



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115426892 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 02

(21) 申请号 202180029282.6

(22) 申请日 2021.04.19

(30) 优先权数据

20382316.6 2020.04.20 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.10.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/027915 2021.04.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/216420 EN 2021.10.28

(71) 申请人 雅培制药有限公司

地址 美国伊利诺斯州

(72) 发明人 J·M·洛佩兹佩德罗萨

J·加西亚马丁内斯

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

专利代理师 吕艳英 陈艳娟

(51) Int.Cl.

A23K 10/28 (2006.01)

A23C 23/00 (2006.01)

A23J 1/20 (2006.01)

A23L 33/19 (2006.01)

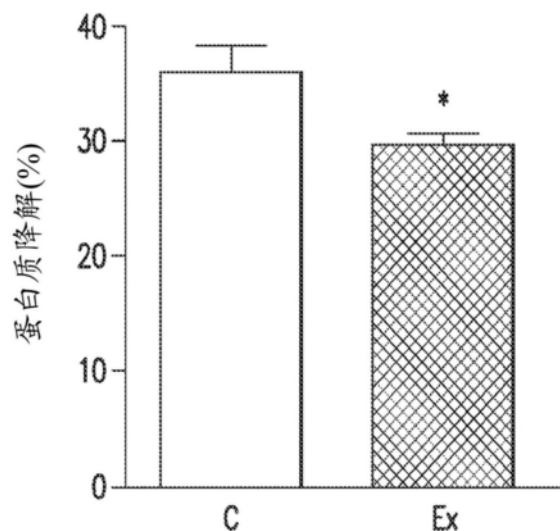
权利要求书2页 说明书11页 附图3页

(54) 发明名称

减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法

(57) 摘要

在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法包括口服施用营养组合物,所述营养组合物包含蛋白质、脂肪和碳水化合物中的至少一种,以及包含完整外来体的牛乳分离的外来体。在具体实施方案中,所述受试者患有营养不良、获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、癌症、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)或烧伤,或已接受临床皮质类固醇治疗。



1. 一种在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法,所述方法包括口服施用营养组合物,所述营养组合物包含蛋白质、脂肪和碳水化合物中的至少一种,以及包含完整外来体的牛乳分离的外来体。

2. 如权利要求1所述的方法,其中大于90%的所述牛乳分离的外来体的直径为约10纳米至约250纳米。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述营养组合物包含基于所述营养组合物的重量,约0.001重量%至约10重量%的所述牛乳分离的外来体。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述受试者是40岁以上的成年人。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述受试者患有营养不良、获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、癌症、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、非酒精性脂肪肝病(NAFD)或烧伤,或已接受临床皮质类固醇治疗。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其是用于减少肌肉萎缩。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其是用于促进肌肉再生。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含蛋白质。

9. 如权利要求8所述的方法,其中所述营养组合物还包含脂肪和碳水化合物。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含至少一种选自以下的蛋白质:全蛋粉、蛋黄粉、蛋清粉、乳清蛋白、乳清蛋白浓缩物、乳清蛋白分离物、乳清蛋白水解物、酸性酪蛋白、酪蛋白分离物、酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钙、酪蛋白酸钾、酪蛋白水解物、乳蛋白浓缩物、乳蛋白分离物、乳蛋白水解物、脱脂乳粉、浓缩脱脂乳、全脂牛乳、部分或完全脱脂乳、椰乳、大豆蛋白浓缩物、大豆蛋白分离物、大豆蛋白水解物、豌豆蛋白浓缩物、豌豆蛋白分离物、豌豆蛋白水解物、大米蛋白浓缩物、大米蛋白分离物、大米蛋白水解物、蚕豆蛋白浓缩物、蚕豆蛋白分离物、蚕豆蛋白水解物、胶原蛋白、胶原蛋白分离物、肉蛋白、马铃薯蛋白、鹰嘴豆蛋白、油菜蛋白、绿豆蛋白、藜麦蛋白、苋菜蛋白、奇亚籽蛋白、大麻蛋白、亚麻籽蛋白、蚯蚓蛋白、昆虫蛋白,以及它们中的两种或更多种的组合。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含至少一种选自以下的脂肪:海藻油、菜籽油、亚麻籽油、琉璃苣油、红花油、高油酸红花油、高 γ -亚麻酸(GLA)红花油、玉米油、大豆油、葵花油、高油酸葵花油、棉籽油、椰子油、分馏椰子油、中链甘油三酯(MCT)油、棕榈油、棕榈仁油、棕榈油精、长链多不饱和脂肪酸,以及它们中的两种或更多种的组合。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含至少一种选自以下的碳水化合物:麦芽糖糊精、水解淀粉、改性淀粉、水解玉米淀粉、改性玉米淀粉、聚葡萄糖、糊精、玉米糖浆、玉米糖浆固体、大米麦芽糖糊精、糙米麸、糙米糖浆、蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖、高果糖玉米糖浆、蜂蜜、麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇、异麦芽酮糖、蔗糖酮糖醇、支链淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉、低聚果糖、低聚半乳糖、燕麦纤维、大豆纤维、阿拉伯胶(gum arabic)、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、瓜尔胶、结冷胶、刺槐豆胶、魔芋粉、羟丙基甲基纤维素、黄蓍胶、刺梧桐胶、阿拉伯胶(gum acacia)、壳聚糖、阿拉伯半乳聚糖、葡甘露聚糖、黄原胶、海藻酸盐、果胶、低甲氧基果胶、高甲氧基果胶、谷物 β -葡聚糖、角叉菜胶、洋车前子、纤维、水果泥、蔬菜泥、异麦芽低聚糖、单糖、二糖、木薯衍生碳水化合物、菊粉和人造甜味剂,以及它们中的两种或更多种的组合。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含基于所述营养组合物的重量,约1重量%至约30重量%、约1重量%至约25重量%、约1重量%至约20重量%、约1重量%至约15重量%、约1重量%至约10重量%、或约10重量%至约30重量%的蛋白质。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含基于所述营养组合物的重量,0.5重量%至20重量%、约0.5重量%至约15重量%、约0.5重量%至约10重量%、约0.5重量%至约5重量%、或约5重量%至约15重量%的脂肪。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含基于所述营养组合物的重量,约5重量%至约75重量%、约5重量%至约70重量%、约5重量%至约65重量%、约5重量%至约50重量%、约5重量%至约40重量%、约5重量%至约30重量%、约5重量%至约25重量%、约10重量%至约65重量%、约20重量%至约65重量%、约30重量%至约65重量%、约40重量%至约65重量%、或约15重量%至约25重量%的碳水化合物。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述营养组合物是液体营养组合物并且包含基于所述营养组合物的重量,约1重量%至约15重量%的蛋白质、约0.5重量%至约10重量%的脂肪和约5重量%至约30重量%的碳水化合物。

17. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述营养组合物是粉末营养组合物并且包含基于所述营养组合物的重量,约10重量%至约30重量%的蛋白质、约5重量%至约15重量%的脂肪和约30重量%至约65重量%的碳水化合物。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述营养组合物包含至少一种蛋白质,所述蛋白质包括乳蛋白浓缩物和/或大豆蛋白分离物;至少一种脂肪,所述脂肪包括菜籽油、玉米油、椰子油和/或海洋油;和至少一种碳水化合物,所述碳水化合物包括麦芽糖糊精、蔗糖和/或短链低聚果糖。

减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及通过口服施用包含有包含完整外来体的牛乳分离的外来体的营养组合物来减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法。

