



(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 I770811 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 07 月 11 日

(21)申請案號：110104506

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 05 日

(51)Int. Cl. : **C12N1/20 (2006.01)** **A61K35/744 (2015.01)**
 A61P1/00 (2006.01) **A61P13/12 (2006.01)**
 A23L33/135 (2016.01)

(71)申請人：國立臺灣大學(中華民國) NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY (TW)
 臺北市大安區羅斯福路 4 段 1 號

(72)發明人：陳明汝 CHEN, MING JU (TW)；黃筱雯 HUANG, HSIAO WEN (TW)

(74)代理人：林文杰

(83)生物材料寄存：

食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 911034 2021 年 01 月 07 日
 食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 911035 2021 年 01 月 07 日

(56)參考文獻：

TW I481409B

期刊 Lee et. al., "Alleviating chronic kidney disease progression through modulating the critical genus of gut microbiota in a cisplatin-induced Lanyu pig model" Journal of Food and Drug Analysis, vol. 28, Issue 1, Available online 17 October 2019, Pages 103-114

審查人員：吳嫻諄

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：10 共 23 頁

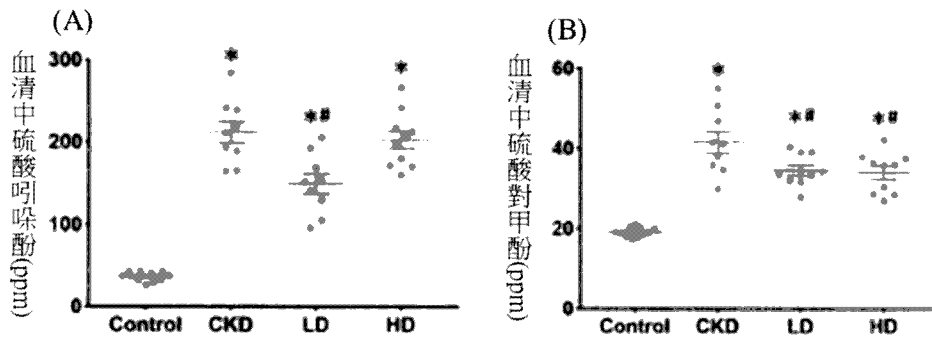
(54)名稱

一種益生菌、其組合物及用途

(57)摘要

本發明提供一種胚芽乳酸桿菌亞種 MFM 30-3(Lactobacillus plantarum subsp.plantarum)，其寄存於財團法人食品工業研究所，寄存編號為 BCRC 911035。本發明另外提供一種組合物，其包含胚芽乳酸桿菌亞種 MFM 30-3(Lactobacillus plantarum subsp.plantarum)、副乾酪乳桿菌亞種 MFM 18 (Lactobacillus paracasei subsp.paracasei)，其寄存編號為 BCRC 911034 以及藥學上可接受之載劑、賦形劑、稀釋劑或補劑。本發明目的在於提供一種益生菌組合物製備改善腎臟病的組合物之用途，降低循環系統中的尿毒素，還可進一步改善腸道微生物菌叢不良的問題。

指定代表圖：



[第7圖]

I770811

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

一種益生菌、其組合物及用途

【中文】

本發明提供一種胚芽乳酸桿菌亞種MFM 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，其寄存於財團法人食品工業研究所，寄存編號為BCRC 911035。本發明另外提供一種組合物，其包含胚芽乳酸桿菌亞種MFM 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)、副乾酪乳桿菌亞種MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，其寄存編號為BCRC 911034以及藥學上可接受之載劑、賦形劑、稀釋劑或補劑。本發明目的在於提供一種益生菌組合物製備改善腎臟病的組合物之用途，降低循環系統中的尿毒素，還可進一步改善腸道微生物菌叢不良的問題。

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 7 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

一種益生菌、其組合物及用途

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種益生菌、組合物和製備改善腎臟病組合物的用途。

【先前技術】

【0002】 慢性腎臟病 (Chronic Kidney Disease, CKD) 特徵在於腎功能逐漸喪失，隨著病程持續，最終導致腎功能衰竭，全球罹病總人口數呈現持續攀升之趨勢。台灣自2008年以來，末期腎臟病 (End-stage renal disease, ESRD) 的發生率和盛行率已高居世界前三位 (Levey and Coresh, 2012)，因慢性腎臟病就醫以及洗腎人口更逐年上升，顯示CKD已成為嚴重的公共衛生議題，迫切需要尋求其他替代性的預防或輔助療法，以達到減緩慢性腎臟病病程惡化之目的，為國人腎臟保健議題提供有效解決方案。

【0003】 CKD患者由於腎臟功能的衰退，血中尿毒物質無法有效排出體外，透過體內血液循環損傷腎臟以及其他組織和器官，尤其對心血管系統造成巨大損害。小分子親蛋白質尿毒素，如硫酸吲哚酚 (Indoxyl sulfate, IS) 和硫酸對甲酚 (*p*-cresyl sulfate, PCS)，為腸道微生物代謝胺基酸所衍生而來，而透析對親蛋白質化合物移除率相當低。兩者皆與CKD病程發展呈現高度正相關，同時也 and 較高的心血管併發症和死亡率相關，因此已被廣泛研究。

【0004】 腸道微生物菌叢對於維持人體健康以及多種疾病狀態扮演

著關鍵角色，許多研究已證實腸道微生物菌叢不良與某些疾病發展相關，而慢性腎臟病患體內腸道生態失衡更加速疾病惡化(Cani, 2017)。

【0005】 慢性腎臟病患體內的生理現象如過高的尿毒素濃度、代謝酸血症、較長時間的腸道過渡期，以及使用藥物或限制飲食皆是可能造成CKD患者腸道菌相失衡的因素，進而加速疾病的惡化。

【0006】 因此逐漸發展出有一種治療策略是針對微生物菌叢為基礎作為治療計畫，在於調整腸內微生物菌叢及恢復腸道菌相多樣性，而本發明的目的提供一種益生菌組合物制備改善腎臟病的組合物，用於降低循環系統中的尿毒素，還可進一步改善腸道微生物菌叢不良的問題。

【發明內容】

【0007】 本發明提供一種益生菌，其中該益生菌係為一種胚芽乳酸桿菌亞種MFM 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，且在寄存於食品工業發展研究所(台灣)，編號係BCRC 911035。

【0008】 本發明提供一種益生菌，其中該益生菌係為副乾酪乳桿菌亞種MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，存於食品工業發展研究所(台灣)，寄存編號為BCRC 911034。

