



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101932697 A

(43) 申请公布日 2010.12.29

(21) 申请号 200780102278.8

代理人 王灵菇 白丽

(22) 申请日 2007.11.29

(51) Int. Cl.

(85) PCT申请进入国家阶段日
2010.07.29

C12N 1/20(2006.01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2007/073108 2007.11.29

(87) PCT申请的公布数据

W02009/069219 JA 2009.06.04

(83) 生物保藏信息

NITE BP-223 2006.03.31

NITE BP-224 2006.03.31

(71) 申请人 明治乳业株式会社

地址 日本东京

(72) 发明人 坪井洋 金子纪子 佐藤秋菜

土屋义信

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图 4 页

(54) 发明名称

具有降低血中尿酸值作用的乳酸菌

(57) 摘要

本发明涉及一种具有降低血中尿酸值作用的乳酸菌。本发明在嘌呤体存在下培养各种乳酸菌,测定该嘌呤体的消耗量以及该嘌呤体分解物的产生量,挑选嘌呤体分解能力显著的多种乳酸菌。将通过上述挑选被判断为嘌呤体分解能力高的乳酸菌经口给予用含有嘌呤体的饲料喂养的大鼠,测定该大鼠的一般状况和血清尿酸值,研究给予乳酸菌对血清尿酸值的影响。结果发现了能够显著抑制血清尿酸值上升的乳酸菌:格氏乳杆菌 OLL2959 和口乳杆菌 OLL2779。

1. 一种乳杆菌属乳酸菌,其具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力。
2. 根据权利要求1所述的乳酸菌,其为格氏乳杆菌。
3. 一种口乳杆菌乳酸菌,其具有嘌呤体分解能力。
4. 根据权利要求2所述的乳杆菌属乳酸菌,其是保藏号为 NITE BP-224 的格氏乳杆菌 OLL2959。
5. 根据权利要求3所述的乳杆菌属乳酸菌,其是保藏号为 NITE BP-223 的口乳杆菌 OLL2779。
6. 一种用于抑制血中尿酸值上升的饮食品,其含有权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
7. 一种用于抑制血中尿酸值上升的药品,其含有权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
8. 一种用于预防和/或治疗高尿酸血症的药品,其含有权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
9. 一种用于预防和/或治疗高尿酸血症的饮食品,其含有权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
10. 一种抑制从食品中摄取的嘌呤体量的方法,其特征在于,给予权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
11. 一种抑制血中尿酸值上升的方法,其特征在于,给予权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
12. 一种嘌呤体量降低了的饮食品的制造方法,其包括使饮食品的原料或中间产品与权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物接触的工序。
13. 一种治疗和/或预防高尿酸血症、痛风、肾功能障碍、尿路结石和动脉硬化症中的任一种以上的疾病或症状的方法,其特征在于,给予权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物。
14. 权利要求1~5任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和/或其处理物在制造用于抑制给予对象的血中尿酸值上升的饮食品和/或药品中的用途。

具有降低血中尿酸值作用的乳酸菌

技术领域

[0001] 本发明涉及具有降低血中尿酸值作用的乳酸菌及其利用方法,并涉及含有乳酸菌的用于预防和/或治疗高尿酸血症的食品或药品。

背景技术

[0002] 高尿酸血症是在环境因素(生活习惯)和遗传因素的影响下,发生尿酸排泄减少或尿酸产生过剩,从而导致的血中的尿酸过剩的状态。虽然高尿酸血症有时没有自觉症状,但也可引起痛风、肾功能障碍、尿路结石、动脉硬化症等严重的并发症。作为高尿酸血症的代表性并发症痛风,其表现的主要症状是伴随剧烈疼痛的急性关节炎。过去,痛风被称为“帝王之病”,是频繁且大量摄取肉、鱼或酒等的阶层的“奢侈病”,但近年来,随着饮食生活的变化,这种病的发生呈逐年增加趋势。据说现在在日本,痛风患者数达30~40万人,高尿酸血症患者数估计在600万人,因此对高尿酸血症的预防和治疗的关注增加。

