



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201143633 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：099142849 (22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 12 月 08 日
(51)Int. Cl. : A23L1/29 (2006.01) A23L1/30 (2006.01)
(30)優先權：2009/12/08 歐洲專利局 09178339.9
(71)申請人：耐斯泰克公司 (瑞士) NESTEC S. A. (CH)
瑞士
(72)發明人：班亞古伯 賈爾 BENYACOUB, JALIL (CH)；布朗 史柏任 史堤芬尼 BLUM-
SPERISEN, STEPHANIE (CH)；柏斯可 莫漢 納比爾 BOSCO, MOHAMED
NABIL (FR)；包維托 萊爾 珍 雷尼 BOVETTO, LIONEL JEAN RENE (FR)；
布羅 法蘭茲 伊沙貝兒 BUREAU-FRANZ, ISABELLE (FR)；多尼特 安妮
DONNET, ANNE (GB)；雪夫林 艾杜拉多 SCHIFFRIN, EDUARDO (AR)；費瑞
勞倫斯 FAVRE, LAURENT (CH)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：8 共 44 頁

(54)名稱

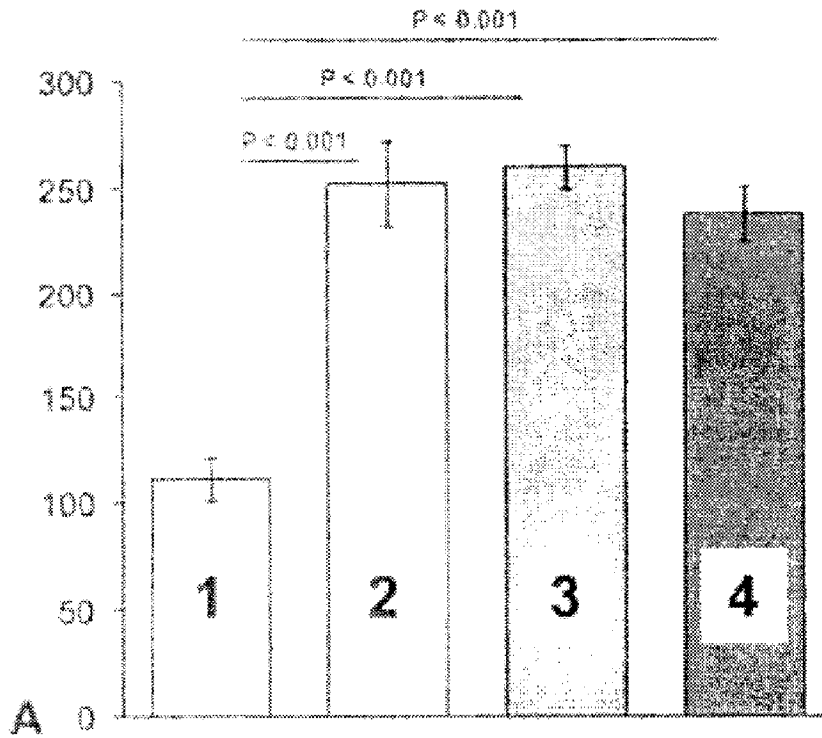
含有益生菌及乳脂肪球膜成分之嬰兒配方

INFANT FORMULA WITH PROBIOTICS AND MILK FAT GLOBULE MEMBRANE COMPONENTS

(57)摘要

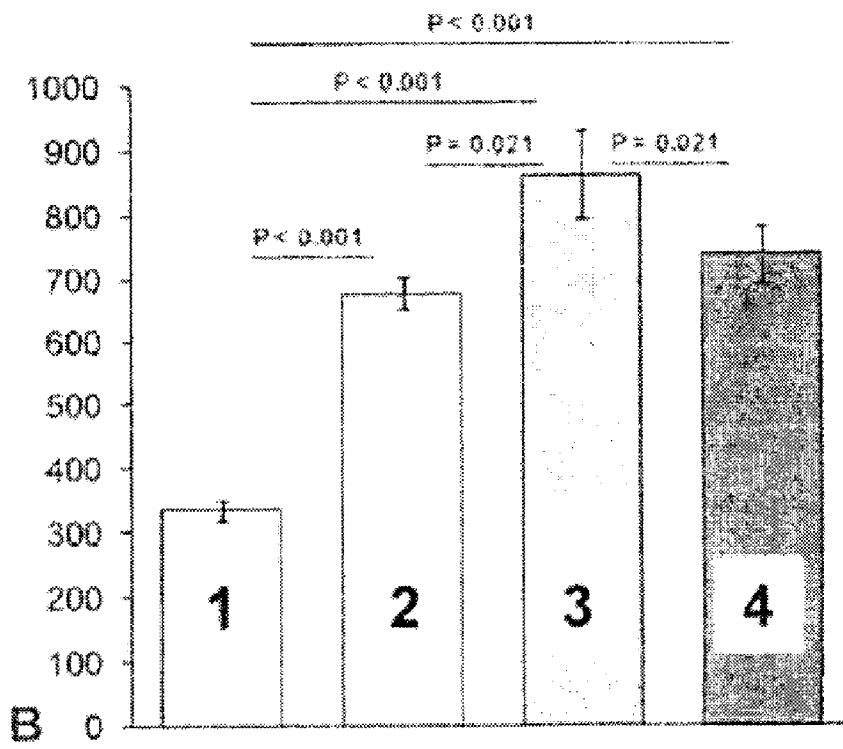
本發明提出一種營養組合物，其包含益生菌及乳脂肪球膜(MFGM)，其中該 MFGM 與該等益生菌共同增強其相應效應並促進反映生理協同作用之互補的有益保護機制。該營養組合物可係嬰兒配方、嬰兒穀物、幼兒食品或保健營養產品。該協同效應可包括促進免疫成熟及/或免疫馴化及/或減少炎症及/或治療或預防疾病或感染。

1 週



- 1 安慰劑
- 2 乳酸雙叉桿菌
- 3 乳酸雙叉桿菌+ MFGM
- 4 MFGM

4 週





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201143633 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：099142849 (22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 12 月 08 日
(51)Int. Cl. : A23L1/29 (2006.01) A23L1/30 (2006.01)
(30)優先權：2009/12/08 歐洲專利局 09178339.9
(71)申請人：耐斯泰克公司 (瑞士) NESTEC S. A. (CH)
瑞士
(72)發明人：班亞古伯 賈爾 BENYACOUB, JALIL (CH)；布朗 史柏任 史堤芬尼 BLUM-
SPERISEN, STEPHANIE (CH)；柏斯可 莫漢 納比爾 BOSCO, MOHAMED
NABIL (FR)；包維托 萊爾 珍 雷尼 BOVETTO, LIONEL JEAN RENE (FR)；
布羅 法蘭茲 伊沙貝兒 BUREAU-FRANZ, ISABELLE (FR)；多尼特 安妮
DONNET, ANNE (GB)；雪夫林 艾杜拉多 SCHIFFRIN, EDUARDO (AR)；費瑞
勞倫斯 FAVRE, LAURENT (CH)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：8 共 44 頁

(54)名稱

含有益生菌及乳脂肪球膜成分之嬰兒配方

INFANT FORMULA WITH PROBIOTICS AND MILK FAT GLOBULE MEMBRANE COMPONENTS

(57)摘要

本發明提出一種營養組合物，其包含益生菌及乳脂肪球膜(MFGM)，其中該 MFGM 與該等益生菌共同增強其相應效應並促進反映生理協同作用之互補的有益保護機制。該營養組合物可係嬰兒配方、嬰兒穀物、幼兒食品或保健營養產品。該協同效應可包括促進免疫成熟及/或免疫馴化及/或減少炎症及/或治療或預防疾病或感染。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於含有益生菌及乳脂肪球膜成分(MFGM)及/或生物活性蛋白質之嬰兒配方。

【先前技術】

對於所有嬰兒都推薦母乳。然而，在一些情況下，出於醫學原因母乳餵養不充足或不成功，或母親不選擇母乳餵養。已研發嬰兒配方用於該等情形。

最近，某些細菌菌株因發現其若被攝入將展示對人類有價值之性質而已引起人們的廣泛關注。具體而言，已發現乳桿菌屬(Lactobacilli)及雙叉桿菌屬(Bifidobacteria)之特定菌株能定植腸黏膜，降低致病性細菌黏附至腸上皮之能力，具有免疫調節效應並有助於維持康健。此等細菌稱作益生菌。

人們已進行廣泛研究來鑑別新穎益生菌菌株。舉例而言，EP 0 199 535、EP 0 768 375、WO 97/00078、EP 0 577 903及WO 00/53200揭示乳桿菌屬及雙叉桿菌屬之特定菌株及其有益效應。

人們認為幼兒的胃腸道在即將分娩之前係無菌的。在分娩過程期間，遇到來自母親消化道及生殖道及皮膚之細菌且細菌開始定植。胃腸道之共生細菌出生後定植提供細菌刺激，其對於腸道相關性淋巴組織(GALT)之主要區室的功能發育至關重要，該組織包含派伊爾氏淋巴集結(Peyer's patch)(T細胞及B細胞、巨噬細胞、樹突細胞)、固有層(T

細胞、IgA血漿B細胞、樹突細胞、肥大細胞)及上皮內淋巴細胞(天然殺傷細胞、T細胞)。此過程主要負責腸免疫細胞之前哨能力以區分無害信號與危險信號並因此建立耐受性或免疫性。

腸道微生物區系之組成因應嬰兒餵養而差異較大。母乳餵養嬰兒之糞便菌群包括大量雙叉桿菌屬群及一些乳桿菌屬種，而配方餵養嬰兒具有更複雜的微生物區系，其中雙叉桿菌、擬桿菌屬(Bacteroides)、梭狀芽孢桿菌及鏈球菌一般全部存在。

出於此原因及其他原因，已建議將益生菌添加至嬰兒配方中。已顯示，特定益生菌菌株可刺激免疫防禦機制，拮抗致病性細菌，促進健康微生物區系，下調動物及人類之免疫相關病症，例如過敏症或炎症。特定益生菌細菌菌株調節宿主腸道微生物區系之成分的能力係其影響免疫系統的一種機制。另外，亦已假定與黏膜免疫系統直接相互作用可刺激免疫調節細胞因子生成且進一步由最近發現所支持，其中可藉由跨過腸上皮延伸樹突之樹突細胞對內腔細菌進行直接取樣。