【0009】 一種組合物，包含一種胚芽乳酸桿菌亞種MFM 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，且在寄存於食品工業發展研究所(台灣)，編號係為BCRC 911035以及一副乾酪乳桿菌亞種MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，存於食品工業發展研究所(台灣)，寄存編號為BCRC 911034。

【0010】 本發明提供一種組合物，其中該組合物為一食品、一飲品、

一營養補充劑、或一醫藥品。

【0011】 本發明提供一種組合物，其中MFM 30-3:MFM 18的數量比例為介於2:1至1:2之間。

【0012】 於一實施例中，本發明提供一種組合物，其中MFM 30-3:MFM 18的數量比例為1:1。

【0013】 本發明提供一種組合物，其中該組合物係為粉末狀、顆粒狀、液狀、膠狀或膏狀之劑型，且該組合物進一步包含一藥學上可接受之載劑、賦形劑、稀釋劑或補劑。

【0014】 本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其包含如胚芽乳酸桿菌亞種 MFM 30-3(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，其寄存編號為(BCRC 911035)以及副乾酪乳桿菌亞種 MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，其寄存編號為(BCRC 911034)。

【0015】 於一實施例中，本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中該腎臟病係為慢性腎臟病。

【0016】 於一實施例中，本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中該益生菌組合物的劑量為 5×10^5 至 5×10^9 CFU/ml。

【0017】 於一較佳實施例中，本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中該益生菌組合物的劑量至少為 5×10^6 CFU/ml。

【0018】 於一更佳實施例中，本發明提供一種益生菌組合物用於製備

改善腎臟病之組合物的用途，其中該益生菌組合物的劑量至少為 5×10^7 CFU/ml。

【0019】 本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中MFM 30-3:MFM 18的數量比例為介於2:1至1:2之間。

【0020】 於一實施例中，本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中MFM 30-3:MFM 18的數量比例為1:1。

【0021】 本發明另一目的提供益生菌用以製備改善腎臟病引起菌叢不良之組合物的用途，其包含MFM 30-3及MFM 18兩株菌株。

【0022】 本發明提供一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中該組合物降低指標分子的含量，該指標分子為吲哚、對甲酚、硫酸吲哚酚或硫酸對甲酚。

【0023】 以下將配合圖式進一步說明本發明的實施方式，下述所列舉的實施例係用以闡明本發明，並非用以限定本發明之範圍，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可做些許更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

【0024】 第1A圖為本發明不同菌株吲哚清除能力之長條圖；若圖中的a、b、c等符號若有重複，則代表菌株間不具顯著差異。

【0025】 第1B圖為本發明不同菌株對甲酚清除能力之長條圖。

【0026】 第2A圖為本發明一實施例之不同益生菌組合之吲哚清除能力之長條圖。

【0027】 第2B圖為本發明一實施例之不同益生菌組合之對甲酚清除

能力之長條圖。

【0028】 第3A圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後腎臟受損分數之長條圖。

【0029】 第3B圖本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後腎臟纖維化面積之長條圖。

【0030】 第4A圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後TGF-beta表現量之分布圖。

【0031】 第4B圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後纖維連蛋白表現量之分布圖。

【0032】 第5A圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後尿素氮含量之長條圖。

【0033】 第5B圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後肌酸酐之長條圖。

【0034】 第6A圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後TNF- α 表現量之分布圖。

【0035】 第6B圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後IL-6表現量之分布圖。

【0036】 第6C圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後MPO蛋白表現量之分布圖。

【0037】 第7A圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後硫酸吲哚酚之分布圖。

【0038】 第7B圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後硫酸

對甲酚之分布圖。

【0039】 第8圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後FITC葡聚醣之分布圖。

【0040】 第9A-9C圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後腸道菌相多樣性、豐富度及均勻度之盒形圖。

【0041】 第10A-10H圖為本發明一實施例之CKD小鼠以及給予Lm後不同菌的相對豐富度盒形圖。

【實施方式】

【0042】 益生菌的篩選流程

【0043】 1. 將菌株加入含有吲哚 (indole) 之模擬腸液環境中 (pH=7.25)。

【0044】 2. 由蒙古發酵乳中所分離之60株菌株發現其中13株的吲哚清除率高於7%。

【0045】 3. 進行indole以及*p-cresol*清除試驗做重複確認，從第1A、1B圖顯示出 *L. crustorum* 的6種菌株在兩種尿毒素前驅物質清除率無顯著差異，因此在本發明篩選過程選擇較具腸胃道耐受性的MFM14-1; *L. plantarum* 則有MFM22、30-2及30-3在兩種尿毒素前驅物之清除率皆顯著較高，故選擇此三株；而 *L. paracasei* 則僅有一株MFM 18可供選擇，綜合上述，挑選以上五株菌株進行不同組合之搭配。

【0046】 如同第2A、2B圖所示，並依照下表一所列的組合方式進行吲哚及對甲酚的清除率試驗，以MFM 30-3和MFM 18的組合(D3)於吲哚(3.32% ± 0.15%)和對甲酚(3.47% ± 0.16%)之清除力顯著高於其他組合，在本

發明中，以*Lactobacillus mix* (Lm)的方式命名此二個菌株組合使用的組合物。

【0047】 表一

Single strain 單菌株	Double strain 雙菌株組合	Triple strain 三菌株組合
S1: MFM 22	D1: MFM 22/18	T1: MFM 22/18/14-1
S2: MFM 30-2	D2: MFM 30-2/18	T2: MFM 30-2/18/14-1
S3: MFM 30-2	D3: MFM 30-3/18	T3: MFM 30-3/18/14-1
S4: MFM 18	比例:1:1	比例:1:1:1
S5: MFM 14-1	菌量含量: 10^9 CFU/mL	菌量含量: 10^9 CFU/mL
各菌株 10^9 CFU/mL		

【0048】 抗生素的敏感性試驗

【0049】 本發明使用的兩種益生菌，分別為MFM 30-3以及MFM 18，由表二、表三顯示出MFM 30-3對於抗生素的抗性表現，對比模式菌株(BCRC 10069^T)以及過去已公開文獻使用的菌株(BCRC 12251)相互比較；同理MFM 18的抗生素抗性比較，比較對象為模式菌株(BCRC 12248^T)以及過去已公開文獻使用的菌株(BCRC 12188)。

