



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101861332 B

(45) 授权公告日 2014. 04. 02

(21) 申请号 200880113714. 6

A61K 38/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2008. 10. 28

A61P 19/08 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07K 2/00 (2006. 01)

2007-285394 2007. 11. 01 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2010. 04. 28

JP 2005060321 A, 2005. 03. 10,

(86) PCT国际申请的申请数据

JP 2004115509 A, 2004. 04. 15,

PCT/JP2008/003065 2008. 10. 28

JP 2001346519 A, 2001. 12. 18,

(87) PCT国际申请的公布数据

JP 10007585 A, 1998. 01. 13,

W02009/057281 JA 2009. 05. 07

JP 8151331 A, 1996. 06. 11,

(73) 专利权人 雪印惠乳业株式会社

EP 1669084 A1, 2006. 06. 14,

地址 日本北海道

EP 1656948 A1, 2006. 05. 17,

(72) 发明人 芹泽笃 森田如一 上辻大辅

WO 0033077 A1, 2000. 06. 08,

小野爱子 松山博昭 日暮聪志

审查员 刘铮

(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

代理人 刘新宇 李茂家

(51) Int. Cl.

C07K 14/47 (2006. 01)

A23K 1/16 (2006. 01)

A23L 1/305 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的食品原材料

(57) 摘要

本发明涉及一种由具有以下 (1) ~ (4) 特性的乳蛋白质级分构成的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂。(1) 其为乳来源。(2) 其为含有分子量在 75, 000 ~ 80, 000 道尔顿范围内的蛋白质成分的级分。(3) 构成氨基酸的组成中含有 13 ~ 15 重量%的碱性氨基酸、且碱性氨基酸 / 酸性氨基酸的比在 0. 5 ~ 0. 7 的范围内。(4) 具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用。

1. 一种乳蛋白质级分,其具有以下(1)~(4)的特性:

(1) 其为乳来源;

(2) 其为含有在十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳中分子量在 75,000 ~ 80,000 道尔顿范围内的蛋白质的级分;

(3) 构成氨基酸的组成中含有 13 ~ 15 重量%的碱性氨基酸、且碱性氨基酸/酸性氨基酸的比在 0.5 ~ 0.7 的范围内;

(4) 具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用;

其中所述乳蛋白质级分通过如下方式获得:使乳原料与阳离子交换树脂接触,用离子强度为 0.15 ~ 0.25M 的盐类清洗液清洗后,用离子强度为 0.3 ~ 0.4M 的盐类洗脱液使吸附于该树脂上的乳蛋白质洗脱,所述盐类为食盐、钾盐、铵盐、磷酸盐、醋酸盐或碳酸盐。

2. 一种乳蛋白质级分分解物,其通过用蛋白酶将权利要求 1 所述的乳蛋白质级分分解而获得。

3. 一种促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂,其含有权利要求 1 所述的乳蛋白质级分或权利要求 2 所述的乳蛋白质级分分解物。

4. 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品,其配合有权利要求 1 所述的乳蛋白质级分或权利要求 2 所述的乳蛋白质级分分解物。

5. 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的饮食品,其配合有权利要求 1 所述的乳蛋白质级分或权利要求 2 所述的乳蛋白质级分分解物。

6. 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的饲料,其配合有权利要求 1 所述的乳蛋白质级分或权利要求 2 所述的乳蛋白质级分分解物。

用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的食品原材料

技术领域

[0001] 本发明涉及具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物。

[0002] 本发明的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用,因而作为以骨疾病的预防或治疗、骨强化等为目的的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂以及作为用于预防或治疗骨疾病或用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料的有效成分非常有用。

背景技术

[0003] 近年来,伴随着高龄化,骨质疏松症、骨折、腰痛等各种骨疾病具有增加的倾向。在骨组织中,不断进行着骨生成和骨吸收,在年轻时骨生成和骨吸收保持着良好的平衡,但随着年龄的增长,由于各种原因该平衡倾向于骨吸收(解偶联)。并且,长时间持续该状态的话会使得骨组织变脆,导致发生骨质疏松症、骨折、腰痛等各种骨疾病。认为如果能够防止该解偶联,则能够预防骨质疏松症、骨折、腰痛等各种骨疾病。

