



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105407971 B

(45) 授权公告日 2020.11.17

(21) 申请号 201480042721.7

(72) 发明人 A · J · 克拉克 M · S · 特里维迪

(22) 申请日 2014.05.30

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105407971 A

11247

(43) 申请公布日 2016.03.16

代理人 黄革生 林柏楠

(30) 优先权数据

61/829,764 2013.05.31 US

(51) Int.CI.

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 35/20 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016.01.28

(56) 对比文件

CN 1368853 A, 2002.09.11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/NZ2014/000102 2014.05.30

CN 1720062 A, 2006.01.11

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/193248 EN 2014.12.04

Trusewell A S. Review: The A2 milk  
case: critical review.《European Journal  
of Clinical Nutrition》.2005, 第59卷(第5  
期), 623-631.

(73) 专利权人 艾尔牛奶有限公司

审查员 孙谦

地址 新西兰奥克兰

权利要求书1页 说明书14页 附图7页

(54) 发明名称

β -酪蛋白A2和肠炎症的预防

(57) 摘要

组合物用于预防或降低动物中的肠炎症的风险的用途，其中组合物含有 β -酪蛋白并且其中 β -酪蛋白包含以重量计至少50%的 β -酪蛋白A2。

1. 含有 $\beta$ -酪蛋白的组合物在制备用于在动物中降低由消费含 $\beta$ -酪蛋白的食物诱导的肠炎症风险的食物产品中的用途,其中所述组合物中的 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2以及以重量计小于50%重量的 $\beta$ -酪蛋白A1。
2. 权利要求1中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计至少90%的 $\beta$ -酪蛋白A2。
3. 权利要求2中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含至少99%的 $\beta$ -酪蛋白A2。
4. 权利要求1中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计少于50%的 $\beta$ -酪蛋白A1。
5. 权利要求4中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计少于10%的 $\beta$ -酪蛋白A1。
6. 权利要求3中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计少于1%的 $\beta$ -酪蛋白A1。
7. 权利要求4中所述的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包含以重量计少于1%的 $\beta$ -酪蛋白A1。
8. 权利要求1至7中任一项所述的用途,其中组合物是牛乳,所述食物产品是乳产品。
9. 权利要求8中所述的用途,其中乳产品是鲜乳、乳粉、从粉末重构的液态乳、脱脂乳、均质乳、炼乳、蒸发乳、巴氏杀菌乳、非巴氏杀菌乳、或UHT乳。
10. 权利要求8中所述的用途,其中乳产品是奶油、酸奶、夸克、乳酪、黄油、或冰淇淋。
11. 权利要求1所述的用途,其中肠炎症是炎性肠病。
12. 权利要求11中所述的用途,其中炎性肠病是克罗恩病或溃疡性结肠炎。
13. 权利要求1所述的用途,其中肠炎症是肠易激综合征。
14. 权利要求1所述的用途,其中动物是人、狗、或猫。

## β-酪蛋白A2和肠炎症的预防

### 技术领域

[0001] 本发明涉及乳蛋白β-酪蛋白A2用于预防或降低肠炎症的风险的用途。具体地，本发明涉及乳和源自乳的食物产品，以及避免消费含有高水平蛋白质β-酪蛋白A1的乳和乳产品，所述β-酪蛋白A1已被证明导致即发的和持续的肠炎症。本发明涉及肠炎症的预防，包括一般肠刺激以及炎性肠病和肠易激综合征。

### [0002] 发明背景

[0003] 肠炎症能够起因于以结肠和小肠的炎症为特征的多种疾病或病症。此类疾病或病症包括炎性肠病 (IBD) 和肠易激综合征 (IBS)。IBD通常是指临幊上定义的和持久性的病症，主要是克罗恩病和溃疡性结肠炎。IBD通常被认为是自身免疫性疾病，其中人体的自身免疫系统攻击消化系统的元件。IBS是以腹部疼痛或不适以及排便习惯改变(通常为慢性或反复发生的腹泻、便秘或两者)为特征的疾病。IBS据认为仅在美国就影响2500万至4500万人。每三个IBS患者中大约有两个是女性。IBS影响所有年龄的人，包括儿童。据估计，世界人口的约10%至25%患有IBS。IBS的影响可以包括从轻微不便到严重乏力的范围。患有中度到重度IBS的人要与症状斗争，这些症状往往损害他们的身体、情绪、经济、教育和社会幸福感。

[0004] 肠炎的确切原因目前还不十分清楚。然而，饮食似乎是重要的，尤其是在IBS的情况下。乳和乳脂肪尤其被认为是一个影响因素。许多肠炎病症被管理，而非治愈。治疗常包括饮食护理、压力管理、和药物治疗的组合。

[0005] 世界各地的人口中消费的乳(主要是牛乳)是人类饮食中蛋白质的主要来源。每升牛乳通常包括大约30克蛋白质。酪蛋白占那些蛋白质的最大部分(80%)。在过去的二十年里，已经有越来越多的证据显示许多健康疾病中牵涉到酪蛋白蛋白质，特别是β-酪蛋白。

[0006] β-酪蛋白可以分为β-酪蛋白A1和β-酪蛋白A2。这两种蛋白质是大多数人群消费的乳中主要的β-酪蛋白。β-酪蛋白A1在单个氨基酸上不同于β-酪蛋白A2。组氨酸氨基酸位于β-酪蛋白A1的209个氨基酸序列的67位处，而脯氨酸位于β-酪蛋白A2的相同位置处。然而，该单个氨基酸差异对于肠道中β-酪蛋白的酶促消化至关重要。67位上的组氨酸的存在允许在酶促消化时产生包括7个氨基酸的蛋白质片段，其被称作β-酪啡肽-7 (BCM-7)。因此，BCM-7是β-酪蛋白A1的消化产物。在β-酪蛋白A2的情况下，67位由脯氨酸占据，该脯氨酸阻碍在那个位置处的氨基酸键的裂解。因此，BCM-7不是β-酪蛋白A2的消化产物。

[0007] 其它β-酪蛋白变体(如β-酪蛋白B和C)在67位上也具有组氨酸，并且，其它变体(如A3、D和E)在67位上具有脯氨酸。但是，在来自欧洲来源的牛的乳中，这些变体只以非常低的水平被发现，或者根本未发现。因此，在本发明的上下文中，术语β-酪蛋白A1是指在67位上具有组氨酸的任何β-酪蛋白，并且术语β-酪蛋白A2是指在67位上具有脯氨酸的任何β-酪蛋白。

[0008] BCM-7是阿片样肽，并且能够有效地激活全身各处的阿片样受体。BCM-7具有穿越胃肠壁并进入循环的能力，这使得它能够经由阿片样受体影响全身和细胞活性。申请人和其他人先前已经确定乳和乳产品中的β-酪蛋白A1的消费与包括I型糖尿病 (WO 1996/014577)、冠心病 (WO 1996/036239) 和神经系统疾病 (WO 2002/019832) 的某些健康状况的

发生之间的关联。

[0009] 已有假设认为BCM-7还可以影响消化功能。已报道阿片样受体在控制胃肠功能中发挥效应,包括调节胃肠道运动、粘液产生和激素产生(例如,Mihatsch,W.A等人,Biol.Neonate,2005,87(3):160-3)。在牛乳中发现的酪蛋白被认为与抑制肠道运动相关联,这能够导致便秘(Gunn T.R.和Stunzer D.,NZ Med.J.,1986,99(813):843-6),并且,关于酪啡肽和合成的酪啡肽衍生物的研究表明BCM-7有助于该阿片样受体介导的效应(Charlin V.等人,Rev.Med.Chil.,1992,120(6):666-9)。然而,虽然有一些关于酪啡肽和肠内通过时间之间的关联的体外证据,很明显该效应不一定能外推到人类中的体内效应。例如,至少有一项研究未能证明 $\beta$ -酪蛋白A1或 $\beta$ -酪蛋白A2的消费和便秘之间的关系(Crowley,E.T.,Nutrients,2013,5,253-266)。BCM-7已显示经由 $\mu$ -阿片受体介导的途径刺激粘液的产生(Zoghbi,S.,Am.J.Physiol.Gastrointest.Liver Physiol.,2006,290(6):G1105-13)和调节与免疫系统相关联的固有层淋巴细胞的增殖(Elitsur,Y.和Luk,G.D.,Clin.Exp.Immunol.,1991,85(3):493-7)。

[0010] 以上的报告表明酪蛋白和酪啡肽(包括BCM-7)与胃肠功能之间的关联。这些报告基于一般使用乳蛋白或酪蛋白的研究,或者基于使用BCM-7本身的研究。然而,到目前为止,还没有将 $\beta$ -酪蛋白A1的消费直接关联到肠炎症的报告。此外,已有来自消费者的轶事报告,这些报告称在饮用 $\beta$ -酪蛋白A2高(反之 $\beta$ -酪蛋白A1低)的乳之后胃肠功能得到改善,但这些都是非科学性的报告,并且它们对于功能上的任何改善的原因是非特异性的。此外,也有许多关于消费这类乳没有改善效果的轶事报告。这些报告是矛盾的,因为它们包括跨消化影响连续体的报告,从便秘直到腹泻。从轶事报告中无法得到可信的结论,特别是在其中能够潜在地影响结果的变量的数目非常大的食物产品和生理功能的情况下。

