



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101909644 A

(43) 申请公布日 2010.12.08

(21) 申请号 200880124906.7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008.12.05

A61K 35/74 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/702 (2006.01)

07123390.2 2007.12.17 EP

A61P 37/04 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.07.16

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/066850 2008.12.05

(87) PCT申请的公布数据

W02009/077352 EN 2009.06.25

(71) 申请人 雀巢产品技术援助有限公司

地址 瑞士沃韦

(72) 发明人 N·斯普伦格

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

在免疫妥协的个体中机会感染的预防

(57) 摘要

本发明涉及适合用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的组合物,其包含益生的乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌以及选自 2'-岩藻糖基乳糖、3'-岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳-N-岩藻戊糖、乳-N-岩藻己糖、岩藻糖基乳-N-己糖和岩藻糖基乳-N-新己糖的岩藻糖基化的寡糖。本发明还涉及所述化合物在免疫妥协的个体中预防机会感染应用。

1. 适合用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的组合物,其包含益生的乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌以及选自 2'-岩藻糖基乳糖、3'-岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳-N-岩藻戊糖、乳-N-岩藻己糖、岩藻糖基乳-N-己糖和岩藻糖基乳-N-新己糖的岩藻糖基化的寡糖。

2. 依据权利要求 1 的组合物,其中岩藻糖基化的寡糖是 2'-岩藻糖基乳糖。

3. 依据权利要求 1 或 2 的组合物,其中益生菌是乳双歧杆菌 CNCM1-3446 或长双歧杆菌 ATCC BAA-999。

4. 依据前述权利要求中任意一项的组合物,该组合物是婴儿配方产品。

5. 依据权利要求 4 的组合物,其包含 0.1 至 3g 岩藻糖基化的寡糖 /100g 组合物。

6. 依据权利要求 4 或 5 的组合物,其包含 10^3 至 10^{12} cfu 益生菌 /g 婴儿配方产品。

7. 依据权利要求 4 至 6 中的任意一项的组合物,其包含 10^6 至 10^9 cfu 益生菌 /g 婴儿配方产品。

8. 依据权利要求 4 至 7 中的任意一项的组合物,其还包含占组合物重量的 0.3 至 10% 的量的至少一种益生元。

9. 依据权利要求 1 至 3 中的任意一项的组合物,其是补充剂且每单位剂量包含 0.1 至 3g 岩藻糖基化的寡糖和 10^5 至 10^{12} cfu 益生菌。

10. 依据权利要求 1 至 9 中的任意一项的组合物在制备用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的药物或治疗性营养组合物中的应用。

11. 依据权利要求 10 的应用,其中机会感染是由绿脓杆菌引起的感染。

12. 依据权利要求 11 的应用,其中由绿脓杆菌引起的感染是呼吸道、泌尿道或胃肠道的感染。

在免疫妥协的个体中机会感染的预防

发明领域

[0001] 本发明涉及在免疫妥协的个体、特别是早产和新生儿中机会感染的预防。

[0002] 发明背景

[0003] 健康新生儿的免疫系统没有较大的健康儿童或健康成人的免疫系统有效。这很大程度上是因为新生儿还未遇到潜在的抗原，且 B 细胞和 T 细胞还未成熟到它们可以发动适当的免疫应答。新生儿对病原体不是完全无保护的，因为妊娠期间 IgG 类母体抗体通过胎盘并保留在婴儿体内达数月。此外，出生后最初几天产生的初乳和其后的乳汁富含 IgA 类母体抗体。该天然被动免疫实际上为出生后最初几周遇到普通病原体的婴儿“赢得了时间”，因为母体抗体给予婴儿一定程度的免疫，同时婴儿自身的免疫系统被激活。

[0004] 然而，一些其他的健康的的新生儿免疫系统在出生时可能没有完全成熟，这导致婴儿甚至比出生时免疫系统完全成熟的婴儿更慢开始发动其自身的免疫应答。发现这个问题在早产儿中最严重。此类婴儿可被认为是某种程度的免疫妥协。通常免疫妥协的个体处于被机会致病菌诸如绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 感染的危险之下，其可能引起例如泌尿道和呼吸道的感染。