最近，Benyacoub等人已在新生小鼠模型中證明早期補充鼠李糖乳桿菌CGMCC 1.3724能促進黏膜免疫防禦並增加對全身性疫苗之反應(J Benyacoub, A Zuercher, R Bibiloni, K-Y Saudan, P Serrant, G Reuteler, I Rochat, I Segura-Roggero, F Foata, K Deiser, K Vidal, F Rochat, S Blum. Early life feeding with low dose Lactobacillus

rhamnosus CGMCC 1.3724 promotes immune development in gnotobiotic mice. *Acta Pædiatrica* 2007, 96(增刊456), 第12頁)。其他最近研究進展表明人類母乳含有似乎傳送至嬰兒的天然源自母親腸道之低劑量細菌及/或細菌部分 (Pablo F. Perez, Joël Doré, Marion Leclerc, Florence Levenez, Jalil Benyacoub, Patrick Serrant, Iris Segura-Roggero, Eduardo J. Schiffrin 及 Anne Donnet-Hughes. *Bacterial Imprinting of the Neonatal Immune System: Lessons From Maternal Cells?* *PEDIATRICS* 第119 (3)卷, 3月, *Pediatrics* 2007;119;724-732。)人們推測此分娩後之接種物有助於嬰兒免疫系統之早期馴化。

WO 2007/009187 A1揭示使用含有益生菌之酸奶油或酪乳。Burn等人(P. Burns, G Vinderola, F Molinari, J. Reinhemer. (2008) Suitability of whey and buttermilk for the growth and frozen storage of probiotic lactobacilli, *International Journal of Dairy Technology* 61, 第2期, 156-164)在摘要中揭示使用乳清或酪乳作為益生菌乳桿菌屬生長及儲存的培養基。

Rodas等人(B.A. Rodas, J.O. Angulo, J. Cruz, H.S. Garcia (2002). Preparation of probiotic buttermilk with *Lactobacillus reuteri*. *Milchwissenschaft*, 57(1), 26-28)揭示使用洛德乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*)來製備益生菌酪乳。

UA 30 063揭示包含酪乳或酪乳與乾酪乳清之混合物或酪乳與脫脂乳及乾酪乳清之混合物作為乳媒介以及特定雙

又桿菌屬及乳桿菌屬之共生性益生菌起始培養物的飲料。

上述揭示內容論述不同酪乳源的化學及物理(溶解性、黏性、乳化性及發泡性)性質或論述使用奶油或酪乳作為載體或作為益生菌之儲存或生長培養基；或提供具有經改良技術或感官性質之發酵產品。

WO 2004/112509提供含有MFGM及至少一種微生物之嬰兒配方製劑，該微生物以類似於利用母乳餵養所獲得之方式用於誘導腸所提供之物理障壁之成熟。

US 2008/0003330 A1闡述使用含有MFGM之富集乳清蛋白濃縮物提供生物活性脂質用於嬰兒之大腦及認知發育及功能。

FR 2908605 A1揭示在胃腸道中應用的含有MFGM作為脂質源的營養產品。其亦揭示使用乳酸細菌之特定菌株。然而，該等細菌係出於其技術性質來考慮且不視為益生菌。本發明將MFGM之應用延伸至其與具有特定健康益處之益生菌一起使用。

為有益於將不完全為母乳餵養之嬰兒，業內仍需要研發可在營養與生物活性二者方面盡可能接近地仿製人乳的嬰兒配方。

【發明內容】

本發明係關於包含益生菌及MFGM之組合物、較佳嬰兒配方。本發明亦係關於一種組合物，其用於馴化免疫系統，促進免疫成熟及用於治療或預防眾多生理-病理性病況(例如治療或預防炎症，治療或預防感染，治療或預防腸道障壁功能失調)，改良腸道舒適性或其組合。更具體

而言，本發明適於在有需要之嬰兒、早產嬰兒、幼兒或個體中應用。

【實施方式】

定義

在本說明書中，下列術語具有下文指定給其之含義：

「嬰兒」意指年齡低於36個月之兒童；

「嬰兒配方」意指嬰兒在生命的最初12個月期間達成完全營養所期望之食品；在本發明上下文中，此更具體而言適於年齡最多為6個月之嬰兒。

「有需要之個體」意指在所考慮生理-病理性病況方面具有特定生理需要之任一嬰兒、幼兒、兒童、青少年或成人，所提議發明向該等病況提供改良或替代解決方案。此包括罹患此等生理-病理性病況的所有年齡之患者。

「益菌助生質」意指非可消化食品組分，其藉由選擇性刺激結腸中一或有限數量之細菌的生長及/或活動來有益地影響宿主並因此改善宿主健康 (Gibson及 Roberfroid

「Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics」 J. Nutr 125:1401-1412)。

「益生菌」在細菌菌株之情形中意指對宿主之健康或康健具有有益效應之微生物細胞製劑或微生物細胞成分。(Salminen S, Ouwehand A. Benno Y.等人「Probiotics: how should they be defined」 Trend Food Sci. Technol. 1999:10 107-10)；

「嬰兒生命的最初數週」意指直至嬰兒生命的第二個月結束時之時段。

「乳脂肪球膜(MFGM)」係乳(具體而言牛乳或人乳)之脂肪部分，如 Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material, International Dairy Journal 18 (2008) 436-457, K. Dewettinck 等人中所述及定義。簡言之，該術語涵蓋包圍哺乳動物乳中脂肪球之膜及膜相關材料，以及 MFGM 之其他成分(稱作「MFGM 成分」)。為了簡化本文件中之語言，術語「MFGM」與「MFGM 成分」可互換使用。

本發明者最近觀察到人乳中之細菌尤其與乳之奶油部分相關。此發現提示應進一步研究人乳中細菌與脂質以及蛋白質成分之相關性及此相關性產生本發明之效應。

在一個實施例中，本發明提供營養組合物，其包含等效於 10^3 cfu/g 至 10^{12} cfu/g 乾燥配方之量之益生菌細菌菌株及每 100 g 液體組合物或配方 0.01 g 至 0.1 g、較佳每 100 g 液體組合物或配方 0.03 g 至 0.1 g 及/或每 100 g 液體組合物或配方 0.01 g 至 0.8 g、較佳每 100 g 液體組合物或配方 0.1 g 至 0.5 g 之量之乳脂肪球膜(MFGM)。在一個實施例中，該組合物包含介於總蛋白質的 0.1% 與 10% w/w 之間、較佳介於 0.5% 與 5% 之間之量的 MFGM。在一個實施例中，營養組合物包含介於 0.01 g 與 7 g 之間之 MFGM/100 g 組合物(w/w)之量的 MFGM。

在一個實施例中，本發明 MFGM 源自牛乳、水牛乳、馬

乳、山羊乳及/或人乳。

儘管人們對於人類乳脂肪球膜蛋白組合物仍所知甚少，但其貢獻乳蛋白質含量之2-4%(Stephania Quaranta等人，Human proteome enhancement: High-recovery method and improved two dimensional map of colostrals fat globule membrane proteins. Electrophoresis 2001, 22, 1810-1818)。本發明涵蓋在組合物或配方總蛋白質之0.1%至10%、較佳組合物或配方總蛋白質之0.5%至2%之範圍內的人類乳脂肪球膜之量。

本發明亦延伸至益生菌細菌菌株及乳脂肪球膜在製造營養組合物中之用途，該營養組合物用於促進新生嬰兒之免疫系統在生命的最初數週內之成熟。

本發明進一步延伸至益生菌細菌菌株及乳脂肪球膜在製造營養組合物中用途，該營養組合物用於預防或治療新生嬰兒在生命的最初數週內之致病性感染。

在又一態樣中，本發明伸延至用於促進有需要之新生嬰兒之免疫系統在生命的最初數週內之成熟的方法。

該方法包含向嬰兒投與治療量之營養組合物，該營養組合物包含益生菌細菌及乳脂肪球膜。

在再一態樣中，本發明伸延至用於預防或治療有需要之新生嬰兒在生命的最初數週內之致病性感染的方法。其包含向嬰兒投與治療量之營養組合物，該營養組合物包含益生菌細菌及乳脂肪球膜。

在哺乳動物乳中，脂肪相通常佔約40 g/L且主要由甘油

三酯(總脂肪之96%)、甘油二酯(總脂肪之2%)及複合脂質(總脂肪之1%)構成。在乳腺泡狀細胞之光面內質網中合成的甘油三酯合併成大液滴，其遷移至細胞的頂端質膜。脂滴隨後推動乳腺上皮細胞膜並逐漸地包被於其中。該等在乳脂周圍出芽產生的膜因其由細胞分泌而被稱為乳脂肪球膜。乳脂肪球膜含有特定糖蛋白(例如乳鐵蛋白、黏蛋白、乳黏素及黃嘌呤氧化酶)以及複合極性脂質(例如甘油磷脂及鞘脂)。許多該等成分以比在牛乳中之濃度高得多的濃度存在於人乳中。

益生菌與宿主之最初相互作用發生於腸黏膜層面。人們已廣泛地證明益生菌可保護宿主免受感染並潛在地改良特定疾病結果。通常用於益生菌菌株選擇的關鍵標準之一係其黏附至腸黏膜之能力。此對於活體外阻斷病原體黏附並調節保護性免疫功能而言似乎較為重要。

在活體外檢查牛乳脂肪球膜與腸上皮細胞(IEC)相互作用之研究中，本發明者使乳脂肪球膜破裂。雖然無法直接在完整膜之部分中檢測到細菌，但藉由超音波使膜破裂會導致IEC培養物污染。細菌似乎來自MFGM而非IEC培養物。支持此的證據是，牛MFGM之電子顯微照片顯示存在呈鏈形式之細菌球菌(參見圖3)。不希望受理論限制，本發明者相信結合至乳脂肪球膜之細菌或將該等細菌及/或其成分囊封在該乳脂肪球膜內可有助於穿過胃腸系統輸送微生物成分，確保其遞送至未斷奶新生兒之黏膜組織的適宜部位並與乳脂肪球膜中之其他因子一起調節免疫過程。吾