背景技术

[0002] 骨骼肌是体内最丰富的组织。骨骼肌的质量和功能是整个生命周期中力量、耐力和身体表现的关键决定因素。骨骼肌是一种可塑组织,其根据生理和病理条件显示出肌肉质量和肌肉纤维大小的变化。

[0003] 骨骼肌质量通过蛋白质合成和蛋白质降解之间的微妙平衡来维持。肌肉是一种高度适应性组织,其对合成代谢刺激诸如身体活动或食物摄入做出快速反应。相反,已知长时间禁食或制动会导致肌肉快速损失。当蛋白质降解率超过蛋白质合成时,就会发生肌肉萎缩。这种现象在各种各样的条件下发生。例如,肌肉消耗是与诸如以下的疾病的预后不良和负面结果有关的常见特性:获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、癌症、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)和烧伤。肌肉损失优先于肌肉生长的分解代谢状况也在人类生命周期中发生。在成年人中从35-40岁开始,肌肉质量通常开始以每年0.4%-1.0%的速度逐渐下降。在其他方面健康的老龄化个体中,与年龄相关的肌肉质量和力量损失被称为肌肉减少症。所导致的肌肉质量和力量下降可能会增加发展代谢疾病和/或身体残疾的风险,并可能导致无法维持日常功能。科学界存在一个共识,肌肉萎缩与多种不良结果有关,包括疾病恢复延迟、生活质量下降、身体残疾、静息代谢率降低、胰岛素敏感性降低、伤口愈合减慢和医疗保健费用增高。

[0004] 骨骼肌组织对合成代谢刺激(即饮食蛋白质摄入和身体活动)做出反应,以进行蛋白质合成。然而,对于遭受伤害、疾病和/或衰老的受试者,不可能总是进行足够的身体活动来合成蛋白质以维持或增加肌肉质量。因此,需要制定营养干预策略来抵抗或减少肌肉质量和力量的损失和/或促进肌肉再生。

发明内容

[0005] 本发明涉及在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法。本发明的一个目的是提供尤其适合于如下受试者的此类方法,对于所述受试者来说,实施足以进行蛋白质合成以维持或增加肌肉质量的身体活动干预是不方便和/或不可能的。

[0006] 在一个实施方案中,本发明涉及在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法。所述方法包括口服施用营养组合物,所述营养组合物包含蛋白质、脂肪和碳水化合物中的至少一种,以及包含完整外来体的牛乳分离的外来体。

[0007] 本发明的方法有利于提供一种在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的便利方式。根据受试者肌肉萎缩的风险,可根据需要在一段时间内连续进行所述方法。鉴于具体实施方式,本发明方法的这些和额外优点将更加明显。

附图说明

[0008] 本发明的某些方面在附图中示出,其中:

[0009] 图1显示了如实施例2中所述,通过地塞米松(C)和在存在完整牛乳分离的外来体(Ex)的情况下的蛋白质降解;

[0010] 图2显示了如实施例2中所述,单独孵育的肌管(C)和与牛乳分离的外来体一起孵育的肌管的Akt磷酸化;

[0011] 图3显示了如实施例2中所述,各种组分对泛素启动子转录活性的影响;

[0012] 图4显示了如实施例2中所述,各种组分对atrogin-1蛋白水平的影响;

[0013] 图5显示了如实施例2中所述,各种组分对FoxO转录活性的影响;并且

[0014] 图6显示了如实施例2中所述,完整牛乳分离的外来体和超声处理的外来体分别对成肌细胞中Mef2的影响。

具体实施方式

[0015] 尽管本发明一般概念易于以许多不同形式实施,但本文详细描述的是本发明的具体实施方案,应理解本公开应被视为本发明一般概念的原理的示例。因此,本发明一般概念不意欲限于本文所示和描述的具体实施方案。

[0016] 在一个实施方案中,本发明针对涉及施用营养组合物的方法。除非另有说明,否则如本文所用的术语“营养组合物”涵盖所有形式的营养组合物,包括营养液,包括乳化液,和通过例如经由添加水来重构营养粉所形成的液体;和营养固体,包括但不限于粉状固体。营养组合物适合人类口服食用。

[0017] 除非另有说明,否则如本文所用的所有百分率、份数和比率均是按总组合物的重量计。除非另有说明,否则涉及所列出成分的所有此类重量均是基于活性水平,并且因此不包含商业上可用的材料中可包含的溶剂或副产物。

[0018] 如本文所陈述的术语仅用于描述实施方案,并且不应被解释为总体上限制本公开。除非另有规定,否则“一(a/an)”、“所述”和“至少一个”可互换使用。此外,除非上下文另有清楚指示,否则如本说明书和所附权利要求书中所用,单数形式“一(a/an)”和“所述”包括其复数形式。

[0019] 在整个说明书中,当关于本发明的特定特征来定义值范围时,本发明涉及并明确包含其中的每个特定子范围。此外,在整个说明书中,当关于本发明的特定特征来定义一组物质时,本发明涉及并明确包含其中的每个特定子组。任何指定的范围或组应理解为单独指代范围或组的每个成员以及包含在其中的每个可能的子范围或子组的简写方式。

[0020] 本公开的方法中使用的营养组合物的不同实施方案也可基本上不含本文所述的任何任选或所选成分或特征,条件是其余营养组合物仍含有本文所述的所有必要成分或特征。在此上下文中并且除非另有说明,否则术语“基本上不含”意指所选营养产品含有小于功能量的任选成分,通常按此类任选或所选必需成分的重量计小于1%,包括小于0.5%,包括小于0.1%并且还包含零百分比。

[0021] 本文所述的方法和营养组合物可包括分别如本文所述的基本步骤和要素以及分别如本文所述的任何额外或任选步骤和要素、由所述步骤和要素组成、或基本上由所述步骤和要素组成。可以任何顺序进行如本文所用的方法或过程步骤的任何组合,除非在提及

所述组合的上下文中相反地另有说明或明确暗示。

[0022] 除非本文另外指示,否则所有示例性实施方案、子实施方案、具体实施方案和任选实施方案均为本文所述的所有实施方案的相应示例性实施方案、子实施方案、具体实施方案和任选实施方案。

[0023] 在一个实施方案中,本发明涉及一种在具有肌肉萎缩风险的受试者中减少肌肉萎缩和/或促进肌肉再生的方法。在一个具体实施方案中,受试者是人。在其他实施方案中,受试者是非人动物。例如,受试者可以是老年人,例如,40岁以上、45岁以上、50岁以上、55岁以上、60岁以上、65岁以上、70岁以上或更大。如前所述,老年人通常表现出肌肉质量的一些减少,并且可能在仅通过饮食蛋白质摄入和运动来防止这种减少方面遇到困难。在其他方面健康的老年个体中,与年龄相关的肌肉质量和力量损失也被称为肌肉减少症。

[0024] 在另外的实施方案中,受试者可能正在经历涉及肌肉萎缩或涉及发展肌肉萎缩的风险的事件。例如,受试者可能患有获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、癌症,包括癌症恶病质、糖尿病、慢性阻塞性肺病(COPD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)或烧伤,这些病状通常涉及肌肉消耗。在另外的实施方案中,受试者可能已经经历了长时间的营养不良和/或接受了临床皮质类固醇治疗。

[0025] 本发明的方法包括口服施用营养组合物,所述营养组合物包含蛋白质、脂肪和碳水化合物中的至少一种,以及包含完整外来体的牛乳分离的外来体。发明人惊奇地发现完整牛乳分离的外来体影响某些有助于减少肌肉萎缩和/或有助于增加肌肉再生的细胞机制。