[0005] 此外，尽管对所有的婴儿都推荐母乳喂养，但在一些情况下由于医学原因母乳喂养不充足或不成功或母亲选择不进行母乳喂养。为这些情况开发了婴儿配方产品。

[0006] 最近，某些细菌菌株引起了大量关注，因为已经发现如果将其摄取后，其展现出对人有价值的性质。具体而言，已发现乳杆菌属 (*Lactobacilli*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacteria*) 的特定的菌株能够定植于肠粘膜，以减少致病菌附着肠上皮的能力，从而具有免疫调制作用并帮助保持健康。此类细菌有时被称为益生菌。可将其掺入营养产品诸如婴儿配方产品中。

[0007] 为鉴别新的益生菌菌株已进行了大量的研究。例如，EP 0 199 535、EP 0 768 375、WO 97/00078、EP 0 577 903 和 WO 00/53200 公开了乳杆菌属和双歧杆菌属的特定菌株及其有益的作用。

[0008] 近期，Matsumoto 等人报道了某些益生菌、特别是双歧杆菌属对保护小鼠免于由绿脓杆菌引起的肠源性脓毒症是有效的 (*J. Appl. Microbiol.*, 2007)。所述作者给出以下评论：该发现可能为开发替代抗生素的治疗方法提供了可能性，特别是已知细菌诸如绿脓杆菌对抗生素的耐药性正在增加。

[0009] 综上所述，可以看到在免疫妥协的个体、特别是早产和新生儿中需要用于预防机会感染的有效的方法，所述方法不依赖于抗生素的使用，且可方便地并安全地施用。

[0010] 发明概述

[0011] 发明人惊奇地发现共同施用某些益生的双歧杆菌属和岩藻糖基化的寡糖对在免疫妥协的个体诸如早产和新生儿中预防机会感染特别有效。

[0012] 因此，第一方面，本发明提供了适合用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的组合物，其包含益生的乳双歧杆菌 (*Bifidobacterium lactis*)、婴儿双歧杆菌 (*Bifidobacterium infantis*)、短双歧杆菌 (*Bifidobacterium breve*) 或长双歧

杆菌 (*Bifidobacterium longum*) 以及选自 2' - 岩藻糖基乳糖、3' - 岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳-N-岩藻戊糖 (lacto-N-fucopentaose)、乳-N-岩藻己糖 (lacto-N-fucohexaose)、岩藻糖基乳-N-己糖 (fucosyllacto-N-hexaose) 和岩藻糖基乳-N-新己糖 (fucosyllacto-N-neohexaose) 的岩藻糖基化的寡糖。

[0013] 第二个方面, 本发明提供了益生的乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌与选自 2' - 岩藻糖基乳糖、3' - 岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳-N-岩藻戊糖、乳-N-岩藻己糖、岩藻糖基乳-N-己糖和岩藻糖基乳-N-新己糖的岩藻糖基化的寡糖在制备用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的组合物中的应用。

[0014] 本发明还涉及用于在免疫妥协的个体中预防机会感染的方法, 其包括向有需要的个体施用治疗量的益生的乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌与选自 2' - 岩藻糖基乳糖、3' - 岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳-N-岩藻戊糖、乳-N-岩藻己糖、岩藻糖基乳-N-己糖和岩藻糖基乳-N-新己糖的岩藻糖基化的寡糖。