[0004] 以往,作为防止解偶联、预防或治疗各种骨疾病的方法,曾进行了以下方法:(1)食物补钙,(2)轻微运动,(3)日光浴,(4)药物治疗等。对于食物补钙,使用碳酸钙、磷酸钙等钙盐以及蛋壳、鱼骨粉等天然钙制剂。然而,它们未必能称作适合经口摄取的原材料。对于轻微运动而言,认为慢跑或散步等较佳,但体弱的情况下即便是轻微的运动也非常麻烦,况且卧床的老人更是几乎无法运动。从补充活化维生素 D₃ 的观点来看,日光浴是很好的,但仅靠日光浴是不够的。药物投与中使用 1 α -羟基维生素 D₃、降钙素制剂等,已知其对骨质疏松症的治疗是有效的。然而,这些物质本身是药品,不能作为食品原材料使用。

[0005] 本发明人等为了获得能够作为食品原材料使用的具有骨强化作用的物质,对存在于乳中的骨强化因子进行了持续的探索。结果发现,从乳清蛋白质的水溶性级分除去了乳清来源的盐而得的蛋白质和肽混合物具有骨强化作用(例如,参照专利文献 1)。并且,发现对该蛋白质和肽混合物的水溶液进行乙醇处理、加热处理、加盐处理、超滤膜处理而得的级分具有促进成骨细胞增殖的作用和骨强化作用(例如,参照专利文献 2、3)。另外,发现存在于乳中的碱性蛋白质具有促进成骨细胞增殖的作用、骨强化作用和防止骨吸收的作用(例如,参照专利文献 4)。

[0006] 专利文献 1:日本专利 3160862 号公报

[0007] 专利文献 2:日本专利 3092874 号公报

[0008] 专利文献 3:日本特开平 5-320066 号公报

[0009] 专利文献 4:日本专利 3112637 号公报

发明内容

[0010] 发明要解决的问题

[0011] 本发明发现了一种能够作为食品原材料使用的、具有促进成骨细胞分化和抑制破

骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物,其课题在于提供一种含有该乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂,以及提供配合有该乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料。

[0012] 用于解决问题的方案

[0013] 本发明人等尝试对新的骨强化原材料进行探索,结果发现获得了与以往的食品原材料相比显示出更强的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的级分。并且,基于这些见解,以至于获得了含有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂、以及配合有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料。

[0014] 本发明为包含下述方案的发明。

[0015] (A) 涉及一种具有以下特性的乳蛋白质级分：

[0016] (1) 其为乳来源；

[0017] (2) 其为含有在十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)中分子量在75,000 ~ 80,000 道尔顿范围内的蛋白质的级分；

[0018] (3) 构成氨基酸的组成中含有13 ~ 15 重量%的碱性氨基酸、且碱性氨基酸/酸性氨基酸的比在0.5 ~ 0.7 的范围内；

[0019] (4) 具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用。

[0020] (B) 一种乳蛋白质级分分解物,其通过用蛋白酶将前述乳蛋白质级分分解而获得。

[0021] (C) 一种促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂,其含有(A)所述的乳蛋白质级分或(B)所述的乳蛋白质级分分解物。

[0022] (D) 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品,其配合有(A)所述的乳蛋白质级分或(B)所述的乳蛋白质级分分解物。

[0023] (E) 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的饮食品,其配合有(A)所述的乳蛋白质级分或(B)所述的乳蛋白质级分分解物。

[0024] (F) 一种用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的饲料,其配合有(A)所述的乳蛋白质级分或(B)所述的乳蛋白质级分分解物。

