



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112334146 A

(43) 申请公布日 2021.02.05

(21) 申请号 201980043413.9

(22) 申请日 2019.06.03

(30) 优先权数据

2018-121852 2018.06.27 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.12.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2019/021912 2019.06.03

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/003905 JA 2020.01.02

(71) 申请人 朝日集团控股株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 南太一 今井悠 石田哲也

吉田淳平 白井建史

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理

有限责任公司 11258

代理人 肖善强

(51) Int.Cl.

A61K 36/062 (2006.01)

A21D 13/00 (2017.01)

A21D 13/80 (2017.01)

A23C 1/00 (2006.01)

A23C 9/152 (2006.01)

A23C 19/00 (2006.01)

A23G 3/34 (2006.01)

A23G 3/36 (2006.01)

A23G 4/06 (2006.01)

A23G 9/32 (2006.01)

A23L 2/00 (2006.01)

A23L 33/145 (2016.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A23L 2/84 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

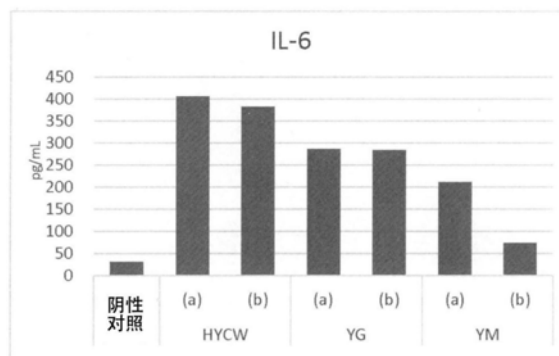
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

白介素-6,10产生促进剂

(57) 摘要

【技术问题】提供可促进白介素-6产生的新技术,以及提供可促进白介素-10产生的新技术。【技术方案】提供了一种白介素-6产生促进剂,所述白介素-6产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物;以及一种白介素-10产生促进剂,所述白介素-10产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物。



1. 一种白介素-6产生促进剂,所述白介素-6产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物。

2. 根据权利要求1所述的白介素-6产生促进剂,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

3. 一种白介素-10产生促进剂,所述白介素-10产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物。

4. 根据权利要求3所述的白介素-10产生促进剂,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

白介素-6, 10产生促进剂

技术领域

[0001] 本发明涉及白介素-6, 10产生。

背景技术

[0002] 免疫系统对侵入机体的病原体的攻击包括由吞噬细胞(例如嗜中性粒细胞和巨噬细胞)吞噬(先天免疫系统)、通过从细胞毒性T细胞释放细胞毒性物质(例如穿孔素)来破坏宿主细胞,以及通过由B细胞产生的抗体将病原体灭活(适应性免疫系统)。

[0003] 细胞因子在参与免疫系统的细胞的激活和功能抑制中起着重要作用,并且此类细胞因子包括由白细胞分泌的白介素。

[0004] 迄今为止,已经鉴定出了多种白介素。其中,已知白介素-6(IL-6)具有例如通过刺激巨噬细胞诱发急性反应的作用。已知白介素-10(IL-10)主要由2型辅助性T细胞(Th2)产生,并起抑制炎症反应的作用。

[0005] 同时,已经报道了通过在对酵母细胞壁进行水解或酶处理后进行离心纯化而获得的 β -葡聚糖的免疫增强效应(非专利文献1)。

[0006] 现有技术文献

[0007] 非专利文献

[0008] 非专利文献1:

[0009] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Triggering+dectin1+pathway+alone+is+not+sufficient>

发明内容

[0010] 发明解决的技术问题

[0011] 本发明的一个目的是提供一种新颖的技术,所述新颖的技术使得可以促进白介素-6的产生。本发明的另一个目的是提供一种新颖的技术,所述新颖的技术使得可以促进白介素-10的产生。

