



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I811375 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：108119424

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 05 日

(51)Int. Cl. : A61K36/064 (2006.01)

A23L33/145 (2016.01)

(30)優先權：2018/06/27 日本

2018-121852

(71)申請人：日商朝日集團控股股份有限公司 (日本) ASAHI GROUP HOLDINGS, LTD. (JP)
日本(72)發明人：南太一 MINAMI, TAICHI (JP)；今井悠 IMAI, YU (JP)；石田哲也 ISHIDA,
TETSUYA (JP)；吉田淳平 YOSHIDA, JUNPEI (JP)；白井建史 SHIRAI, TAKESHI
(JP)

(74)代理人：李世章；彭國洋

(56)參考文獻：

期刊 Sarah Walachowski, Guillaume Tabouret, Gilles Foucras, "Triggering Dectin-1-Pathway Alone Is Not Sufficient to Induce Cytokine Production by Murine Macrophages", 2016.

審查人員：蘇品嘉

申請專利範圍項數：5 項 圖式數：3 共 16 頁

(54)名稱

介白素-6 生成促進劑、介白素-10 生成促進劑

(57)摘要

本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-6 的生成。又，本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-10 的生成。作為解決手段，是下述技術：一種介白素-6 生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物；及，一種介白素-10 生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物。

無



I811375

【發明摘要】

【中文發明名稱】介白素-6生成促進劑、介白素-10生成促進劑

【英文發明名稱】無

【中文】本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-6的生成。又，本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-10的生成。作為解決手段，是下述技術：一種介白素-6生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物；及，一種介白素-10生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物。

【英文】無

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】介白素-6生成促進劑、介白素-10生成促進劑

【英文發明名稱】無

【技術領域】

【0001】 本發明關於一種介白素-6生成促進劑與介白素-10生成促進劑。

【先前技術】

【0002】 作為免疫系統對於侵入體內的病原體等的攻擊，有下述形態：藉由嗜中性球或巨噬細胞等吞噬細胞的吞噬作用（自然免疫系統）；藉由胞殺性T細胞的穿孔素等的胞殺性物質的釋放造成宿主細胞的破壞、利用由B細胞所產生的抗體使病原體不活化（適應免疫系統）等。

對於免疫系統中的細胞的活性化和功能抑制，細胞激素扮演相當重要的角色，作為細胞激素之一，可列舉由白血球所分泌的介白素。

至今介白素已被鑑定出複數種，其中，已知介白素-6（Interlukin-6，IL-6）具有刺激巨噬細胞的急性反應誘導等的作用。又，有關介白素-10，也已知其主要是由第二型輔助T細胞（Th2）所產生，並且作用於抑制發炎反應等。

【0003】 另一方面，有報導指出 β -葡聚糖具有免疫刺激效果(非專利文獻1)，該 β -葡聚糖是將酵母細胞壁進行水解或酵素處理後，藉由離心分離進行精製所獲得。

[先前技術文獻]

(非專利文獻)

【0004】 非專利文獻1：

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

【發明內容】

【0005】 [發明所欲解決的問題]

本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-6的生成。又，本發明的目的在於提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-10的生成。

[解決問題的技術手段]

【0006】 本發明人努力研究的結果，發現相較於精製物，未精製的狀態的酵母細胞壁水解物能夠促進介白素-6和介白素-10的生成，並基於上述見解，進而完成本發明。

【0007】 本發明的主旨如下。

[1] 一種介白素-6生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物。

[2] 如[1]所述之介白素-6生成促進劑，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[3] 一種介白素-10生成促進劑，其包含未精製的酵母細胞壁水解物。

[4] 如[3]所述之介白素-10生成促進劑，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[5] 一種未精製的酵母細胞壁水解物的用途，其用以調製組成物，該組成物可促進介白素-6的生成。

[6] 如[5]所述之用途，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[7] 一種未精製的酵母細胞壁水解物的用途，其用以調製組成物，該組成物可促進介白素-10的生成。

[8] 如[7]所述之用途，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[9] 如[5]～[8]中任一項所述之用途，其中，前述組成物是食品組成物或醫藥組成物。

[10] 一種酵母細胞壁水解物的非治療性用途，其用以促進介白素-6的生成。

[11] 如[10]所述之用途，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[12] 一種未精製的酵母細胞壁水解物的非治療性用途，其用以促進介白素-10的生成。

[13] 如[12]所述之用途，其中，前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[14] 一種促進介白素-6生成的方法，其包含使對象攝取未精製的酵母細胞壁水解物的步驟，來促進對象中的介白素-6的生成。