人推測MFGM與益生菌之締合可增強單獨使用益生菌或乳脂肪球膜時所得之有益效應(協同作用)。

本發明顯示與益生菌結合之MFGM之免疫調節性質，其超出單獨使用個別組分可達成之效果。先前研究已顯示，儘管益生菌與益菌助生質二者均被識別對健康具有有益效應，但當將該兩種組分組合時，其會損失針對嬰兒腹瀉之保護性效應(Chouraqui等人。2007)。因此，可能無法預測到在本發明中觀察到的益生菌與MFGM之協作及/或協同作用。本發明提出益生菌與MFGM之組合，其一方面可限制有些促炎性信號且因此可限制組織損傷，但另一方面可藉由提高腸細胞中分泌性IgA之產量來增強黏膜保護。此表示，益生菌與MFGM組合藉由促進獨特但互補之機制可產生生理上協同作用，該等機制一起對宿主提供經改善之保護作用。此外，共同投與益生菌與MFGM可在不同組織部位中或在不同細胞類型中影響個別成分所靶定之生物反應。舉例而言，藉助其共同投與，可改善活益生菌在腸運送期間之存活以及益生菌對特定腸部位之定殖及/或其對該等腸部位之黏附。

本發明將MFGM及益生菌之用途延伸至腸障壁成熟(例如免疫成熟)之其他態樣。此外，由於益生菌及MFGM之共同投與亦可影響消炎過程，因此本發明延伸至其不僅在嬰兒中而且亦在具有風險之群體(無論年齡)中之組合用途。因此，在投與時段期間，不一定以含有此等組分之產品為唯一營養源。

可機械地推測，例如，MFGM係至嬰兒之主要脂質源且某些細菌可增加脂質吸收中所涉及分子之表現。因此，藉由用益生菌及乳脂肪球膜補充配方應可對配方餵養嬰兒產生相似的有益效應。可將益生菌與MFGM進行預摻合，隨後添加至組合物中或者可將該兩種製劑(益生菌，MFGM)單獨添加至本發明組合物中。

較佳地，本發明營養組合物係嬰兒配方。該組合物可係液體、半液體或固體兒童食品，尤其用於介於0歲與7歲之間或介於0歲與3歲之間之兒童。組合物可係幼兒穀物。本發明組合物亦可靶向罹患特定生理-病理性病況之青少年及成人、尤其彼等有需要及/或具有受損胃腸系統及/或受損免疫/防禦系統者。

益生菌以等效於介於 10^3 cfu/g與 10^{12} cfu/g乾燥組合物之間之量存在於配方中。細菌可以活的形式、未活化或死亡形式使用，或者其甚至可以諸如DNA或細胞壁材料等片段形式存在。換言之，配方所含細菌之數量以細菌之等效菌落形成單位表示，無論該等細菌全部或部分為活的、未活化、死亡或片段。較佳地，益生菌係以等效於介於 10^7 cfu/g至 10^{12} cfu/g乾燥組合物之間之量存在。

益生菌細菌菌株可係具有確定益生菌特性之任一乳酸細菌或雙叉桿菌屬。本發明益生菌可係尤其人類來源之任一益生菌細菌或益生菌微生物(「益生菌」)、具體而言已或在分泌後源自、發現於、提取或分離自(較佳)人類母乳中之乳的益生菌。適宜益生菌乳酸細菌包括鼠李糖乳桿菌

ATCC 53103(其尤其可自 Valio Oy (Finland)以商標 LGG獲得)、鼠李糖乳桿菌 CGMCC 1.3724、洛德乳桿菌 ATCC 55730及洛德乳桿菌 DSM 17938(其可自 Biogaia獲得)、發酵乳桿菌 (*Lactobacillus Lactobacillus fermentum*) VRI 003 及副乾酪乳桿菌 CNCM I-2116 (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116)、約氏乳桿菌 CNCM I-1225 (*Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225)、瑞士乳桿菌 CNCM I-4095 (*Lactobacillus helveticus* CNCM I-4095)、短型雙叉桿菌 CNCM I-3865 (*Bifidobacterium breve* CNCM I-3865)、龍根雙叉桿菌 CNCM I-2618 (*Bifidobacterium longum* CNCM I-2618)。

適宜益生菌雙叉桿菌屬菌株包括龍根雙叉桿菌 ATCC BAA-999(由 Morinaga Milk Industry 有限公司 (Japan)以商標 BB536 出售)、短型雙叉桿菌菌株(由 Danisco 以商標 Bb-03 出售)、短型雙叉桿菌菌株(由 Morinaga 以商標 M-16V 出售)及短型雙叉桿菌菌株(由 Institut Rosell (Lallemand)以商標 R0070 出售)。尤佳雙叉桿菌菌株係乳酸雙叉桿菌 CNCM I-3446 (*Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446)，其可自 Christian Hansen 公司 (Denmark)以商標 Bb12 獲得。可使用適宜益生菌乳酸細菌與雙叉桿菌屬之混合物。

富集於 MFGM 中之多種組分可自市面購得。MFGM 可存在於奶油、酪乳及全脂乳中。就產品研發應用而言，酪乳部分因其 MFGM 成分濃度相對較高而為最常用之源。市售酪乳產品之實例包括來自 Land O'Lakes 公司 (MN)之酪乳

(產品編號26048)、來自 Fonterra 合作集團公司 (Auckland, New Zealand) 之酪乳蛋白濃縮物部分；自 MFGM 獲得之富磷脂部分 (來自 Fonterra 合作集團有限公司 (Auckland, New Zealand))；來自以下公司之酪乳：Büllinger Buttereien (Büllingen, Belgium)、Foster Farms Dairy (Modesto, California)、Dairy America 公司 (Fresno, California)、Dairy Farmers (America) (Kansas City, MO)、First Milk Ingredients 有限公司 (Paisley, UK) 及 Laban Up products (Gulf & Safa Dairies, United Arab Emirates)。然而，富集於 MFGM 中之乳清蛋白部分亦可自市面購得。實例包括 LACPRODAN® MFGM-10，其係富集於 MFGM 中之乳清蛋白部分 (由 Arla Food Ingredients a.m.b.a (Denmark) 製造)。材料之其他實例可包括來自 Ingredia Lacto prospérité AG (Ingredia SA, Arras France) 及來自含有 MFGM (至少 1.5% MFGM 成分；以便能調節 MFGM 對總蛋白質之量) 之任何供應商的 Promilk 602 E。

端視嬰兒配方中之乳清蛋白酪蛋白比率 (50/50, 70/30) 而定，一種 MFGM 酪蛋白基或乳基源 (例如酪乳或 Promilk 602E) 可以此比率與乳清蛋白混合。

MFGM 可包含蛋白質、神經節苷脂及/或磷脂或其組合。

MFGM 可源自酪乳、酪乳組分、脫脂酪乳、脫乳糖化酪乳、藉由微過濾或超濾獲得之酪乳組分、自乳清蛋白濃縮物回收之組分、甜乳清、酸乳清、乳清奶油或來自含有磷脂之乳清之脂肪相關組分；且/或其中該 MFGM 包含鞘磷

脂、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯膽鹼、磷脂醯肌醇、磷脂醯絲胺酸、膽固醇、神經節苷脂、黏蛋白 1 (Mucin1) (MUC 1)、黃嘌呤氧化酶/脫氫酶、過碘酸希夫染劑(Periodic acid Schiff) (PAS III)、CD36、嗜乳脂蛋白(BTN)、脂肪組織分化相關蛋白(Adipophilin) (ADPH)、PAS 6/7、脂肪酸結合蛋白(FABP)、乳鐵蛋白、乳黏素、嗜乳脂蛋白、脂肪組織分化相關蛋白、肽 ETTVFENLPEK (SEQ ID: 1)、肽 SFQLFGSPPGQR (SEQ ID: 2)、肽 GSNFQLDQLQGR (SEQ ID: 3)、肽 FQFIQVAGR597 (SEQ ID: 4)、肽 IFIGNVNNNSGLK (SEQ ID: 5)、肽 INLFDTPLETQYVR (SEQ ID: 6)、肽 TPLPLAGPPR (SEQ ID: 7)、肽 EGQEQEGEEMAEYR (SEQ ID: 8)、肽 SELLDQYLPLTK (SEQ ID: 9)或其組合。

在一個實施例中，本發明組合物包含能結合至益生菌之蛋白質。

本發明之MFGM及益生菌可在生物層面一起相互作用。具體而言，MFGM可增強或促進益生菌之生物效應。在一個實施例中，MFGM使益生菌能具有其在MFGM不存在下原本不具有的生物效應。在一個實施例中，MFGM與益生菌可具有協同效應，此乃因此可增加益生菌之有益生物效應。此一生物效應可包含對免疫系統及/或腸之成熟、抗感染效應之促進及/或炎症之減少之效應。

益生菌可增強或促進MFGM之生物效應。在一個實施例中，益生菌使MFGM能具有其在益生菌不存在下原本沒有的生物效應。在一個實施例中，益生菌與MFGM可具有協

同效應，此乃因其可提高MFGM之有益生物效應。此一生物效應可包括對免疫系統及/或腸之成熟、抗感染效應之促進及/或炎症之減少之影響。

本發明嬰兒配方之蛋白質來源含量不超過3.7 g/100千卡或2.0 g/100千卡，較佳1.8 g/100千卡至2.0 g/100千卡。吾人認為本發明組合物中蛋白質(例如來自乳清或來自酪蛋白或其混合物)之來源及類型(亦即非源自MFGM之蛋白質內含物)對於本發明並不重要，只要其能滿足對必需胺基酸含量之最低需要且可確保令人滿意之生長即可。然而，在一個實施例中，較佳超過50重量%或超過60重量%之蛋白質來源係乳清(因此確保最佳平衡之胺基酸特徵曲線)。因此，可使用基於乳清、酪蛋白及其混合物之蛋白質來源及基於大豆之蛋白質來源。就乳清蛋白而言，蛋白質來源可係基於酸乳清或甜乳清或其混合物且可依所期望之任何比例包括 α -乳清蛋白及 β -乳球蛋白。