[0011] 申请人现已发现关于相对于 $\beta$ -酪蛋白A2的消费来说 $\beta$ -酪蛋白A1的消费和肠炎症之间的直接关联的确凿科学证据。鉴于人类饮食中能够影响肠健康的极大量因素,并且,鉴于乳和乳产品含有大量的蛋白质成分和其他成分,申请人对于 $\beta$ -酪蛋白A1的消费和肠炎性病症之间的清楚直接关联的发现是令人惊讶的。值得注意的是,申请人不仅已经发现了响应于 $\beta$ -酪蛋白A1摄入的急性肠炎症的证据,还发现了由短期暴露于 $\beta$ -酪蛋白A1所导致的肠的长期持续炎症的证据。

[0012] 因此,本发明的目的是提供用于预防或降低肠炎症风险的方法,或者至少对现有的预防方法或治疗疗法提供有用的替代性选择。

## 发明内容

[0013] 在本发明的第一个方面,提供了组合物用于预防或降低动物中的肠炎症风险的用途,其中组合物含有 $\beta$ -酪蛋白并且其中 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2。

[0014] 在本发明的第二个方面,提供了用于预防或降低动物中的肠炎症风险的组合物,其中组合物含有 $\beta$ -酪蛋白并且其中 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2。

[0015] 在本发明的另一个方面,提供了乳在制造用于预防或降低动物中的肠炎症风险的组合物中的用途,其中乳含有 $\beta$ -酪蛋白并且其中 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2。

[0016] 在本发明的又一个方面,提供了预防或降低动物中的肠炎症风险的方法,所述方

法包括由动物消费含有 $\beta$ -酪蛋白的组合物,或者将组合物提供给动物消费,其中 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2。

[0017]  $\beta$ -酪蛋白A2的量可以是以 $\beta$ -酪蛋白的重量计50%至100%范围内的任何量,例如至少90%,至少99%,或甚至100%。

[0018] 在本发明的某些实施方案中,组合物是乳或乳产品。乳可以是乳粉或液态乳。液态乳可以为以下形式:鲜乳、从粉末重构的液态乳、脱脂乳、均质乳、炼乳、蒸发乳、巴氏杀菌乳或非巴氏杀菌乳、UHT乳或任何其它形式的乳。乳产品可以是奶油、酸奶、夸克(quark)、乳酪、黄油、冰淇淋或任何其它乳产品。

[0019] 肠炎症可以是,然而不限于,炎性肠病或肠易激综合征。炎性肠病可以是,然而不限于,克罗恩病或溃疡性结肠炎。

[0020] 在本发明的大多数实施方案中,动物是人。然而,在其它实施方案中,所述动物可以是其中饲料补充有乳的狗、猫或任何其它家养动物。

#### [0021] 附图简述

[0022] 图1示出喂食实施例1的饮食的大鼠中结肠髓过氧化物酶活性。

[0023] 图2示出喂食实施例1的饮食的大鼠中空肠髓过氧化物酶活性。

[0024] 图3示出喂食实施例1的饮食的大鼠中血浆中血清淀粉样蛋白A的水平。

[0025] 图4示出取自喂食实施例1的饮食的大鼠的肠截面的组织学得分。

[0026] 图5示出神经元细胞和GI上皮细胞中的吗啡和BCM-7浓度依赖性半胱氨酸摄取。

[0027] 图6示出神经元细胞和GI上皮细胞中的半胱氨酸随时间的摄取。

[0028] 图7示出BCM-7和吗啡对于半胱氨酸、GSH/GSSG和SAM/SAH的随时间的影响。

[0029] 图8示出BCM-7影响下的炎症反应中所涉及的基因(NFKB和IL10)中的CpG甲基化变化。

[0030] 图9示出炎症反应所涉及的基因(MPO)和免疫反应所涉及的基因(IL1R)中的CpG甲基化变化。

#### [0031] 发明详述

[0032] 本发明涉及包含蛋白质 $\beta$ -酪蛋白的组合物,以及该组合物用于预防肠炎症或至少降低发展肠炎症的风险的用途。重要的是, $\beta$ -酪蛋白是 $\beta$ -酪蛋白的A2变体,或者构成存在于组合物中的总 $\beta$ -酪蛋白变体以重量计的至少50%。在组合物中主要为A2变体的重要性是由于这样的事实,即申请人已经证明A1变体和人类肠炎症的生物标志物之间存在直接关联。因此,如果避免A1变体的消费,可以预期肠健康的改善。

[0033] 如在本说明书中使用的术语“肠炎症”意在指以结肠和/或小肠的急性、过渡性或慢性和持续的炎症为特征的任何疾病、病况或病症。这样的疾病、病况或病症包括但不限于:炎性肠病(IBD)和肠易激综合征(IBS),以及肠非特异性刺激。IBD通常是指临幊上定义的和持久性的病症,主要是克罗恩病和溃疡性结肠炎。

[0034] 如在本说明书中使用的术语“A1乳”意在指包含 $\beta$ -酪蛋白的乳,其中该 $\beta$ -酪蛋白主要为 $\beta$ -酪蛋白A1形式(或其209个氨基酸序列的67位上具有组氨酸的任何其它 $\beta$ -酪蛋白变体)。A1乳可以具有大于50%,通常大于90%(理想地100%)的 $\beta$ -酪蛋白A1的 $\beta$ -酪蛋白组分。

[0035] 如在本说明书中使用的术语“A2乳”意在指包含 $\beta$ -酪蛋白的如,其中该 $\beta$ -酪蛋白主要为 $\beta$ -酪蛋白A2形式(或其209个氨基酸序列的67位上具有脯氨酸的任何其它 $\beta$ -酪蛋白变

体)。A2乳可以具有大于50%,通常大于90% (理想地100%) 的 $\beta$ -酪蛋白A2的 $\beta$ -酪蛋白组分。

[0036] 由于大多数人群的饮食中 $\beta$ -酪蛋白的主要(如果不是仅有的)来源是乳或源自乳的产品,并且由于消费的大多数乳仅含有 $\beta$ -酪蛋白的A1和A2变体的混合物,消费具有高含量A2变体的乳(或由这样的乳制成的产品)将必然意味着A1变体的消费低。进一步进行该分析,如果 $\beta$ -酪蛋白的唯一饮食来源含有A2变体且无其它变体,那么就消除了A1变体的饮食摄取,并且由 $\beta$ -酪蛋白A1消费所造成的肠炎症的不良健康后果也因此预期得到消除。

[0037] 因此,本申请的发明是基于减少或消除动物(特别是人)饮食中的 $\beta$ -酪蛋白A1,并且这是通过确保含有 $\beta$ -酪蛋白的食物成分(特别是乳和乳产品)中的 $\beta$ -酪蛋白主要或甚至仅为 $\beta$ -酪蛋白A2来实现的。

[0038] 理想地,组合物中的 $\beta$ -酪蛋白是100% $\beta$ -酪蛋白A2。因此,完全消除 $\beta$ -酪蛋白A1通过降低或完全消除由 $\beta$ -酪蛋白A1(和BCM-7)所造成的肠炎症的风险而使相关的健康益处最大化。然而,在其中 $\beta$ -酪蛋白主要是 $\beta$ -酪蛋白A2的任何组合物中,风险可以减小,所述主要是 $\beta$ -酪蛋白A2即 $\beta$ -酪蛋白A2为以重量计50%和100%之间的任何量,包括但不限于以重量计60%、70%、75%、80%、90%、95%、98%和99%。

[0039] 由于本发明涉及包含 $\beta$ -酪蛋白的组合物的用途,其中所述 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计至少50%的 $\beta$ -酪蛋白A2,并且如上面所解释的, $\beta$ -酪蛋白A1和 $\beta$ -酪蛋白A2基本上是大多数人口消费的乳中存在的仅有的 $\beta$ -酪蛋白变体,本发明还涉及包含 $\beta$ -酪蛋白的组合物的用途,其中 $\beta$ -酪蛋白包括以重量计少于50%的 $\beta$ -酪蛋白A1。优选地,组合物包含以重量计少于60%、70%、75%、80%、90%、95%、98%或99%的 $\beta$ -酪蛋白A1,并且理想地完全不含有 $\beta$ -酪蛋白A1。

[0040] 本发明的组合物通常为乳,但也可以是任何源自乳的产品,例如奶油、酸奶、夸克、乳酪、黄油、或冰淇淋。组合物也可以是含有已获自乳的 $\beta$ -酪蛋白的非乳产品。组合物可以是 $\beta$ -酪蛋白本身,或者可以从 $\beta$ -酪蛋白制备,其中 $\beta$ -酪蛋白可以是固体形式,例如粉末或颗粒,或者是固体块的形式。