[0026] 除非另有说明,否则如本文所用的术语“牛乳分离的外来体”是指已与其他牛乳组分诸如脂质、细胞和碎片基本上分离并且以高于在牛乳中存在的量来浓缩的外来体。乳外来体是“溶解”在牛乳中的小固体颗粒,并且占乳的总固体的一小部分。如本文所述的外来体的分离产生流体,其中最初存在于乳中的外来体被浓缩。显而易见,牛乳分离的外来体还可含有与乳外来体具有相同大小并与外来体共同分离的其他乳固体(即酪蛋白和其他乳清蛋白)。除非另有说明,否则如本文所用的术语“粉状外来体”是指含有已从牛乳中分离的外来体的干粉。将分离的外来体干燥以形成干粉。由于含有外来体的分离流体还含有如上所述的共同分离的乳固体,粉状外来体在所得粉末中也含有此类其他乳固体。在一个实施方案中,分离的外来体含有至少10重量%的外来体、至少15重量%的外来体、至少20重量%或至少25重量%的外来体,并且其余为其他牛乳分离的组分。

[0027] 重要的是,本发明的粉状外来体包含完整的外来体。完整的外来体是其中脂质膜未受损且外来体的内容物保留在外来体中的外来体。完整的牛乳外来体含有多种生物活性剂,例如用于促进不同器官、组织和系统的健康功能的多种miRNA。然而,如果外来体的脂质膜破裂,诸如miRNA的因子往往会迅速降解并丧失其有益功能。乳外来体为miRNA提供了保护环境,但目前许多分离外来体的技术往往会导致外来体膜受损,从而导致生物活性剂降解。本发明使用利用温和程序从牛乳中获得的完整分离的外来体,所述程序不破坏外来体膜,从而使外来体保持完整并且使生物活性剂包含在外来体结构内。

[0028] 尽管可以采用各种方法来确认外来体是完整的,但一种这样的方法采用乙酸双氧铀染色,例如,用2%乙酸双氧铀染色5分钟。乙酸双氧铀“负性”染色外来体,即仅当外来体膜破裂或受损时,乙酸双氧铀才会对外来体的内部区室进行染色。此外,例如当使用透射电

子显微镜 (TEM) 在 10,000X 下观察时,膜受损的外来体往往会聚集并失去其典型的球形形状。

[0029] 在一个实施方案中,分离和浓缩的外来体以液体悬浮液的形式提供。在另一个实施方案中,将浓缩外来体的悬浮液干燥以提供粉状外来体。可使用各种方法来分离外来体,但要小心避免破坏脂质膜。新鲜牛乳、冷藏牛乳、解冻的冷冻牛乳或以其他方式保存的牛乳可用作外来体的来源。在具体实施方案中,分离外来体包括在从牛获得乳后立即进行分离。在另外的实施方案中,分离外来体包括在从牛获得乳的时间起约 1 天、或约 2 天、或约 3 天、或约 4 天、或约 5 天或约 6 天或约 7 天内进行分离。在具体实施方案中,外来体在从牛获得乳的时间起约 10 天内或约 14 天内分离。在另外的实施方案中,可将牛乳冷冻然后解冻以进行用于分离外来体的加工,其中牛乳优选地在从牛获得乳的时间起约 1 天、或约 2 天、或约 3 天、或约 4 天、或约 5 天或约 6 天或约 7 天内被冷冻。解冻的乳优选在解冻后立即加工。在一个具体实施方案中,新鲜牛乳在从牛获得乳后约 5 天内经受加工,或经受加工的解冻牛乳是由在从牛获得乳后约 5 天内冷冻的牛乳解冻的。

[0030] 在一个实施方案中,含乳清的牛乳级分或具体地乳酪乳清用作外来体的来源。在一个具体实施方案中,通过将牛乳产品的 pH 降低至例如约 3.0 至 4.6 以使乳固体沉淀,并去除乳固体来提供含乳清的牛乳级分。这种级分通常作为乳酪制作中的副产品产生,并且被称为乳酪乳清。

[0031] 在一个实施方案中,通过使牛乳或牛乳产品离心以形成脂质级分顶层、乳清级分中间层以及细胞和碎片的第一沉淀,从牛乳或牛乳产品诸如乳酪乳清中分离外来体。将乳清级分与脂质级分 and 第一沉淀分离,并且例如以更高的速度且任选地以增加的时间,进行一次或多次进一步的离心,以产生基本上澄清的乳清级分。例如,去除额外的脂肪、酪蛋白聚集体和碎片以产生基本上澄清的乳清级分。然后将基本上澄清的乳清级分微细过滤以去除残留的碎片。然后对微细过滤的乳清级分进行额外的离心以获得含有外来体的第二沉淀。然后将此第二沉淀小心地悬浮在水性介质中以溶解第二沉淀而不破坏其中的外来体膜并提供外来体悬浮液。以不破坏外来体膜的温和方式,使第二沉淀悬浮是很重要的。在一个具体实施方案中,将第二沉淀在水性介质诸如无菌磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 或水中孵育延长的时间段,例如至少 6 小时、至少 8 小时、至少 10 小时或至少 12 小时,以及多至 18、24、30 或 36 小时、或更多小时。例如,可采用低速即不超过 500rpm 的定轨振荡器。一旦沉淀完全悬浮,可将悬浮液以悬浮液形式添加到营养组合物中,或者可干燥以获得粉状外来体。同样,任何干燥步骤都必须小心进行,以避免破坏外来体的脂质膜。在一个具体实施方案中,干燥步骤包括冷冻干燥。

[0032] 在本发明的具体实施方案中,外来体分离包括以特定速度、时间和/或温度离心。如本文所述的离心时间和速度提供了完整的外来体分离,因为如果离心力过大,会导致外来体膜损伤。在具体实施方案中,将牛乳在低于约 15,000G 下,例如,在约 12,000G 下,例如,在约 4°C 下离心约 15 分钟,以获得在脂肪 (脂质) 顶层与细胞碎片沉淀之间形成的乳清层。在具体实施方案中,将乳清级分再离心两次,每次仍在保持外来体完整形式的条件下,例如在约 21,000G 和约 4°C 下离心约 30 分钟,以去除额外的脂肪和/或碎片。获得基本上澄清的乳清级分。例如使用具有低蛋白质保留的亲水材料诸如聚醚砜的 0.22 μ m 过滤器,对基本上澄清的乳清级分进行微细过滤,然后将微细过滤的乳清在 100,000G 下、在 4°C 下离心约 60 分钟,

形成含有外来体的沉淀。在具体实施方案中,通过孵育至少约12小时、或约12小时至约36小时、或约15小时至约30小时、或约18小时至约24小时,将含有外来体的沉淀溶解在定轨振荡器中。溶解是在保持外来体完整形式的条件下进行的,即膜未受损并且外来体的内容物保持在其中。

[0033] 如果需要粉末形式用于储存或处理,或用于与其他成分一起添加到组合物例如营养组合物,则可将外来体干燥。任何此类干燥均在保持外来体完整形式的条件下进行。在本发明的具体实施方案中,在保持外来体完整形式的条件下,例如通过冷冻干燥或喷雾干燥,将分离的外来体干燥,以形成粉状外来体。在本发明的具体实施方案中,冷冻干燥的步骤包括将外来体悬浮液暴露于-80℃的温度和小于0.3毫巴的真空足够的时间。在具体的实施方案中,取决于待冷冻干燥的液体的量和冷冻干燥设备的特征,时间可从约5至约40小时,更具体地从约10至约30小时,或从约15至约25小时变化。重要的是,所述过程应使外来体完全干燥。在一个具体实施方案中,如实施例所述,在-80℃的温度和小于0.3毫巴的真空下,冷冻干燥的时间段为24小时或更长。

