083] • 20岁以上且64岁以下的健康的男女

[0084] • 筛选检查时空腹血糖值为100～125mg/dL的人

[0085] • 筛选检查时血液中血红蛋白A1c(HbA1c)值为5.6～6.4的人

[0086] 需要说明的是,根据“关于糖尿病的分类与诊断基准相关的委员会报告(国际标准化对应版)”、清野等人、糖尿病第55卷第7号(2012)的记载,满足选择基准A中所示的空腹血糖值和HbA1c值的待检者目前被诊断为不能否定怀疑糖尿病的组、不是糖尿病但未来患有糖尿病的风险高的组。即,认为满足选择基准A的待检者会由于伴随衰老、不健康的生活习惯的脂肪组织的慢性炎症等,逐渐出现糖、脂质的代谢功能的降低。具体而言,已知:由于脂肪组织中单核细胞趋化蛋白(Monocyte Chemotactic Protein-1:MCP-1)、IL-6等炎症性细胞因子增加,而导致巨噬细胞向脂肪组织的浸润增强,糖、脂质的正常代谢所需的激素的产生减少(Xu H et al.“Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance”J Clin Invest,112:1821-1830,2003和Weisberg SP et al.“CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding”J Clin Invest,116:115-124,2006)。由此可知,对于满足选择基准A中所示的空腹血糖值和HbA1c值的待检者而言,在没有生活习惯的改善等干预的情况下,血液中IL-6量有经时增加的倾向。进而,本试验是在人体重趋于增加的8月～11月进行的,因此由脂肪细胞产生的IL-6量增大,其结果,有血液中IL-6量增加的倾向。

[0087] B:排除基准

[0088] • 正在进行影响血糖值的药物治疗者

[0089] • 在筛选检查前1个月内,有摄取影响血糖值的补充剂或健康食品的习惯的人

[0090] • 在筛选检查前3个月内,有每周摄取3次以上发酵乳或乳酸菌饮料的习惯的人

[0091] • 对牛奶过敏的人

[0092] • 筛选检查的结果,被诊断为糖尿病,需要药物治疗的人

[0093] • 患有严重全身性疾病的人

[0094] • 患有每天需要进行药物治疗的慢性疾病的人

[0095] • 通过筛选检查时的临床检查被判断为不适合作为待检者的人

[0096] • 在1个月以内接受过超过200mL的输血的人、或在3个月以内接受过超过400mL的输血的人

[0097] • 酗酒者

[0098] • 酒精成瘾或药物成瘾者

[0099] • 在获准参加本试验前1个月以内参加过其它临床试验者

[0100] • 妊娠中或哺乳中的人

[0101] • 此外，试验负责医生判断不适合作为待检者的人

[0102] 基于上述基准从1593名志愿者中选择了126名待检者。表1示出对照组和待检组的待检者的年龄、性别、体重、BMI。

[0103] [表1]

[0104]

	对照组（n＝64）	待检组（n＝62）
年龄（岁）	51.2±7.6	50.6±6.9
男／女	44/20	42/20
体重（kg）	69.4±12.3	69.1±11.0
BMI（kg／m^2）	24.9±3.2	24.7±3.3

[0105] 平均值±标准偏差

[0106] (2)组合物的制备

[0107] 在包含鲜奶、脱脂奶粉、奶油、砂糖和甜菊糖的混合物中，添加德氏乳杆菌保加利亚亚种(Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus)菌和嗜热链球菌(Streptococcus thermophilus)菌作为乳酸菌发酵剂，43℃的温度环境下发酵约3小时而制备了酸奶。在制备的酸奶中添加经加热处理的乳酸菌植物乳杆菌OLL2712株(保藏编号：FERM BP-11262)，得到让待检组摄取的组合物(待检组合物)112g。待检组合物中的乳酸菌的菌体量为5×10^9个以上/112g。另一方面，将与待检组合物中使用的酸奶相同的酸奶(不包含经加热处理的乳酸菌植物乳杆菌OLL2712株(保藏编号:FERM BP-11262)的酸奶)112g作为让对照组摄取的组合物(对照组合物)。在各组的待检者摄取之前以冷藏状态保存各组合物。需要说明的是，乳酸菌的加热处理通过将菌体浓缩成上述浓度后在60℃下加热10分钟来进行。