[0041] 尽管乳可以从任何哺乳动物(包括人、山羊、猪和水牛)获得,在本发明的优选实施方案中,乳是牛乳。

[0042] 乳可以是以下形式:鲜乳、乳粉、从粉末重构的液态乳、脱脂乳、均质乳、炼乳、蒸发乳、巴氏杀菌乳或非巴氏杀菌乳、UHT乳,或任何其它形式的乳。

[0043] 本发明的组合物主要适用于由人类消费,但应当认识到,健康益处也与一些其它动物相关,如猫、狗和其它家养动物。

[0044] 在实施例中描述的实验中发现了对本发明的支持。

[0045] 特别地,实施例2涉及 $\beta$ -酪蛋白A1和 $\beta$ -酪蛋白A2饮食对大鼠结肠中的髓过氧化物酶(MPO)活性的影响。MPO活性是炎症的标志物(Krawisz等人,Gastroenterology,1984,87(6):1344-1350和Dommels,Y.E.M.,等人,Genes Nutr.,2007,2(2):209-223)。发现相比起喂食 $\beta$ -酪蛋白A2的大鼠,喂食 $\beta$ -酪蛋白A1的大鼠的结肠MPO活性增加,指示喂食 $\beta$ -酪蛋白A1的大鼠中的中性粒细胞水平增加,这转而是炎症反应的指标。在用纳洛酮(已知的阿片样受体拮抗剂)处理的大鼠中没有观察到这种影响,表明这种影响是通过BCM-7与 $\mu$ 阿片受体的相互作用介导的。

[0046] 实施例3涉及对空肠中的MPO活性的影响。结果表明消费 $\beta$ -酪蛋白A1在小肠中没有

可观察到的炎症增加。这与显示结肠中炎症的实施例2形成对比。实施例3的结果证实由消费β-酪蛋白A1诱导的炎症局限于结肠而非在整个肠道中。

[0047] 实施例4涉及血清淀粉样蛋白A(SAA)的浓度,SAA是在炎症急性阶段期间分泌的蛋白质,主要由肝脏分泌(Uhlar,C.M.和Whitehead,A.S.,Eur.J.Biochem.,1999,265(2):501-523)。SAA水平是全身性炎症的指标。实施例4表明任何处理组之间血浆SAA浓度没有显著差异。换句话说,从本研究来说没有全身性炎症的明确证据。

[0048] 实施例5涉及组织学研究,其反映了结肠中的炎症是微妙的,并且在其如何呈现上可能是亚临床的。尽管MPO数据证实了组织的炎症反应,然而这不是明显可视的,正如缺乏源于广泛数据集的显著性所证明的。

[0049] SAA和小肠MPO实验的意义在于,在全身性炎症的任一研究中没有观察到证据。这与BCM-7介导的炎症反应是一致的。虽然不希望受任何理论的束缚,这可以得到解释,因为由BCM-7介导的肠炎症是局部化的炎症反应。换句话说,缺乏全身性炎症(SAA和组织学研究)的证据,加上局部炎症的证据(MPO研究),是强的指标,其表明:源自含β-酪蛋白A1的食物的摄取的BCM-7导致肠炎症,而不具有全身性影响,也不会对小肠产生影响。

[0050] 鉴于BCM-7能够对抗炎症的已发表的证据,本文的发现是更加令人惊奇的。例如,已报告BCM-7降低肾脏中的氧化胁迫(Zhang,W.,等人,<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23658831>)。氧化胁迫是炎症作用。因此,BCM-7降低这种炎症作用的已报告的发现表明了BCM-7作为健康相关的生理过程中的因素的不可预见性。

[0051] 实施例6描述了一项试验,该试验检查:相对于含β-酪蛋白A2的乳,含β-酪蛋白A1的乳是否对胃肠症状有影响。关键的发现是,在消费100%β-酪蛋白A1乳和100%β-酪蛋白A2乳后,大便硬度(stool consistency)的统计学显著差异( $p=0.038$ )。关于此的统计学证据在单独考虑女性时甚至更强( $p=0.013$ )。当那些认为自己对于乳不耐受的人被排除在分析之外时,证据依然很强( $p=0.044$ )。很明显的是,相对于β-酪蛋白A2乳方案,β-酪蛋白A1乳方案导致总体较软的粪便。相对于β-酪蛋白A2,当消费β-酪蛋白A1时受损的吸水功能(这导致更软的粪便)是较高水平的肠炎症的证据。

[0052] 申请人还研究并发现了BCM-7(来自β-酪蛋白A1)和炎症指标例如半胱氨酸和谷胱甘肽(GSH)水平之间的直接关联。

[0053] 活性氧类(ROS,Reactive Oxygen Species)是包含氧的化学反应性分子,如氧离子和过氧化物,从升高的ROS水平和降低的抗氧化剂水平是IBD、克罗恩病和溃疡性结肠炎的致病机制的主要影响因素的证据可以推断ROS和IBD之间的关联。ROS还可以通过提升炎症白细胞来增强IBD中的免疫反应。此外,炎症和炎症性疾病的进展也与粘膜抗氧化剂防御(尤其是粘膜GSH水平)的缺陷相关联。据报告,具有抗氧化剂性质的药物在IBD的治疗中显示了有益作用。

[0054] 半胱氨酸和硒的血液水平对于支持和维护GSH合成是关键性的,并且,这些又取决于源自食物的含硫氨基酸半胱氨酸和蛋氨酸经由肠上皮边界表面上的不同转运蛋白从胃肠(GI)道的吸收。

[0055] 必需微量元素硒(Se)的缺陷被认为是人类中与氧化胁迫和炎症相关联的多种慢性疾病的风险因素,包括克罗恩病。Se对于谷胱甘肽过氧化物GPX2或GPX1的活性是必需的,这两者均是参与调节脑和粘膜中的GSH水平的关键酶。GPX1已知与IBD有关,并且其活性依

赖于Se的存在。

[0056] 在GI上皮细胞的多种氨基酸转运蛋白中,EAAT3(兴奋性氨基酸转运蛋白3,EAAC1)对于半胱氨酸的转运是选择性的,并且其最初从GI上皮细胞克隆。EAAT3最主要表达于小肠,特别是在末端回肠,在隐窝细胞和下部绒毛区域中为最高水平。这是支持肠道上皮层的多能干细胞的主要部位。因此,存在降低的EAAT3依赖性半胱氨酸吸收,伴随着较低GSH水平的局部和全身性后果。

[0057] 上面所描述的影响是由EAAT3的任何调节剂,尤其是GI道中介导的变化的急性效应。然而,半胱氨酸(必需的GSH前体)的受损的GI吸收不仅会导致局部和全身性的氧化胁迫,还会诱导基因表达的正常表观遗传学调控的后续扰乱。这经由甲硫氨酸合酶酶活性和S-腺苷甲硫氨酸(SAM)水平的调控而发生。SAM充当甲基供体用于DNA和组蛋白甲基化,并且转换为S-腺苷高半胱氨酸(SAH)。细胞的甲基化能力指的是SAM/SAH。对于氧化还原状态的变化的适应性表观遗传学响应有可能在多种疾病中发挥重要作用,特别是通常可以追溯到干扰抗氧化剂内稳态的那些疾病,例如GI道的炎症,并且更具体是IBD和克罗恩病。

[0058] 实施例7表明,BCM-7能够以浓度依赖方式抑制半胱氨酸的摄取,其中在效力级上吗啡大于BCM-7,并且,在神经元细胞中,IC<sub>50</sub>值分别为0.16和1.31nM,在GI上皮细胞中,IC<sub>50</sub>值分别为6.38和15.95nM(图5)。在30分钟时,对半胱氨酸摄取的抑制发展完全,并持续到吗啡或BCM-7暴露的48小时(图6),表明在单次暴露于BCM-7之后对半胱氨酸摄取的长期慢性效应。这些效应是μ-阿片样受体介导的如在选择性μ-拮抗剂存在下的阻断所提示的而非δ-阿片样受体介导的。

[0059] 实施例8表明BCM-7和吗啡导致半胱氨酸和GSH水平的时间依赖性降低。神经元细胞中的半胱氨酸细胞内水平,由谷胱甘肽(GSH)与其氧化形式的谷胱甘肽二硫化物(GSSG)的比值GSH/GSSG反映的细胞的氧化还原状态,也降低了(图7),这潜在地表明氧化胁迫状态。此外,SAM/SAH的比值(甲基化能力)也受到不同时间点BCM-7处理的影响(图7)。因此,BCM-7诱导主要细胞内抗氧化剂水平尤其是GSH水平的降低,并且有可能经由氧化胁迫信号传导途径导致炎性变化。另外,SAM水平介导的变化能够诱导负责炎性途径的基因的表观遗传学变化。

[0060] 实施例9示出了采用原型阿片样吗啡处理导致7,592个差异表达的转录物(DET),而BCM-7处理产生1,467个DET。501个DET由吗啡和BCM-7两者所共有。此外,该结果表明,所述疾病和病症被发现与所观察到的全局DNA甲基化的变化显著相关。BCM-7差异甲基化的启动子转录物(DMT)与炎性疾病相关联(表5)。因此,BCM-7对GSH抗氧化剂水平和氧化胁迫的急性效应基本上转化为慢性适应性基因表达变化。在BCM-7的影响下被表观遗传地改变的基因直接参与调节细胞功能以及炎性疾病途径,并且,在转录上受调节的基因也参与细胞功能和氧化还原内稳态(表5)。