[0012] 技术问题的解决方案

[0013] 本发明人进行了勤奋研究,并且结果发现,与纯化的酵母细胞壁水解产物相比,粗制状态的酵母细胞壁水解产物具有更高的促进白介素-6和白介素-10产生的能力,从而完成了本发明。

[0014] 本发明的主旨如下。

[0015] [1]一种白介素-6产生促进剂,所述白介素-6产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物。

[0016] [2]根据[1]所述的白介素-6产生促进剂,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0017] [3]一种白介素-10产生促进剂,所述白介素-10产生促进剂包含粗制酵母细胞壁

水解产物。

[0018] [4]根据[3]所述的白介素-10产生促进剂,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0019] [5]粗制酵母细胞壁水解产物用于制备促进白介素-6产生的组合物的用途。

[0020] [6]根据[5]所述的用途,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0021] [7]粗制酵母细胞壁水解产物用于制备促进白介素-10产生的组合物的用途。

[0022] [8]根据[7]所述的用途,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0023] [9]根据[5]至[8]中任一项所述的用途,其中所述组合物是食物组合物或药物组合物。

[0024] [10]酵母细胞壁水解产物用于促进白介素-6产生的非治疗用途。

[0025] [11]根据[10]所述的用途,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0026] [12]粗制酵母细胞壁水解产物用于促进白介素-10产生的非治疗用途。

[0027] [13]根据[12]所述的用途,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0028] [14]一种用于促进受试者体内的白介素-6产生的方法,所述方法包括摄入粗酵母细胞壁水解产物。

[0029] [15]根据[14]所述的方法,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0030] [16]一种用于促进受试者体内的白介素-10产生的方法,所述方法包括摄入粗酵母细胞壁水解产物。

[0031] [17]根据[16]所述的方法,其中所述酵母细胞壁水解产物是通过将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0并且将所述酵母细胞壁在60℃至120℃水解3小时至24小时而获得的酵母细胞壁水解产物。

[0032] 发明的有益效果

[0033] 根据本发明,可以提供一种新颖的技术,所述新颖的技术使得可以促进白介素-6的产生。此外,根据本发明,可以提供一种新颖的技术,所述新颖的技术使得可以促进白介素-10的产生。

附图说明

[0034] [图1]图1是实施例的 β -葡聚糖纯度的图。

[0035] [图2]图2是说明实施例中IL-6产生量的图。

[0036] [图3]图3是说明实施例中IL-10产生量的图。

具体实施方式

[0037] 本发明的一个方面涉及一种白介素-6 (IL-6) 产生促进剂。本发明的另一个实施方式涉及一种白介素-10 (IL-10) 产生促进剂。在本文中,这些产生促进剂通常被称为IL产生促进剂,下面将详细描述它们共同的一个实施方式。

[0038] IL产生促进剂含有粗酵母细胞壁水解产物。

[0039] 可以通过对酵母细胞壁进行水解处理来获得所述粗酵母细胞壁水解产物。所使用的酵母细胞壁可以是商购可得的产品或从酵母细胞制备的。

[0040] 对从酵母细胞获得酵母细胞壁的方法没有特别限制,而是例如,可以通过已知方法从酵母细胞获得酵母细胞壁。所述方法的具体示例包括以下方法:涉及将酵母细胞加热至45℃至65℃以使细胞自动消化5小时至20小时,然后用离心机去除上清液的方法;涉及通过加热至80℃或更高温度杀伤酵母细胞,然后按原样通过离心去除上清液的方法;以及涉及向酵母细胞中添加酶,使所述酶和所述酵母细胞反应,随后离心并去除上清液的方法。

[0041] 对酵母细胞壁所来源的酵母没有特别限制,而是可以由本领域的技术人员酌情确定。所述酵母的示例包括属于酵母属 (*Saccharomyces*)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces*)、假丝酵母属 (*Candida*)、毕赤酵母属 (*Pichia*)、和球拟酵母属 (*Torulopsis*) 的酵母的食品级产品 (Bekatorou等人,2006,Food Technol.Biotechnol.44 (3),407-415)。