[0034] 提供用于本发明方法的完整牛乳分离的外来体的另外的实施方案包括用于冷冻干燥的时间、温度和压力的变化。在所述方法的另外的实施方案中,将乳外来体保持在至少约-50℃、或至少约-60℃、或至少约-70℃、或至少约-80℃的温度下,经受小于约0.3毫巴、或小于约0.2毫巴、或小于约0.1毫巴的真空,并在这些条件下保持至少约5、10、15、20、25、30、35或40小时。

[0035] 根据此类方法产生的外来体的液体悬浮液和粉状外来体均包含完整的外来体,即其中膜没有破裂和/或以其他方式降解并且外来体的内容物保留在其中的外来体。在具体实施方案中,至少约50重量%的外来体悬浮液或粉末形式的外来体是完整的。在进一步的实施方案中,至少约55重量%、60重量%、65重量%、70重量%、75重量%、80重量%、85重量%、90重量%或95重量%的外来体悬浮液或粉末形式的外来体是完整的。

[0036] 在具体实施方案中,大于90%的分离的外来体的直径为约10纳米至约250纳米,或直径为约20nm至200nm,或直径为约50nm至150nm。

[0037] 本文所述的营养组合物的具体实施方案包括蛋白质、碳水化合物和/或脂肪,以及牛乳分离的外来体。牛乳分离的外来体可以有效提供所描述的减少肌肉萎缩和/或增加肌肉再生的治疗益处的任何所需量包含在营养组合物中。在一个具体实施方案中,营养组合物包含基于组合物的重量,约0.001重量%至约10重量%的呈液体悬浮液或粉末形式的牛乳分离的外来体,或更具体地,约0.1重量%至约5重量%的牛乳分离的外来体。所有提及组合物中牛乳分离的外来体的量是指添加到组合物中的含有外来体的液体悬浮液或粉末的量。

[0038] 多种来源和类型的蛋白质、碳水化合物和/或脂肪可用于本文所述的营养组合物的实施方案中。在具体实施方案中,本方法中使用的营养组合物包含蛋白质、碳水化合物和脂肪。

[0039] 在营养组合物的具体实施方案中,蛋白质占营养组合物的约1重量%至约30重量%。在更具体的实施方案中,蛋白质占营养组合物的约1重量%至约25重量%,包括营养组合物的约1重量%至约20重量%、约1重量%至约15重量%、约1重量%至约10重量%、约5重量%至约10重量%、或约10重量%至约20重量%。在另外的具体实施方案中,蛋白质占营

养组合物的约1重量%至约5重量%。在另外的具体实施方案中,蛋白质占营养组合物的约20重量%至约30重量%。

[0040] 营养组合物中可包含一种或多种蛋白质。多种来源和类型的蛋白质可用于本发明的方法中所用的营养组合物中。例如,蛋白质来源可包括但不限于完整的、水解的和部分水解的蛋白质,其可衍生自任何合适的来源,诸如乳(例如酪蛋白、乳清)、动物(例如肉类、鱼)、谷物(例如大米、糙米、玉米、大麦等)、蔬菜(例如大豆、豌豆、黄豌豆、蚕豆、鹰嘴豆、油菜(canola)、马铃薯、绿豆、古代谷物诸如藜麦、苋菜和奇亚籽、大麻、亚麻籽等),以及它们中的两种或更多种的组合。蛋白质还可包括已知用于营养产品的氨基酸(通常描述为游离氨基酸)和/或其代谢物中的一种或混合物或一种或多种此类氨基酸和/或代谢物与本文所述的完整的、水解的或部分水解的蛋白质的组合。氨基酸可以是天然存在的或合成的氨基酸。

[0041] 适用于本文所述的示例性营养组合物的蛋白质的更具体实例包括但不限于全蛋粉、蛋黄粉、蛋清粉、乳清蛋白、乳清蛋白浓缩物、乳清蛋白分离物、乳清蛋白水解物、酸性酪蛋白、酪蛋白分离物、酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钙、酪蛋白酸钾、酪蛋白水解物、乳蛋白浓缩物、乳蛋白分离物、乳蛋白水解物、脱脂乳粉、浓缩脱脂乳、全脂牛乳、部分或完全脱脂乳、椰乳、大豆蛋白浓缩物、大豆蛋白分离物、大豆蛋白水解物、豌豆蛋白浓缩物、豌豆蛋白分离物、豌豆蛋白水解物、大米蛋白浓缩物、大米蛋白分离物、大米蛋白水解物、蚕豆蛋白浓缩物、蚕豆蛋白分离物、蚕豆蛋白水解物、胶原蛋白、胶原蛋白分离物、肉蛋白诸如牛肉蛋白分离物和/或鸡蛋白分离物、马铃薯蛋白、鹰嘴豆蛋白、油菜蛋白、绿豆蛋白、藜麦蛋白、苋菜蛋白、奇亚籽蛋白、大麻蛋白、亚麻籽蛋白、蚯蚓蛋白、昆虫蛋白,以及它们中的两种或更多种的组合。合适的氨基酸可以是天然存在的或合成的氨基酸。在一个实施方案中,一种或多种支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸和/或缬氨酸)和/或一种或多种支链氨基酸的代谢物,例如亮氨酸(也称为 α -羟基异己酸或HICA)、异己酸酮(KIC)和/或 β -羟基- β -甲基丁酸(HMB)作为蛋白质包含在营养组合物中。营养组合物可包含任何单独蛋白质来源或任何上述各种蛋白质来源的组合。

[0042] 在具体实施方案中,碳水化合物以营养组合物的约5重量%至约75重量%的量存在。在更具体的实施方案中,碳水化合物以营养组合物的约5重量%至约70重量%,包括营养组合物的约5重量%至约65重量%、约5重量%至约50重量%、约5重量%至约40重量%、约5重量%至约30重量%、约5重量%至约25重量%、约10重量%至约65重量%、约20重量%至约65重量%、约30重量%wt%至约65重量%、约40重量%至约65重量%、或约15重量%至约25重量%的量存在。

[0043] 适用于营养组合物中的碳水化合物可以是简单的或复杂的,或它们的变体或组合。可使用任何碳水化合物来源,只要所述来源适用于营养组合物并且另外与营养组合物中存在的任何其他所选成分或特征相容。适用于营养组合物中的碳水化合物的非限制性实例包括麦芽糖糊精、水解或改性淀粉、水解或改性玉米淀粉、葡萄糖聚合物诸如聚葡萄糖和糊精、玉米糖浆、玉米糖浆固体、大米衍生的碳水化合物诸如大米麦芽糖糊精、糙米麸和糙米糖浆、蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖、高果糖玉米糖浆、蜂蜜、糖醇(例如麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇)、异麦芽酮糖、蔗糖酮糖醇(sucromalt)、支链淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉、低聚果糖、低聚半乳糖、燕麦纤维、大豆纤维、阿拉伯胶(gum arabic)、羧甲基纤维素钠、甲基纤

纤维素、瓜尔胶、结冷胶、刺槐豆胶、魔芋粉、羟丙基甲基纤维素、黄耆胶、刺梧桐胶、阿拉伯胶 (gum acacia)、壳聚糖、阿拉伯半乳聚糖 (arabinoglactin)、葡甘露聚糖、黄原胶、海藻酸盐、果胶、低甲氧基果胶、高甲氧基果胶、谷物 β -葡聚糖、角叉菜胶、洋车前子、FibersolTM、水果泥、蔬菜泥、异麦芽低聚糖、单糖、二糖、木薯衍生碳水化合物、菊粉、其他抗消化淀粉和人造甜味剂,以及它们中的两种或更多种的组合。营养组合可包含任何单独碳水化合物来源或任何上述各种碳水化合物来源的组合。