然而，較佳地，主要蛋白質來源係基於改質甜乳清。甜乳清係很容易自乾酪製作中得到之副產品，且通常用於製造基於牛乳之嬰兒配方。然而，甜乳清卻包括不期望之大量蘇胺酸且缺乏色胺酸之成分(稱作酪蛋白-糖-巨肽(CGMP))。自甜乳清去除CGMP，可以產生蘇胺酸含量較接近人乳之蛋白質。隨後再針對彼等含量低之胺基酸(主要為組胺酸及色胺酸)補充此改質甜乳清。用於自甜乳清去除CGMP之方法闡述於EP 880902中且基於此改質甜乳清之嬰兒配方闡述於WO 01/11990中。使用改質甜乳清作為

蛋白質來源中之主要蛋白質時，可以在介於1.8 g/100千卡至2.0 g/100千卡之間的蛋白質含量下提供所有必需胺基酸。此等蛋白質來源已在動物及人類研究中顯示具有相當於具有高得多之蛋白質含量/100千卡之經標準乳清調適之蛋白質來源的蛋白質效率比、氮消化性、生物值及淨蛋白質利用率且產生令人滿意之生長，但其蛋白質含量較低。若使用改質甜乳清作為蛋白質來源，則較佳補充占蛋白質來源量0.1重量%至1.5重量%之游離組胺酸。

蛋白質可係完整蛋白質或水解蛋白質或完整蛋白質與水解蛋白質之混合物。可能期望向(例如)相信具有產生牛乳過敏症之風險的嬰兒供應部分水解之蛋白質(水解度介於2%與20%之間)。若需要水解蛋白質，則可視需要並如業內已知實施水解過程。舉例而言，乳清蛋白水解產物可藉由在一或多個步驟中酶促水解乳清部分來製備。就全面水解之蛋白質而言，乳清蛋白可經受在55°C下使用鹼性蛋白酶(Alcalase) 2.4 L (EC 940459)、然後中性蛋白酶(Neutrase) 0.5 L(可自Novo Nordisk Ferment AG獲得)且隨後胰酶之三重水解。或者，就水解較少之蛋白質而言，乳清可經受使用胰蛋白酶、糜蛋白酶或胰酶或其混合物之兩階段水解，如EP 322589中所述。若用作起始材料之乳清部分實質上不含乳糖，則發現該蛋白質在水解過程期間所受離胺酸阻滯較少。此可使離胺酸阻滯程度自約15重量%總離胺酸降至小於約10重量%離胺酸，例如約7重量%離胺酸，從而極大地改善蛋白質源之營養品質。在本發明之一

個實施例中，使MFGM製劑經受相同蛋白質水解處理。

本發明嬰兒配方可含有糖源。可使用在嬰兒配方通常所發現之任一糖源，例如乳糖、蔗糖、麥芽糊精、澱粉及其混合物，但較佳糖源係乳糖。較佳地，糖源貢獻配方總能量的35%與65%之間。

本發明嬰兒配方可含有除來自MFGM成分之脂質以外之脂質源。該脂質源可係適用於嬰兒配方之任一脂質或脂肪。較佳脂肪源包括高油酸向日葵油及高油酸紅花油。亦可(可以)向必需脂肪酸亞麻油酸及 α -次亞麻油酸中添加少量含有高數量之預先形成的花生四烯酸及二十二碳六烯酸的油，例如魚油或微生物油。脂肪含量總計較佳使得貢獻配方總能量的30%至55%之間。脂肪源之n-6與n-3脂肪酸之比率較佳為約5:1至約15:1；例如約8:1至約10:1。

嬰兒配方亦可含有認為在日常膳食中所必需且為營養上大量之所有維生素及礦物。已確定對某些維生素及礦物之最低需要。嬰兒配方中視情況存在之礦物、維生素及其他營養物的實例包括維生素A、維生素B₁、維生素B₂、維生素B₆、維生素B₁₂、維生素E、維生素K、維生素C、維生素D、葉酸、肌醇、煙酸、生物素、泛酸、膽鹼、鈣、磷、碘、鐵、鎂、銅、鋅、錳、氯化物、鉀、鈉、硒、鉻、鉬、牛磺酸及L-肉鹼。礦物一般以鹽形式添加。特定礦物及其他維生素之存在及量將端視指定嬰兒群體之變化。

若需要，嬰兒配方可含有乳化劑及穩定劑，例如大豆卵磷脂、單-及二甘油脂之檸檬酸酯及諸如此類。若以液體

形式提供配方時，則尤其如此。

嬰兒配方可視情況含有可具有有益效應之其他物質，例如乳鐵蛋白、核苷酸、核苷及諸如此類。

較佳地，嬰兒配方亦包含益菌助生質。適宜益菌助生質包括某些寡糖，例如果寡糖(FOS)及半乳寡糖(GOS)。可使用益菌助生質之組合，例如具有10%短鏈果寡糖(例如以商標Beneo® P95出售之產品)或10%菊粉(例如以商標Beneo® HP、ST或HSI出售之產品)之90% GOS。

尤佳益菌助生質係半乳寡糖、N-乙醯化寡糖與唾液酸化寡糖之混合物，其中N-乙醯化寡糖佔該寡糖混合物之0.5%至4.0%，半乳寡糖佔該寡糖混合物之92.0%至98.5%且唾液酸化寡糖佔該寡糖混合物之1.0%至4.0%。此混合物在下文中稱作「較佳益菌助生質混合物」。較佳地，用於本發明中之組合物含有以乾燥物質計2.5%至15.0 wt%之較佳益菌助生質混合物，前提為該組合物包含至少0.02 wt% N-乙醯化寡糖、至少2.0 wt%半乳寡糖及至少0.04 wt%唾液酸化寡糖。

適宜 N-乙醯化寡糖包括 GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc 及 Gal β 1,6GalNAc α 1,3Gal β 1,4Glc。N-乙醯化寡糖可胺基葡糖苷酶及/或胺基半乳糖苷酶對N-乙醯基葡萄糖及/或N-乙醯基半乳糖之作用來製備。同樣，N-乙醯基半乳糖基轉移酶及/或N-乙醯基糖基轉移酶可用於此目的。N-乙醯化寡糖亦可藉由使用相應酶(重組或天然)之發酵技術及/或微生物發酵來產生。在後一情況下，微生物可表現其天然酶及受

質或可經改造以產生相應受質及酶。可使用單一微生物培養物或混合培養物。N-乙醯化寡糖形成可藉由自聚合度(DP)=1開始之任一聚合度開始之受體受質來起始。另一選擇為無寡糖(例如乳果糖)或結合至該寡糖之己酮糖(例如果糖)化學轉化為N-乙醯基己糖胺或含有寡糖之N-乙醯基己糖胺，如 Wrodnigg, T.M.; Stutz, A.E. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed.* 38:827-828中所述。

適宜半乳寡糖包括 Gal β 1,6Gal、Gal β 1,6Gal β 1,4Glc Gal β 1,6Gal β 1,6Glc、Gal β 1,3Gal β 1,3Glc、Gal β 1,3Gal β 1,4Glc、Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc、Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc、Gal β 1,3Gal β 1,3Gal β 1,4Glc、Gal β 1,4Gal β 1,4Glc及Gal β 1,4Gal β 1,4Gal β 1,4Glc。諸如Gal β 1,6Gal β 1,4Glc、Gal β 1,6Gal β 1,6Glc、Gal β 1,3Gal β 1,4Glc、Gal β 1,6Gal β 1,6Gal β 1,4Glc、Gal β 1,6Gal β 1,3Gal β 1,4Glc及Gal β 1,3Gal β 1,6Gal β 1,4Glc、Gal β 1,4Gal β 1,4Glc及Gal β 1,4Gal β 1,4Gal β 1,4Glc及其混合物等合成半乳寡糖可以商標 Vivinal[®]及 Elix'or[®]購得。寡糖之其他供應商係 Dextra Laboratories, Sigma-Aldrich Chemie GmbH及 Kyowa Hakko Kogyo有限公司。或者，可使用特定糖基轉移酶(例如半乳糖基轉移酶)來產生中性寡糖。

適宜唾液酸化寡糖包括 NeuAc α 2,3Gal β 1,4Glc及 NeuAc α 2,6Gal β 1,4Glc。該等唾液酸化寡糖可藉由層析或過濾技術自天然源(例如動物乳)分離。或者，其亦可藉由生物技術使用特定唾液酸轉移酶藉由酶基發酵技術(重組

或天然酶)或藉由微生物發酵技術來產生。在後一情況下，微生物可表現其天然酶及受質或可經改造以產生相應受質及酶。可使用單一微生物培養物或混合培養物。唾液酸化寡糖形成可藉由自聚合度(DP)=1開始之任一聚合度開始之受體受質來起始。

嬰兒配方可以任一適宜之方式製備。舉例而言，嬰兒配方可藉由將蛋白質源、糖源與脂肪源以適當比例摻合在一起來製備。若使用乳化劑，則其可納入該摻合物中。維生素及礦物可於此時添加，但其一般在稍後添加以避免熱降解。可將任何親脂性維生素、乳化劑及諸如此類溶於脂肪源中，隨後進行摻合。然後混入水(較佳已經受反滲透之水)以形成液體混合物。

然後可對液體混合物實施熱處理以降低不期望之活細菌負載。舉例而言，可將液體混合物快速加熱至在約80°C至約110°C範圍內之溫度並持續約5秒至約5分鐘。此可藉由蒸汽注入或藉由熱交換器(例如，板式熱交換器)來實施。

然後，可藉由(例如)快速冷卻將液體混合物冷卻至約60°C至約85°C。隨後將液體混合物均質化；例如，在兩個階段中實施，第一階段壓力為約7 MPa至約40 MPa且第二階段壓力為約2 MPa至約14 MPa。隨後可進一步冷卻均質化混合物以添加任何熱敏感性成分；例如維生素及礦物。此時可方便地將均質化混合物之pH及固體含量標準化。

將均質化混合物轉移至適宜乾燥裝置(例如噴霧乾燥器或冷凍乾燥器)中並轉化為粉末。粉末之水分含量應小於

約5重量%。

所選益生菌可根據任一適宜方法來培養並製備以用於添加至藉由(例如)冷凍乾燥或噴霧乾燥之嬰兒配方中。或者，細菌製劑可自專門供應商(例如 Christian Hansen 及 Morinaga)獲得，其已以用於添加至食品(例如嬰兒配方)中之適宜形式製備。