[0025] 发明的效果

[0026] 本发明的以具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物为有效成分的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂、以及配合有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料,通过经口摄取,可在体内促进成骨细胞的分化,抑制破骨细胞的分化成熟。

[0027] 因此,本发明的以具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物为有效成分的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂、以及配合有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料,由于可在人或动物的生物体内促进成骨细胞的分化、抑制破骨细胞的分化,因而具有骨强化作

用,且对于抑制骨质疏松症等骨量减少有效。

附图说明

[0028] 图 1 所示为乳蛋白质级分的抑制破骨细胞分化成熟效果的图(试验例 2)。

[0029] 图 2 所示为投与了乳蛋白质级分的小鼠的骨密度增加作用的说明图(试验例 3)。

具体实施方式

[0030] 本发明涉及含有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的成骨细胞分化促进剂、以及配合有具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的药品、饮食品和饲料。

[0031] 本发明的这种乳蛋白质级分例如能够通过如下方式获得:使脱脂乳或乳清等乳原料与阳离子交换树脂接触,用 0.2M 的食盐溶液清洗后,用 0.35M 的食盐洗脱液使吸附于该树脂上的乳蛋白质洗脱从而获得。另外,作为盐类,除了食盐以外可以使用钾盐、铵盐、磷酸盐、醋酸盐、碳酸盐等,通过将清洗液的离子强度适当调整为 0.15 ~ 0.25、将洗脱溶液的离子强度适当调整为 0.3 ~ 0.4,能够获得本发明的乳蛋白质级分。另外,还可以通过将该洗脱级分回收,利用反渗透(RO)膜或电渗析(ED)法等进行脱盐和浓缩,并根据需要进行干燥来获得。作为反渗透(RO)膜,可以列举出 Desal-3(Desalination 公司制)、HR-95(Dow Danmark 公司制)、NTR-729HF(日东电工公司制)等。另外,电渗析(ED)装置可以例举出 Yuasa Ionics Inc. 或日本炼水公司制的电渗析装置。

[0032] 另外,作为获得乳来源的微量蛋白质级分的方法,已知有如下方法:在使乳或乳来源的原料与阳离子交换体接触后,用 pH 超过 5、且离子强度超过 0.5 的洗脱液使吸附于该阳离子交换体上的碱性蛋白质级分洗脱,从而获得乳来源的微量蛋白质级分的方法(日本特开平 5-202098 号公报);使用海藻酸凝胶而获得的方法(日本特开昭 61-246198 号公报);使用无机多孔性颗粒从乳清中获得的方法(日本特开平 1-86839 号公报);使用硫酸化酯化合物从乳中获得的方法(日本特开昭 63-255300 号公报)等。本发明中,可以使用以这样的方法获得的蛋白质级分。

[0033] 这样回收的乳蛋白质级分通常可以通过冷冻干燥等粉末化后使用。

[0034] 本发明中使用的具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分优选其构成氨基酸的组成中含有 13 ~ 15 重量%的碱性氨基酸、且碱性氨基酸/酸性氨基酸的比在 0.5 ~ 0.7 的范围内。若在该范围之外的话,无法发挥本申请发明的效果。另外,本发明品为以分子量 75,000 ~ 80,000 道尔顿、等电点 7.5 ~ 8.5 的蛋白质为主要成分的蛋白质的混合物。

[0035] 乳蛋白质级分分解物具有与乳蛋白质级分同样的氨基酸组成,例如,可以通过使胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶等蛋白酶作用于通过上述方法获得的乳蛋白质级分,进而根据需要用胰酶等蛋白酶作用,从而能够获得平均分子量在 4,000 以下的分解物。另外,乳蛋白质级分分解物通常可以通过冷冻干燥等粉末化后使用。

[0036] 作为成为具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分的供给源的乳或乳来源的原料,可以使用牛乳、人乳、山羊乳、羊乳等乳,可以直接使用这些乳,或者也可以使用这些乳的还原乳、脱脂乳、乳清等。