[0015] 不希望受理论束缚, 本发明人相信上述的益生菌和岩藻糖基化的寡糖的组合在免疫妥协的个体预防机会感染的效应可能是特定益生菌和寡糖之间的协同效应的结果。已知人乳包含复杂的一系列寡糖, 其包括岩藻糖基化和唾液酸化的物质。所有这些寡糖的功能尚未被完全阐明, 但假定其功能之一是用作肠内微生物群的代谢燃料。对于人类婴儿最佳的肠内微生物群主要包括双歧杆菌属的各种菌种, 且认为人乳中的寡糖的功能之一是作为特别是双歧杆菌属的发酵基质和 / 或代谢刺激物, 由此在损害不太需要的厌氧菌诸如梭菌属 (*Clostridia*) 和拟杆菌属 (*Bacteroides*) 的情况下有利于上述菌种的生长和 / 或代谢的活动。然而, 现在发现似乎只有某些双歧杆菌属菌种、特别是乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌被人乳中所富含的岩藻糖基化的寡糖诸如 2' - 岩藻糖基乳糖刺激。同时, 绿脓杆菌的粘附素识别岩藻糖表位, 以至于在肠腔内的岩藻糖表位可作为这些粘附素的“诱饵”以阻止它们与其天然配体相结合, 并由此降低感染风险。通过提供益生的乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌与能刺激益生菌的岩藻糖基化的寡糖的组合提高了益生菌抑制病原体的附着的固有能力, 同时岩藻糖表位和双歧杆菌属代谢产物提供了抑制病原体附着的独立防线。

[0016] 发明详述

[0017] 在本说明书中, 下列术语具有以下含义:

[0018] “第二阶段配方产品 (follow-on formula)”是指预期用于 4 个月龄以上的婴儿的特定营养用途、并在该类人逐渐变化的饮食中构成主要液体成分的食物;

[0019] “成长乳 (growing up milk)”是指适合幼儿特定营养需求的基于乳的饮料;

[0020] “免疫妥协的个体”是指免疫系统未成熟的个体或免疫系统不充分有效以致其易被机会致病菌感染的个体;

[0021] “婴儿”是指小于 12 个月龄的儿童;

[0022] “婴儿配方产品”是指预期用于在生命最初的四到六个月的婴儿的特定营养用途、且其自身满足这类人群的营养需求的食品;

[0023] “新生婴儿”是指年龄小于一个月的足月儿;

[0024] “机会致病菌”是指对健康个体没有作用但在免疫妥协的个体能引起多种感染的病原体;

[0025] “预防机会感染”包括降低此类感染的风险和 / 或严重性。

[0026] “益生菌”是指是对宿主健康或保持良好状态具有有益作用的微生物细胞制剂或微生物细胞组分。(Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. 等人, “Probiotics :how should they be defined(益生菌 :它们应当如何定义)” Trends Food Sci. Technol. 1999 :10107-10)。

[0027] 除非另有说明,所有提及的百分比为以重量计的百分比。

[0028] 免疫妥协的个体可以是早产或新生儿。或者,免疫妥协的个体可以是免疫系统不充分有效的较大的儿童或成人,所述免疫系统不充分有效是由于已有病症或疾病诸如人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染所引起的,或由于对已有病症的治疗法诸如用于治疗自身免疫病症(例如局限性回肠炎或类风湿性关节炎)的免疫抑制药物或用于治疗癌症的化学治疗所引起。

[0029] 适合的益生双歧杆菌属菌株包括尤其是由丹麦 Christian Hansen 公司销售的商标为 Bb12 的乳双歧杆菌 CNCM I-3446、日本 Morinaga Milk Industry 有限公司销售的商标为 BB536 的长双歧杆菌 ATCC BAA-999、Danisco 销售的商标为 Bb-03 的短双歧杆菌菌株、Morinaga 销售的商标为 M-16V 的短双歧杆菌菌株、Institut Rosell (Lallemand) 销售的商标为 R0070 的短双歧杆菌菌株和 Procter & Gamble 公司销售的商标为 Bifantis 的婴儿双歧杆菌菌株。