所選益生菌可摻合至任一MFGM製劑，隨後進行乾燥。此摻合物可經均質化以有利於MFGM、益生菌與益生菌間之締合。在乾燥後，可使用該摻合物作為模組(添加至液體配方中)或可將MFGM混入配方粉末中。

益生菌粉末與MFGM粉末可藉由乾燥混合來混合，以形成特定摻合物。此摻合物可一起添加於最終嬰兒配方粉末中。或者，摻合物可臨時添加至液體配方中。

MFGM製劑亦可在調配過程期間添加，隨後對液體配方進行均質化及巴斯德滅菌(pasteurization)/熱處理滅菌直至UHT處理。在乾燥後，可藉由乾燥混合亦可視為良好天然乳化劑之MFGM製劑來納入益生菌以減少在嬰兒配方或營養組合物中通常使用的乳化劑。在一個實施例中，將益生菌及/或MFGM製劑單獨或一起添加至即時飲用型(ready-to-drink)或即時稀釋型(ready-to-dilute)營養組合物(例如粉末嬰兒配方)中。此等添加可發生於製造/封裝組合物之一個最後方法步驟期間或可恰好發生於在指定用戶使用組合物前。在此情況下，MFGM製劑及/或益生菌製劑可與粉末或液體營養組合物分開提供。

實例 1

本發明嬰兒配方之組合物之一實例於下文(表1)給出。
此組合物僅係藉由例示方式給出。

表 1：本發明嬰兒配方

營養物	每100千卡	每升
能量(千卡)	100	670
蛋白質(g)	1.83	12.3
脂肪(g)	5.3	35.7
亞麻油酸(g)	0.79	5.3
α -次亞麻油酸(mg)	101	675
乳糖(g)	11.2	74.7
礦物(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
維生素A (μ g RE)	105	700
維生素D (μ g)	1.5	10
維生素E (mg TE)	0.8	5.4
維生素K1 (μ g)	8	54
維生素C (mg)	10	67
維生素B1 (mg)	0.07	0.47

營養物	每100千卡	每升
維生素B2 (mg)	0.15	1.0
煙酸(mg)	1	6.7
維生素B6 (mg)	0.075	0.50
葉酸(μg)	9	60
泛酸(mg)	0.45	3
維生素B12(μg)	0.3	2
生物素(μg)	2.2	15
膽鹼(mg)	10	67
Fe (mg)	1.2	8
I (μg)	15	100
Cu (mg)	0.06	0.4
Zn (mg)	0.75	5
乳酸雙叉桿菌CNCMI-3446	2.10 ⁷ cfu/g粉末，活細菌	
MFGM：來自Arla Food Ingredients之Lacprodan MFGM 10 (Arla Foods Ingredients amba, Skanderborgvej 277, 8260 Viby J (Denmark))。	4% (w/w)	

或者，在另一實例中，MFGM組分可以達成0.5%之MFGM/總蛋白質比率之此量使用。

實例2

以下實例提供產生並支持在哺乳動物母乳中益生菌與MFGM間之相互作用之概念的科學數據。因此，包含MFGM與益生菌二者之組合物產生有利效應。

自先前技術可知，人類母乳中含有低劑量之微生物及眾多微生物DNA且其與乳細胞區室締合。因此本發明者推

測，乳中之細菌可與除細胞成分以外之其他乳區室締合。舉例而言，其可在MFGM或酪蛋白膠粒內輸送。本發明者分析在哺乳動物乳之各部分中存在微生物DNA信號。在圖1及2中，使用暫時性溫度梯度凝膠電泳(TTGE)。該等實驗檢測到，亦在乳之奶油部分中發現強細菌DNA信號(圖1及2)。該發現支持MFGM含有細菌成分及/或MFGM可結合至乳中之細菌或「包被」該等細菌的概念。此外，本發明者已研究微生物負載之輸送。圖3展示與MFGM共定位之微生物成分。本發明者推測，結合至MFGM內之細菌及/或其成分或將該等細菌囊封在MFGM內可有助於藉助胃腸系統輸送微生物成分。本發明者相信此可增強其至未斷奶新生兒之黏膜組織之適宜部位的遞送。其可與MFGM中之其他因子一起進一步調節免疫過程。

實例3

人類MFGM內部與外部二者之蛋白質組學研究已鑑別出若干蛋白質，人們認為其影響細菌生長或存活，參與微生物或其成分之識別及/或對其之反應，或已知與有相互作用之其他蛋白質相互作用。舉例而言，類鐸受體(TLR)係一類識別衍生自微生物之結構保守分子並活化免疫反應之細胞膜受體。人們相信其在先天免疫系統中起重要作用。MFGM包含為TLR信號傳導複合物之共受體/分子以及該等複合物之潛在配體的分子。

已在活體外觀察到促炎性因子之差別反應，此表明MFGM及/或MFGM部分可支持免疫防禦機制而不會促進過

度反應(參見表2)。

部分	外周血單核細胞		腸上皮細胞
	IFN誘導之IL-12p70	LPS誘導之TNF- α	NF- κ B活化
			TNF誘導
MFGM	↓	↑	↑
MFGM消化物	-	↑	↑

表2：含有MFGM(全部或消化物)之各部分對因子表現之效應，其顯示上調或下調。

總之，在MFGM存在下遞送細菌及/或細菌成分似乎可影響腸微生物區系之組成。其可進一步調節受體宿主中之免疫反應以便可耐受正常微生物區系之成分及膳食抗原並抵抗潛在病原體或危險信號。

可使用MFGM及/或MFGM部分與益生菌生物體及/或微生物成分之組合來馴化免疫系統並提供針對早期感染之保護。

總之，MFGM及/或MFGM部分當與益生菌及/或益生菌成分締合時，可促進益生菌與宿主之相互作用並調節在防禦機制中所涉及之下游過程。本發明者相信MFGM及/或MFGM部分與益生菌及/或益生菌成分之組合可幫助調節新生微生物區系之組成，支持免疫發育並觸發有效保護性宿主防禦反應。此可包括針對各種病原體或其他環境危險之免疫反應。此可與益生菌賦予至宿主之優化遞送及/或促進宿主對外源性及內源性信號之反應性的能力相關聯。

實例/實驗數據4.

在模擬腸黏膜層之系統中於活體外評估MFGM部分與宿主之相互作用及與益生菌之潛在協同效應(圖4)。該等數據支持MFGM與益生菌之組合對針對感染之宿主防禦及調節炎症性病況的有益效應。

HT29CI34 NFκB報告子分析：

HT-29(人類結腸上皮細胞)細胞系表現內源性TLR。TLR信號傳導藉助MyD88或TRIF銜接蛋白質活化NF-κB轉錄因子並導致炎症性基因表現。亦用報告子構建體轉染HT-29細胞系，以使所分泌鹼性磷酸酶(SeAP)在NF-κB誘導性啟動子控制下表現。雀巢研究中心(Nestlé Research Center)已研發此經轉染細胞系HT-29CI34。該等細胞之TLR刺激可活化NF-κB並隨後使鹼性磷酸酶分泌至培養物上清液(supernatant)中。為了評價TLR-介導之炎症，在用 10^6 或 10^7 CFU/mL乳酸雙叉桿菌NCC2818 (*B. lactis*)及/或最終50 μg/mL或100 μg/mL MFGM製劑進行預處理，之後與或不與LPS (100 ng/mL)一起培育後，使用HT-29CI34報告子基因系統量測NF-κB活化之量。SeAP活性係藉由螢光分析來評價並以相對螢光單位表示。選擇乳酸雙叉桿菌NCC2818 (*B. lactis*)作為雙叉桿菌種之代表，該等菌種係嬰兒腸道重要的早期定植者。圖5展示在此模型中藉由將MFGM與益生菌組合所獲得的累積協同效應。單獨MFGM降低上皮細胞對內毒素刺激之反應性。MFGM+益生菌(乳酸雙叉桿菌)展示比單獨MFGM或單獨益生菌(圖5下部及上

部)更強之效應。

B細胞及T細胞刺激分析：

自6至8週齡C57BL/6小鼠分離的彙集腸系膜及腹股溝淋巴結製備淋巴細胞懸浮液。將細胞懸浮於補充有 5×10^{-5} M β -巰基乙醇、1 mM 麩醯胺酸、100 U/mL青黴素、100 μ g/mL鏈黴素及10% FCS之IMDM培養基中。為進行抗CD3(T細胞特異性)及抗CD40(B細胞特異性)刺激，在37°C下經1-3h用50 μ L含有2.5 μ g/mL抗CD3(純系：2C11)或5 μ g/mL抗CD40(純系：FGK-45)之PBS塗佈96孔平底板。在深入洗滌後，向每孔中添加淋巴結細胞懸浮液之連續3倍稀釋液。3天後，在收穫前最後18 h添加1 μ Ci/孔³H-胸苷。此時將該自標準培養物獲得之NCC2818(乳酸雙叉桿菌)與最終濃度為MOI 100及/或100 μ g/mL之MFGM製劑一起添加至孔中。用淋巴細胞之優化滴定(111'000細胞/孔)所進行分析之結果呈現於圖6及7中。結果突顯益生菌與MFGM之協同效應。

實例5

在新生成熟之小鼠模型中於活體外評估MFGM部分與宿主之相互作用及與益生菌之潛在協同且長效之效應。數據支持MFGM與益生菌之組合經由增加分泌性黏膜IgA對針對感染之非特異性適應性宿主防禦的有益效應。

如下將最近斷奶小鼠(28週齡)餵養1週(A)及4週(B)：

1組：安慰劑(麥芽糊精)

2組：乳酸雙叉桿菌BL818(108 CFU/天)