【0050】 表二

Antibiotic	<i>L. plantarum</i> MFM 30-3	<i>L. plantarum</i> BCRC 12251	<i>L. plantarum</i> BCRC10069 ^T	<i>L. paracasei</i> MFM 18	<i>L. paracasei</i> BCRC12188	<i>L. paracasei</i> BCRC12248 ^T
Penicillin (10 µg)	ND	21.0 ± 0.7	22.9 ± 0.3	22.4 ± 1.5	23.5 ± 0.0	33.3 ± 0.5
Tetracycline (30 µg)	17.5 ± 0.6	8.6 ± 0.3	9.5 ± 2.3	24.5 ± 0.7	23.9 ± 1.0	27.6 ± 0.5
Vancomycin (30 µg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Chloraphenicol (30 µg)	20.3 ± 1.3	19.3 ± 0.3	15.8 ± 0.9	17.4 ± 0.8	18.0 ± 0.6	16.1 ± 1.0

【0051】 透過擴散直徑(單位為mm)大小判斷是否容易受到該類抗生素抑制其生長，ND代表著具有抗性。

【0052】 表三

Antibiotic	<i>L. plantarum</i> MFM 30-3	<i>L. plantarum</i> BCRC 12251	<i>L. plantarum</i> BCRC10069 ^T	<i>L. paracasei</i> MFM 18	<i>L. paracasei</i> BCRC12188	<i>L. paracasei</i> BCRC12248 ^T
Penicillin (10 µg)	R	MS	MS	MS	MS	S
Tetracycline (30 µg)	MS	R	R	S	S	S
Vancomycin (30 µg)	R	R	R	R	R	R
Chloraphenicol (30 µg)	S	S	MS	MS	S	MS

【0053】 依照W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. and J. K. Collins. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* 61:1636–1643這篇文獻提出的分類方法，可以更加瞭解抗生素敏感性，R代表有抗性；MS代表中度敏感；S代表敏感。

【0054】 由上表二、三可以明顯得知MFM 30-3在盤尼西林(Penicillin)具有非常特殊的特性，可以不受其影響；MFM 18在抗生素的抗性試驗上，也與其他兩株菌株表現略有不同。

【0055】 MFM 30-3醣類代謝試驗，如表四所示，使用微生物鑑定套組(黃金標準鑑定法)中的API® 50 CHL乳酸菌鑑定(Lactic acid bacteria)，檢測該菌株對於不同醣類的利用能力，若該菌株可應用特定醣類，可於2-3天觀察到明顯顏色變化，反之顏色無變化則表示無法利用該醣類。

【0056】 另外，在表四、表五中顯示該菌株對於特定醣類呈現微弱反應代號(w)，代表經培養七天後，才開始對該醣類有些微代謝作用發生，即認定呈現微弱反應。

【0057】 表四

Carbohydrate	MFM 30-3	BCRC 10069	BCRC12251	Carbohydrate	MFM 30-3	BCRC 10069	BCRC12251
CONTROL	-	-	-	ESC	+	+	+
GLY	w	-	w	SAL	+	+	+
FRY	-	-	-	CEL	+	+	+
DARA	-	-	+	MAL	+	+	+
LARA	-	+	+	LAC	+	+	+
RIB	+	+	+	MEL	+	+	+
DXYL	-	-	-	SAC	+	+	+
LXYL	-	-	-	TRE	+	+	+
ADO	-	-	-	INU	-	-	+
MDX	-	-	-	MLZ	-	+	+
GAL	+	+	+	RAF	+	+	+
GLU	+	+	+	AMD	-	+	-
FRU	+	+	+	GLYG	-	-	-
MNE	+	+	+	XLT	-	-	-
SBE	-	-	-	GEN	w	w	+
RHA	-	-	-	TUR	+	+	+
DUL	-	-	+	LYX	-	-	-
INO	-	-	+	TAG	-	-	+
MAN	+	+	+	DFUC	-	-	-
SOR	+	+	+	LFUC	-	-	-
MDM	-	+	+	DARL	w	-	-
MDG	-	-	+	LARL	-	-	-
NAG	+	+	+	GNT	w	w	w
AMY	+	+	+	2KG	-	-	-
ARB	+	+	+	5KG	-	-	-

+代表可以代謝醣類；-代表無法代謝的醣類；w代表呈現微弱的反應(七天)

【0058】 MFM 18 醣類代謝試驗，如表五所示

【0059】 表五

Carbohydrate	MFM 18	BCRC12248	BCRC12188	Carbohydrate	MFM 18	BCRC12248	BCRC12188
CONTROL	-	-	-	ESC	+	+	+
GLY	-	-	w	SAL	+	+	+
ERY	-	-	-	CEL	+	+	+
DARA	-	-	+	MAL	+	+	+
LARA	-	-	-	LAC	+	+	-
RIB	+	+	+	MEL	-	-	-
DXYL	-	-	-	SAC	w	+	+
LXYL	-	-	-	TRE	+	+	+
ADO	-	-	-	INU	-	-	+
MDX	-	-	-	MLZ	+	+	+
GAL	+	+	+	RAF	-	-	-
GLU	+	+	+	AMD	-	-	-
FRU	+	+	+	GLYG	-	-	-
MNE	+	+	+	XLT	-	-	-
SBE	+	-	-	GEN	w	+	w
RHA	-	-	-	TUR	+	+	+
DUL	-	-	+	LYX	-	-	-
INO	-	-	w	TAG	+	+	+
MAN	+	+	+	DFUC	-	-	-
SOR	w	-	+	LFUC	-	-	-
MDM	-	-	-	DARL	-	-	-
MDG	-	w	+	LARL	-	-	-
NAG	+	+	+	GNT	w	w	w
AMY	+	w	+	2KG	-	-	-
ARB	+	+	+	5KG	-	-	-

+代表可以代謝醣類；-代表無法代謝的醣類；w代表呈現微弱的反應(七天)

【0060】 本發明之另一目的提供前述益生菌之用途，用以製備改善慢性腎臟病(CKD)之組合物。

【0061】 動物試驗

【0062】 此一試驗的目的在於驗證將Lm用於預防由腺嘌呤引起的腎臟受損，在本發明小鼠飼養的過程，以飼料(AIN-93G)加上0.2%腺嘌呤餵養小鼠18天做為慢性腎臟病的誘導組(CKD)，同時在試驗過程中給予Lm不同劑量分為低劑量組(LD, Low dosage: 5×10^7 CFU/ml)與高劑量組 (HD, High dosage: 5×10^9 CFU/ml)，而控制組(Control)則是不含0.2%腺嘌呤之AIN93G作為飼料的正常小鼠。

【0063】 如第3A、3B圖所示，CKD的小鼠無論是在腎臟受損程度及腎臟纖維化皆顯著高於控制組，而給予Lm之組別，則兩者皆顯著下降。

【0064】 細胞激素TGF-beta為腎臟纖維化之誘導因子，其活化下游纖維化相關蛋白如纖維連蛋白(Fibronectin protein)之表現。如第4A圖所示，由腎臟TGF-beta的蛋白表現量可以得知，CKD小鼠的表現量顯著高於控制組，而給予Lm可降低其表現量，而低劑量組具有顯著下降的效果。