[0037] 在投与本发明的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂时,可以将作为有效成分的具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物以其原本的状态使用,也可以根据常规方法制剂为粉末剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、饮用剂等而使用。此外,还可以将这些乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物直接或者制剂化后,将其配合到营养剂或饮食品等中,从而谋求促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化。另外,本发明的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物对于热比较稳定,因而还能够在通常进行的加热杀菌条件下加热杀菌。

[0038] 本发明中,为了发挥促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用,可以考虑体重、性别和年龄等而适当确定配合量,通常在成人的情况下,可以将本发明品即乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的配合量等调整为每天摄取 10 ~ 100mg。这样,本发明品在低用量下也具有效果。通过经口摄取将本发明的具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的成分制成促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂、或者配合有其的药品、饮食品和饲料,从而发挥促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用。

[0039] 以下,示出参考例、实施例和试验例来详细说明本发明,但它们仅仅列举出本发明的实施方式,本发明并不受这些例子的任何限制。

[0040] [参考例 1]

[0041] 根据以下方法(参照日本专利第 3112637 号),调制可确认骨强化效果的市售乳蛋白质级分。

[0042] 用去离子水充分清洗填充有 0.5 升作为阳离子交换树脂的磺化 Chitopearl(富士纺绩制)的直径 10cm 的柱。以流速 100ml/min 使 50 升未杀菌脱脂乳通过该柱后,用去离子水充分清洗该柱,使含有 0.95M 氯化钠的 0.05M 磷酸缓冲液(pH7.0)2.5 升通过该柱从而使吸附于树脂上的蛋白质洗脱。然后,通过反渗透(RO)膜处理对该洗脱液脱盐、浓缩后,进行冷冻干燥,获得粉末状的乳蛋白质级分。重复该操作 2 次,获得 104g 的蛋白质级分。该蛋白质级分的等电点为 7.0 ~ 8.5,该蛋白质级分中所含的碱性氨基酸为 17.8%。

[0043] 实施例 1

[0044] 用去离子水充分清洗填充有 0.5 升作为阳离子交换树脂的磺化 Chitopearl(富士纺绩制)的直径 10cm 的柱。以流速 100ml/min 使 50 升未杀菌脱脂乳通过该柱后,用含有 0.15M 氯化钠的 0.05M 磷酸缓冲液(pH7.0)充分清洗该柱,然后,使含有 0.3M 氯化钠的 0.05M 磷酸缓冲液(pH7.0)2.5 升通过该柱从而使吸附于树脂上的蛋白质洗脱。然后,通过反渗透(RO)膜处理对该洗脱液脱盐、浓缩后,进行冷冻干燥,获得粉末状的乳蛋白质级分。进行 3 次该操作,获得 55.4g 的乳蛋白质级分。该级分含有分子量 75,000 ~ 80,000 道尔顿的蛋白质,等电点为 7.5 ~ 8.5,该乳蛋白质级分中所含的构成氨基酸中,碱性氨基酸为 13 ~ 15%。另外,碱性氨基酸/酸性氨基酸的比为 0.5 ~ 0.7。

[0045] 实施例 2

[0046] 用去离子水充分清洗填充有 0.5 升作为阳离子交换树脂的磺化 Chitopearl(富士纺绩制)的直径 10cm 的柱。以流速 100ml/min 使 50 升未杀菌脱脂乳通过该柱后,用含有 0.25M 氯化钠的 0.05M 磷酸缓冲液(pH7.0)充分清洗该柱,使含有 0.4M 氯化钠的 0.05M 磷酸缓冲液(pH7.0)2.5 升通过该柱从而使吸附于树脂上的蛋白质洗脱。然后,通过反渗透(RO)膜处理对该洗脱液脱盐、浓缩后,进行冷冻干燥,获得粉末状的乳蛋白质级分。进行