3組：乳酸雙叉桿菌BL818(108 CFU/天)+MFGM

4組：MFGM

每天以0.6 mg/g體重之劑量投與MFGM。經口投與組分乳酸雙叉桿菌及/或MFGM。使用最近斷奶動物來避免天然存在於小鼠母乳中之MFGM之效應。

使用標準ELISPOT方案在10只動物/組中評估派伊爾氏淋巴集結細胞懸浮液中IgA分泌細胞之數量。數據(圖8)顯示MFGM可對適應性免疫B細胞具有強效應。實際上，吾人觀察到自用MFGM及/或益生菌所餵養小鼠之派伊爾氏淋巴集結之腸IgA分泌細胞的數量有顯著增加。有趣的是，吾人觀察到在餵養28天後，MFGM與乳酸雙叉桿菌之組合顯著增加IgA分泌黏膜B細胞之數量，且數量大於彼等在個別組分餵養後之數量。甚至更有趣的是，吾人觀察到MFGM與乳酸雙叉桿菌餵養之長效免疫強化效應。更特定而言，IgA分泌黏膜B細胞之數量持續增加且實際上，在終止餵養組分後84天(第112天)仍進一步增加。重要的是，益生菌與MFGM之組合之效應顯著高於用個別組分所獲得者，此證明在餵養益生菌與MFGM之組合時之協同效應。

【圖式簡單說明】

圖1：來自產後7天的1位母親之人乳。尤其出現於試樣5及6(即含有MFGM之奶油部分)中之細菌DNA(條帶1及2)。

圖2：來自2位母親之人乳。尤其出現於試樣2及3(即含有MFGM之奶油部分)中之細菌DNA(藉由中央2個箭頭表示條帶)。

圖3：MFGM (NRC, F. Morgan)之電子顯微照片，其展示與MFGM締合的單獨或呈鏈形式之細菌結構(用箭頭標記)。

圖4：黏膜細胞相互作用之模型。

圖5：上皮細胞對LPS之反應。益生菌與MFGM降低上皮細胞對內毒素刺激(LPS)之反應性及相關炎症性反應。可利用益生菌與MFGM之組合觀察累積效應，此表明該兩種組分間之協同作用。

圖6：T細胞活化。MFGM與益生菌促進T淋巴細胞活化。可在MFGM與乳酸雙叉桿菌之間觀察到協同作用。

圖7：B細胞活化。MFGM促進B淋巴細胞活化。單獨益生菌之效應較小。可在MFGM與益生菌之間觀察到協同作用。

圖8：非特異性腸IgA之產生。自餵養MFGM 1週(A)及4週(B)之小鼠之派伊爾氏淋巴集結所分離IgA分泌細胞的含量。

序列表

<110> 瑞士商耐斯泰克公司

<120> 含有益生菌及乳脂肪球膜成分之嬰兒配方

<130> NO8928-WO-PCT

<140> 099142849

<141> 2010-12-08

<150> 09178339.9

<151> 2009-12-08

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 肽

<400> 1

Glu Thr Thr Val Phe Glu Asn Leu Pro Glu Lys
1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 肽

<400> 2

Ser Phe Gln Leu Phe Gly Ser Pro Pro Gly Gln Arg
1 5 10

201143633

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 肽

<400> 3

Gly Ser Asn Phe Gln Leu Asp Gln Leu Gln Gly Arg
1 5 10

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 肽

<400> 4

Phe Gln Phe Ile Gln Val Ala Gly Arg
1 5

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 肽

<400> 5

Ile Phe Ile Gly Asn Val Asn Asn Ser Gly Leu Lys
1 5 10

<210> 6
<211> 14
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 肽

<400> 6

Ile Asn Leu Phe Asp Thr Pro Leu Glu Thr Gln Tyr Val Arg
 1 5 10

<210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 未知

<220>
 <223> 肽

<400> 7

Thr Pro Leu Pro Leu Ala Gly Pro Pro Arg
 1 5 10

<210> 8
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 未知

<220>
 <223> 肽

<400> 8

Glu Gly Gln Glu Gln Glu Gly Glu Glu Met Ala Glu Tyr Arg
 1 5 10

<210> 9
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 未知

<220>
 <223> 肽

<400> 9

Ser Glu Leu Leu Val Asp Gln Tyr Leu Pro Leu Thr Lys
 1 5 10

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：**99 142849**

※申請日：**99.12.8**

※IPC 分類：~~A23; A61~~

一、發明名稱：(中文/英文)

含有益生菌及乳脂肪球膜成分之嬰兒配方

INFANT FORMULA WITH PROBIOTICS AND MILK FAT GLOBULE
MEMBRANE COMPONENTS

A23L 1/29 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)

○ 二、中文發明摘要：

本發明提出一種營養組合物，其包含益生菌及乳脂肪球膜(MFGM)，其中該MFGM與該等益生菌共同增強其相應效應並促進反映生理協同作用之互補的有益保護機制。該營養組合物可係嬰兒配方、嬰兒穀物、幼兒食品或保健營養產品。該協同效應可包括促進免疫成熟及/或免疫馴化及/或減少炎症及/或治療或預防疾病或感染。

○ 三、英文發明摘要：

A nutritional composition is proposed comprising a probiotic and milk fat globule membrane (MFGM) wherein the MFGM and the probiotics mutually potentiate their respective effects and promote complementary beneficial protective mechanisms that reflect physiological synergy. The nutritional composition can be an infant formula, infant cereals, baby food or health care nutritional product. The synergistic effect can include promoting immune maturation and/or immune education and/or reducing inflammation and/or treating or preventing disease or infections.

七、申請專利範圍：

1. 一種營養組合物，其包含益生菌及乳脂肪球膜(MFGM)，其中該MFGM增強該等益生菌之生物效應。
2. 如請求項1之營養組合物，其中該組合物係嬰兒配方、嬰兒穀物、幼兒食品或用於有需要之患者的保健營養產品。
3. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該生物效應包含促進免疫成熟，減少炎症，治療或預防疾病或感染，增強腸道舒適性，減少疝痛，增強或調節睡眠或睡眠模式，減少反胃，增強消化，減少便秘或其組合。
4. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該組合物意欲用於早產嬰兒。
5. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該益生菌係源自或分離自人類來源，更具體而言人類母乳。
6. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該益生菌選自包含以下之列表：乳酸雙叉桿菌 CNCM I-3446 (*Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446)、鼠李糖乳桿菌 GG ATCC 53103 (*Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103)、鼠李糖乳桿菌 CGMCC 1.3724、以 ATCC BAA-999 寄存之龍根雙叉桿菌 BB536 (*Bifidobacterium longum* BB536)、洛德乳桿菌 ATCC55730 (*Lactobacillus Reuteri* ATCC55730)、洛德乳桿菌 DSM-17938、副乾酪乳桿菌 CNCM I-2116 (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116)、約氏乳桿菌 CNCM I-1225 (*Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225)、瑞士乳桿菌 CNCM I-4095 (*Lactobacillus helveticus*

CNCM I-4095)、短型雙叉桿菌CNCM I-3865 (*Bifidobacterium breve* CNCM I-3865)、龍根雙叉桿菌CNCM I-2618及其混合物。

7. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該MFGM包含能與該等益生菌結合或以生物方式與該等益生菌相互作用的蛋白質或生物活性蛋白質。
8. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該MFGM的含量係占總蛋白質的0.1%至10% w/w之間，較佳占0.5%至5%之間。
9. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該MFGM的含量係每100 g組合物包含0.01 g至7 g之MFGM(w/w)。
10. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該MFGM包含能與該等益生菌結合或以生物方式與該等益生菌相互作用的神經節苷脂及/或磷脂，較佳地，該等神經節苷脂或磷脂之含量係占總蛋白質的0.03%至5% w/w之間。
11. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該組合物包含益菌助生質，較佳為果寡糖(FOS)、半乳寡糖(GOS)、牛乳寡糖(CMOS)及/或其組合。
12. 如前述請求項中任一項之營養組合物，其中該MFGM源自酪乳、酪乳組分、脫脂酪乳、脫乳糖化酪乳、藉由微過濾或超濾獲得之酪乳組分、自乳清蛋白濃縮物回收之組分、甜乳清、酸乳清、乳清奶油或來自含有磷脂之乳清之脂肪相關組分；且/或其中該MFGM包含鞘磷脂、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯膽鹼、磷脂醯肌醇、磷脂醯絲胺

酸、膽固醇、神經節苷脂、黏蛋白 1 (MUC 1)、黃嘌呤氧化酶/脫氫酶、過碘酸希夫染劑(Periodic acid Schiff) (PAS III)、CD36、嗜乳脂蛋白(Butyrophilin)(BTN)、脂肪組織分化相關蛋白(Adipophilin) (ADPH)、PAS 6/7、脂肪酸結合蛋白(FABP)、乳鐵蛋白、乳黏素、嗜乳脂蛋白、脂肪組織分化相關蛋白、肽 ETTVFENLPEK (SEQ ID: 1)、肽 SFQLFGSPPGQR (SEQ ID: 2)、肽 GSNFQLDQLQGR (SEQ ID: 3)、肽 FQFIQVAGR597 (SEQ ID: 4)、肽 IFIGNVNNSGLK (SEQ ID: 5)、肽 INLFDTPLETQYVR (SEQ ID: 6)、肽 TPLPLAGPPR (SEQ ID: 7)、肽 EGQEQEGEEMAEYR (SEQ ID: 8)、肽 SELLDQYLPLTK (SEQ ID: 9)或其組合。

13. 如前述請求項中任一項之組合物，其用於在有需要之嬰兒、早產嬰兒、幼兒或個體中促進免疫成熟、減少炎症、治療或預防疾病或感染、增強腸道舒適性、減少疝痛、增強或調節睡眠或睡眠模式、減少反胃、增強消化、減少便秘或其組合之方法中。
14. 如請求項 10 之組合物，其中該組合物意欲用於預防及/或治療早產嬰兒、藉由剖腹產出生之嬰兒或足月嬰兒之感染及/或炎症性病況及/或生理-病理性腸道不適及/或壞死性小腸結腸炎。
15. 如前述請求項中任一項之組合物，其中該 MFGM 係經過食品級蛋白質水解酶處理，該酶係例如胰蛋白酶、糜蛋白酶、胰酶、木瓜蛋白酶、鹼性蛋白酶(alcalase)、中性蛋白酶(neutralse)或其組合。