【0065】 從第4B圖關於纖維連蛋白的表現，可以得知CKD小鼠的表現顯著高於控制組，而Lm的給予，無論LD或是HD劑量，皆可以顯著降低纖維連蛋白表現。

【0066】 透過檢測CKD小鼠血清中尿素氮(BUN)以及肌酸酐(CRE)的變化以評估給予Lm改善腎功能之情形。由第5A、5B圖可知，CKD小鼠的腎功能顯著低於控制組；而給予Lm的組別，低劑量組可顯著降低血清中

BUN及CRE，顯示Lm的給予可以使CKD小鼠保有較佳的腎臟功能性。

【0067】 研究指出免疫失調亦是加速惡化CKD的關鍵因素，因此進一步分析本發明對於腎臟促發炎細胞激素(Proinflammatory cytokine) TNF- α 和IL-6含量之影響。

【0068】 如第6A、6B圖所示，CKD小鼠腎臟的TNF- α 和IL-6含量相比控制組而言，呈現顯得較低之現象，而給予Lm，可顯著提升其含量，顯示因CKD所引起之免疫抑制效應可因補充Lm而得到改善，得以恢復CKD小鼠免疫防禦機制之運作。

【0069】 同時進一步探討骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase, MPO) 的表現量，此酵素為嗜中性白血球與單核球所產生，作為先天免疫系統對抗病原菌入侵的防禦機制，可用於反應出組織的發炎程度。由第6C圖可知CKD小鼠之MPO蛋白質表現量顯著提升約23.4倍，顯示CKD小鼠腎臟呈現劇烈的發炎狀態，而給予Lm則可達到顯著下降之效果。

【0070】 本發明益生菌組合物對於血液中的硫酸吲哚酚(indoxyl sulfate)和硫酸對甲酚 (*p*-cresyl sulfate)的影響

【0071】 由第7A、7B圖得知控制組血清中的硫酸吲哚酚及硫酸對甲酚含量較低，而CKD小鼠血液中此兩物質含量顯著增加，此數據亦驗證個體若罹患CKD，血液中此兩化合物含量會因為腎臟功能低下而累積於體內。而給予Lm時，LD可顯著降低此兩尿毒素之含量；HD組可顯著降低硫酸對甲酚的含量，而硫酸吲哚酚則有降低之趨勢。

【0072】 腸道通透性測試

【0073】 為了要測試本發明之益生菌組合物對於CKD小鼠是否有改

善腸道通透性以及維持腸道障蔽之功效，CKD小鼠服用螢光標記之葡聚醣(FITC-dextran)，並進一步分析血液中的螢光物質含量之變化，如同第8圖所示，CKD小鼠的FITC葡聚醣腸道通透性的情況明顯高於控制組，顯示CKD小鼠腸道障蔽受損之情形，而補充低劑量LD的Lm，可顯著降低腸道通透性，提升腸道障蔽完整性，高劑量HD的Lm未達顯著效果。

【0074】 菌叢不良以及豐富度的改善及變化

【0075】 本發明之益生菌組合物對於腸道豐富度的改善，基本上依照通常知識者可藉由三種不同指標加以判斷，分別是Observed Operational Taxonomic Units(OTUs)、Chao1以及Shannon，依序為第9A-9C圖，其中單就微生物的總體數量來看(Observed OTUs)，給予低劑量LD的Lm，可使CKD小鼠微生物的總體數量獲得提升，接著就會看微生物種的數目是否有所變化(Chao1)，如同第9B圖所示，給予低劑量LD的Lm，可以看出微生物的物種數目大幅提升，甚至回到控制組的態樣。

【0076】 腸道菌種豐富度

【0077】 本發明之益生菌組合物用於改善腸道菌叢不良用途，更進一步分析給予Lm對於CKD小鼠腸道中特定菌相的或數目的變化。

【0078】 如第10A-10G圖所示，分別顯示的有瘤胃梭菌屬(*Ruminiclostridium* 6)、瘤胃菌屬(*Ruminococcaceae* UCG 010)、革蘭氏陰性桿菌屬(*Negativibacillus*)、*Faecalibaculum* 屬(*Faecalibaculum*)、嗜木聚醣真桿菌屬(*Eubacterium xylanophilum* group)、紅螭桿菌屬(*Coriobacteriaceae* UCG 002)、蘇黎世桿菌屬(*Turicibacter*)、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)，這些菌屬或菌種皆是屬於健康小鼠體內所存在之常駐菌相，與提供健康的

生理作用有關。瘤胃梭菌屬 (*Ruminiclostridium* 6)、瘤胃菌屬 (*Ruminococcaceae* UCG 010)、革蘭氏陰性桿菌屬 (*Negativibacillus*)、*Faecalibaculum* 屬 (*Faecalibaculum*)、嗜木聚醣真桿菌屬 (*Eubacterium xylanophilum* group)可發酵醣類產生短鏈脂肪酸，屬具健康生理功效之物質；而蘇黎世桿菌屬 (*Turicibacter*)則是與維持腸道屏障功能性蛋白表現量有相關性，乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)則為常見之乳酸菌。結果顯示CKD小鼠在這些菌屬或菌株的豐富度顯著降低，而給予Lm後，可顯著增加其相對豐富度，甚至高於控制組，而此提升效果並非隨著Lm劑量提升而具劑量效應，適量的Lm，可達到較佳的提升效果，在本發明的試驗結果顯示，低劑量LD的Lm即具有提升因CKD誘導而下降之常駐菌相相對豐富度。

【0079】 定義

【0080】 益生菌株(probiotic或probiotic bacteria)係為一微生物，其菌體、混合菌株、萃取物或代謝產物對於宿主本身係具有正面影響，通常源自於人體內、有益於腸道健康的活菌，亦可指外來補充、對身體可能有利的某些微生物，其中該益生菌株的代謝產物係為該益生菌株之分泌物，包含培養該菌的培養液。

【0081】 本發明所適用的對象為哺乳動物的實例包括但不限於哺乳動物綱的任何成員：人、非人靈長類如黑猩猩及其它猿類和猴類；農場動物如牛、馬、綿羊、山羊、豬；家養動物如兔、狗和貓；實驗室動物，包括齧齒類動物如大鼠、小鼠和豚鼠等。