[0003] 高尿酸血症的预防及治疗可以利用饮食疗法、运动疗法、药品以及这几种方法的组合、通过控制血中的尿酸值来进行。特别是,限制热量的摄取是高尿酸血症预防及治疗方法中最经常被选择的方法之一,但持续进行严格的热量限制并不容易。作为改善这种状况的方法,提出了下述方法:经口(例如以药品、饮食品的形式)摄取分解嘌呤体的乳酸菌、酵母等微生物,在肠道中分解由食物中摄取来的嘌呤体,减少其向体内的吸收,从而降低血清尿酸值(专利文献1、非专利文献1)。乳酸菌自古以来就被作为食品和药品使用,其对人体的安全性高,因此摄取乳酸菌产生副作用的担忧小,能够成为用于预防、治疗高尿酸血症的有效方法。另外,如上所述,高尿酸血症的预防及治疗方法的第一选择是饮食疗法,如果把能够控制尿酸值的乳酸菌作为食品摄入,则能够成为非常实际而且有力的新型的预防和/或治疗高尿酸血症的方法。但是,上述文献中报告的具有嘌呤体分解能力的乳酸菌:发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*)具有气体产生能力,从应用于饮食品及药品的观点出发,不能说是合适的菌种。

[0004] 专利文献1:W02004/112809

[0005] 非专利文献1:日本農芸化学会ホームページ日本農芸化学会年次大会講演発表データベース(http://isbba.bioweb.ne.jp/jsbba_db/index.html)「日本農芸化学会2004.03.30一般講演、池永武、久米村恵 他:食事性高尿酸血症モデルラットの血中尿酸値に及ぼす乳酸菌の影響」

发明内容

[0006] 本发明是鉴于上述状况而完成的,本发明要解决的课题是提供适合饮食品和药品用途的能够预防和/或治疗高尿酸血症的乳酸菌,而且同时提供利用了上述乳酸菌的用于预防和/或治疗高尿酸血症的组合物。

[0007] 为了解决上述课题,本发明人等进行了坚持不懈的努力。首先,在肌苷和鸟苷存在下培养各种乳酸菌,测定上述核苷的消耗量和分解产物(次黄嘌呤、鸟嘌呤)的产生量,

挑选核苷分解能力显著的多种乳酸菌。将通过上述挑选被判断为核苷分解能力高的乳酸菌经口给予用含有嘌呤体的饲料喂养的大鼠,测定该大鼠的一般状况和血清尿酸值,观察给予乳酸菌对血清尿酸值的影响。其结果发现了能够显著抑制血清尿酸值上升的乳酸菌:口乳杆菌 OLL2779 (*Lactobacillus oris* OLL2779) 和格氏乳杆菌 OLL2959 (*Lactobacillus gasseri* OLL2959)。本发明人等进一步利用上述乳酸菌制备酸奶,并确认了上述乳酸菌适用于含有酸奶的食物的加工。本发明的乳酸菌由于能够抑制血清尿酸值的上升,因此可以有效地用于预防和 / 或治疗高尿酸血症或痛风的药品。另外,本发明的乳酸菌通过经口给予的实验确认了其具有抑制血清尿酸值上升的效果,而且确认了也适于实际的食物加工,因此在可以用作食品方面具有很高的实用性。即,本发明涉及可预防和 / 或治疗高尿酸血症的乳酸菌及其应用,具体而言,提供下述发明:

[0008] (1) 一种乳杆菌 (*Lactobacillus*) 属乳酸菌,其具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力。