[15] 如[14]所述之方法，其中前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[16] 一種促進介白素-10生成的方法，其包含使對象攝取未精製的酵母細胞壁水解物的步驟，來促進對象中的介白素-10的生成。

[17] 如[16]所述之方法，其中前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

[發明的效果]

【0008】 根據本發明，能夠提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-6的生成。又，根據本發明，能夠提供一種新穎的技術，其能夠促進介白素-10的生成。

【圖式簡單說明】**【0009】**

第1圖是有關實施例的 β -葡聚糖的純度的圖表。

第2圖是有關實施例的IL-6生成量的圖表。

第3圖是有關實施例的IL-10生成量的圖表。

【實施方式】

【0010】 本發明的一態樣是關於一種介白素-6(IL-6)的生成促進劑。又，本發明的其他態樣是關於一種介白素-10(IL-10)的生成促進劑。在本說明書中，將這些態樣統稱為IL生成促進劑，並在以下詳細地說明共通的一實施形態。

IL生成促進劑含有未精製的酵母細胞壁水解物。

【0011】 未精製的酵母細胞壁水解物，可藉由將酵母細胞壁供以水解處理來獲得。酵母細胞壁除了能夠以使用市售品的方式來獲得，也可以自酵母菌體來調製。

作為自酵母菌體獲得酵母細胞壁的方法，並無特別限定，例如能夠藉由習知的方法自酵母菌體來獲得。具體而言，可列舉下述方法：在45～65℃中加熱使酵母菌體進行自噬作用5～20小時後，利用離心機去除上清液的方法；在80℃以上將酵母菌體加熱並殺菌後，直接利用離心分離來去除上清液的方法；及，添加酵素並使其反應後，進行離心分離來去除上清液的方法等。

【0012】 酵母細胞壁來源的酵母，並無特別限定，所屬技術領域中具有通常知識者能夠適當地設定。例如可列舉

食品級的酵母 (Bekatorou et al, 2006, Food Technol. Biotechnol. 44(3), 407-415), 該等酵母屬於酵母菌屬 (*Saccharomyces*)、克魯維酵母菌屬 (*Kluyveromyces*)、念珠菌屬 (*Candida*)、畢赤酵母菌屬 (*Pichia*)、圓酵母菌屬 (*Torulopsis*)。

其中，從進一步促進 IL-6、IL-10 的生成的觀點來看，較佳是啤酒酵母等所屬的酵母菌屬 (*Saccharomyces*) 的酵母。作為屬於酵母菌屬 (*Saccharomyces*) 的酵母，能夠例示：啤酒酵母、威士忌酵母、燒酒酵母、麵包酵母、紅酒酵母、清酒酵母等，例如，能夠以將該等酵母中的 1 種或 2 種以上用來調製酵母細胞壁水解物的方式來操作。

當使用啤酒酵母時，例如能夠列舉自泥狀啤酒酵母、壓榨啤酒酵母、乾燥啤酒酵母、啤酒酵母懸浮液所獲得的酵母細胞壁者。

【0013】 有關將酵母細胞壁進行水解的方法，並無特別限定，所屬技術領域中具有通常知識者能夠適當地設定。

其中，作為從促進 IL-6、IL-10 的生成量的觀點來看的較佳態樣，能夠列舉下述態樣：將酵母細胞壁的 pH 值調整為 8.0 ~ 14.0 (更佳是 10.0 ~ 12.0)，並在 60 ~ 120 °C (更佳是 85 ~ 95 °C) 進行水解 3 ~ 24 小時 (更佳是 12 ~ 20 小時)。水解時，可攪拌或不攪拌。

又，供以水解的酵母細胞壁，依據需要，能夠以在水解處理前實行鹼性條件下的洗淨處理等的方式來操作。

【0014】 IL生成促進劑，包含未精製的酵母細胞壁水解物，其例如是利用上述操作所能夠獲得者。所謂未精製，例如意指：並未實行用以提升酵母細胞壁中的特定成分純度的步驟之狀態，該酵母細胞壁中的特定成分是 β -葡聚糖或甘露聚糖等。作為目的在於要提升酵母細胞壁中的特定成分純度的步驟，例如可列舉對於經上述操作所獲得的酵母細胞壁水解物實行的下述步驟：離心分離或過濾、蒸餾、再結晶、萃取、昇華、氣相層析、等電點沉澱分離、乙醇沉澱分離、鹽析等。但是，即便是與該等步驟相同的步驟，仍不包含目的不在於提升酵母細胞壁中的特定成分純度的步驟，例如目的在於用以保證所作成飲食品的品質而去除異物的步驟等。是否為用以提升酵母細胞壁中的特定成分純度的步驟，所屬技術領域中具有通常知識者能夠自使用在該步驟中的機器或處理條件等來判別。