【0082】 本發明所稱之腎臟病指的是體內腎臟功能逐漸喪失的疾病，常見的生理現象為血液中的尿毒素增加進而引起尿毒症，對於個體的

器官造成損傷，腎臟病包含先天性腎臟病、腎炎、續發性腎臟病及血管性腎病變，都會出現尿毒症的發生，而本發明之意旨在於降低個體腸道中吡哌、對甲酚，進而減少血液中硫酸吡哌酚或硫酸對甲酚這些尿毒滯留物質，達到改善個體腎臟病的功效。

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

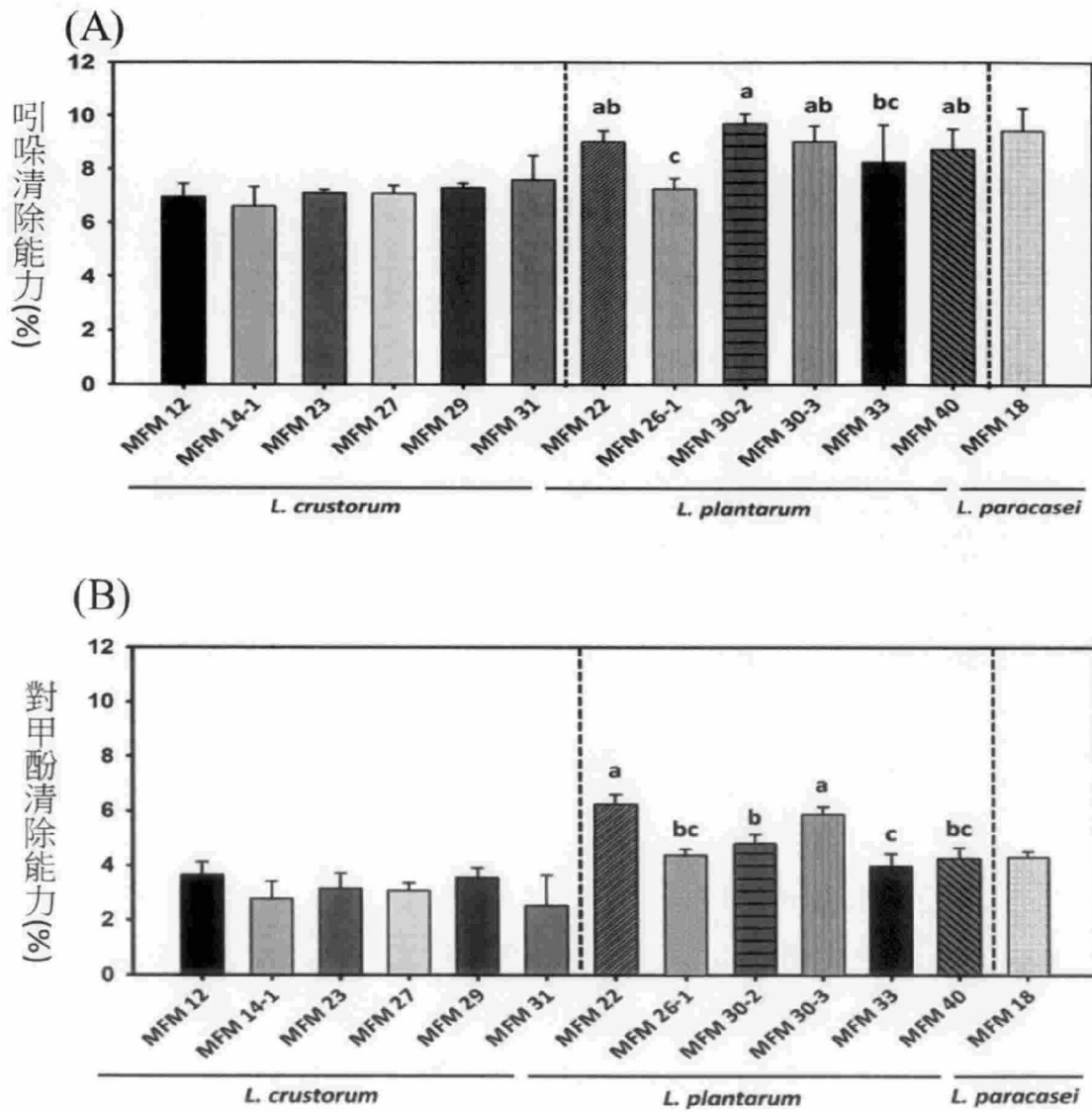
中華民國財團法人食品工業發展研究所、2021/01/07、寄存編號:911034。