[0044] 除非另有说明,否则如本文所用的术语“脂肪”是指脂质、脂肪、油及其组合。在具体实施方案中,营养组合包含营养组合物的约0.5重量%至20重量%。在更具体的实施方案中,脂肪占营养组合物的约0.5重量%至18重量%,包括营养组合物的约0.5重量%至15重量%、约0.5重量%至10重量%、约0.5重量%至5重量%、约2重量%至8重量%、约5重量%至10重量%、约8重量%至12重量%、或约12重量%至18重量%。

[0045] 适用于营养组合物中的脂肪包括但不限于海藻油、菜籽油 (canola oil)、亚麻籽油、琉璃苣油、红花油、高油酸红花油、高 γ -亚麻酸 (GLA) 红花油、玉米油、大豆油、葵花油、高油酸葵花油、棉籽油、椰子油、分馏椰子油、中链甘油三酯 (MCT) 油、棕榈油、棕榈仁油、棕榈油精和长链多不饱和脂肪酸诸如二十二碳六烯酸 (DHA)、花生四烯酸 (ARA)、二十二碳五烯酸 (DPA)、二十碳五烯酸 (EPA) 及其组合。

[0046] 示例性营养组合物中的蛋白质、碳水化合物和/或脂肪的浓度和相对量可根据例如预期使用者的特定饮食需要而显著变化。在一个具体实施方案中,营养组合物包含基于营养组合物的重量,约2重量%至15重量%的量的蛋白质、约5重量%至25重量%的量的碳水化合物和约0.5重量%至12重量%的量的脂肪。

[0047] 在具体实施方案中,营养组合物具有中性pH,即约6至8或更具体地约6至7.5的pH。在更具体的实施方案中,营养组合物具有约6.5至7.2或更具体地约6.8至7.1的pH。

[0048] 营养组合物还可包含一种或多种额外组分,所述额外组分可修饰所述营养组合物的物理、化学、美学或加工特性,或充当额外的营养组分。额外组分的非限制性实例包括防腐剂、乳化剂 (例如卵磷脂)、缓冲剂、甜味剂包括人造甜味剂 (例如糖精、阿斯巴甜、乙酰舒泛K、三氯蔗糖)、着色剂、调味剂、增稠剂、稳定剂等。

[0049] 另外,营养组合物还可包含维生素或相关营养物,其非限制性实例包括维生素A、维生素B₁₂、维生素C、维生素D、维生素K、硫胺素、核黄素、吡哆醇、烟酸、叶酸、泛酸、生物素、胆碱、肌醇、其盐和衍生物、以及它们的组合。水溶性维生素可以水溶性维生素 (WSV) 预混物的形式加入和/或油溶性维生素可根据需要在一种或多种油载体中加入。

[0050] 在另外的实施方案中,营养组合物还可包含一种或多种矿物质,其非限制性实例包括钙、磷、镁、锌、锰、钠、钾、钼、铬、氯化物以及其组合。

[0051] 可使用本领域已知的任何技术形成营养组合物。在一个实施方案中,营养组合物可通过以下方式形成: (a) 制备包含蛋白质和碳水化合物的水溶液; (b) 制备包含脂肪和油溶性组分的油共混物; 及 (c) 将水溶液和油共混物混合在一起以形成乳化的液体营养组合物。完整的外来体可在所述过程中根据需要在任何时间添加,例如添加到水溶液或乳化共混物中。完整的外来体可以粉末形式与一种或多种干成分干混,例如,用于组合添加到液体组合物中或如果需要粉末状营养产品。

[0052] 减少肌肉萎缩和/或增加肌肉再生的方法包括将本文所述的营养组合物施用于具

有经历肌肉萎缩风险的受试者。营养组合物可根据需要以粉末或液体形式施用。在具体实施方案中,将包含牛乳分离的外来体的营养组合物每天或每周一次或多次施用于受试者。在具体实施方案中,将营养组合物每天或每周约1至约6次、或每天或每周约1至约5次、或每天或每周约1至约4次、或每天或每周约1至约3次施用于受试者。在具体实施方案中,营养组合物每天施用一次或两次,持续至少一周、至少两周、至少三周或至少四周的时间段。

[0053] 在具体实施方案中,营养组合物以减少肌肉萎缩和/或增加肌肉再生的有效量施用。在另外的具体实施方案中,营养组合物以足以提供约0.01g至约10g牛乳分离的外来体的剂量的量施用。在另外的实施方案中,通过施用营养组合物将约0.1g至约10g或约1g至约5g的牛乳分离的外来体的剂量施用于受试者。

[0054] 以下实施例展示了本发明方法的各个方面并且仅出于说明的目的而提供。实施例不应被解释为对本发明一般概念的限制,因为其许多变化在不背离本发明一般概念的精神和范围的情况下是可能的。

[0055] 实施例1

[0056] 此实施例描述了粉状外来体的制备。首先从牛乳中分离外来体,然后干燥。具体来说,将未加工的生牛乳等分并立即在-80℃下冷冻。将等分试样在冰上解冻,并在约4℃下以约12,000G进行第一次离心约15分钟,以获得在脂肪(脂质)顶层与细胞碎片沉淀之间形成的乳清层。将乳清级分转移到干净的管中并且再离心两次,每次在约21,000G和约4℃下离心约30分钟,所述条件保持外来体完整形式,以去除额外的脂肪和碎片。获得了基本上澄清的乳清级分。使用0.22μm亲水性聚醚砜过滤器,对基本上澄清的乳清级分进行微细过滤,然后将微细过滤的乳清在100,000G下、在4℃下离心约60分钟以获得含有外来体的沉淀。将含有外来体的沉淀小心地悬浮在离心管中的无菌PBS (137mM NaCl、2.7mM KCl、8mM Na₂HPO₄和2mM KH₂PO₄; pH 7.4) 或无菌分子生物学级水中,然后将其在定轨振荡器中以4℃和150rpm孵育12-36小时。值得注意的是,当不使用定轨振荡步骤时,会出现需要大量移液才能破碎的聚集体,从而导致外来体膜损伤。

[0057] 首先将外来体在-80℃冷冻至少2小时,然后将冷冻的外来体在保持外来体完整形式的条件下冷冻干燥。具体来说,冷冻干燥的步骤包括将冷冻的外来体暴露于-80℃的温度和小于0.3毫巴的真空,持续约24小时的足够时间段,以确保低水分含量。所得产物包含粉状外来体。

[0058] 重要的是,在冷冻干燥的真空阶段之前解冻外来体会导致乳外来体膜损伤。因此,本文描述的方法的实施方案包括冷冻乳外来体并保持乳外来体冷冻,直到冷冻干燥完成并产生乳粉外来体为止。本文所述的分离和干燥条件保持外来体脂质膜的完整性和外来体内容物的生物活性。

[0059] 实施例2

[0060] 将实施例1中制备的粉状完整牛乳分离的外来体的第一部分溶解在水中。将实施例1中制备的粉状外来体的第二部分溶解在水中并置于Ultrasons P-selecta超声仪中1小时。为了确保乳外来体膜的完全破坏,将超声处理的乳外来体在95℃下孵育15分钟。