[0061] 实施例10示出了在BCM-7的影响下负责介导炎症反应的基因的DNA甲基化变化。在BCM-7暴露后,细胞因子如NFκB和白细胞介素如IL1(图8)在它们的表观遗传状态上发生改变。因此,氧化还原状态的变化介导了细胞因子的表观遗传状态的长期变化。这将充当分子损害的记忆器,可能造成疾病如IBD中的长期慢性变化和炎性反应。此外,实施例10证明了改变的表观遗传状态。因此,BCM-7不仅改变MPO活性,这由β-酪蛋白A1喂食研究证明,并且BCM-7还改变MPO基因的表观遗传状态(图9)。

[0062] 这些研究代表了消费β-酪蛋白A1和肠炎症之间的关联的第一个明确的科学证据。先前,与BCM-7(而不是β-酪蛋白A1本身)相关的不确定的和相互冲突的轶事报告和研究已在本领域技术人员中导致混乱,其中许多人相信不存在这样的关联。通过申请人的发现,现在提供了针对多年来世界各地许多人患有的多种炎症性肠道病症导致的问题的备选的可能的解决方案,即,在饮食中避免β-酪蛋白A1。这可以通过这样来实现:生产其β-酪蛋白含量主要包含β-酪蛋白A2(并且缺少β-酪蛋白A1)的乳,并且使得这种乳和源自这种乳的产品可用于以下目的:治疗、避免或降低与肠炎症相关的病症或症状的风险。可以关于β-酪蛋白A1和β-酪蛋白A2的相对比例对奶牛的乳进行测试。备选地,可以对奶牛关于它们产生含有β-酪蛋白A1或β-酪蛋白A2或两者的组合的乳的能力进行遗传学测试。这些技术是公知的。

[0063] 比起用于治疗或预防炎性肠病症的现有技术或方法,本发明具有明显的优势。大多数现有技术或方法依赖于通过药物、压力管理或饮食改变的医疗干预,其中许多常常效果有限或者并没有真正成功。本发明提供比较容易管理的解决方案,即,通过将饮食中的“常规”(含有β-酪蛋白A1)的乳替换成已知β-酪蛋白A2高,优选其中存在的所有β-酪蛋白都是β-酪蛋白A2的乳,而转换成非β-酪蛋白A1的饮食。本发明与药物干预相比,成本明显更低,并且还避免了大规模的饮食改变(如避免乳产品或其它常见食物产品)的任何需要。

[0064] 本说明书中对现有技术文献的任何引用不应被认为是承认这样的现有技术是公知的或者形成本领域公知常识的一部分。

[0065] 当在本说明书中使用时,词语“包括(comprises)”,“包括(comprising)”,以及类似的词语,不应被解释为排他或穷举含义。换句话说,它们旨在表示“包括,但不限于”。

[0066] 参照以下实施例进一步描述本发明。应当认识到,要求保护的本发明不意在以任何方式受这些实施例的限制。

## 实施例

[0067] 实施例1:喂养方法

[0068] 使用72只断奶(四周龄)雄性Wistar大鼠。在采用对照饮食的7天驯化期后,对这些大鼠喂食12或60小时下面三种饮食之一:100%A1饮食,100%A2饮食,对照饮食(n=6每种处理)。饮食的蛋白质成分来源于脱脂乳(对于A1和A2饮食)和蛋清(对于非乳蛋白质对照饮食来说),并且针对能量和大量营养素组合物进行平衡(参见表1)。在时间周期结束前十五分钟,大鼠经由腹膜内注射接受纳洛酮或盐水(对照),并随后经口喂饲不可消化的示踪剂,二氧化钛。在随后的24小时内的7个时间点上收集粪便和尿样品,并存储在-20℃(粪便)或-80℃(尿),直到对它们进行分析。

[0069] 表1:饮食组成

产品	A1乳饮食	A2乳饮食	蛋清饮食
----	-------	-------	------

成份	gm	kcal	gm	kcal	gm	kcal
酪蛋白	0	0	0	0	0	0
A1乳粉	475	1691	0	0	0	0
A2乳粉	0	0	468	1687	0	0
DL-甲硫氨酸	3	12	3	12	0	0
蛋清(干)	0	0	0	0	200	800
玉米淀粉	150	600	150	600	153	612
蔗糖	288	1152	294	1176	500	2000
纤维素, BW200	50	0	50	0	50	0
玉米油	45.2	406.8	43	387	50	450
矿物质混合物	35	0	35	0	35	0
S10001						
生物素, 1%	0	0	0	0	0.4	0
维生素混合物	10	40	10	40	10	40
V10001						
胆碱酒石酸氢	2	0	2	0	2	0
盐						
总计	1058.2	3902	1055	3902	1000.4	3902

[0072] 实施例2:结肠MPO活性

[0073] 基于已建立的方法(Grisham, M.B.等人, Methods Enzymol., 1990, 186:729-742), 对来自根据实施例1喂养的大鼠的结肠组织的髓过氧化物酶(MPO)活性进行定量。对结肠组织(50mg)进行匀浆化, 经由离心分配, 由超声探头进行破裂并进行冻融循环。在562nm处通过比色法测量内源性MPO催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺底物的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>依赖性氧化。通过相同匀浆的二喹啉甲酸(BCA)(Smith, P.K.等人, Anal. Biochem., 1985, 150 (1):76-85)蛋白测定对活性进行归一化。结果在图1中示出。

[0074] 实施例3:空肠MPO活性

[0075] 在该实施例中, 对取自空肠的组织样品进行分析。所采用的方法与实施例2是相同的。结果在表2和图2中示出。

[0076] 表2:结肠和空肠组织中的MPO活性

[0077]	饮食	空肠	SD
	100%A1	0.458	0.164
	75%A1:25%A2	0.497	0.107
	50%A1:50%A2	0.476	0.112
	25%A1:75%A2	0.557	0.119
	100%A2	0.532	0.254

[0078] 实施例4:血清淀粉样蛋白A水平

[0079] 测量取自根据实施例1喂养的大鼠的血浆中的SAA水平。使用市售ELISA试剂盒(Tridelta Development Limited, Maynooth, 爱尔兰)进行测量。结果在表3和图3中示出。

[0080] 表3:血浆中的SAA水平

	SAA	SD
<b>A1 12</b>	0.0304	0.021
<b>A1 60</b>	0.0129	0.012
<b>A1 12 N</b>	0.0223	0.018
<b>A1 60 N</b>	0.0106	0.008
<b>A2 12</b>	0.0349	0.011

<b>A2 60</b>	0.0085	0.006
<b>A2 12 N</b>	0.0391	0.005
<b>A2 60 N</b>	0.0103	0.007

[0083] 实施例5:肠道组织学

[0084] 用于测量大鼠胃肠道的形态学变化的程序基于光学显微镜下的苏木精和伊红染色的组织切片的组织学评价(Knoch, B.等人,J.Nutrigenet.Nutrigenomics, 2009, 2 (1) : 9–28和Barnett, M.P., BMC Immunol., 2010, 11:39)。将该方法应用于源自被喂给100%A1或100%A2饮食的大鼠的结肠组织的切片,以确定β-酪蛋白变体对于肠炎的影响。结果在图4中示出。数据(平均值±SEM)表明,在60小时纳洛酮组中的β-酪蛋白A1喂养和β-酪蛋白A2喂养的大鼠之间存在显著( $P<0.05$ )差异,其中β-酪蛋白A2喂养的大鼠具有显著更高的分数。然而,这些组织学分数的大小并不提示炎症,并且,整体分析表明,没有饮食、时间或纳洛酮处理对组织学分数的影响的证据。

[0085] 实施例6:胃肠道症状

[0086] 在该8周随机、交叉研究中,在2周乳品冲洗后,参与者( $n=41$ )被随机分到两组之一:1) A1乳( $n=21$ );或2) A2乳( $n=20$ )。参与者接受第二次2周乳品冲洗,并随后交换到另一干预乳分支,使得在8周研究结束时,所有的参与者( $n=37$ )已经完成了两种乳干预。招募了男人(12)和29名女人(29),年龄在19至68岁。排除标准为:(1) 乳过敏;2) 医学诊断的乳糖不耐受;3) 怀孕和哺乳;4) 在过去的6个月内发生心血管事件;5) 服用阿片类药物;6) 在前面的8周内进行了抗生素治疗;以及7) 在筛选之前的4周内使用了免疫抑制药物或抗炎药物。开始时,参与者经历14天的乳品冲洗期(其中乳品乳被换成提供的米乳),这之后参与者被随机分配到接受A1乳或A2乳组2周。在完成研究的该第一分支后,参与者完成第二次的2周冲洗,然后交换到另一乳干预。

[0087] 冲洗米乳——参与者被指示在14天的冲洗期内将所有的乳品乳更换为提供的米乳，并且在研究持续期间避免所有其它乳品食物。向他们提供有关乳品的隐蔽来源的信息，如饼干和巧克力，并且向他们提供不含乳品的替代物清单。对于每次14天冲洗期，还向参与者提供足够的米乳 (So Natural Rice Milk, Freedom Foods, 澳大利亚) 以消费750mL米乳/天。米乳以1升超高温 (UHT) 包装提供，并且具有以下营养谱每100mL：能量212kJ，总蛋白0.3g，总脂肪1.0g，以及碳水化合物10.4g。