中華民國財團法人食品工業發展研究所、2021/01/07、寄存編號: 911035。

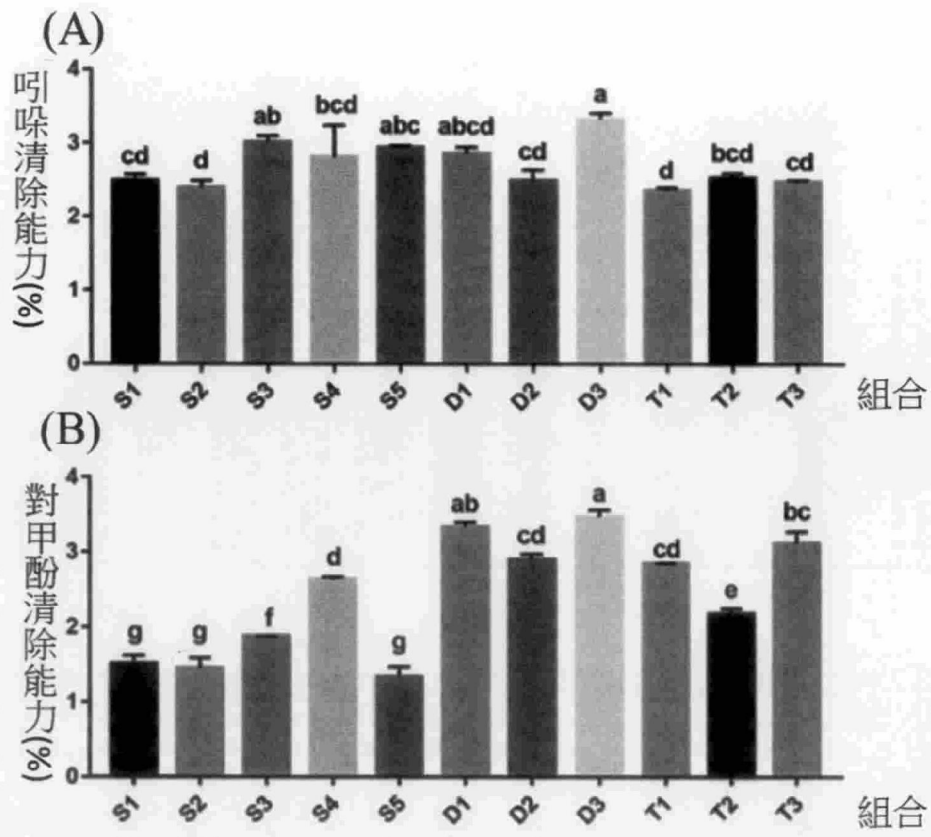
申請專利範圍

- [第1項] 一種胚芽乳酸菌亞種 MFM 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，其寄存於財團法人食品工業研究所，寄存編號為(BCRC 911035)。
- [第2項] 一種組合物，包含一如申請專利範圍第 1 項所述之胚芽乳酸桿菌亞種 MFM 30-3，寄存編號為(BCRC 911035)以及一副乾酪乳桿菌亞種 MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，寄存編號為(BCRC 911034)。
- [第3項] 如申請專利範圍第 2 項所述之組合物，其為一食品、一飲品、一營養補充劑或一醫藥品。
- [第4項] 一種益生菌組合物用於製備改善腎臟病之組合物的用途，其中該組合物包含如申請專利範圍第 1 項所述之胚芽乳酸桿菌亞種 30-3 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)，其寄存編號為(BCRC 911035)和副乾酪乳桿菌亞種 MFM 18 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)，其寄存編號為(BCRC 911034)。
- [第5項] 如申請專利範圍第 4 項所述之用途，其中該腎臟病係為慢性腎臟病。
- [第6項] 如申請專利範圍第 4 項所述之用途，其中該益生菌組合物的劑量至少為 5×10^5 CFU/ml。
- [第7項] 如申請專利範圍第 4 項所述之用途，其中該組合物降低指標分子。
- [第8項] 如申請專利範圍第 7 項所述之用途，其中該指標分子為吡啶、對甲酚、硫酸吡啶酚或硫酸對甲酚。
- [第9項] 如申請專利範圍第 4 項所述之用途，其改善腸道菌叢不良的現象。
- [第10項] 如申請專利範圍第 4 項所述之用途，用以提升腸道障蔽完整性。

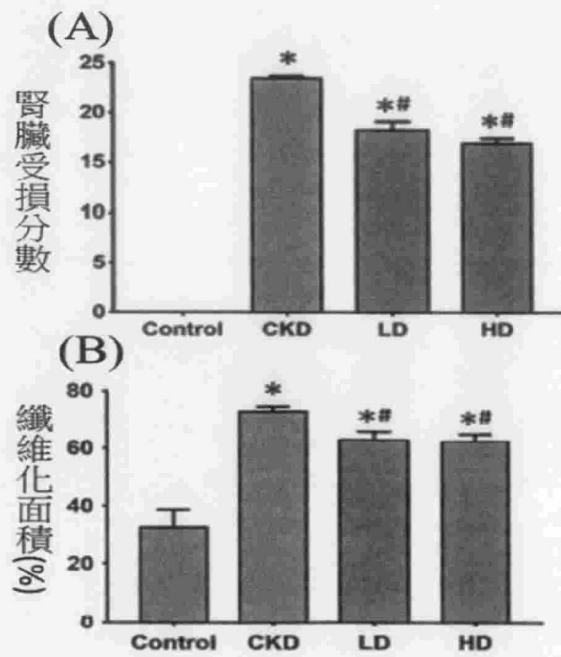
圖式



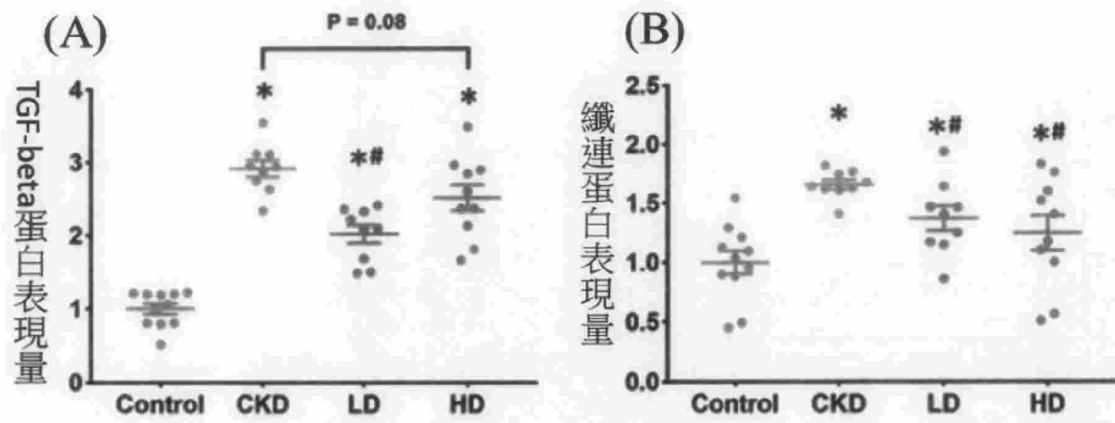
[第1圖]



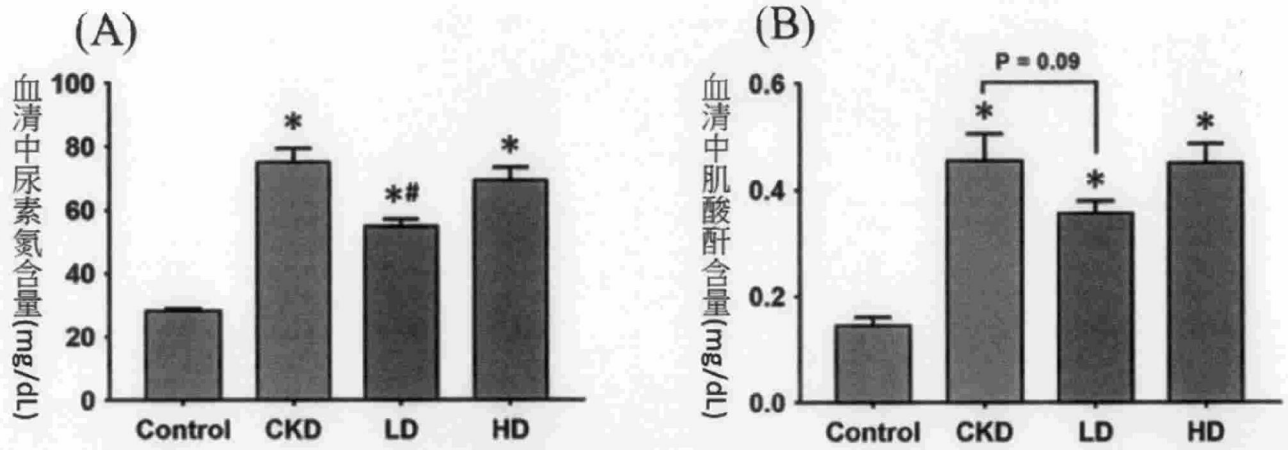
[第2圖]