2 次该操作,获得 37.3g 的乳蛋白质级分。该级分含有分子量 75,000 ~ 80,000 道尔顿的蛋白质,等电点为 7.5 ~ 8.5,该乳蛋白质级分中所含的构成氨基酸中,碱性氨基酸为 13 ~ 15%。另外,碱性氨基酸 / 酸性氨基酸的比为 0.5 ~ 0.7。

[0047] 实施例 3

[0048] 将实施例 1 中得到的乳蛋白质级分 55.4g 溶解于 10 升蒸馏水中后,以 2% 的浓度添加胃蛋白酶 (关东化学制),在 37℃ 下边搅拌 1 小时边进行水解。接着,用氢氧化钠溶液中和至 pH6.8 后,添加 1% 胰酶 (Sigma 公司制),在 37℃ 下反应 2 小时。反应后,在 80℃ 下加热处理 10 分钟而使酶失活,然后获得乳蛋白质分解物级分 54.2g。

[0049] 实施例 4

[0050] 将实施例 2 中得到的乳蛋白质级分 37.3g 溶解于 8 升蒸馏水中后,以 2% 的浓度添加胰蛋白酶 (关东化学制),在 37℃ 下边搅拌 1 小时边进行水解。接着,用氢氧化钠溶液中和至 pH6.6 后,添加 1% 胰酶 (Sigma 公司制),在 37℃ 下反应 2 小时。反应后,在 80℃ 下加热处理 10 分钟而使酶失活,然后获得乳蛋白质分解物级分 36.7g。

[0051] [试验例 1]

[0052] 对于实施例 1 中调制的乳蛋白质级分 (本发明品) 和参考例 1 中得到的乳蛋白质级分 (参考例 1),研究了促进成骨细胞分化的作用。即,用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 (Flowlaboratories 公司制) 将人来源的前成骨细胞 (preosteoblast) MG63 细胞以 2×10^4 cells/ 孔的细胞数接种于 96 孔培养板中,在 5% CO₂ 存在下、37℃ 下培养 4 天,制成试验用培养细胞。然后,将培养基更换为含有 1% 胎牛血清的培养基,将实施例 1 和参考例 1 中得到的乳蛋白质级分添加到培养基中,使最终浓度为 10 和 100 μ g/ml,并在 37℃ 下培养 5 天。回收培养上清,用 I 型前胶原 C-肽 EIA 试剂盒 (Procollagen Type I C-peptide EIA Kit) (Takara 公司制) 测定培养上清中的 I 型胶原量,从而研究成骨细胞分化促进活性。另外,将未添加乳蛋白质的试样作为对照。胶原量以各样品的 I 型胶原测定量相对于对照的 I 型胶原测定量的比例 (%) 表示。结果如表 1 所示。

[0053] 表 1

[0054]

试样	最终浓度	成骨细胞分化促进活性
对照	——	100 ± 4.3 (±SD)
乳蛋白质级分 (参考例 1)	100 μ g/ml	157.2 ± 8.7
乳蛋白质级分 (实施例 1)	100 μ g/ml	250.9 ± 12.7
乳蛋白质级分 (实施例 1)	10 μ g/ml	180.3 ± 5.6

[0055] 在添加了实施例 1 和参考例 1 中得到的乳蛋白质级分的组中,与对照组相比,I 型胶原量均增加,可知其具有促进成骨细胞分化的作用。另外,实施例 1 中得到的乳蛋白质级

分与参考例 1 相比, I 型胶原量的产生更显著, 可知其具有更强的成骨细胞分化促进活性。

[0056] [试验例 2]