[0088] A1乳——参与者被指示将所有的乳品乳更换为提供的A1乳并且避免所有其它乳品食物和乳品的隐蔽来源。在2周的A1乳干预期间，参与者被指示在一天中分散消费A1乳750mL/天(约7.5g $\beta$ -酪蛋白A1)。A1乳 (APAF, Sydney) 的纳米-LC ESI MS分析发现，在A1乳中，总 $\beta$ -酪蛋白的A1比例>99%。

[0089] A2乳——参与者被指示将所有的乳品乳更换为提供的A2乳并且避免所有其它乳品食物和乳品的所有隐蔽来源。在2周的A2乳干预期间，参与者被指示在一天中分散消费A2乳750mL/天(约7.5g $\beta$ -酪蛋白A2)。A2乳 (APAF, Sydney) 的纳米-LC ESI MS分析发现，总 $\beta$ -酪蛋白的A1比例为0.1-0.5%。

[0090] A1乳和A2乳两者均以1升UHT包装提供给参与者，并且具有以下营养谱每100mL：能量189kJ，总蛋白3.1g，总脂肪2.5g，以及碳水化合物(包括乳糖)5.2g。参与者将每天消费的乳的量记录在依从性日历上。依从性通过将消费的乳量除以预期每天消费的乳量并乘以100而计算为百分比。A1乳和A2乳以相同的简单包装提供，这样参与者将不知道他们接受的乳干预。

[0091] 布里斯托大便分类法(Bristol Stool Scale) (Lewis S.J. 和 Heaton K.W., Scand. J. Gastroenterol. 1997, 32 (9) :920-4) 用作结肠通过时间的替代度量。结果在表4中示出。

[0092] 表4:大便硬度的布里斯托大便分类法分析

	所有的参与者 (n=36)		仅女性 (n=25)		仅男性 (n=11)		自我描述为乳不耐受 (n=8)		自我描述为乳耐受 (n=28)	
A1 的平均值(±SE)	3.87 (0.11)		3.94 (0.15)		3.72 (0.15)		4.02 (0.28)		3.82 (0.12)	
A2 的平均值(±SE)	3.56 (0.15)		3.50 (0.16)		3.70 (0.31)		3.86 (0.33)		3.47 (0.16)	
差 A1-A2 (±SE)	0.31 (0.14)		0.44 (0.16)		0.02 (0.28)		0.16 (0.29)		0.35 (0.17)	
[0093] 配对的 t 检验的 P 值	0.038		0.013		0.156		0.592		0.044	
中位数 (A1, A2)	4.0	3.8	4.0	3.8	3.7	3.8	.0	4.0	3.95	3.7
25 百分位 A1	3.35	3.02	3.25	2.9	3.5	3.1	3.67	2.9	3.22	3.02
75 百分位	4.2	4.07	4.3	4.0	4.2	4.3	4.6	4.7	4.2	4.0
威尔科克森符号秩检验的 P 值	0.085		0.028		0.824		0.598		0.115	

[0094] 实施例7:BCM-7对半胱氨酸的摄取的影响

[0095] 在释放自A1乳的BCM-7的存在下,在Caco-2-GI上皮细胞和神经元细胞中进行放射性标记的[<sup>35</sup>S]-半胱氨酸摄取测定,并且与未处理的对照以及吗啡(一种原型阿片样受体激动剂)相比较。在30分钟、4小时、24小时和48小时的不同的时间点如先前所描述(Trivedi M.等人; Mol. Pharm., 2014)对细胞进行预处理。简单地说,SH-SY5Y人神经元细胞和Caco-2肠上皮细胞铺于6孔板中,并且在测量摄取之前用药物预处理并孵育多种时间。吸出培养基,用在37°C的600μL HBSS洗涤细胞。吸出非放射性的HBSS,替换为600μL含有[<sup>35</sup>S]-半胱氨酸(1μCi/1mL)、10μM未标记的半胱氨酸和100μM DTT的37°C HBSS,并且,孵育细胞5分钟。吸出[<sup>35</sup>S]-半胱氨酸/HBSS混合物,通过用冰冷HBSS两次洗涤来终止处理。然后,用600μL dH<sub>2</sub>O裂解细胞,刮下,收集在1.5mL微量离心管中,并超声10秒。100μL各份样品被等分用于蛋白质测定。200μL各份样品(一样三份)与4mL闪烁液被等分至闪烁管中,涡旋,并对放射性进行计数,针对蛋白质含量进行归一化。此外,还在D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen-Thr(CTAP,一种选择性μ-拮抗剂)和δ-拮抗剂纳曲酮(NTI)的存在下对吗啡和BCM-7对半胱氨酸摄取的影响进行表征。结果在图5和图6中示出。这些图中的各个\*符号表示与未经处理的对照相比统计学显著差异(p<0.05),并且各个#符号表示与未经处理的对照相比统计学显著差异(p<0.005)。

[0096] 实施例8:BCM-7对GSH水平的影响

[0097] 本实施例研究了正如实施例7中观察到的半胱氨酸摄取的减少是否会潜在地转化为GSH变化并影响抗氧化剂水平。采用HPLC和先前使用的电化学梯度检测方法(Hodgson等人,J.Alzh.Dis.2013,Trivedi M.等人,Mol.Pharm.2014)测量了BCM-7以及吗啡不同时间(30分钟,4小时,以及24小时)的细胞内GSH水平。简单地说,将SH-SY5Y神经元细胞在α-MEM中培养至汇合。吸出培养基,并用1mL冰冷HBSS洗涤细胞两次。吸出HBSS,并将0.6mL冰冷dH<sub>2</sub>O加入到细胞。将细胞从瓶/皿上刮下并悬浮于dH<sub>2</sub>O中。将细胞悬浮液在冰上超声15秒,并将100μL悬浮液用于确定蛋白质含量。剩余的裂解物加入到微量离心管,并加入等体积的0.4N高氯酸,随后在冰上孵育5分钟。样品在5,000×g下离心,并将上清液转移到新的微量离心管。将100μL样品加入到锥形微自动采样瓶中,并在自动采样器冷却托盘中保持在4℃。10μL该样品被注射进入HPLC系统。

[0098] 使用Agilent Eclipse XDB-C8分析柱(3×150mm;3.5μm)和Agilent Eclipse XDB-C8(4.6×12.5mm;5μm)保护柱实现氧化还原和甲基化途径代谢产物的分离。使用两种流动相:流动相A为0%乙腈,25mM磷酸钠,1.4mM 1-辛磺酸,用磷酸调至pH 2.65。流动相B为50%乙腈。流速最初设定为0.6mL/min,并使用以下步骤梯度:0-9分钟0%B,9-19分钟50%B,19-30分钟50%B。在下次运行前,用5%B对柱子平衡12分钟。温度保持在27℃。电化学检测器为ESA CoulArray,其具有BDD分析室型号5040并且操作电压设定在1500mV。使用标准校准曲线和ESA提供的HPLC软件从代谢物的峰面积确定样品浓度。样品浓度针对蛋白质含量进行归一化。在某些情况下,根据需要将样品稀释于流动相中,或者注射多至50μl的样品,以确保硫醇水平在标准曲线的范围内。结果在图7中示出。

[0099] 实施例9:BCM-7对DNA甲基化和基因表达水平的影响

[0100] SAM/SAH的变化可能潜在地影响全局DNA甲基化,影响参与多种功能的基因。如先前所描述的(Trivedi M.等人,Mol.Pharm.2014),使用甲基-CpG结合结构域(MBD)蛋白富集的基因组测序(MBD-seq)来研究由BCM-7诱导的全局DNA甲基化水平,而使用Agilent V3微阵列芯片,从未经处理的对照SH-SY5Y细胞和用1μM BCM-7处理4小时的细胞获得mRNA翻译微阵列数据。

[0101] 简单地说,用Easy DNA试剂盒(Invitrogen K1800-01)使用对于细胞系的合适流程从样品中提取基因组DNA。在Covaris S2上采用以下设置执行破碎:工作循环10%,强度5,在200秒期间200循环每次爆发。所得到的碎片具有200bp的平均长度。功率模式为频率扫描,温度为6-8℃,水位12。最多5μg加到具有AFA增强器的微管中的130μl Tris-EDTA中。对于具有较低DNA输入(低至500ng)的样品,将DNA以1:5稀释在TrisEDTA中。具有5-3μg输入的DNA使用DNA 1000芯片在Agilent 2100上进行分析。具有低于3μg输入的DNA在旋转蒸发器上浓缩到25μl,并且在高灵敏度DNA芯片上检查片段分布。使用MethylCap试剂盒(Diagenode,比利时)捕获甲基化的DNA。收率通常在0.5ng和8ng总捕获DNA之间。随后使用Illumina基因组分析器II对片段进行测序。使用Quant-iT PicoGreen双链DNA测定试剂盒(Invitrogen P7589)在Fluostar Optima平板阅读器上于480/520nm处确定破碎的和捕获的DNA的浓度。

[0102] 为了制备DNA文库,DNA样品制备母混合物组1(DNA Sample Prep Master Mix Set 1)(NEB E6040)与多元样品制备寡核苷酸试剂盒(Multiplexing Sample Preparation Oligo Kit)(96个样品,Illumina PE-400-1001)结合使用。利用全部破碎DNA并遵循NEB流