[0108] (3)针对血液中IL-6量的效果

[0109] 依据以下的步骤评价本发明的组合物对血液中IL-6量的影响。

[0110] 首先，让上述(1)中选择的待检组的各待检者(62名)在12周内每天摄取待检组合物112g。另外，让上述(1)中选择的对照组的各待检者(64名)在12周内每天摄取对照组合物112g。对于各组，在摄取开始起4周后、8周后和12周后的各时间点进行采血，使用血清并利用Bio-Plex多重系统测定了血液中IL-6量(浓度)。

[0111] 通过曼-惠特尼U检验评价了各时间点的IL-6的测定值。将结果示于表2。需要说明的是，表中的数值的单位均为pg/mL。

[0112] [表2]

[0113]

	组	摄取开始前 0周	摄取开始后 4周	摄取开始后 8周	摄取开始后 12周
IL-6	对照组 (n=62)	0.532±0.268	0.496±0.250	0.563±0.310	0.601±0.265*
	待检组 (n=64)	0.801±1.231	0.855±1.456	0.779±1.453	0.792±1.296

[0114] 平均值±标准偏差*P<0.05(相对于摄取开始前)

[0115] 如表2所示,摄取了待检组合物的待检组中,待检组合物的摄取开始后与摄取开始前相比,血液中的IL-6量未观察到显著增大,且略有减少。另一方面,摄取了对照组合物的对照组中,自对照组合物的摄取开始12周后,血液中的IL-6量趋于增大,自摄取开始12周后观察到显著增大。如上述(1)的"A:选择基准"所记载的那样,本实施例中,若考虑以血液中的IL-6量趋于增大的待检者为对象,则显示出:待检组中,血液中的IL-6量的增大得到抑制(即,血液中的IL-6量降低),对照组中,血液中的IL-6量的增大未得到抑制(即,血液中的IL-6量未降低)。

[0116] (4)对骨髓来源树突状细胞和腹腔巨噬细胞中的白细胞介素-10的产生的效果

[0117] 依据以下的步骤评价了植物乳杆菌OLL2712株对骨髓来源树突状细胞和腹腔巨噬细胞中的白细胞介素-10(IL-10)产生所造成的影响。

[0118] 如下所述地测定骨髓来源树突状细胞中的乳酸菌的IL-10产生量。使从BALB/c小鼠(日本SLC株式会社制)的大腿骨提取的骨髓液通过70μm细胞滤网后溶血,为了防止非特异性吸附而添加兔子IgG。接着,添加生物素标记抗CD4抗体、抗CD8抗体和I-A^d(MHCII标记物)抗体并在冰上静置30分钟。接着,添加链霉亲和素磁珠和抗B220抗体磁珠。再次通过40μm的细胞滤网后,用auto MACS DEPLETE回收阴性级分。通过该操作从骨髓液细胞中去除T细胞、B细胞、抗原提呈细胞,能够仅分离未成熟的树突状细胞。

[0119] 在10ml含有10%GM-CSF的RPMI-10中培养得到的未成熟树突状细胞,3天后添加5ml含有GM-CSF的RPMI-10。进而在5天后回收悬浮细胞,用作骨髓来源树突状细胞。

[0120] 将得到的未成熟树突状细胞以成为10^5个/孔的方式接种在96孔板中,添加10ug/mL的乳酸菌植物乳杆菌OLL2712株的加热处理死菌体。24小时后回收培养上清液,使用小鼠ELISA试剂盒,测定回收的培养基上清液中的IL-10量(浓度),测定骨髓来源树突状细胞中的IL-10产生量。需要说明的是,使用的抗体类和ELISA试剂盒均从Becton Dickinson公司购入。

[0121] 通过上述步骤测定骨髓来源树突状细胞中的IL-10的产生量,结果以10μg/mL的浓度添加植物乳杆菌OLL2712株时,骨髓来源树突状细胞中的IL-10的产生量为1319±62pg/mL(平均值±标准偏差)。另一方面,未添加植物乳杆菌OLL2712株时,骨髓来源树突状细胞中的IL-10的产生量为0pg/mL。

[0122] 由这些结果示出:植物乳杆菌OLL2712株在骨髓来源树突状细胞中具有IL-10产生诱导活性。

[0123] 另外,如下所述地测定腹腔巨噬细胞中的乳酸菌的IL-10的产生量。向BALB/c小鼠(日本SLC株式会社制)中腹腔内给予4%巯基乙酸盐培养基(Becton Dickinson)2ml,饲养4天。向腹腔内注入5ml的PBS(清洗液)后,回收清洗液而得到腹腔巨噬细胞。