八、圖式：

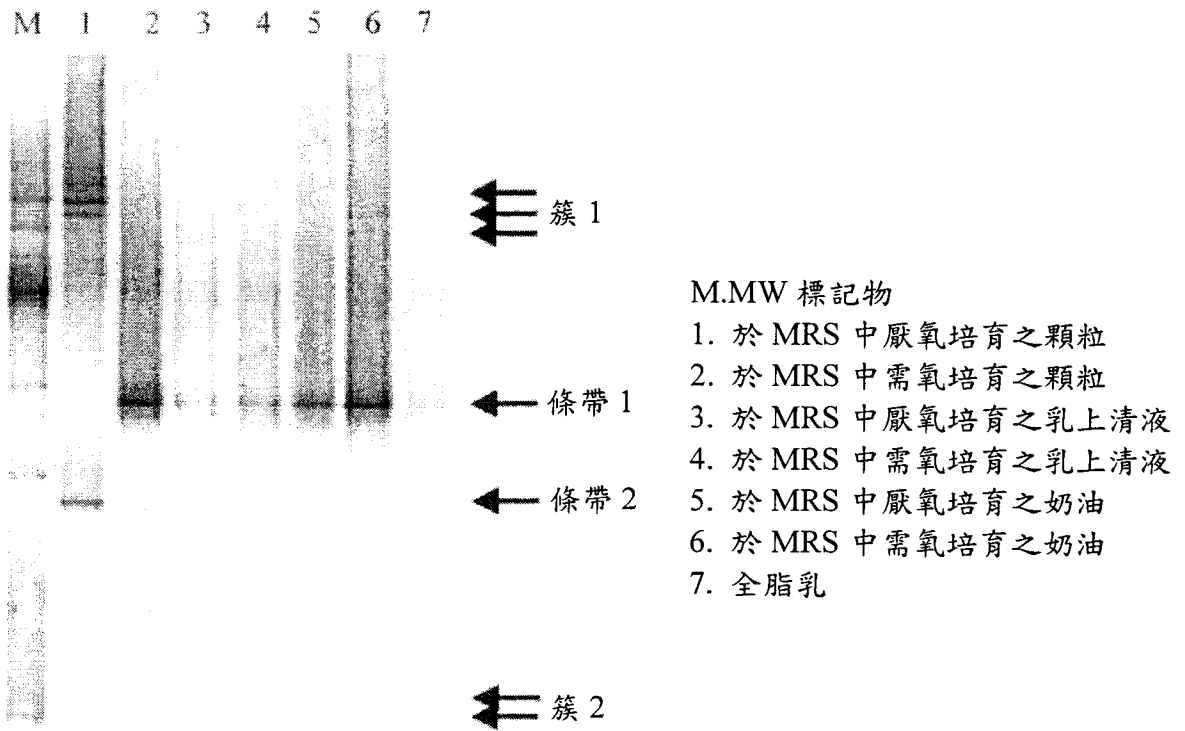


圖 1

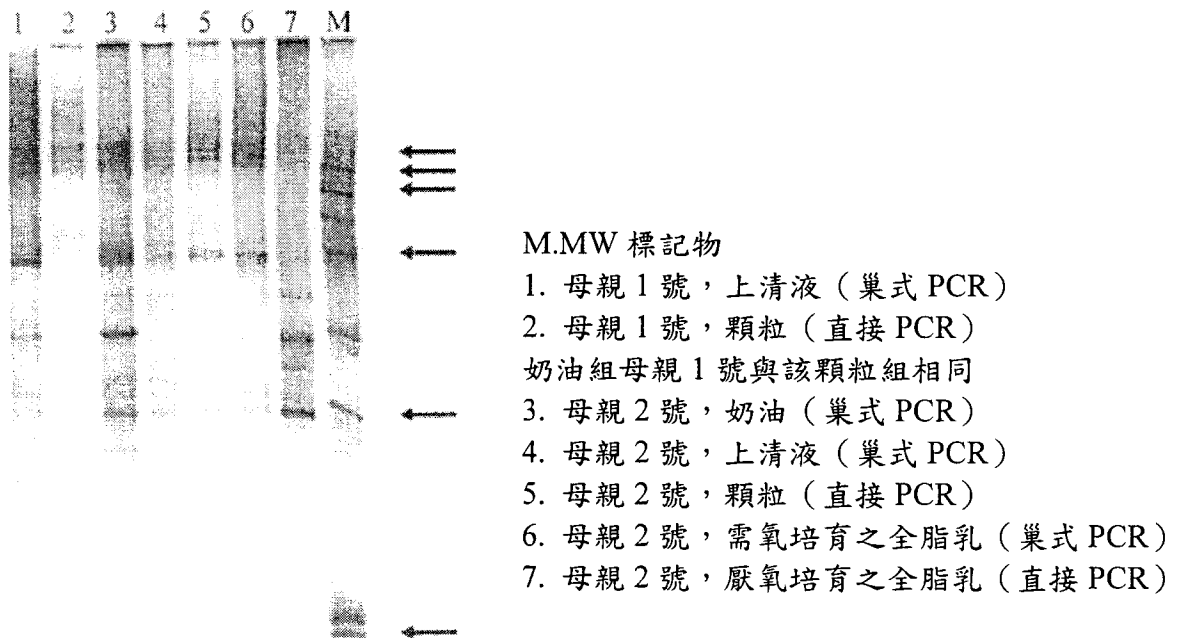


圖 2

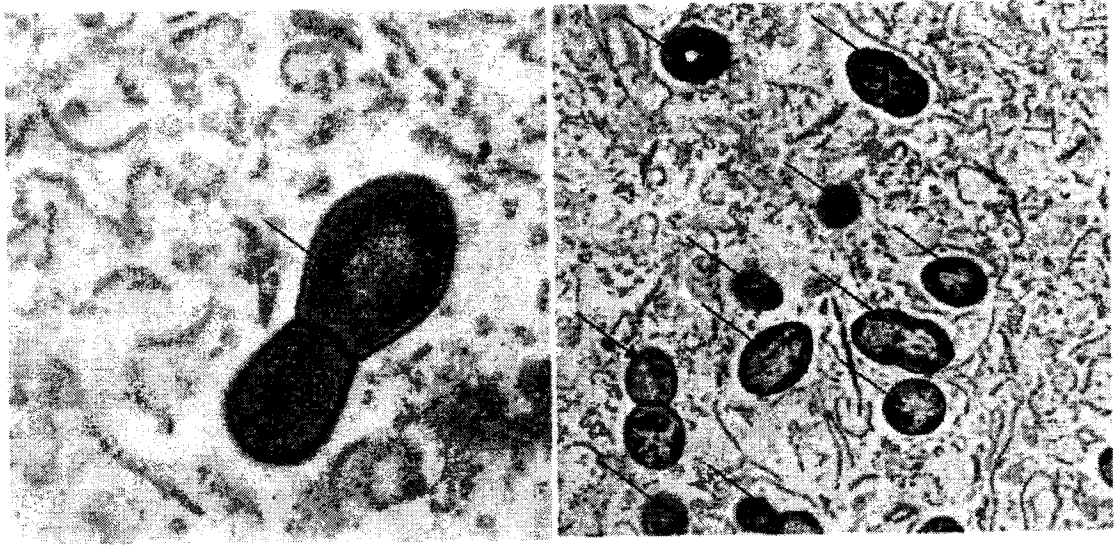


圖 3

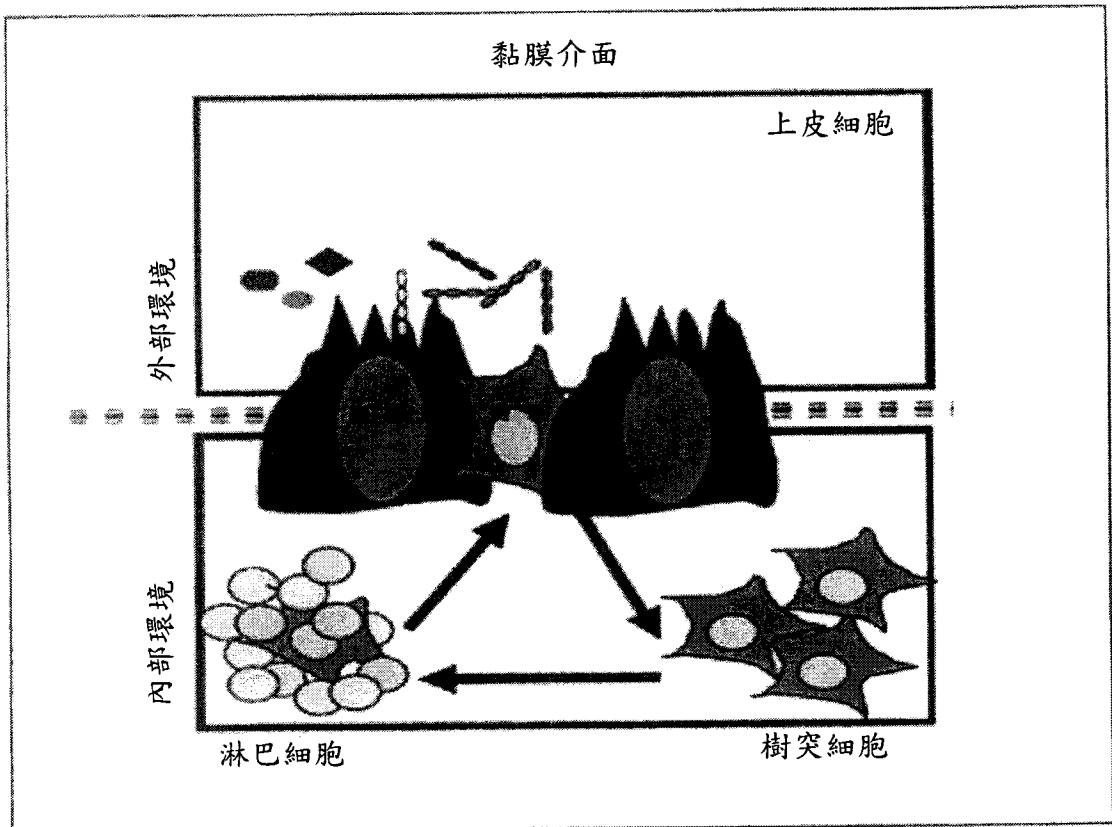


圖 4

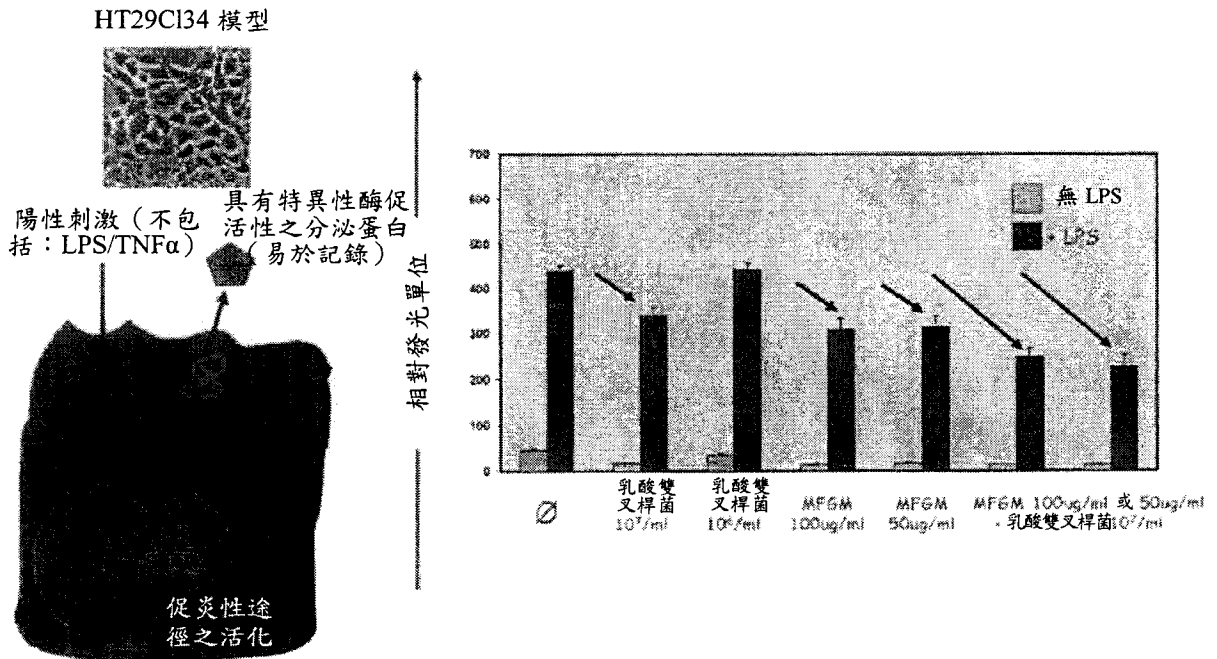


圖 5