[0057] 以 2×10^4 cells/ 孔的方式将 ST2 细胞接种到 96 孔培养板中, 用含有 10% FBS 的 α -MEM 培养基 (GIBCO 公司制) 在 37°C 、5% CO_2 的条件下培养 2 天。将从 ddy 小鼠 (7 或 8 周龄, 雄性) 的大腿骨采集的骨髓细胞接种到上述 ST2 细胞层, 在 37°C 、5% CO_2 的条件下培养 24 小时后, 除去培养液, 以 $90 \mu\text{l}$ / 孔的方式添加包含 $1 \times 10^{-8}\text{M}$ 的 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 和 $1 \times 10^{-7}\text{M}$ 的地塞米松 (dexamethasone) 的、含有 1.0% FBS 的 α -MEM 培养基。接着, 以 $10 \mu\text{l}$ / 孔的方式添加作为试样的实施例 1 中调制的乳蛋白质级分 (本发明品) 和作为对照的参考例 1 中调制的乳蛋白质级分 (参考例), 在 37°C 、5% CO_2 的条件下培养 3 天后, 更换培养基, 再培养 3 天。培养结束后, 除去培养液, 用 PBS 清洗, 用丙酮-乙醇 (1 : 1) 溶液处理 1 分钟进行固定, 然后以 $10.0 \mu\text{l}$ / 孔的方式添加 1.5mg/ml 的对硝基苯基磷酸二钠-20mM 酒石酸钠-50mM 柠檬酸缓冲液 (pH4.5), 在室温下反应 30 分钟。以 $50 \mu\text{l}$ / 孔的方式添加 1M 氢氧化钠溶液而停止反应后, 测定 405nm 的吸光度, 作为破骨细胞分化成熟的指标。

[0058] 图 1 所示为破骨细胞分化成熟试验结果。吸光度越高, 则表示破骨细胞的分化成熟越多。

[0059] 由此可知, 实施例 1 中调制的乳蛋白质级分 (本发明品) 与作为对照的参考例 1 中调制的乳蛋白质级分 (参考例) 相比, 破骨细胞的分化成熟受到了抑制。因此, 可知本发明品与参考例 1 的乳蛋白质相比, 显著地抑制了破骨细胞的分化成熟。

[0060] 试验例 3

[0061] 关于参考例 1 和实施例 1 中得到的各蛋白质级分, 通过动物实验研究了骨强化作用。动物实验中使用了 4 周龄的 C57BL/6J 系雌性小鼠。在 1 周的预备饲养后, 实施卵巢摘除手术, 然后以钙缺乏饲料饲养 5 周并供于动物实验。另外, 摘除了卵巢、并以钙缺乏饲料饲养了 5 周的小鼠明显处于骨质疏松症的状态。将产生了该骨质疏松症状态的小鼠以 1 组 7 只分别分配到下述 3 个试验组: 未添加乳蛋白质级分的对照组 (A 组)、添加了 0.1 重量% 的参考例 1 中得到的乳蛋白质级分的投与组 (B 组)、添加了 0.1 重量% 的实施例 1 中得到的乳蛋白质级分的投与组 (C 组), 分别用表 2 所示的试验饲料饲养 4 个月。另外, 用酪蛋白调整各试验饲料的氮含量, 使其具有相同的氮含量 (17.06%)。另外, 对于各试验饲料, 在每 100g 中配合 300mg 钙、230mg 磷和 50mg 镁。

[0062] 表 2

[0063]

	A组	B组	C组
酪蛋白	20.0	19.9	19.9
玉米淀粉	15.0	15.0	15.0
纤维素	5.0	5.0	5.0
玉米油	5.0	5.0	5.0
维生素混合物	1.0	1.0	1.0
矿物质混合物	2.65	2.65	2.65
蔗糖	51.05	51.05	51.05
DL-蛋氨酸	0.3	0.3	0.3
参考例 1 中得到的乳蛋白质级分	—	0.1	—
实施例 1 中得到的乳蛋白质级分	—	—	0.1

[0064] (重量%)

[0065] 对于饲养了 4 个月的小鼠,摘除大腿骨,用骨盐量测定装置(DCS-600, Aloka 公司制)通过双能 X 射线吸收测定法(DEXA 法)测定骨密度。对照组也同样地测定了大腿骨的骨密度。其结果示于图 2。由此可知,通过摄取 4 个月的试验饲料,与对照组相比,参考例 1 中得到的乳蛋白质级分投与组(B组)和实施例 1 中得到的乳蛋白质级分投与组(C组)的小鼠的大腿骨的骨密度显著较高。虽然在各乳蛋白质级分中确认到了骨密度上升作用、即促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用,但与参考例 1 中得到的乳蛋白质级分相比,本发明品的该作用更强。