程,使用多元样品制备寡核苷酸试剂盒(Multiplexing Sample Preparation Oligo Kit)中提供的多元测序接头。在2%琼脂糖凝胶(Low Range Ultra Agarose Biorad 161-3107)上进行文库的大小选择。使用1kb加梯带(Invitrogen 10787-018),并且以120V跑胶2小时。300bp+/-50bp的片段被切下,并在Qiagen凝胶提取试剂盒柱(Qiagen 28704)上进行洗脱,并且洗脱在23μl EB中。

[0103] 使用Illumina文库扩增索引流程,并进行以下改变:使用22μl DNA并进行21次循环运行。在Qiaquick PCR纯化柱(Qiagen 28101)上对样品进行纯化,并且洗脱在50μl EB中,1:5稀释,在旋转蒸发器中浓缩至10μl。1μl被施加到Agilent 2100HS DNA芯片上,并且在Agilent 2100上通过涂片分析确定浓度。将样品稀释到10nM。用NaOH变性后,样品被稀释到16pM。按照集群站用户指南(Cluster Station User Guide)准备配对末端流动池。按照HiSeq用户指南进行测序(执行多元PE运行),对于配对末端运行,使用2×51循环。

[0104] 对于全基因组微阵列杂交,使用低RNA输入线性扩增标记试剂盒(Agilent Technologies, Palo Alto, CA),按照制造商的方案,用荧光染料(Cy3; Amersham Biosciences Corp, Piscataway, NJ)对来自各个样品的500ng总RNA进行标记。使用NanoDrop ND-1000分光光度计和Agilent生物分析仪评估经荧光标记的cRNA的量和品质。根据制造商的说明书,1.6mg的Cy3标记的cRNA与Agilent人类全基因组寡核苷酸微阵列(Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA)杂交17小时,然后进行洗涤和扫描。使用特征提取软件(Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA)从扫描图像中提取数据。

[0105] 全基因组DNA MBD-seq揭示了差异甲基化的启动子转录物(DMT),如由假发现率(FDR)<0.1所定义,并且,mRNA微阵列数据揭示了差异表达的转录产物(DET),由FDR<0.1所定义。转录物包括差异甲基化/转录的基因和非编码RNA两者。使用独创性途径分析(Ingenuity Pathway Analysis, IPA)工具评估特定生物学或功能相关的途径中由BCM-7诱导的表观遗传变化以及转录变化,并且,鉴定了表现出最大影响的途径。该结果在表5中示出。

[0106] 表5:炎性疾病和BCM-7差异表达的转录物

[0107]	疾病或病症	DMT的P值
	炎性疾病	3.96x 10 <sup>-3</sup> 至4.51x 10 <sup>-2</sup>
	疾病或病症	DET的P值
	细胞内稳态	1.27x 10 <sup>-4</sup> 至3.28x 10 <sup>-2</sup>
	翻译后修饰	2.41x 10 <sup>-6</sup> 至1.84x 10 <sup>-2</sup>

[0108] 实施例10:BCM-7对细胞因子的表观遗传学状态的影响

[0109] 报道了若干个别的细胞因子参与介导疾病(如IBD和克罗恩病)中的炎性反应。NFκB就是一个例子。类似地,白细胞介素如IL1、IL10、IL33等据报道也参与介导IBD中的炎性反应。使用上面在实施例9中描述的方法研究了BCM-7对白细胞介素和NFκB的表观遗传学影响。图8和9示出了BCM-7对DNA甲基化的影响改变了这些基因即MPO、IL1R、IL10和NFκB-激活蛋白的基因内或启动子附近的区域。“CpG”表示该特定基因座中指出的CpG岛(高频胞嘧啶-鸟嘌呤部位)的正常水平。“对照”表示未经处理的对照。

[0110] 虽然本发明已经通过举例的方式进行了描述,但是应当认识到,可以做出变化和修改而不脱离如权利要求书中限定的本发明的范围。此外,当针对特定特征存在已知等同