[0009] (2) 上述 (1) 所述的乳酸菌,其为格氏乳杆菌。

[0010] (3) 一种口乳杆菌乳酸菌,其具有嘌呤体分解能力。

[0011] (4) 上述 (2) 所述的乳杆菌属乳酸菌,其为格氏乳杆菌 OLL2959 (保藏号:NITE BP-224)。

[0012] (5) 上述 (3) 所述的乳杆菌属乳酸菌,其为口乳杆菌 OLL2779 (保藏号:NITE BP-223)。

[0013] (6) 一种用于抑制血中尿酸值上升的饮食品,其含有上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0014] (7) 一种用于抑制血中尿酸值上升的药品,其含有上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0015] (8) 一种用于预防和 / 或治疗高尿酸血症的药品,其含有上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0016] (9) 一种用于预防和 / 或治疗高尿酸血症的饮食品,其含有上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0017] (10) 一种抑制从食品中摄取的嘌呤体量的方法,其特征在于,给予上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0018] (11) 一种抑制血中尿酸值上升的方法,其特征在于,给予上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0019] (12) 一种嘌呤体量降低了的饮食品的制造方法,其包括使饮食品的原料或中间产品与上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物接触的工序。

[0020] (13) 一种治疗和 / 或预防高尿酸血症、痛风、肾功能障碍、尿路结石和动脉硬化症中的任一种以上的疾病或症状的方法,其特征在于,给予上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物。

[0021] (14) 上述 (1) ~ (5) 任一项所述的乳酸菌、该乳酸菌含有物和 / 或其处理物在制造用于抑制给予对象的血中尿酸值上升的饮食品和 / 或药品中的用途。

附图说明

[0022] 图 1 为表示在嘌呤体（肌苷）存在下培养各种乳酸菌时各乳酸菌的嘌呤体分解能力的图。将确认嘌呤体分解率高的菌株（星号）作为动物模型实验对象。

[0023] 图 2 为表示在嘌呤体（鸟苷）存在下培养各种乳酸菌时各乳酸菌的嘌呤体分解能力的图。将确认嘌呤体分解率高的菌株（星号）作为动物模型实验对象。

[0024] 图 3 为用（次黄嘌呤量 + 鸟嘌呤量）/5- 溴尿嘧啶量评价发酵乳杆菌（*L. fermentum*）和短乳杆菌（*L. brevis*）乳酸菌的嘌呤体分解能力的图。

[0025] 图 4 为表示对饮食性高尿酸血症动物模型经口给予嘌呤体分解能力高的乳酸菌（*L. fermentum*、*L. brevis*）并测定血清尿酸值而得到的结果的图。

[0026] 图 5 为表示对饮食性高尿酸血症动物模型经口给予嘌呤体分解能力高的乳酸菌（*L. oris*、*L. gasseri*）并测定血清尿酸值而得到的图。*L. oris*0LL2779 菌株给予组（第 7 组）在给予开始后第 2 天和第 5 天，观察到对血清尿酸值上升的显著抑制（图中的 #）；*L. gasseri*0LL2959 菌株给予组（第 9 组）在给予开始后第 5 天，观察到对血清尿酸值上升的显著抑制（图中的 #）。

具体实施方式

[0027] 本发明涉及具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力的乳杆菌属乳酸菌。本发明是基于由本发明人等首次发现的具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力的乳杆菌属乳酸菌（以下称“本发明的乳杆菌属乳酸菌”）的发明。

[0028] 乳杆菌（*Lactobacillus*）属是乳酸菌中具有代表性的菌属之一，其包含 80 种以上的菌种。作为乳杆菌属中包含的菌种的例子，可列举出德氏乳杆菌保加利亚亚种（*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *burgalicus*）、德氏乳杆菌乳亚种（*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*）、副干酪乳杆菌副干酪亚种（*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*）、瑞士乳杆菌（*Lactobacillus helveticus*）、瑞士乳杆菌约古特亚种（*Lactobacillus helveticus* subsp. *jugurti*）、嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）、卷曲乳杆菌（*Lactobacillus crispatus*）、嗜淀粉乳杆菌（*Lactobacillus amylovorus*）、鸡乳杆菌（*Lactobacillus gallinarum*）、格氏乳杆菌（*Lactobacillus gasseri*）、口乳杆菌（*Lactobacillus oris*）、干酪乳杆菌鼠李糖亚种（*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*）、约氏乳杆菌（*Lactobacillus johnsonii*）、发酵乳杆菌（*Lactobacillus fermentum*）、短乳杆菌（*Lactobacillus brevis*）。本发明的乳杆菌属乳酸菌只要是具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力的乳杆菌属乳酸菌，则可以是任一菌种，但优选是格氏乳杆菌。