[0066] 另外,虽然没有示出实验结果,但在使用了实施例 3 和实施例 4 中得到的乳蛋白质级分分解物的情况下也确认到了同样的效果。

[0067] 实施例 5

[0068] 在 100mg 实施例 1 中得到的乳蛋白质级分中添加 93.4g 水合晶体葡萄糖、5g 碳酸钙、1g 糖酯、0.5g 香料,混和,然后压片制成片状,制造本发明的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂。

[0069] 实施例 6

[0070] 以表 3 所示的组成混合各成分并制成生面团,成形后进行烘焙,制造用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的饼干。

[0071] 表 3

[0072]	小麦粉	50.0 (重量 %)
	砂糖	20.0
	食盐	0.5
	人造黄油	12.5
	蛋	12.1
	水	4.0
	碳酸氢钠	0.1
	碳酸氢铵	0.2
	碳酸钙	0.5
	乳蛋白质级分粉末 (实施例 1)	0.1

[0073] 实施例 7

[0074] 制造表 4 所示的组成的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的果汁饮料。

[0075] 表 4

[0076]	混合异构化糖	15.0 (重量 %)
	果汁	10.0
	柠檬酸	0.5
	乳蛋白质级分粉末 (实施例 1)	0.5
	香料	0.1
	钙	0.1
	水	73.8

[0077] 实施例 8

[0078] 根据表 5 所示的配方混合原料, 制造用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的狗饲育饲料。

[0079] 表 5

[0080]	乳蛋白质级分粉末（实施例 1）	2.5（重量 %）
	脱脂乳粉	13.5
	豆饼	12.0
	豆油	4.0
	玉米油	2.0
	棕榈油	27.0
	玉米淀粉	14.0
	小麦粉	9.0
	麸皮	2.0
	维生素混合物	9.0
	矿物质混合物	2.0
	纤维素	3.0

[0081] 实施例 9

[0082] 以表 6 所示的组成混合各成分，加压成形，调制配合有实施例 3 中得到的乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的片剂。

[0083] 表 6

[0084]	水合晶体葡萄糖	59.4（重量 %）
	乳蛋白质级分分解物（实施例 3）	16.0
	玉米淀粉	12.0
	纤维素	4.0
	玉米油	4.0
	维生素混合物（含胆碱）	1.0
	矿物质混合物	3.6

[0085] 实施例 10

[0086] 以表 7 所示的组成混合各成分，在乳化温度 85℃ 下乳化，调制配合有实施例 4 中得到的乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的加工干酪。

[0087] 表 7

[0088]	高达干酪	43.0 (重量 %)
	切达干酪	43.0
	柠檬酸钠	2.0
	乳蛋白质级分分解物 (实施例 4)	0.5
	乳来源的钙	1.0
	水	10.5

[0089] 产业上的可利用性

[0090] 本发明的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物由于可以抑制破骨细胞的分化,因而具有骨强化作用,而且对于抑制骨质疏松症等骨量减少有效,因此,能够制成以具有促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物为有效成分的促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的制剂、以及配合有具有用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的作用的乳蛋白质级分或乳蛋白质级分分解物的用于促进成骨细胞分化和抑制破骨细胞分化的药品、饮食品 and 饲料使用。