[0042] 其中,就促进更多的IL-6和IL-10产生而言,属于酵母属 (*Saccharomyces*) 的酵母,例如啤酒酵母,是优选的。属于酵母属 (*Saccharomyces*) 的酵母的示例包括啤酒酵母、威士忌酵母、烧酒酵母、面包酵母、葡萄酒酵母和清酒酵母,并且例如,它们中的一者或多者可用于制备酵母细胞壁水解产物。

[0043] 当使用啤酒酵母时,酵母细胞壁的示例包括来自浆料啤酒酵母、压缩啤酒酵母、干啤酒酵母和啤酒酵母悬浮液的酵母细胞壁制备物。

[0044] 对用于水解酵母细胞壁的方法没有特别限制,而是可以由本领域的技术人员酌情确定。

[0045] 其中,就进一步促进IL-6和IL-10产生量方面而言,优选的实施方式包括将酵母细胞壁的pH调节至8.0至14.0 (更优选10.0至12.0) 并在60℃至120℃ (更优选85℃至95℃) 水解酵母细胞壁3小时至24小时 (更优选12小时至20小时)。在水解中,不必进行搅拌。

[0046] 此外,根据需要,可以在水解处理之前在碱性条件下对待水解的酵母细胞壁进行洗涤处理。

[0047] IL产生促进剂包含粗制酵母细胞壁水解产物,例如可如上所述获得的粗制酵母细胞壁水解产物。术语“粗制”是指其中产物未经过用于提高酵母细胞壁中特定组分 (例如 β -葡聚糖或甘露聚糖) 的纯度的步骤。用于增加酵母细胞壁中特定组分的纯度的目的的步骤的示例包括对如上所述获得的酵母细胞壁水解产物进行离心、过滤、蒸馏、重结晶、提取、升华、色谱、等电沉淀分离、乙醇沉淀分离和盐沉淀的步骤。然而,不包括类似于这些步骤,其不是用于增加酵母细胞壁中特定组分的纯度的目的的步骤,例如用于去除被污染的物质以确保作为食物或饮料的的质量的目的的步骤。本领域的技术人员可以根据步骤中使用的设备

或处理条件,来确定所述步骤是否用于提高酵母细胞壁水解物中特定组分的纯度。

[0048] 除了粗制酵母细胞壁水解产物之外,IL产生促进剂还可包含其他组分,只要它们允许本发明的目的得以实现即可。

[0049] 对IL产生促进剂的形式(剂型)没有特别限制,并且它们可以作为药物制剂、日本医药部外品(准药品)或食物或饮料产生。

[0050] 当在药物制剂、日本医药部外品、或食物或饮料中提供IL产生促进剂时,可以将粗制酵母细胞壁裂解物与例如填充剂、粘合剂、稳定剂、崩解剂、润滑剂、矫味剂、助悬剂、涂层或要视情况配制到此类制剂中的任何其他组分混合。可能的剂型包括片剂、丸剂、胶囊剂、颗粒剂、粉剂、粉状药物和糖浆剂,并且这些剂型优选地口服施用。

[0051] 或者,当制造用于食物或饮料方面的IL产生促进剂时,对所述食物或饮料没有特别限制,但是所述食物或饮料可以是用于特殊饮食用途的食物,例如用于特定健康用途的食物或功能性营养食物,以及普通食物或饮料。食物或饮料的具体示例包括膳食补充剂(补充剂)、牛乳、加工乳、乳饮料、清凉饮料、发酵乳、酸奶、奶酪、面包、曲奇、苏打饼、比萨饼皮、冰淇淋、糖果、橡皮糖、口香糖、婴儿配方食品、流食、伤病员食物(foods for invalids)、例如婴儿奶粉的食物和例如哺乳期乳母奶粉的食物。