[0124] 将得到的腹腔巨噬细胞以10^5个/孔接种在96孔板中，添加10μg/mL的乳酸菌植物乳杆菌OLL2712株的加热处理死菌体。在24小时后回收培养上清液，使用小鼠ELISA试剂盒，测定回收的培养基上清液中的IL-10量(浓度)，测定腹腔巨噬细胞的IL-10产生量。需要说明的是，使用的抗体类和ELISA试剂盒均从Becton Dickinson公司购入。

[0125] 通过上述步骤测定腹腔巨噬细胞中的IL-10的产生量，结果以10μg/mL的浓度添加植物乳杆菌OLL2712株时的腹腔巨噬细胞中的IL-10产生量为1178±298pg/mL(平均值±标准偏差)。另一方面，未添加植物乳杆菌OLL2712株时的腹腔巨噬细胞中的IL-10的产生量为0pg/mL。

[0126] 由这些结果示出：植物乳杆菌OLL2712株在腹腔巨噬细胞中具有IL-10产生诱导活性。

[0127] (5)降低心率效果的评价

[0128] 依据以下的步骤，就本发明的组合物对心率所产生的影响进行评价。

[0129] 首先，在即将开始摄取待检组合物之前，测定待检组的各待检者(62名)的心率。然后，让待检组的各待检者在12周内每天摄取待检组合物112g。另一方面，在即将开始摄取对照组合物之前，测定对照组的各待检者(64名)的心率。然后，让对照组的各待检者在12周内每天摄取对照组合物112g。需要说明的是，在试验中，要求各组的待检者维持通常的饮食生活和生活习惯(例如，运动的量、质)。自开始摄取各组合物12周后，等待静息后，在上臂测定各待检者的心率。通过Wilcoxon符号秩检验对各时间点的各待检者的心率的测定值进行分析、评价。将结果示于表3。

[0130] [表3]

[0131]

	对照组(n＝64)		待检组(n＝62)	
	摄取开始前 0周	摄取开始后 12周	摄取开始前 0周	摄取开始后 12周
心率（次/分钟）	76.4±11.4	76.7±12.1	76.7±12.2	73.8±12.2*

[0132] 平均值±标准偏差*P＜0.05(相对于摄取开始前)

[0133] 如表3所示，待检组中，开始摄取待检组合物后12周的心率相对于即将开始摄取之前显著降低。另一方面，对照组中，开始摄取对照组合物后12周的心率与即将开始摄取之前的心率之间未观察到显著变化。由该结果示出：本发明的组合物使对象的心率显著降低。

[0134] (6)血液中IL-6量与心率的相关性

[0135] 依据以下的步骤，对血液中的IL-6的量与心率的相关性进行研究。具体而言，确认了：上述(3)中测定的、各组合物的摄取开始前(0周)的待检组和对照组的全部待检者中的血液中IL-6量、与上述(5)中测定的各组合物的摄取开始前(0周)的待检组和对照组的全部待检者中的心率的相关性进行确认。图1示出表示各组合物的摄取开始前(0周)的待检组和对照组的全部待检者中的血液中IL-6量与心率的相关性的图。

[0136] 由图1的结果示出：血液中的IL-6量与心率具有显著相关性(R＝0.425、P<0.001)。

[0137] 如上所述，由表2的结果示出：摄取了待检组合物的待检组中，血液中的IL-6量的增大得到抑制，进而趋于减少。进而，由图1的结果示出：血液中的IL-6量与心率之间观察到具有高相关性。由这些结果启示出：待检组中的心率的降低是通过抑制待检者的血液中的

IL-6量的增大而实现的。

[0138] 产业上的可利用性

[0139] 根据本发明，使对象的心率显著降低，能够降低由心率升高所引起的心血管系统疾病、冠心病、高血压并发症等疾病的风险。

序列表

<110> 株式会社明治(MEIJI CO., LTD.)