【0015】 IL生成促進劑除了未精製的酵母細胞壁水解物，只要能夠達成本發明的目的，仍可包含其他成分。

IL生成促進劑的形態(劑型)，並無特別限定，能夠作成醫藥品、準醫藥品或飲食品等。

當IL生成促進劑被作成醫藥品、準醫藥品或飲食品時，亦能夠將未精製的酵母細胞壁分解物與下述成分適當地混合來進行製劑化：賦形劑、黏合劑、穩定劑、崩散劑、潤滑劑、調味劑、懸浮劑、包覆劑、其他任意成分。作為劑型，能夠示錠劑、丸劑、膠囊劑、粒劑、散劑、粉劑、糖漿劑等，並且期望該等劑型能夠經口性地進行投予。

【0016】 或者，雖然沒有特別限定，但是當IL生成促進劑是以作成飲食品的態樣來製造時，除了通常的飲食品，亦可以是特定保健用食品等的特別用途食品或營養機能食品等。作為飲食品的具體例，例如能夠列舉：營養補充食品(營養補充品)、牛乳、加工乳、乳飲料、軟性飲料、發酵乳、優格、乳酪、麵包、餅乾、脆餅、披薩薄餅(*pizza crust*)、冰淇淋、糖果、軟糖、口香糖、調製乳粉、流質食品、患者用食品、幼兒用乳粉等的食品、哺乳婦女用乳粉等的食品等。

又，IL生成促進劑，不限於以人為對象的醫藥品、準醫藥品、飲食品，亦可以作成以人以外的動物為對象的醫藥品或飼料等的形態。作為人以外的動物，能夠列舉：人以外的高等脊椎動物，尤其是人以外的哺乳類，更具體而言能夠例示：狗、貓等的寵物；牛、馬、豬、羊等的家畜。又，亦能夠列舉鳥類和魚類，更具體而言，能夠例示：肉雞、蛋雞、火雞；鮭魚、鯉魚、鯽魚、吳郭魚、鯰魚、鱸魚、鰱魚、紅甘鰺、扁口魚、鯛魚、鯖魚等的養殖魚。進一步，亦能夠列舉蝦、蟹等的無脊椎動物。

【0017】 有關IL生成促進劑的每日攝取量，並無特別限定，例如，當是成人的情況，只要以能夠攝取0.01～100g的未精製的酵母細胞壁水解物的方式來調整調配量等即可，更佳是0.1～10g。IL生成促進劑中的未精製的酵母細胞壁水解物的含有比例，亦無特別限定，只要能夠

配合製造的容易性和較佳的一日投予量來適當地調整即可。

【0018】 以上，根據本實施形態，能夠提供一種新穎的技術，其能夠促進IL-6、IL-10的產生。

亦即，本實施形態中，並無特別限定攝取的態樣，但是例如藉由包含未精製的酵母細胞壁水解物之醫藥品、準醫藥品、食品等的態樣來攝取該未精製的酵母細胞壁水解物，便能夠促進IL-6、IL-10的生成。其結果，雖然會有個體間的差異，仍能夠期待免疫功能的刺激化所產生的傳染病的症狀緩和等。

[實施例]

【0019】 以下，藉由實施例進一步詳細地說明本發明，但是本發明並未限定於該等實施例。

【0020】 [未精製的酵母細胞壁分解物的調製(實施例)]

將酵母細胞壁(固體成分10%)供以水解處理，該酵母細胞壁是朝日集團食品股份有限公司栃木小金井工廠所製造，源自屬於酵母菌屬(*Saccharomyces*)的啤酒酵母。

具體而言，利用氫氧化鈉將酵母細胞壁調整為pH11後，加熱至90℃並處理18小時。將其置於滾筒乾燥機進行乾燥，來作成酵母細胞壁水解物(以下，稱為HYCW)。

【0021】 [經過精製的酵母細胞壁分解物的調製(比較例)]

不實行上述水解處理後的乾燥步驟，並利用鹽酸將 pH 值調整為 5.5 後，利用滾筒乾燥機將離心分離所獲得的重液進行乾燥，來作成酵母葡聚糖(以下稱為 YG)。又，將輕液濃縮至 Brix (布里糖度) 40 % 後，利用 125 °C、40 秒的條件進行殺菌，並在噴霧乾燥機中乾燥，來作成酵母甘露聚糖(以下稱為 YM)。