[0052] 此外,IL产生促进剂不限于用于人类的药物制剂、日本医药部外品、食物和饮料,而是可以是用于除人类以外的动物的药物制剂或饲料的形式。除人类以外的动物的示例包括除人类以外的高等脊椎动物,特别是除人类以外的哺乳动物,并且更具体的示例包括例如狗和猫的宠物以及例如牛、马、猪和绵羊的家畜。此外,还包括鸟类和鱼类,并且更具体的示例包括肉鸡、蛋鸡和火鸡;以及养殖鱼类,例如鲑鱼、鲤鱼、鲫鱼、罗非鱼、鲶鱼、海鲈鱼、黄狮鱼、青甘鱼、比目鱼、海鲷和金枪鱼。此外,还包括无脊椎动物,例如虾和蟹类。

[0053] 对IL产生促进剂的每日摄入量也没有特别限制,并且可以调节粗制酵母细胞壁水解产物的含量,使得成年人可以每天摄入例如0.01g至100g,优选0.1g至10g的所述粗制酵母细胞壁水解产物。对IL产生促进剂中的粗酵母细胞壁水解产物的含量百分比也没有特别限制,并且所述含量百分比可以根据生产的容易性、优选的日剂量等视情况进行调节。

[0054] 根据前述实施方式,可以提供一种新颖的技术,所述新颖的技术使得可以促进白介素-6和/或白介素-10的产生。

[0055] IL-6和/或IL-10的产生可以通过在不限制摄取方式的情况下摄取根据实施方式的粗制酵母细胞壁水解产物来促进,例如以包含上述粗制酵母细胞壁水解产物的药物制剂、日本医药部外品或食物的方式摄取。因此,可以预期通过激活免疫功能等来减轻感染症状,其中会有一些个体差异。

[0056] 实施例

[0057] 将参考以下实施例更详细地描述本发明。然而,本发明不限于此。

[0058] [粗制酵母细胞壁裂解物的制备(实施例)]

[0059] 对来源于在朝日集团食品株式会社的小金井市栃木县工厂(Asahi Group Foods, Ltd.Tochigi Koganei Factory)生产的啤酒酵母(其属于酵母属)的酵母细胞壁(10%固含量)进行水解处理。

[0060] 具体地,用氢氧化钠将酵母细胞壁的pH调节至11,然后加热至90℃,并处理18小时。将这些物质用鼓式干燥器干燥以获得酵母细胞壁水解产物(下文称为HYCW)。

[0061] [纯化的酵母细胞壁裂解物的制备 (对比例)]

[0062] 在上述水解处理后不进行干燥的情况下,将水解产物用盐酸调节至pH 5.5,然后离心以获得重溶液。将重溶液用鼓式干燥器干燥以获得酵母葡聚糖(下文称为YG)。将轻溶液浓缩至Brix 40%,然后在125℃的条件下灭菌40秒,并通过喷雾干燥进行干燥以获得酵母甘露聚糖(下文称为YM)。

[0063] 通过使用在2013年8月和当年9月生产的两批酵母细胞壁如上所述制备实施例和对比例两者。在下文中,将源自2013年8月生产的酵母细胞壁的那些命名为(a),并且将源自当年9月生产的酵母细胞壁的那些命名为(b)。

[0064] [β-葡聚糖纯度]

[0065] 依次用α-淀粉酶、蛋白酶和淀粉葡萄糖苷酶处理实施例HYCW和对比例YG和YM的收集样品,然后向其中添加乙醇。将产生的沉淀物用80%乙醇和丙酮洗涤。随后,添加5mL的72%硫酸,并在20℃执行降解4小时。然后添加70mL水,并在沸水浴中执行水解2小时。在冷却并中和后,通过葡萄糖氧化酶法对葡萄糖浓度进行定量,并且将该浓度乘以0.9以计算出β-葡聚糖纯度。

[0066] 结果如图1所示。通过离心,HYCW可分成β-葡聚糖级分和甘露聚糖级分。通过将沉淀物干燥获得YG,并且所述YG的β-葡聚糖纯度增加至约33%,而通过干燥上清液获得YM,所述YM几乎不含β-葡聚糖,并且β-葡聚糖纯度为约1%。