<120> 降低心率用组合物

<130> 235233PX

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 533

<212> DNA

<213> 植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum)

<400> 1

ttaaagctgg cggcgtgcct aatacatgca agtcgaacga actctggtat tgattggtgc 60
ttgcatcatg atttacattt gagtgagtgg cgaactggtg agtaacacgt gggaaacctg 120
cccagaagcg ggggataaca cctggaaaca gatgctaata ccgcataaca acttggaccg 180
catggtccga gtttgaaaga tggcttcggc tatcactttt ggatggtccc gcggcgtatt 240
agctagatgg tggggtaacg gctcaccatg gcaatgatac gtagccgacc tgagagggta 300
atcggccaca ttgggactga gacacggccc aaactcctac gggaggcagc agtagggaat 360
cttccacaat ggacgaaagt ctgatggagc aacgccgcgt gagtgaagaa gggtttcggc 420
tcgtaaaact ctgttgttaa agaagaacat atctgagagt aactgttcag gtattgacgg 480
tatttaacca gaaagccacg gctaactacg tgccagcagc ccgcgggtct cta 533

关于微生物保藏的说明

申请人或代理人档案号 235233	国际申请号 PCT/JP2020/046227

关于微生物保藏的说明

（专利合作条约实施细则 13 之 2）

微生物保藏的说明	
A.对说明书第 6 页，第 17,18,19 行 所述的已保藏的微生物或其他生物材料的说明	
B. 保藏事项	更多的保藏在附加页说明 ☐
保藏单位名称IPOD，NITE-国家高级工业科学技术学院，国际专利生物保藏中心	
保藏单位地址 （包括邮政编码和国名） 日本	
保藏日期 2010-07-02	保藏号 FERM BP-11262
C.补充说明（必要时）	更多信息在附加页中 ☐
无	
D.本说明是为下列指定国作的（如果说明不是为所有指定国而作的）	
所有指定国	
E.补充说明（必要时）	
下列说明将随后向国际局提供（写出说明的类别，例如：“保藏的编号”） 无	

[0001]

由受理局填写	由国际局填写
☐ 本页已经和国际申请一起收到	☐ 国际局收到本页日期
授权官员	授权官员

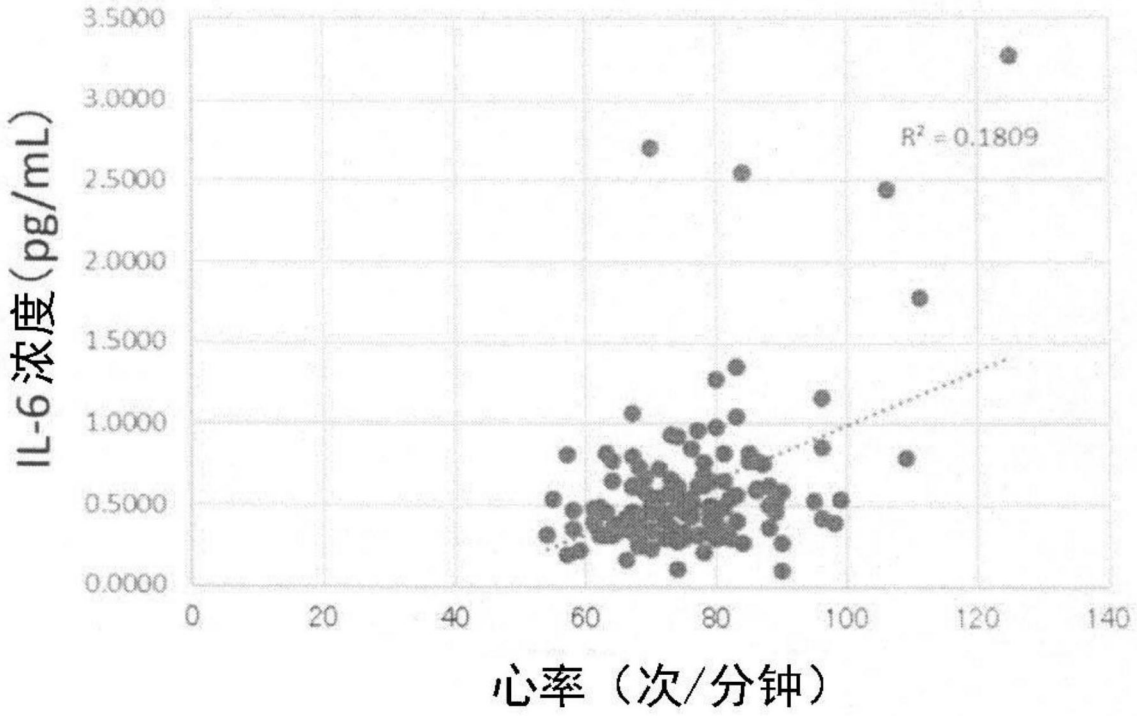

3.5000
3.0000
2.5000
2.0000
1.5000
1.0000
0.5000
0.0000
IL-6浓度(pg/mL)
R² = 0.1809
0
20
40
60
80
100
120
140
心率（次/分钟）

图1