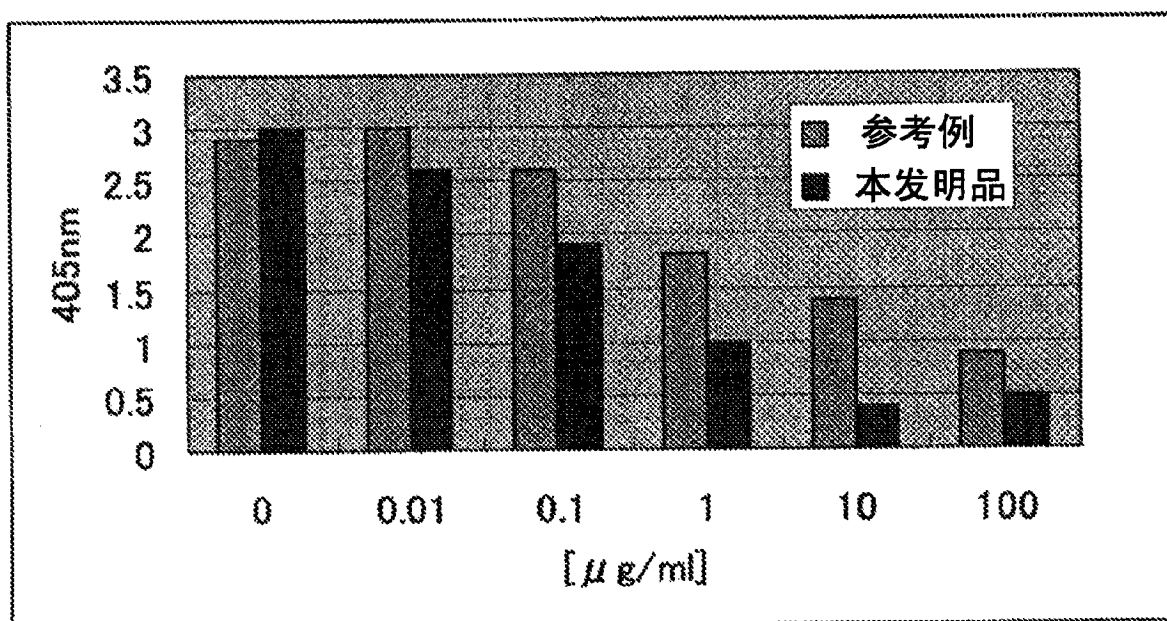


图 1

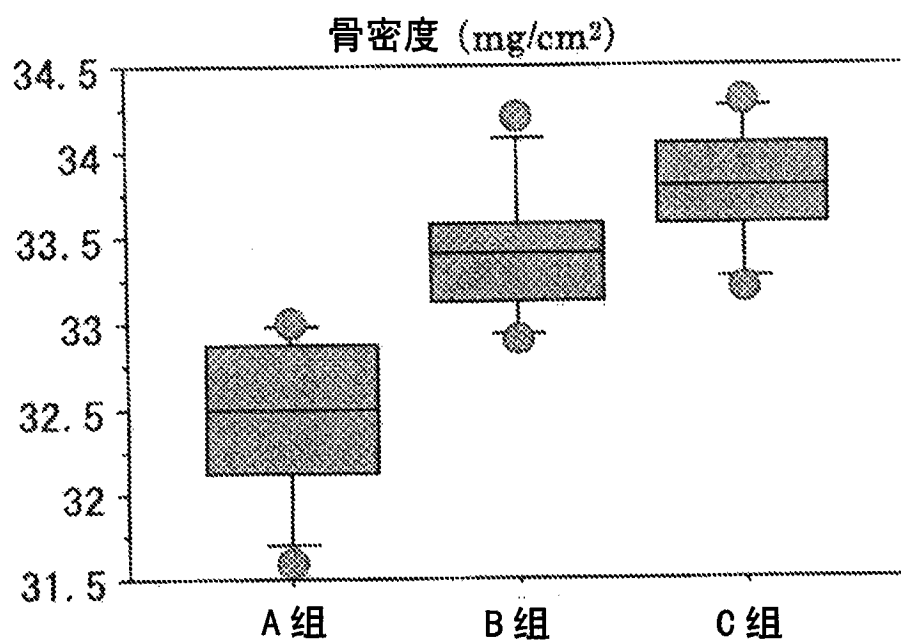


图 2