[0030] 适合的益生菌日剂量是 $10e3$ 至 $10e12$ 菌落形成单位 (cfu), 更优选 $10e7$ 至 $10e11$ cfu。

[0031] 如上文所提及,岩藻糖基化的寡糖可选自 2' - 岩藻糖基乳糖、3' - 岩藻糖基乳糖、二岩藻糖基乳糖、乳 -N- 岩藻戊糖、乳 -N- 岩藻己糖、岩藻糖基乳 -N- 己糖和岩藻糖基乳 -N- 新己糖。特别优选的岩藻糖基化的寡糖是 2' - 岩藻糖基乳糖 (2FL)。

[0032] 岩藻糖基化的寡糖可通过色谱或过滤技术由天然来源诸如动物乳中分离。或者,其通过生物技术使用特定岩藻糖基转移酶类和 / 或岩藻糖苷酶经基于酶的法发酵技术(重组体或天然酶)或经微生物发酵技术来制备。在后者的情况下微生物可表达其天然的酶和底物或可对其进行改造以产生相应的底物和酶。可使用单一微生物培养物和 / 或混合培养物。岩藻糖基化的寡糖的形成能由始于从 DP = 1 起的任何聚合度 (DP) 的受体底物开始。或者,岩藻糖基化的寡糖可通过化学合成由乳糖和游离的岩藻糖起始来制备。岩藻糖基化的寡糖还可从例如日本的 Kyowa Hakko Kogyo 得到。

[0033] 岩藻糖基化的寡糖和益生菌双歧杆菌属可在同一组合物中被施用或被依次施用。

[0034] 可依据本发明预防的机会感染包括例如由鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、绿脓杆菌或白色念珠菌 (*Candida albicans*) 引起的呼吸道、泌尿道或胃肠道感染。本发明特别适合在早产或新生儿中预防机会感染,其包括坏死性小肠结肠炎。本发明还适合在免疫妥协的个体中预防医院交叉感染。

[0035] 如果针对的是婴儿,则组合物优选为婴儿配方产品。

[0036] 优选地本发明的婴儿配方产品包含基于干重 0.1 至 3g 岩藻糖基化的寡糖 /100g 婴儿配方产品,以及含量为 $10e3$ 至 $10e12$ cfu/g 婴儿配方产品、更优选含量为 $10e6$ 至 $10e9$ cfu/g 婴儿配方产品的益生菌乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、短双歧杆菌或长双歧杆菌。

[0037] 本发明的婴儿配方产品优选还包含 0.3 至 10% 的量的至少一种益生元。益生元

是不可消化的食物成分,通过选择性刺激一种或有限数量的结肠中细菌的生长和 / 或活性而有益地作用于宿主,并因而改善宿主健康。所述成分不可消化的意思是其在胃或小肠中不被分解和吸收,且因而完整的到达结肠,在这里它们被有益的细菌选择性地发酵。益生元的实例包括某些寡糖,诸如低聚果糖 (FOS) 和半乳寡聚糖 (GOS)。可以使用益生元的组合,诸如 90% GOS 与 10%短链低聚果糖(诸如商品名为**Raftilose®**的产品)或与 10%菊粉(诸如商品名为**Raftiline®**的产品)。特别优选的益生元的组合是 70%短链低聚果糖和 30%菊粉。

[0038] 现举例描述本发明的婴儿配方产品的通用组合物。所述配方产品包含蛋白质源。认为蛋白质的种类对于本发明不是至关重要的,只要满足必需氨基酸含量的最小要求并且确保良好的生长即可。因此,可使用基于乳清、酪蛋白及其混合物的蛋白质源,以及基于大豆的蛋白质源。当涉及乳清蛋白时,该蛋白质源可基于酸性乳清或甜乳清或其混合物,并且可以以任何期望的比例包含 α -乳清蛋白和 β -乳球蛋白。