[0061] 外来体用于体外测定以评估它们影响导致肌肉萎缩和肌肉再生的机制的能力。用L6.C11大鼠骨骼肌成肌细胞系(ECACC号92102119)进行体外实验。此细胞系在补充有10% (体积/体积) 胎牛血清(FBS)、2mmol/L谷氨酰胺、100单位/ml青霉素和0.1mg/ml链霉素的

DMEM(杜尔贝科氏改良依格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium))培养基中、在5%CO₂和95%空气的气氛中生长,并在生长培养基中保持亚汇合密度。通过将细胞在含有2%FBS(体积/体积)的DMEM中培养5天,使细胞分化成肌管。

[0062] 地塞米松诱导的蛋白质降解

[0063] 为了评估牛乳分离的外来体减少肌肉萎缩/消耗的能力,首先在完整牛乳外来体存在或不存在的条件下评估蛋白质降解。地塞米松是一种触发肌肉中的蛋白质降解的糖皮质激素,用于模拟高分解代谢条件。分别在15μg/ml的完整牛乳分离的外来体或超声处理的外来体的情况下,将L6.C11大鼠骨骼肌成肌细胞分化成肌管(在分化培养基中5天),并在DMEM培养基加10%FBS中用1μCi/ml L-[环-3,5-3H]-酪氨酸标记48h。将细胞用PBS-Tyr冲洗一次,然后置于补充有10%FBS、2mM L-酪氨酸加5μM DEX(地塞米松,降解培养基)的DMEM中2h,以允许降解非常短寿命的蛋白质。然后用PBS-Tyr冲洗细胞两次并加入新鲜的降解培养基。将细胞在降解培养基中再孵育24h时间段。在孵育期结束时,为了测量降解率,将培养基转移到含有100μl牛血清白蛋白(BSA)(10mg/ml)的微量离心管中。加入三氯乙酸(TCA)至终浓度为10%(重量/体积)。在4℃孵育至少1h后,将样品离心5min。然后用组织增溶剂溶解沉淀物。将细胞单层用冰冷的(PBS)洗涤并用含有0.1%Triton X-100的0.5M NaOH溶解。使用Beckman LS6000 SE闪烁计数器测量放射性。蛋白质降解表示为24-h时间段内降解的蛋白质百分比。

[0064] 如图1所示,与未添加外来体的对照(C)相比,当肌肉细胞在地塞米松存在下孵育时,添加完整牛乳分离的外来体(Ex)以在统计学上显著的方式减弱了地塞米松诱导蛋白质降解。这是一个特别相关的结果,因为肌肉生长反映了合成代谢和分解代谢过程之间的平衡。因此,完整牛乳分离的外来体可用于治疗或预防以蛋白质降解率增加为特征的病症。

[0065] 蛋白质降解和表达的分子标志物

[0066] 进行了另一组实验以证明完整牛乳分离的外来体以及在一些情况下超声处理的乳外来体对关键分子标志物的影响,具体而言对于肌肉萎缩来说,对泛素-蛋白酶体途径标志物Akt、FoxO、泛素和atrogin-1的影响,并且对于肌肉再生和肌生成来说,对标志物Mef2的影响。

[0067] 为了研究参与信号传导事件的蛋白质的磷酸化状态,将如前所述制备的L6肌管与15μg/ml完整牛乳分离的外来体一起孵育15、30、45和60分钟。将板在液氮中快速冷冻并处理用于蛋白质提取物制备。从冷的30mM Tris-HCl(pH 7.4)、25mM NaCl、1%(体积/体积)Triton X-100、0.1%十二烷基硫酸钠(SDS)、10mM氟化钠、10mM焦磷酸钠、1mM原钒酸钠、1mM乙二醇-双(β-氨基乙基)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、20nM冈田酸、10μg/ml抑肽酶、10μg/ml亮肽素、10μg/ml胃酶抑素的400μl/60-mm板上刮取细胞。在冰上10min后,将提取物在4℃、13,000G下离心10min。使用二辛可宁酸法测量蛋白质浓度。通过SDS-PAGE分离蛋白质,将其转移到硝酸纤维素膜(Schleicher&Schül 1),并用选定的抗体进行免疫印迹。按照制造商的说明,使用增强的化学发光检测系统(Amersham Biosciences)开发免疫印迹。

[0068] 为了研究与蛋白质降解相关的蛋白质FoxO、泛素和atrogin-1的表达,将如所述制备的L6肌管与15μg/ml完整牛乳分离的外来体或超声处理的乳外来体一起预孵育48h,然后在存在或不存在效应物的情况下与5μM地塞米松(DEX)一起孵育24h。当使用100nM巴弗洛霉素(Bafilomycin)A1时,它与DEX同时添加并在整个处理过程中保持在培养物中。处理后,用

补充有磷酸酶和蛋白酶抑制剂、10mM氟化钠、10mM焦磷酸钠、1mM原钒酸钠、1mM EGTA、20nM 冈田酸、10 μ g/ml抑肽酶、10 μ g/ml亮肽素和10 μ g/ml胃酶抑素的RIPA缓冲液裂解细胞。使用二辛可宁酸法测量蛋白质浓度。通过SDS-PAGE分离蛋白质(40 μ g),将其转移到硝酸纤维素膜上,并用特异性抗体进行免疫印迹;免疫印迹是通过增强的化学发光检测方法开发的。

[0069] 为了研究分化过程中MEF2的表达,将L6成肌细胞用15 μ g/ml的完整牛乳分离的外来体或超声处理的外来体处理3天。如上所述,用RIPA和磷酸酶抑制剂来处理细胞。

[0070] 蛋白激酶Akt是蛋白质降解和随后肌肉萎缩的主要调节剂之一。该过程涉及由于蛋白质、细胞器和细胞质的净损失导致的肌纤维收缩,主要通过泛素-蛋白酶体途径发生。在合成代谢条件下,泛素-蛋白酶体途径被磷酸化Akt通过叉头框0(FoxO)转录因子的失活磷酸化阻断。与完整牛乳分离的外来体一起孵育对Akt磷酸化状态的影响如图2所示。与不含外来体的对照(C)相比,当肌管与完整牛乳分离的外来体一起孵育时,Akt磷酸化显著增加。

[0071] 在泛素-蛋白酶体降解途径中,有两种元件被认为是肌肉萎缩的关键效应物。第一个是泛素基因,它在降解条件下被诱导产生小的调节性泛素蛋白。将要降解的蛋白质用泛素链标记,泛素是一种单体76个氨基酸的蛋白质,它成为将泛素化蛋白质引导至蛋白酶体的信号。该反应由两种泛素连接酶atrogen和Murfl来催化。泛素和泛素连接酶水平的增加是触发泛素-蛋白酶体介导的蛋白质降解所必需的。图3显示与地塞米松(Dex)一起孵育诱导泛素启动子转录活性。地塞米松诱导的泛素启动子转录活性是蛋白质降解的标志。当肌管与单独的完整牛乳分离的外来体(Ex)或单独的超声处理的乳外来体(sEx)一起孵育时,没有观察到这种转录活性诱导,因此表明完整牛乳分离的外来体和超声处理的乳外来体本身都不激活泛素-蛋白酶体降解途径。当地塞米松和完整牛乳分离的外来体(Dex+Ex)处理细胞时,泛素启动子转录活性以未添加地塞米松的对照组中的水平来测量。因此,冷冻干燥的外来体防止地塞米松诱导的泛素启动子转录活性。值得注意的是,当地塞米松和其中膜被破坏的超声处理的外来体(Dex+sEx)处理细胞时,没有观察到对蛋白质降解的防护作用。