物时,这样的等同物被并入本文,如同在本说明书中具体提及一样。

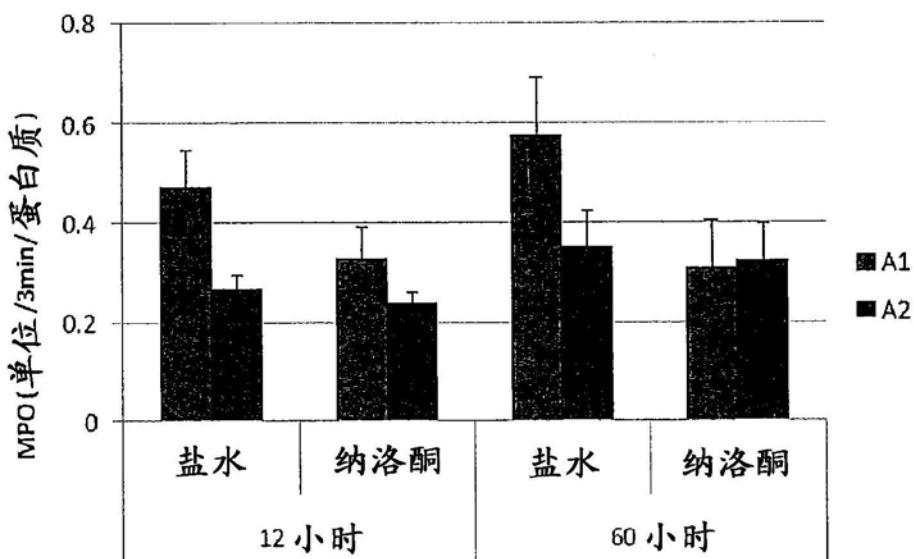


图1

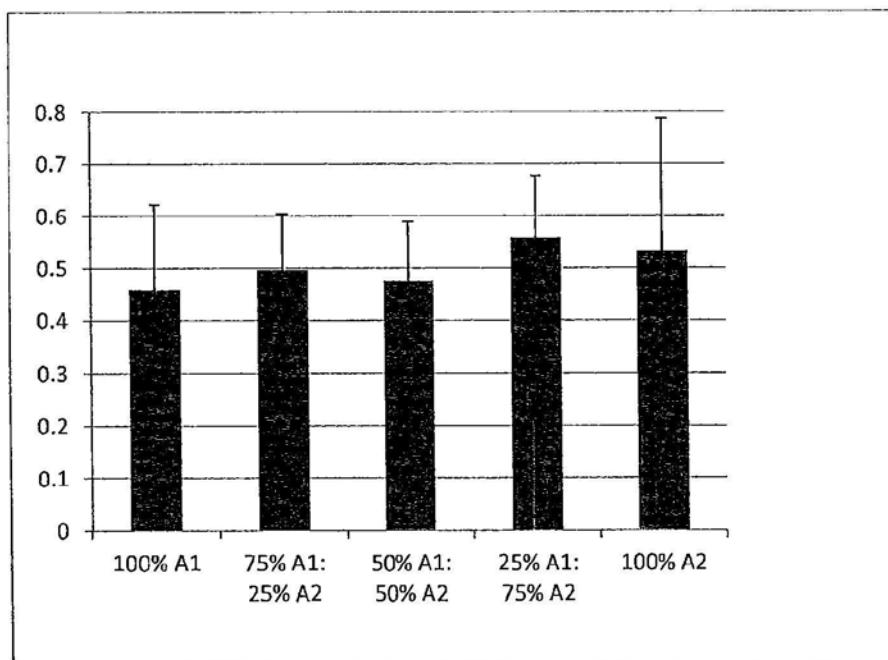


图2

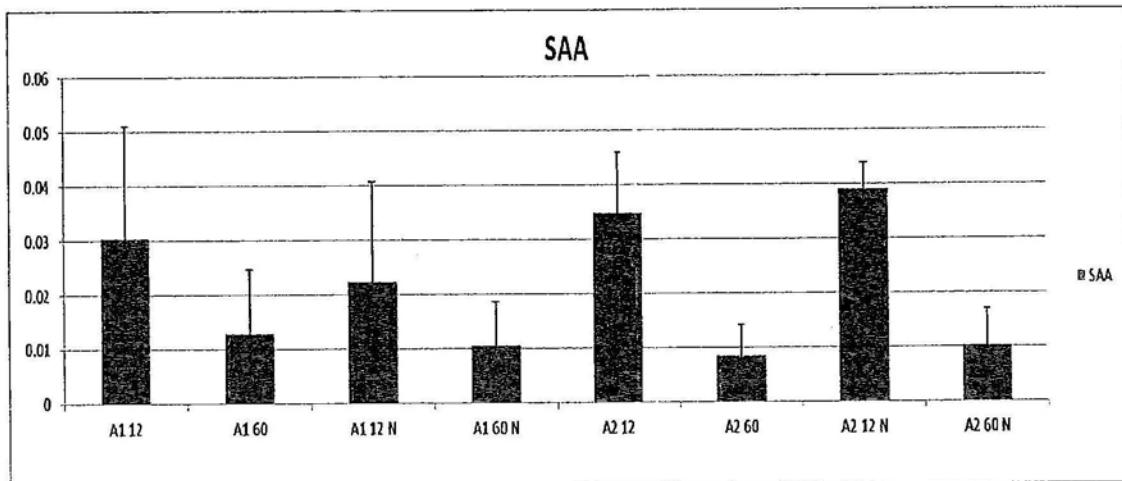


图3

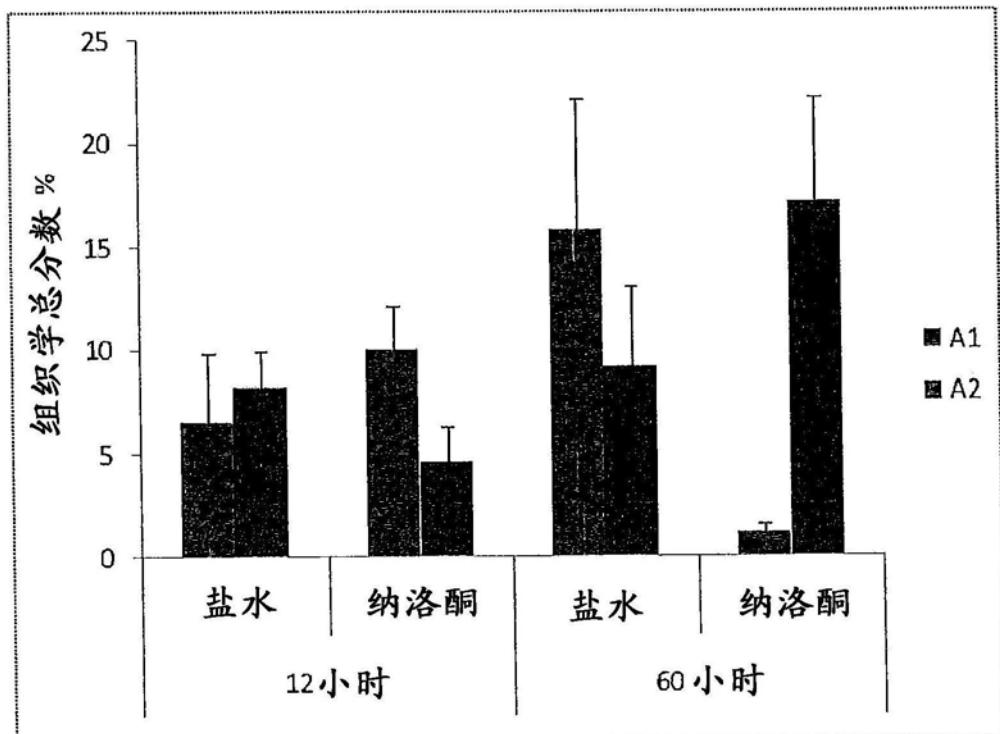


图4

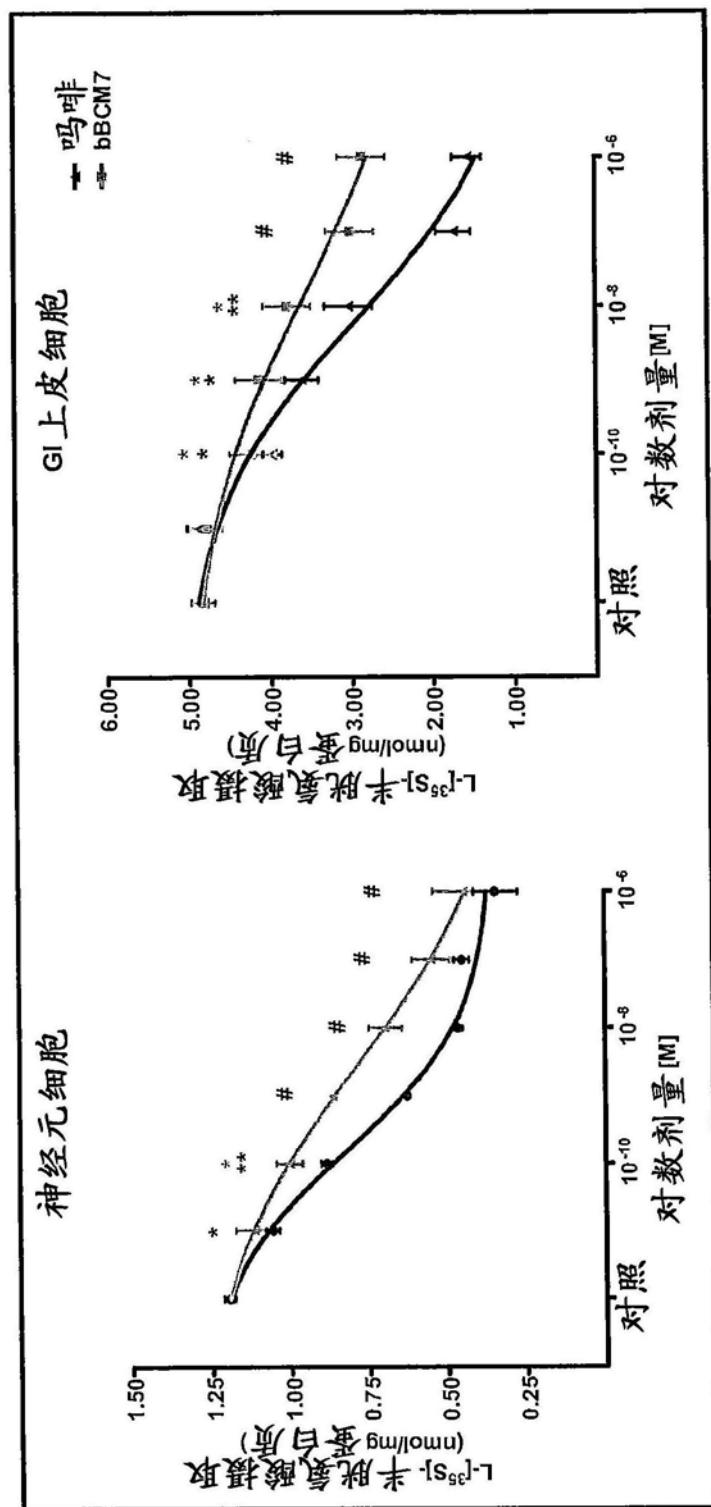