【0022】再者，實施例和比較例皆使用於 2013 年 8 月和同年 9 月所製造的 2 種類的酵母細胞壁，並分別實行上述的調製。以下，將源自 2013 年 8 月所製造的酵母細胞壁稱為 (a)，並將源自同年 9 月所製造的酵母細胞壁稱為 (b)。

【0023】 [β-葡聚糖純度]

針對實施例也就是 HYCW、與比較例也就是 YG、YM，在採取後的試料中使 α-澱粉酶、蛋白酶、澱粉葡萄糖苷酶依序進行作用後，添加酒精。使用 80 % 酒精、丙酮來洗淨所生成的沉澱。之後，添加 5 mL 的 72 % 硫酸，在 20 °C 分解 4 小時後，添加 70 mL 的水，在沸騰水浴中實行水解 2 小時。在冷卻並中和後，依據葡萄糖氧化酶法來定量葡萄糖濃度，並將該濃度乘以 0.9，來算出 β-葡聚糖純度。

將結果顯示於第 1 圖。藉由將 HYCW 進行離心分離，便能夠分離為 β-葡聚糖部分與甘露聚糖部分。沉澱經乾燥而成者為 YG，其 β-葡聚糖純度提高至約 33 %，上清液

經乾燥而成者為 Y M，其 β -葡聚糖純度約為 1% 而幾乎不包含 β -葡聚糖。

【0024】 [IL-6、IL-10 生成量的測定]

依據習知的方法，來測定 IL-6、IL-10 (Sonck et al, 2010, Veterinary Immunology and Immunopathology 135, 199-207)。自 5 頭的 14 週齡的離乳仔豬的頸靜脈採取周邊血液至含肝素的採血管中。之後，使用 Lymphoprep (註冊商標)，在 $800 \times g$ 、 18°C 、25 分鐘的條件下進行密度梯度離心分離，來獲得周邊血液單核細胞 (Peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。利用氯化銨對紅血球進行溶血，並在 $350 \times g$ 、 18°C 、10 分鐘的離心分離後，以 RPMI 1640 培養基將沉澱進行洗淨 3 次，並以成為 10^7 cells/mL 的方式來懸浮，該 RPMI 1640 培養基包含：10% 胎牛血清與非必需胺基酸溶液、 $100 \mu\text{g/mL}$ 的丙酮酸鈉、 292 mg/mL 的 L-麩醯胺、 100 IU/L 的青黴素、 $100 \mu\text{g/mL}$ 的鏈黴素、 $100 \mu\text{g/mL}$ 的康黴素。

藉由 HYCW、YG、YM 來刺激周邊血液單核細胞 (PBMC)，並測定 IL-6、IL-10 的生成量。

具體而言，是在多孔盤上利用 $20 \mu\text{g/mL}$ 或 $200 \mu\text{g/mL}$ 的各樣品來刺激細胞數為 1×10^7 的 PBMC 24 小時。

之後，回收上清液，並使用市售的細胞激素測定 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay，

酵素連結免疫吸附分析法)套組(R & D Systems公司製造)，依照使用說明書來測定。負控制組(negative control)使用了HBSS(Hank's Balanced Salt Solution，漢克平衡鹽溶液)。

【0025】 將結果顯示於第2圖、第3圖。

從第2圖、第3圖能夠理解到下述結果：相較於利用YG、YM的情況，藉由利用HYCW所產生刺激，能夠使IL-6、IL-10的生成量大幅地增加。

【符號說明】

【0026】 無

【生物材料寄存】

【0027】 國內寄存資訊(請依寄存機構、日期、號碼順序註記)
無

【0028】 國外寄存資訊(請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)
無

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種未精製的酵母細胞壁水解物的用途，其用以調製組成物，該組成物可促進介白素-6的生成，

前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將啤酒酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

【第2項】 一種未精製的酵母細胞壁水解物的用途，其用以調製組成物，該組成物可促進介白素-10的生成，

前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將啤酒酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