[0072] 除了增加泛素基因转录外,泛素-蛋白酶体途径的激活还需要区室特异性泛素连接酶复合物,所述复合物用泛素来标记底物以进行蛋白酶体降解。因此,测定了肌管中atrogen-1(一种肌肉特异性泛素连接酶)的蛋白质水平。如图4所示,地塞米松(Dex)显著增加了atrogen-1的表达水平,但单独的完整牛乳分离的外来体(Ex)和单独的超声处理的牛乳外来体(sEx)都没有显著增加atrogen-1的表达水平,因为各自的p值高于0.05,并且因此,在统计学上,没有结论表明牛乳分离的外来体(Ex)或超声处理的牛乳外来体(sEx)与对照(C)不同。只有Dex在统计学上与对照(C)不同。如图4进一步所示,肌管与地塞米松和完整牛乳分离的外来体(Dex+Ex)一起孵育可防止地塞米松诱导的atrogen-1水平增加。然而,肌管与地塞米松和超声处理的外来体(Dex+sEx)一起孵育并没有提供这种防护作用。因此,完整牛乳分离的外来体可防止通过泛素-蛋白酶体系统降解蛋白质所需的atrogen-1蛋白水平的增加。

[0073] 如前所述,泛素-蛋白酶体途径被磷酸化Akt通过FoxO转录因子的失活磷酸化阻断。因此,还评估了FoxO基因转录。FoxO是控制泛素-蛋白酶体分解代谢途径的主要调节剂,并且其磷酸化是增加蛋白质降解所必需的。如图5所示,当肌管与单独的地塞米松(Dex)一

起孵育时,FoxO启动子转录活性被显著诱导。与单独的完整牛乳分离的外来体(Ex)或单独的超声处理的外来体(sEx)一起孵育不会增加FoxO启动子的转录活性。这再次具有特别的相关性,因为它显示单独的完整牛乳分离的外来体和单独的超声处理的冷冻干燥的外来体本身都不触发蛋白质降解。当肌管与地塞米松和完整牛乳分离的外来体(Dex+Ex)一起孵育时,FoxO启动子的转录活性显著降低。值得注意的是,当肌管与地塞米松和超声处理的牛乳外来体(Dex+sEx)一起孵育时,没有显示出这种保护作用。因此,地塞米松诱导的蛋白质降解促进因子FoxO的转录活性被完整牛乳分离的外来体消除,但不被超声处理的牛乳外来体消除。

[0074] 还研究了完整牛乳分离的外来体对肌肉肥大或分化的影响,特别是通过测量Mef2水平。Mef2在肌肉细胞分化产生成熟肌管的过程中增加,这是肌肉生长和再生所必需的。如图6所示,当将L6成肌细胞转移到分化培养基(C)时,Mef2表达从第0天的水平瞬时增加,特别是在第1天和第2天。还如图6所示,将完整牛乳分离的外来体添加至分化培养基(Ex)在所有三天内显著增加了Mef2的表达。当将超声处理的外来体添加到分化培养基(sEx)中时,这种诱导并未实现。

[0075] 总之,这些结果表明(1)完整牛乳分离的外来体本身不会诱导蛋白质降解或肌肉消耗;(2)在肌肉消耗的情况下,完整牛乳分离的外来体能够通过抑制泛素-蛋白酶体途径来减少蛋白质降解;(3)完整牛乳分离的外来体能够显著增加肌肉再生和分化的Mef2标志物;并且(4)完整牛乳分离的外来体提供的这些作用不是由其中膜被破坏的超声处理的牛乳外来体提供的。因此,完整牛乳分离的外来体既能保护肌肉细胞免受蛋白质降解,从而减少肌肉萎缩,又能显著增加肌肉再生和分化的Mef2标志物,从而促进肌肉再生。

[0076] 因此,完整牛乳分离的外来体提供了一种促进肌肉合成代谢而不是肌肉分解代谢的新工具,从而在患有涉及肌肉消耗的疾病或病症或具有发展所述疾病或病症的风险的受试者中减少肌肉萎缩并促进肌肉再生。

[0077] 虽然本申请通过描述其实施方案来示出,并且虽然实施方案已经相当详细地描述,但是此类描述不意欲将所附权利要求书的范围限定或以任何方式限制于此类细节。额外的优点和修改对于本领域的技术人员将是显而易见的。因此,在其更广泛的方面,本发明不限于具体的细节、代表性组合物和方法、或所示和描述的说明性实施例。因此,在不背离本发明一般概念的精神或范围的情况下,可背离此类细节。