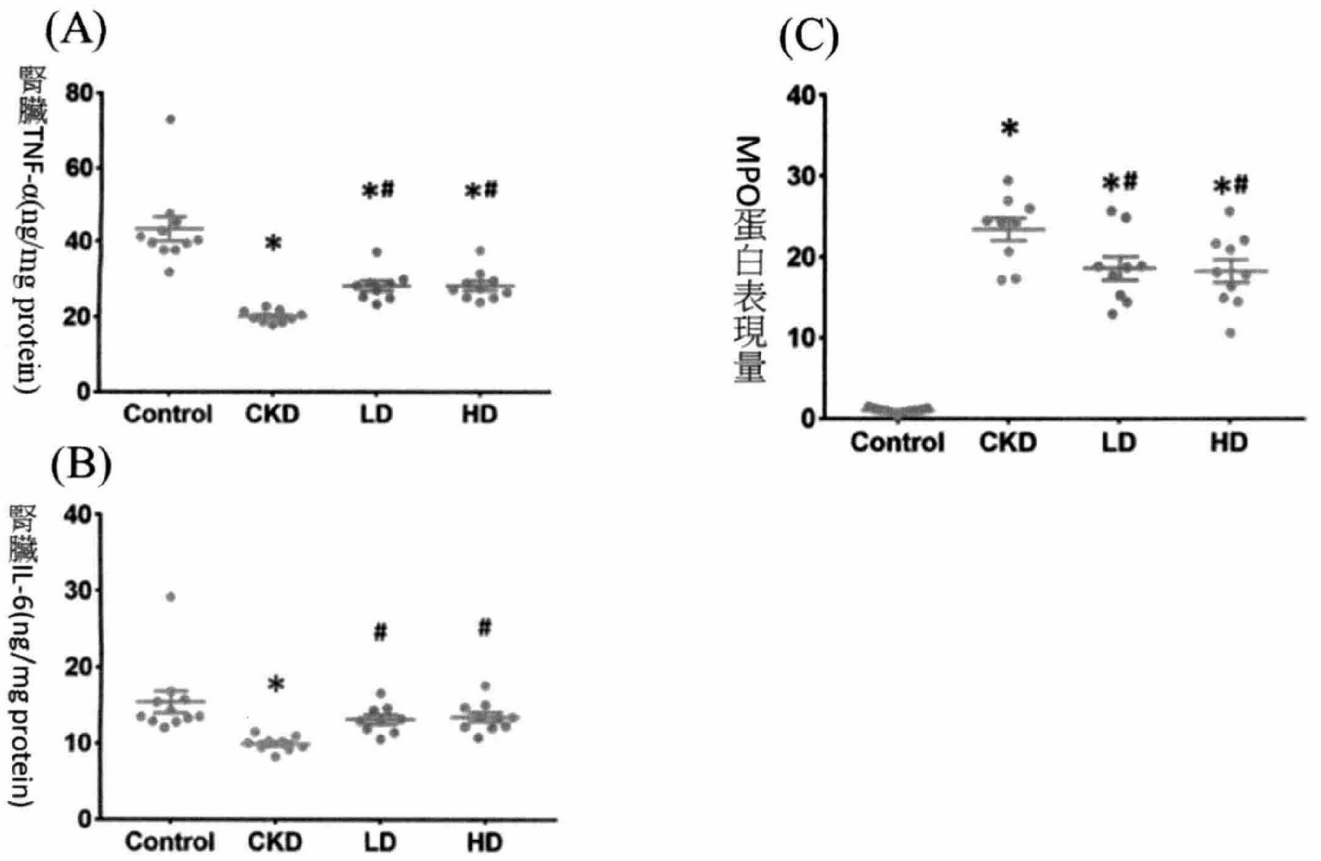
[第3圖]



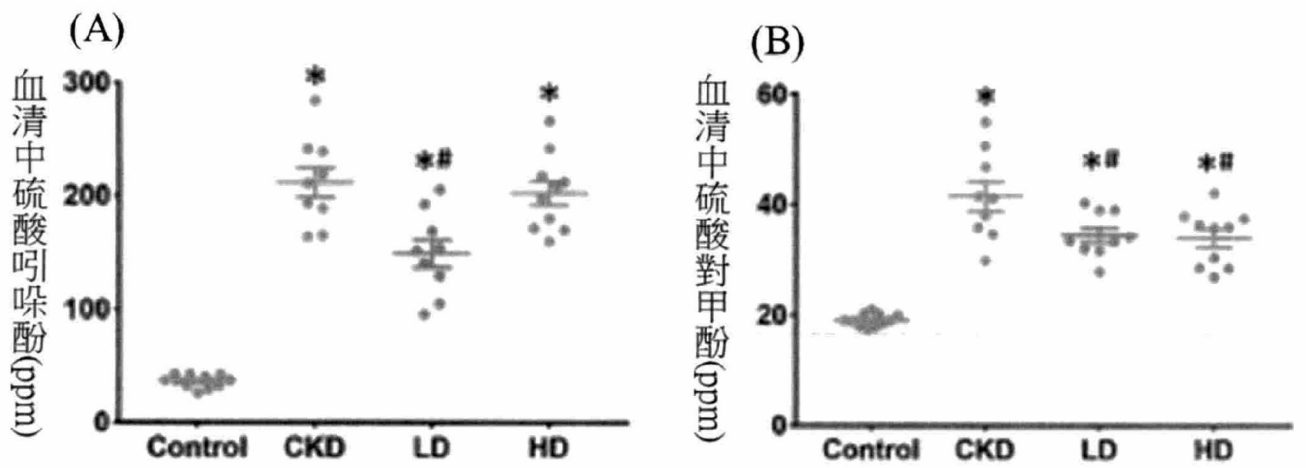
[第4圖]



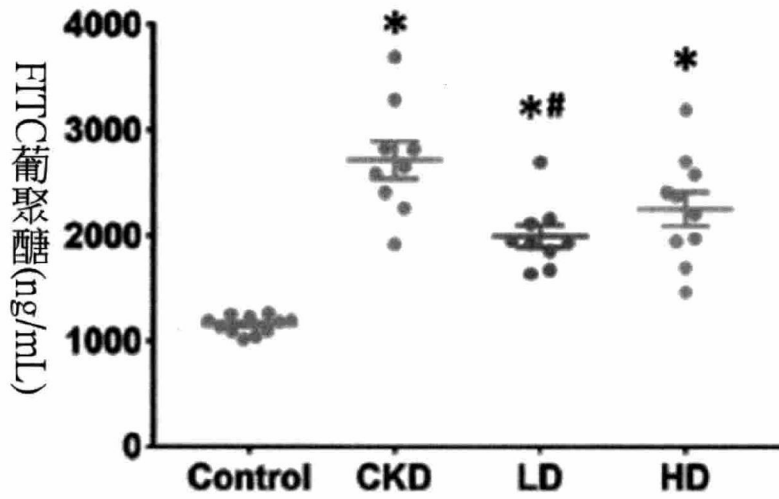
[第5圖]