[0039] 蛋白质可以是完整的蛋白质或经水解的蛋白质,或完整的和经水解的蛋白质的混合物。可能希望提供部分水解的蛋白质(水解程度在 2 至 20%),例如对于认为有发生牛奶变态反应风险的婴儿而言。如果需要经水解的蛋白质,根据需要进行水解操作,这是本领域已知的。例如,可通过在一个或多个步骤中酶促水解乳清片段来制备乳清蛋白水解物。如果用作起始材料的乳清片段基本上不含乳糖,那么发现该蛋白质在水解过程中受到少得多的赖氨酸阻断。这使得赖氨酸阻断的程度能够从以总赖氨酸的重量计约 15%减少至少于以赖氨酸重量计约 10%;例如以赖氨酸重量计约 7%,这极大地提高了蛋白质源的营养价值。

[0040] 本发明的婴儿配方产品可包含碳水化合物源。尽管优选的碳水化合物源是乳糖,但是可以使用在婴儿配方产品中常规存在的任何碳水化合物源诸如乳糖、蔗糖、麦芽糖糊精、淀粉及其混合物。优选地,碳水化合物源提供配方产品总能量的 35 至 65%。

[0041] 本发明的婴儿配方产品包含脂质源。脂质源可以是适合用于婴儿配方产品的任何脂质或脂肪。优选的脂肪源包括棕榈油酸甘油酯、高油酸向日葵油和高油酸红花油。也可加入必需脂肪酸亚油酸和 α -亚麻酸,同样可加入少量的包含大量预制的花生四烯酸和二十二碳六烯酸的油,例如鱼油或微生物油。总之,脂肪含量优选例如提供配方产品总能量的 30 至 55%。脂肪源优选具有的 n-6 比 n-3 脂肪酸的比率为约 5 : 1 至约 15 : 1,例如约 8 : 1 至约 10 : 1。

[0042] 婴儿配方产品还可包含认为在日常饮食中是必需的所有维生素和矿物质,并且以营养显著的量包含之。已确定了某些维生素和矿物质的最小需要量。任选存在于婴儿配方产品中的矿物质、维生素和其他营养素的实例包括维生素 A、维生素 B1、维生素 B2、维生素 B6、维生素 B12、维生素 E、维生素 K、维生素 C、维生素 D、叶酸、肌醇、烟酸、生物素、泛酸、胆碱、钙、磷、碘、铁、镁、铜、锌、锰、氯化物、钾、钠、硒、铬、钼、牛磺酸和 L-肉碱。通常以盐的形式加入矿物质。特定矿物质和其他维生素的存在和量将根据预期婴儿群体而变化。

[0043] 如果需要,婴儿配方产品可包含乳化剂和稳定剂,如大豆卵磷脂、甘油单酯和甘油二酯的柠檬酸酯等。

[0044] 婴儿配方产品可任选包含具有有益作用的其他物质,诸如乳铁蛋白、核苷酸、核苷等。

[0045] 最后,该配方产品将包含总量为 0.1 至 3g 2FL/100g 配方产品的 2FL 和以

2. 10e7cfu/g 配方产品的量存在的乳双歧杆菌 CNCM I-3446。

[0046] 所述配方产品可以以任何合适的方式制备。例如,可通过以适当的比例将蛋白质、碳水化合物源以及脂肪源混合在一起而制备。如果使用乳化剂,则可在此时加入。维生素和矿物质可在此时加入但通常稍后加入以避免热降解。任何亲脂性维生素、乳化剂等可在搅拌前溶解于脂肪源中。然后可将水、优选已进行反渗透的水加入混合以形成液体混合物。水的适宜温度为约 50°C 至约 80°C 以利于成分的分散。可使用商购可得的液化器以形成液体混合物。可在该时期加入 2FL。然后将液体混合物(例如分两个阶段)匀化。

[0047] 然后可将液体混合物热处理以降低细菌载量(load),例如通过快速加热液体混合物至约 80°C 至约 150°C 的温度范围达约 5 秒至约 5 分钟来进行。这可通过蒸汽注射、高压釜或通过热交换器进行;例如板式热交换器。