[0067] [IL-6和IL-10产生量的测量]

[0068] 根据已知方法(Sonck等人,2010,Veterinary Immunology and Immunopathology 135,199-207)测量IL-6和IL-10。从5只14周龄的断奶仔猪的颈静脉中将外周血收集到肝素管中。随后,通过使用Lymphoprep在800×g、18℃的条件下进行密度梯度离心25分钟,获得外周血单核细胞(PBMC)。用氯化铵使红细胞溶血,并在18℃下以350×g执行离心10分钟,然后将沉淀用含有10%胎牛血清、非必需氨基酸的溶液、100μg/mL丙酮酸钠、292mg/mL L-谷氨酰胺、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素和100μg/mL卡那霉素的RPMI1640培养基洗涤3次,并悬浮至10⁷个细胞/mL。

[0069] 用HYCW、YG或YM刺激外周血单核细胞(PBMC),并测量IL-6和IL-10的产生量。

[0070] 具体地,在多孔板上用20μg/mL或200μg/mL的样品刺激1×10⁷个PBMC细胞24小时。

[0071] 随后,收集上清液,并根据手册使用商购可得的细胞因子测量ELISA试剂盒(R&D Systems, Inc.)进行测量。HBSS(汉克平衡盐溶液)用作阴性对照。

[0072] 结果如图2和图3所示。

[0073] 如图2和图3中看到的,发现与使用YG或YM进行刺激相比,使用HYCW进行刺激大大提高了IL-6和IL-10的产生量。

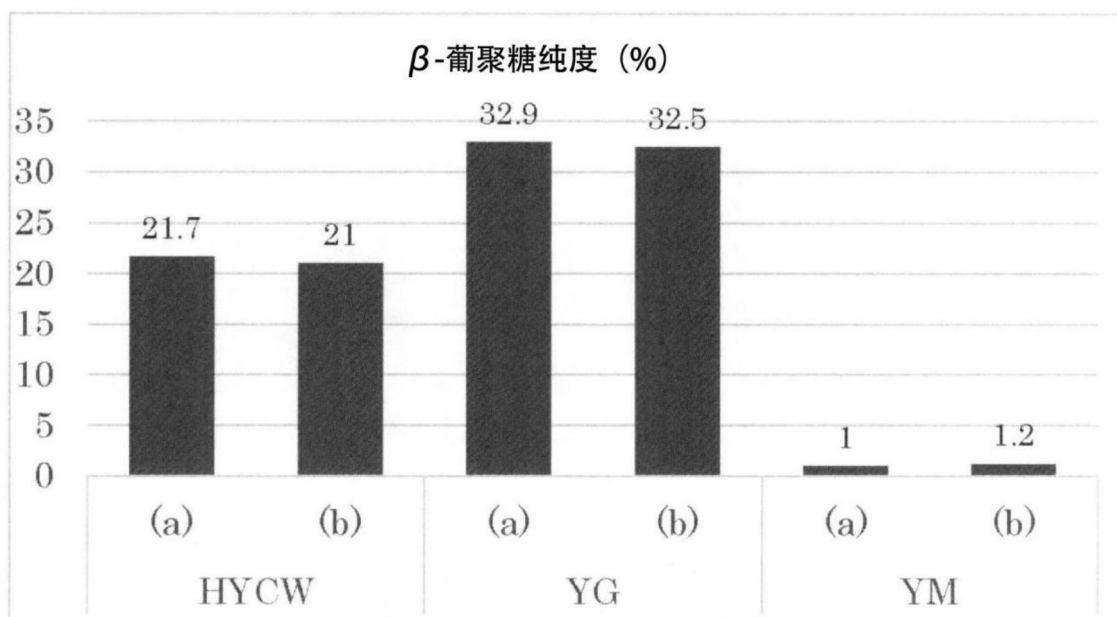


图1

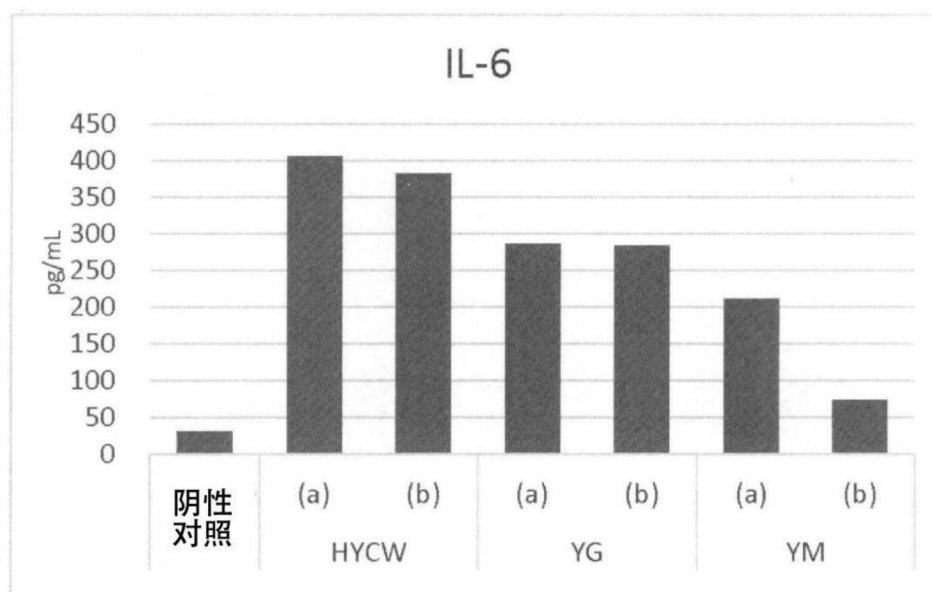


图2

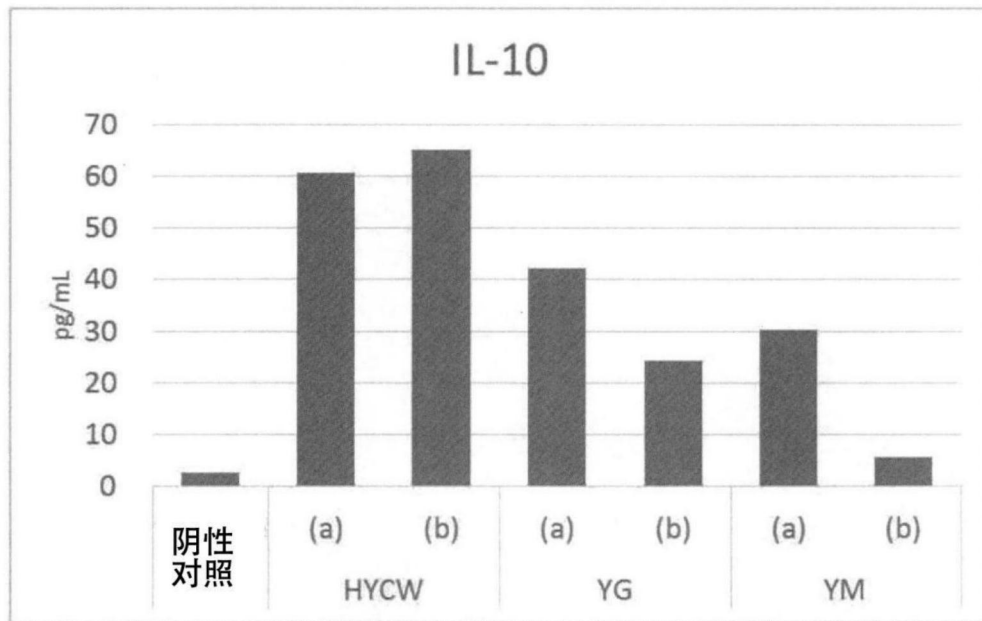


图3