图5

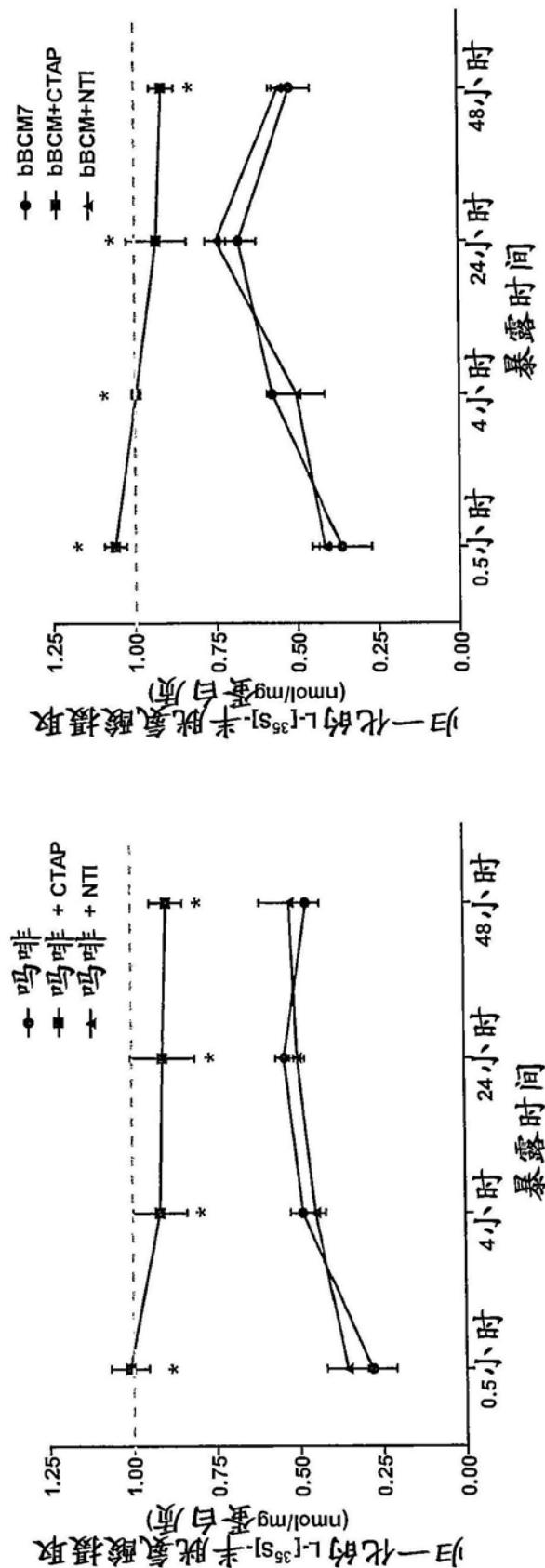


图6

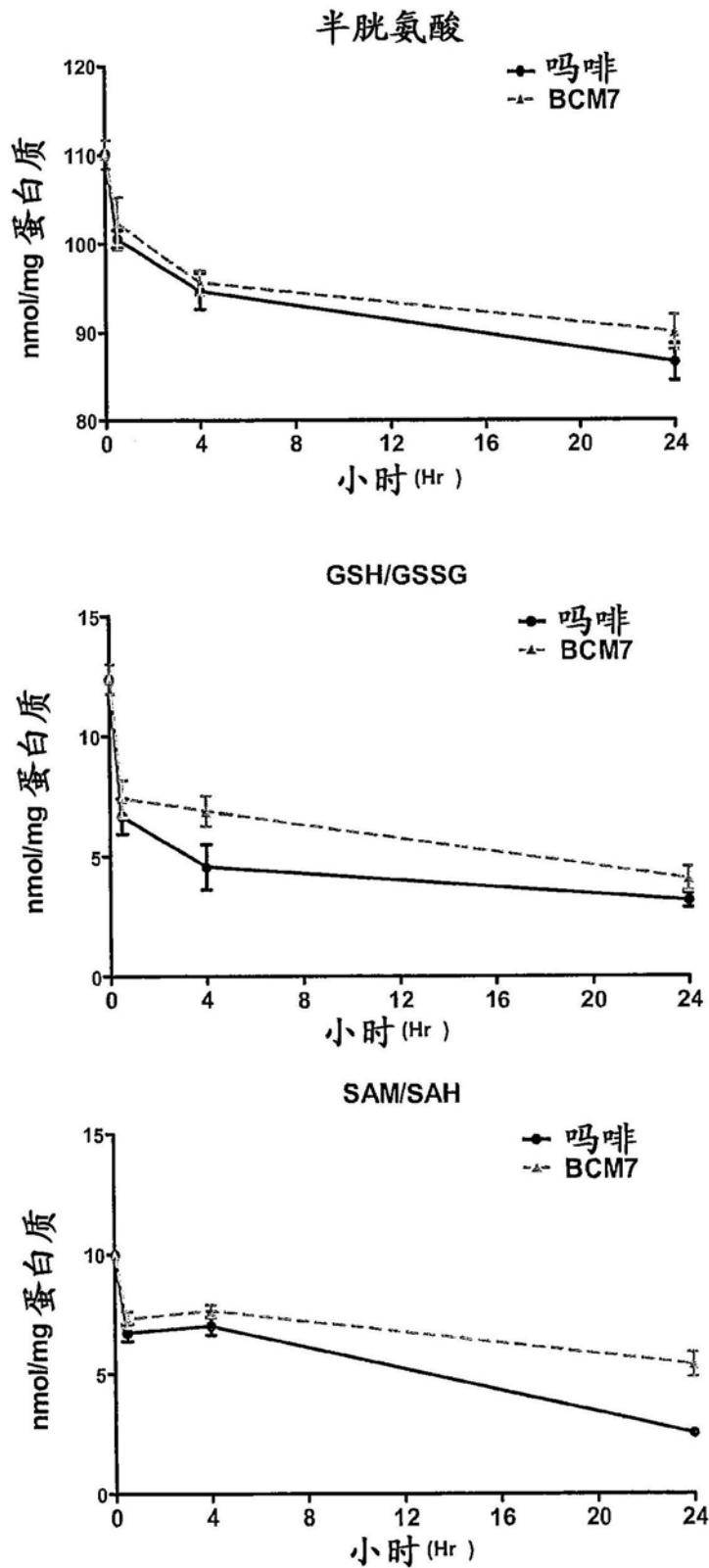


图7

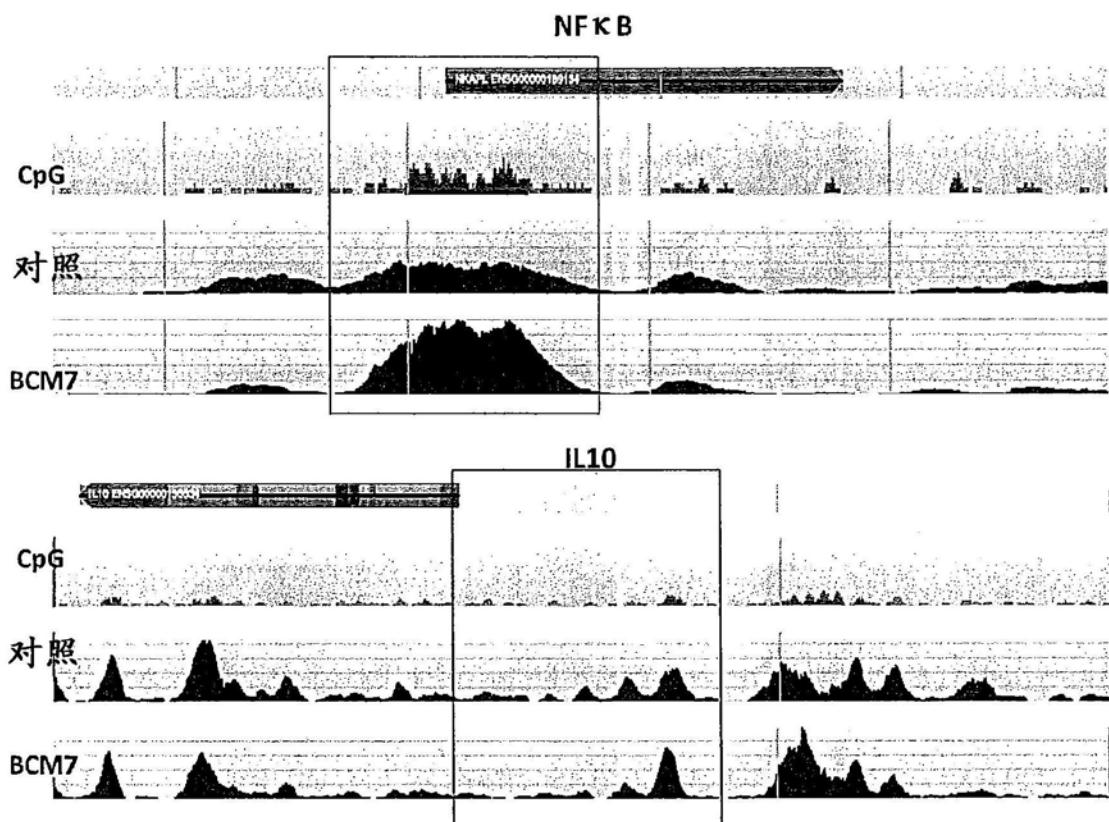
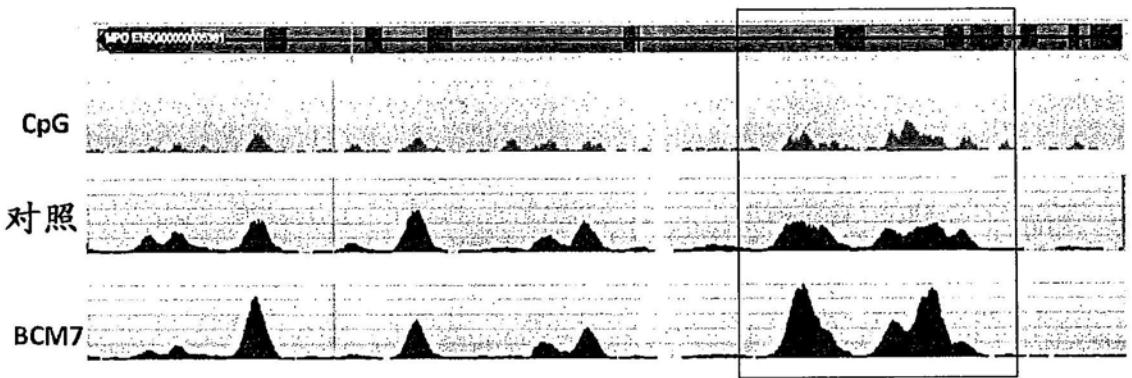


图8

**髓过氧化物酶 (MPO)**

IL1R

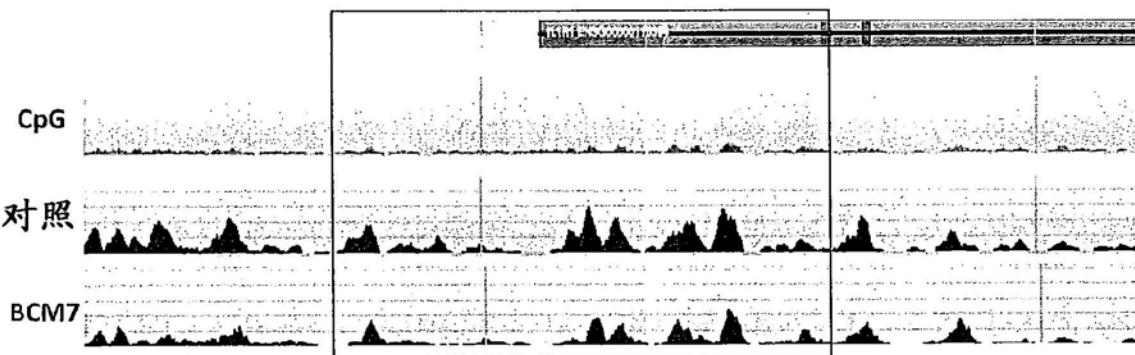


图9