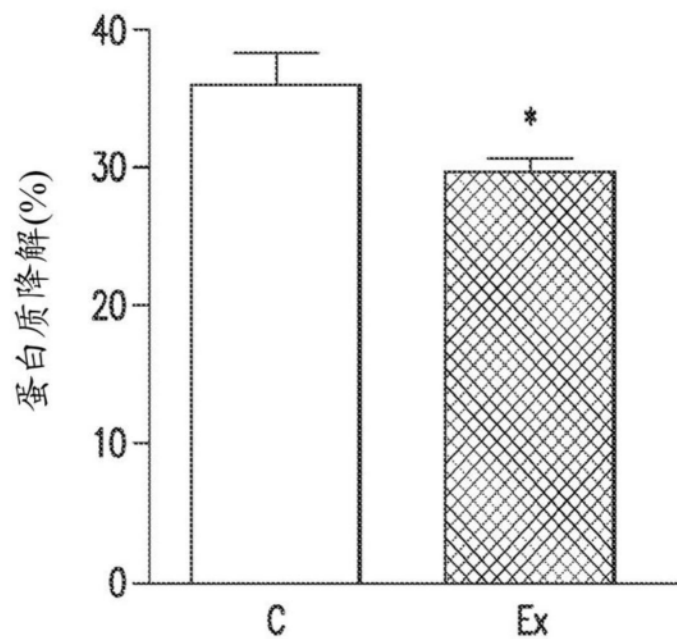


图1

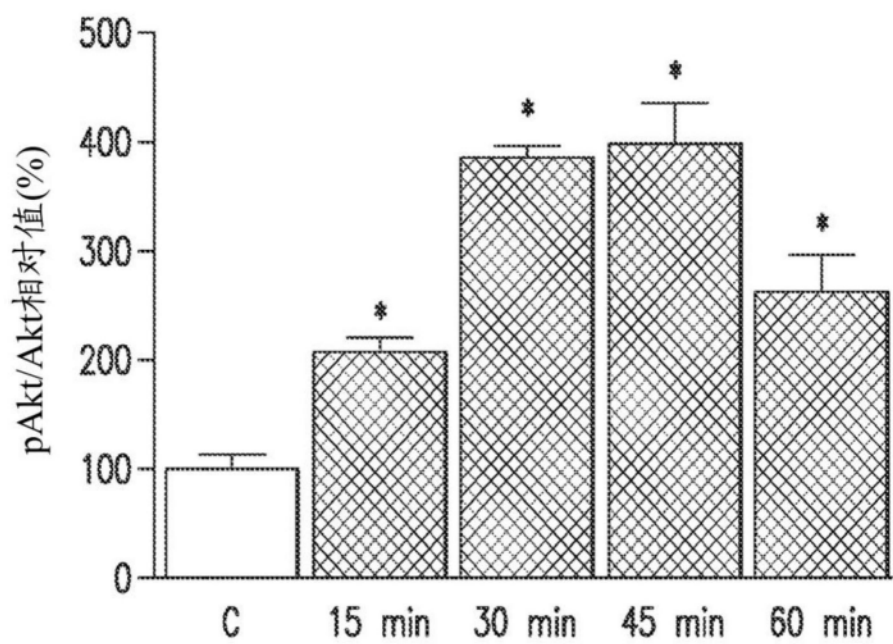


图2

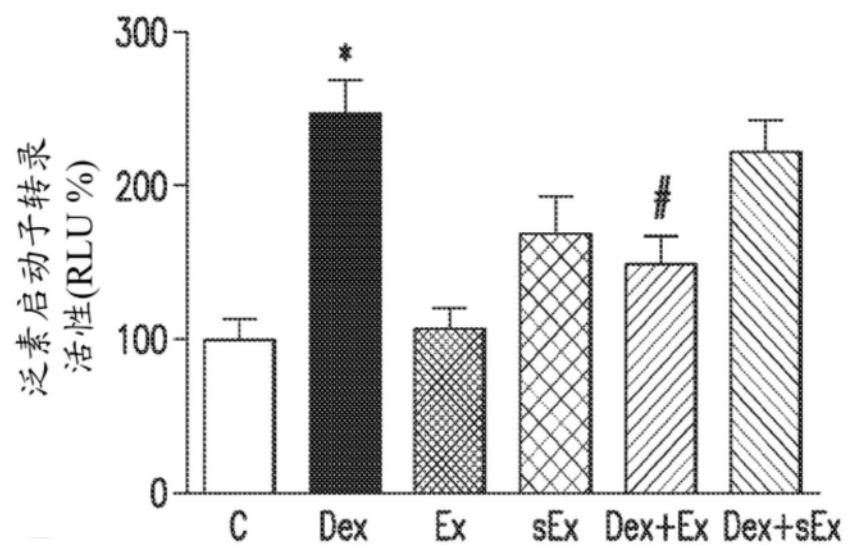


图3

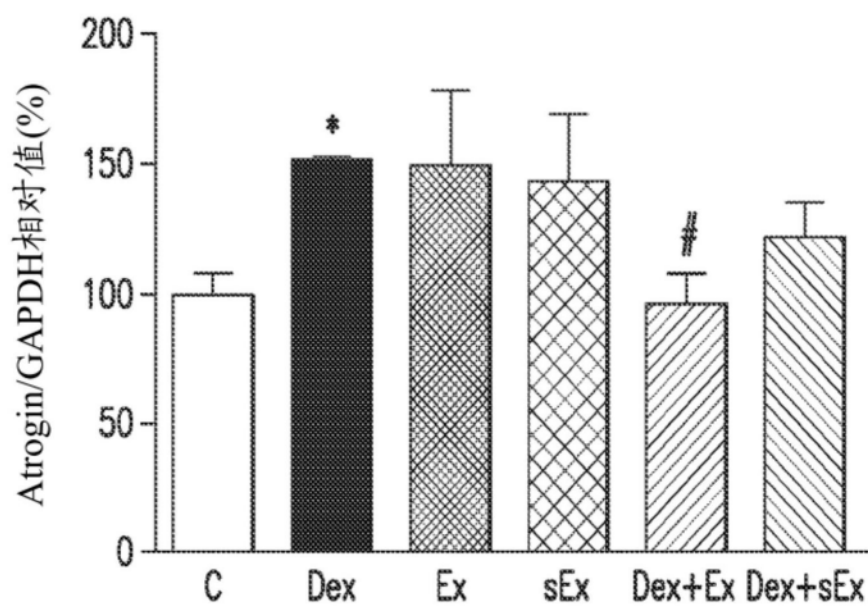


图4

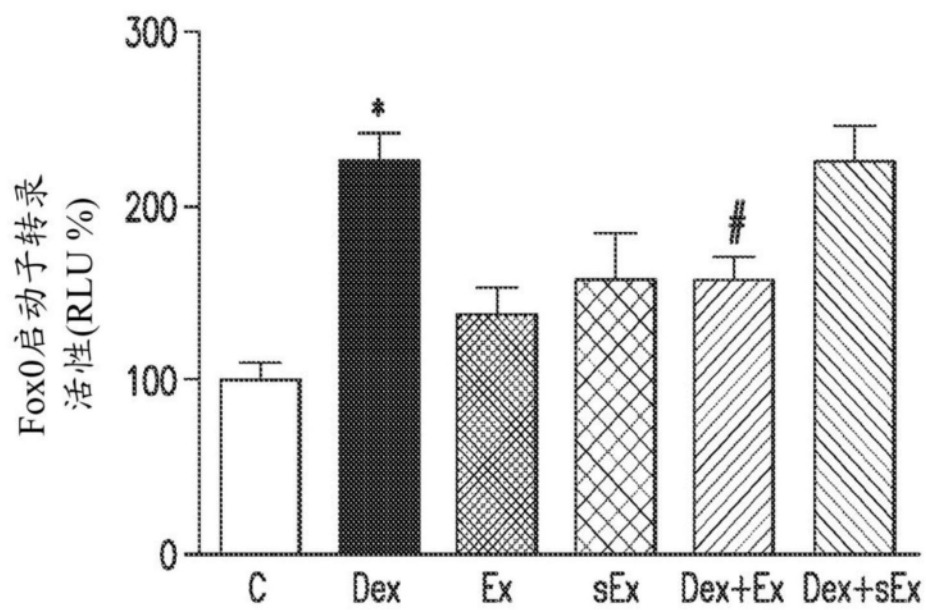


图5

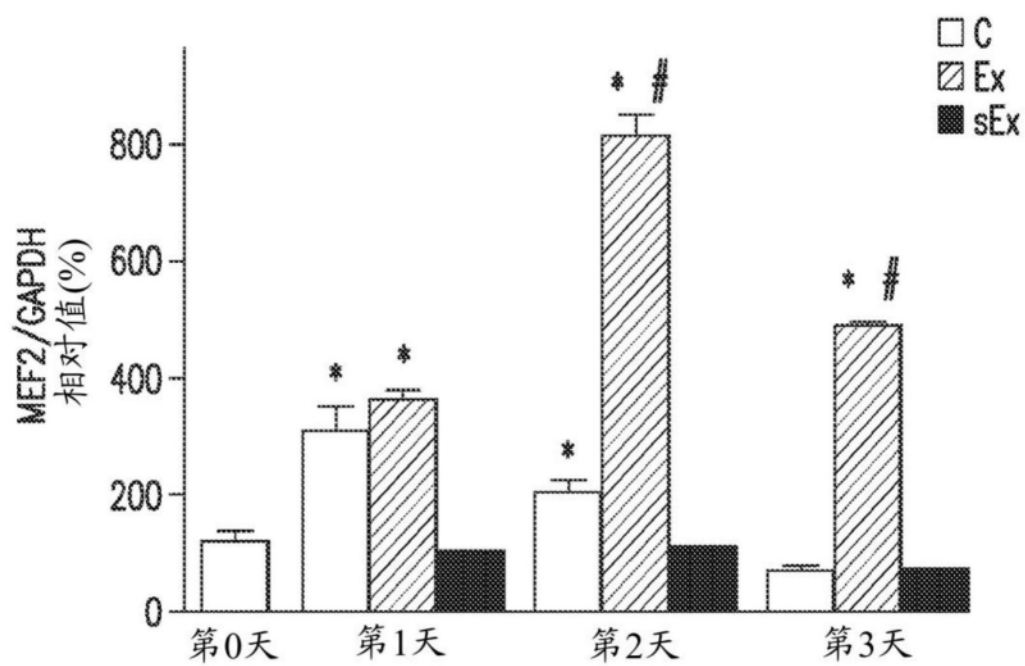


图6