【第3項】 如請求項1或2所述之用途，其中，前述組成物是食品組成物或醫藥組成物。

【第4項】 一種酵母細胞壁水解物的非治療性用途，其用以促進介白素-6的生成，

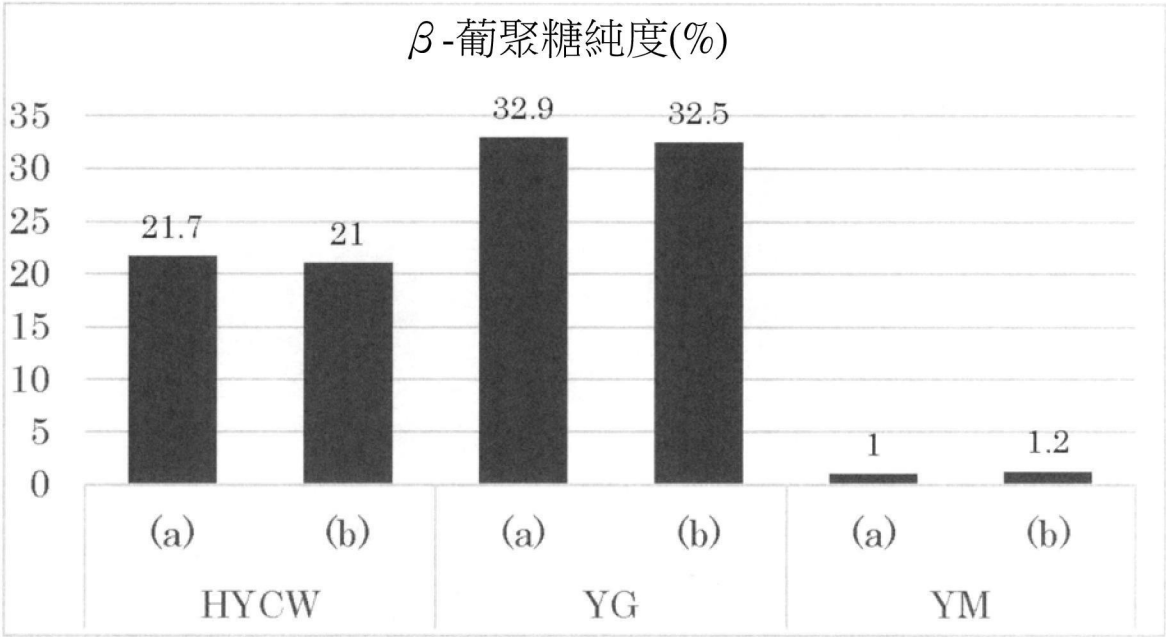
前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將啤酒酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

【第5項】 一種未精製的酵母細胞壁水解物的非治療性用途，其用以促進介白素-10的生成，

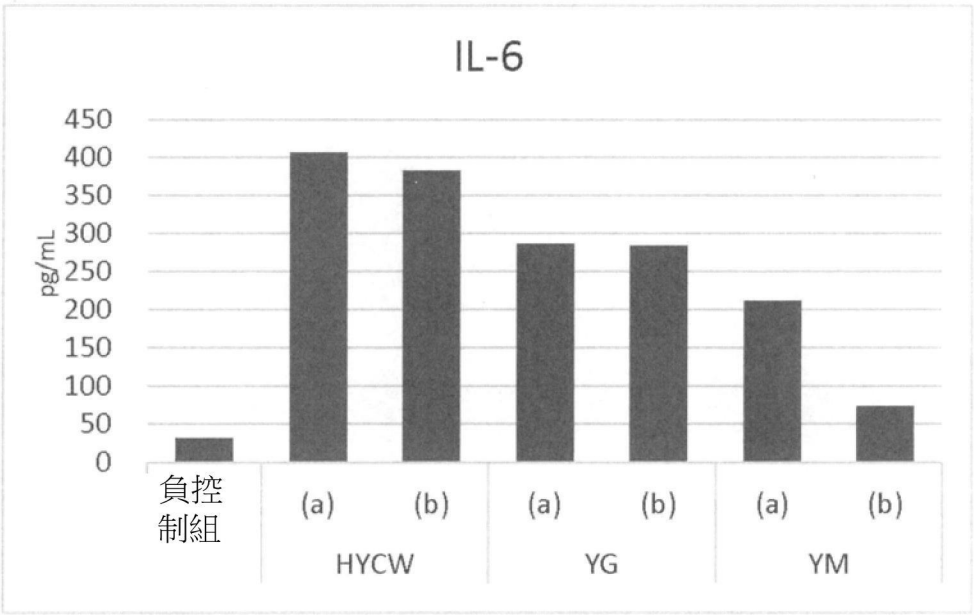
前述酵母細胞壁水解物是藉由下述方式獲得：將啤酒酵母細胞壁的pH值調整為8.0～14.0，並在60～120℃進行水解3～24小時。

【發明圖式】

第1圖



第2圖



第3圖