[0048] 然后,可将液体混合物冷却至约 60°C 至约 85°C;例如通过瞬时冷却法进行。然后将液体混合物再次匀化,例如分两个阶段,第一阶段约 10MPa 至约 30MPa,第二阶段约 2MPa 至约 10MPa。然后可将匀化的混合物进一步冷却以加入任何热敏感成分,诸如维生素和矿物质。此时适宜地调节匀化混合物的 pH 和固体成分。

[0049] 将匀化的混合物转移至合适的干燥装置诸如喷雾干燥器或冷冻干燥器并转化成粉末。该粉末的含水量应小于约 5% 重量。可在此时通过与益生菌干燥-混合而加入 2FL。

[0050] 在另一个实施方案中,所述组合物可以是包含以在个体中足以达到期望作用的量存在的岩藻糖基化的寡糖和益生菌的补充剂。这种施用形式更适合较大的儿童和成人。优选地岩藻糖基化的寡糖的日剂量是 0.1 至 3g,且益生菌的日剂量是 10e5 至 10e12cfu。补充剂中所包含的岩藻糖基化的寡糖和益生菌的量将依据如何施用补充剂而相应地选择。例如,如果补充剂每天施用两次,各补充剂可包含 0.05 至 1.5g 的岩藻糖基化的寡糖和 10e3 至 10e6cfu 的益生菌。补充剂可以是例如片剂、胶囊剂、锭剂或液体的形式。补充剂还可包含保护性水胶体(如树胶、蛋白质、改性淀粉)、粘合剂、成膜剂、包囊剂/材料、壁/壳材料、基质化合物、包衣剂、乳化剂、表面活性剂、增溶剂(油、脂肪、蜡、卵磷脂等)、吸附剂、载体、填充剂、共化合物(co-compound)、分散剂、润湿剂、加工助剂(溶剂)、助流剂、味道掩蔽剂、增重剂、成凝胶剂和胶凝剂。补充剂还可包含常规的药物添加剂和辅助剂、赋形剂和稀释剂,其包括但不限于水、任何来源的明胶、植物胶、木质素磺酸盐、滑石粉、糖、淀粉、阿拉伯胶、植物油、聚亚烷基二醇、矫味剂、防腐剂、稳定剂、乳化剂、缓冲剂、润滑剂、着色剂、润湿剂、填充剂等。

[0051] 此外,补充剂可包含适于口服或经肠施用的有机或无机载体物质,以及根据政府机构如 USRDA 建议的维生素、矿物质微量元素和其他的微量营养素。

[0052] 实施例 1

[0053] 下面提供本发明的婴儿配方产品的组合物的实例。该组成仅仅是以举例说明的方式给出。

[0054]

营养成分	每 100 千卡	每升
能量(千卡)	100	670
蛋白质(g)	1.83	12.3
脂肪(g)	5.3	35.7
亚油酸(g)	0.79	5.3
α -亚麻酸(mg)	101	675
乳糖(g)	11.2	74.7
益生元(70%FOS, 30%菊粉) (g)	0.64	4.3
矿物质 (g)	0.37	2.5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (μ g)	8	50
Se (μ g)	2	13

[0055]

维生素 A ($\mu\text{g RE}$)	105	700
维生素 D (μg)	1.5	10
维生素 E (mg TE)	0.8	5.4
维生素 K1 (μg)	8	54
维生素 C (mg)	10	67
维生素 B1 (mg)	0.07	0.47
维生素 B2 (mg)	0.15	1.0
烟酸(mg)	1	6.7
维生素 B6 (mg)	0.075	0.50
叶酸(μg)	9	60
泛酸(mg)	0.45	3
维生素 B12 (μg)	0.3	2
生物素(μg)	2.2	15
胆碱(mg)	10	67
Fe (mg)	1.2	8
I (μg)	15	100
Cu (mg)	0.06	0.4
Zn (mg)	0.75	5
2FL (mg)	0.3	2.0
乳双歧杆菌 CNCM I-3446	2.10^7 cfu/g 粉末, 活菌	