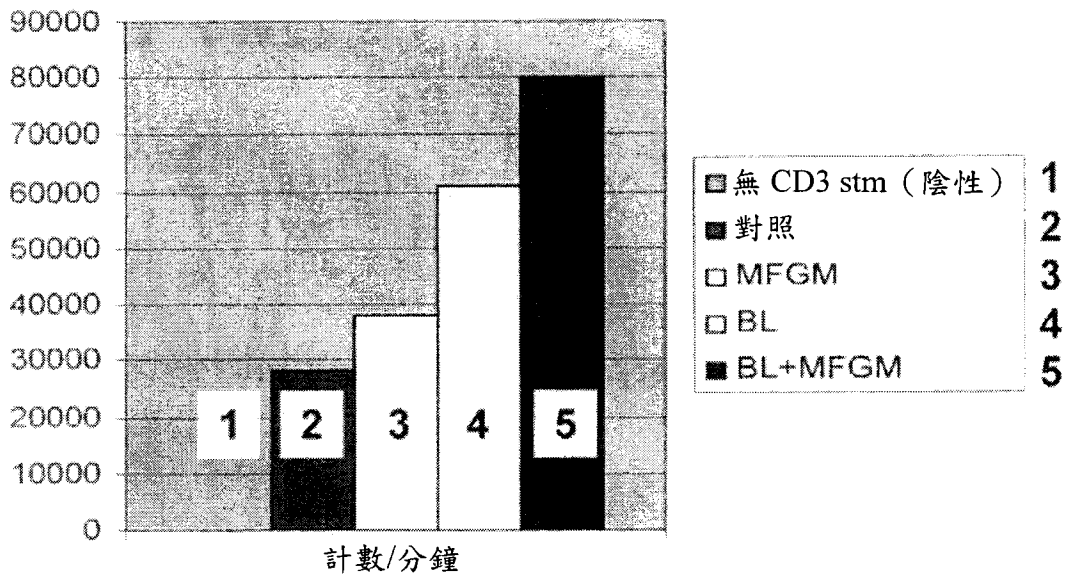


圖 6

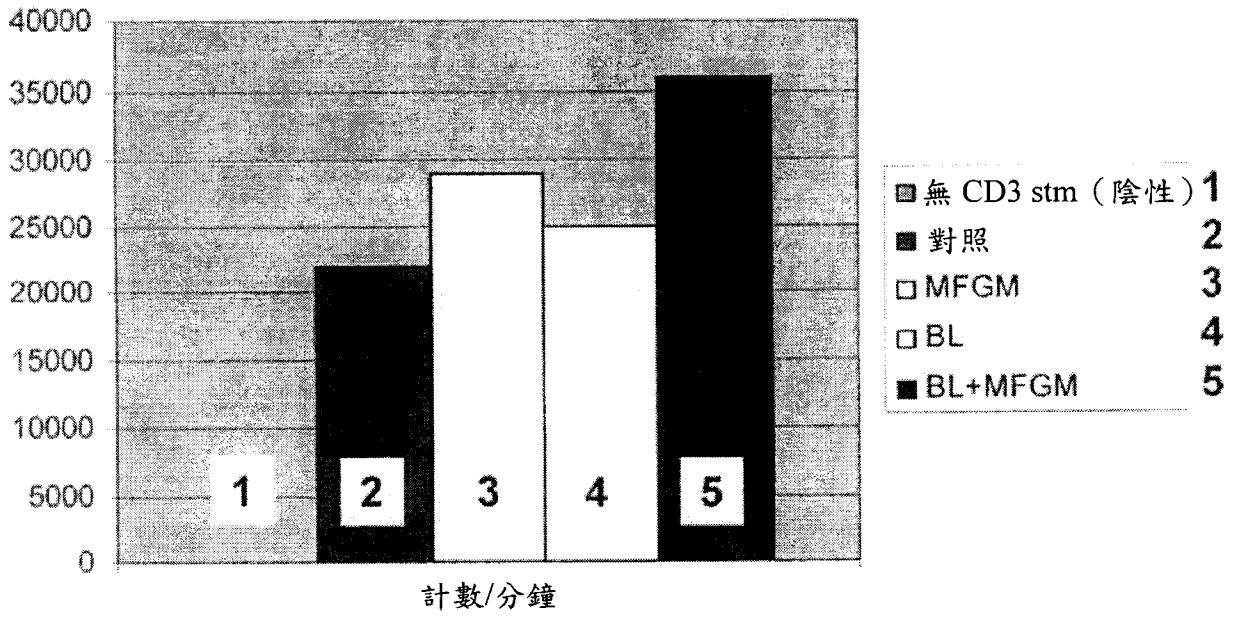


圖 7

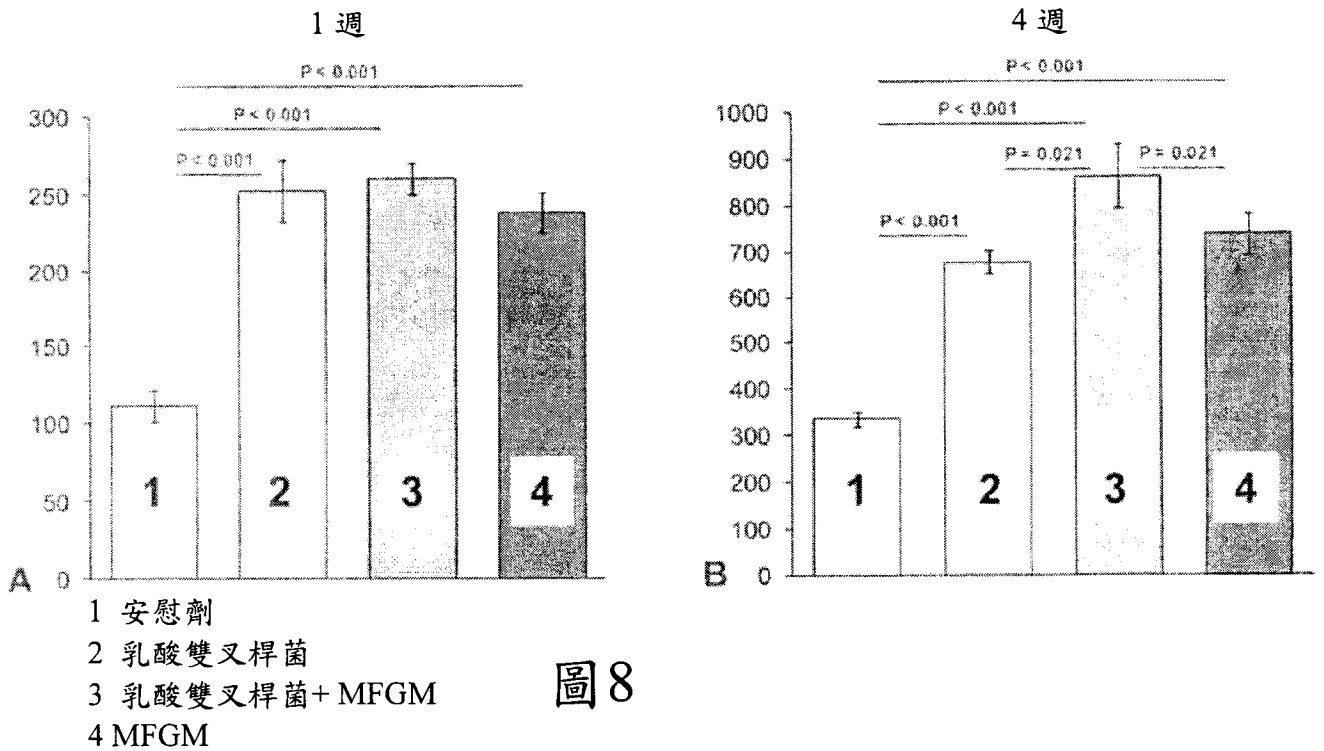


圖 8

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(8)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)