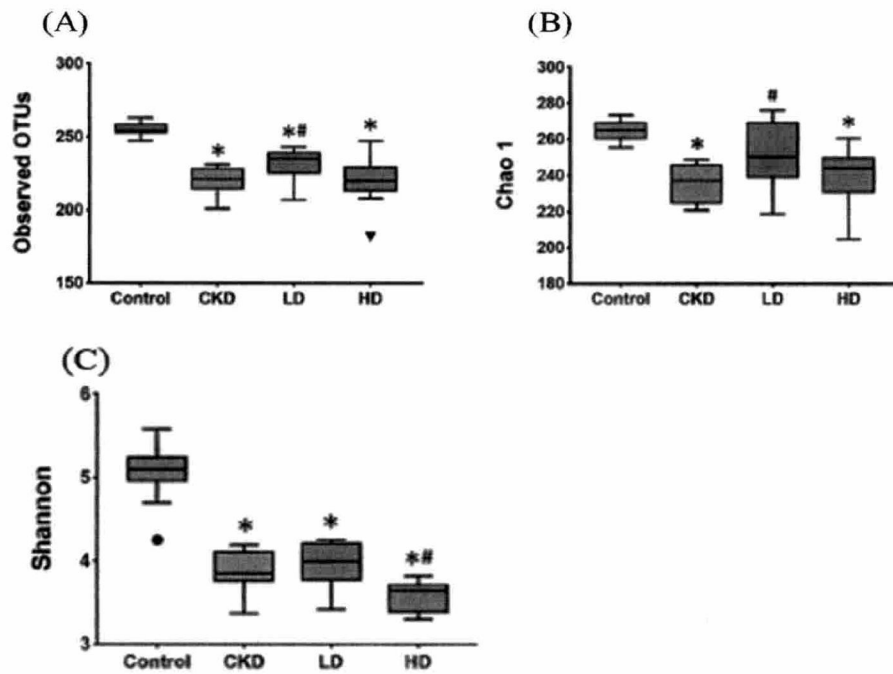
[第6圖]



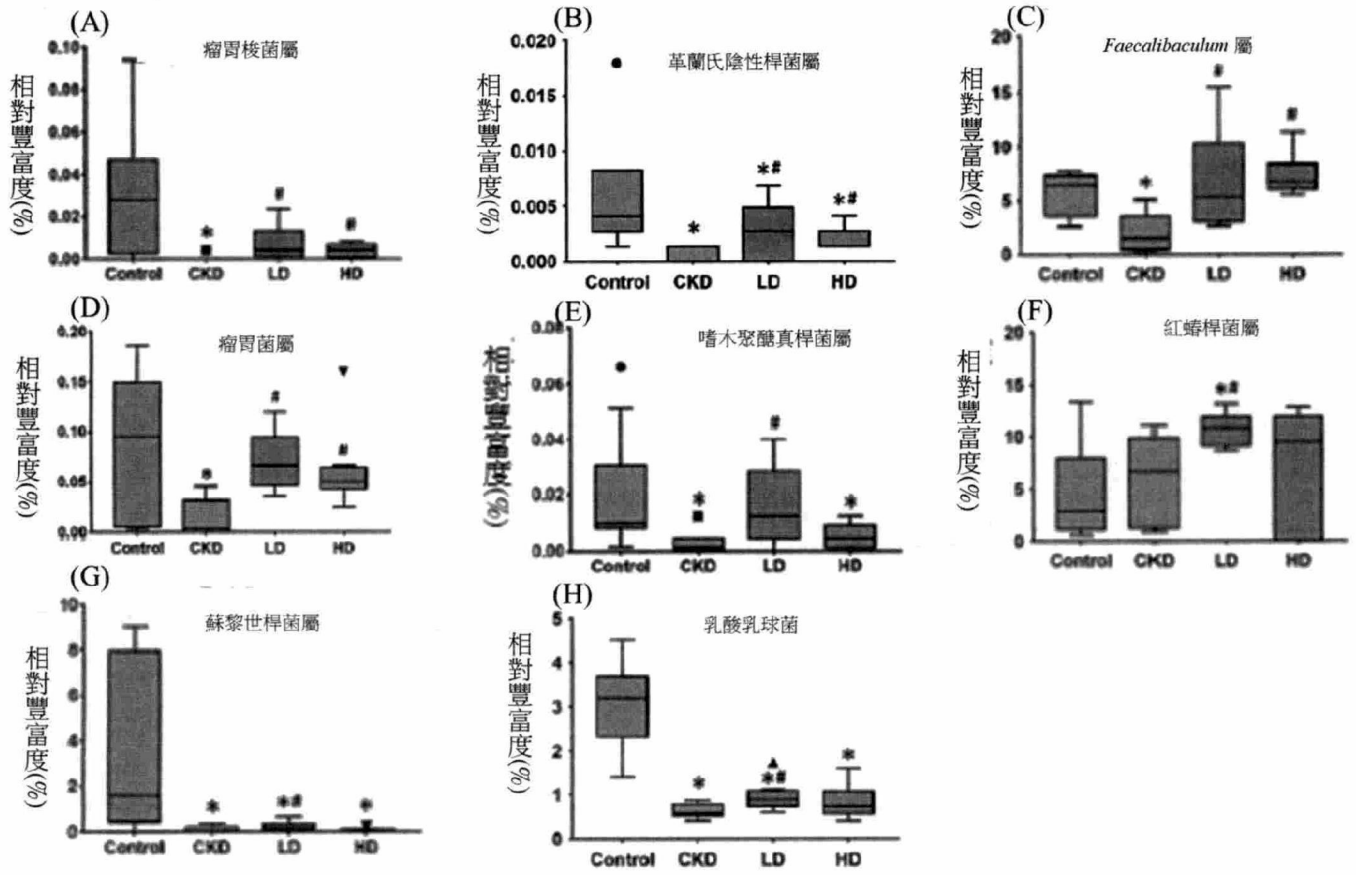
[第7圖]



[第8圖]



[第9圖]



[第10圖]