[0029] 嘌呤体是构成核酸的成分，通过嘌呤的从头（*de novo*）合成途径、补救合成途径、及膳食中的核蛋白等提供给机体，不需要的嘌呤体则在肝脏中被代谢排出。在人类、高等灵长类动物、鸟类、爬行动物等中，尿酸是嘌呤体的最终代谢产物。

[0030] 本说明书中的嘌呤体是指具有嘌呤骨架的化合物。作为嘌呤体的代表例子，可列举出嘌呤核苷酸（腺苷酸、脱氧腺苷酸、鸟苷酸、脱氧鸟苷酸），嘌呤核苷（腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷），嘌呤碱基（腺嘌呤、鸟嘌呤），含有嘌呤碱基的寡核苷酸和多核苷酸。嘌呤碱基除了构成核酸以外，还可构成 ATP、GTP、cAMP、cGMP、辅酶 A、FAD、NAD 等多种生物体

成分。本说明书中,只要具有嘌呤骨架,则这样的生物体成分全部包含在嘌呤体中。

[0031] 生物体内的嘌呤体代谢为尿酸。从嘌呤体到尿酸的代谢路径已广为人知。AMP 在 5' - 核苷酸酶的作用下变成腺苷,腺苷经过肌苷转变为次黄嘌呤。GMP 在 5' - 核苷酸酶的作用下变成鸟苷后,转变成鸟嘌呤。次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下、鸟嘌呤在鸟嘌呤脱氨酶的作用下均代谢为黄嘌呤,黄嘌呤进一步在黄嘌呤氧化酶的作用下转变为尿酸。

[0032] 本发明中的嘌呤体分解能力是指分解至少一种嘌呤体的能力,而不管分解产物是否具有嘌呤骨架。即,将某嘌呤体分解成不具有嘌呤骨架的化合物的能力及将某嘌呤体分解成其他嘌呤体(具有嘌呤骨架的化合物)的能力都属于本发明的嘌呤体分解能力。

[0033] 本发明的乳杆菌属乳酸菌可采用公知的方法进行分离。例如可通过下述方法进行分离:利用人等哺乳类的粪便培养细菌,根据培养出的细菌的形态、生物学特征等分离出乳杆菌属,检测有无嘌呤体分解能力和气体产生能力,选择具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力的乳杆菌属。嘌呤体分解能力和气体产生能力的检测可采用公知的方法,作为一个例子,可采用本实施例的方法。

[0034] 为了培养本发明的乳杆菌属乳酸菌,可以采用通常适用于乳酸杆菌培养的培养基,也可以采用含有葡萄糖、乳糖、半乳糖、果糖、海藻糖、蔗糖、甘露糖、纤维二糖等碳源,肉提取物、蛋白胨、酵母提取物、酪蛋白、乳清蛋白质等氮源,硫酸镁、硫酸铁、硫酸锰等无机营养素的培养基。作为合适的一个例子,可列举出 Lactobacilli MRS Broth(Difco)。关于培养条件,只要是肠内乳酸菌能够生长的条件,则没有特殊限制,优选的条件例如为:pH5.0 ~ pH8.0、温度 20°C ~ 45°C;更优选的条件为:厌氧条件、pH5.0 ~ pH7.0、温度 30°C ~ 40°C。

[0035] 本发明人等如后文所述将本发明的乳杆菌属乳酸菌经口给予动物模型,并确认了该乳酸菌具有抑制血中尿酸值上升的效果。因此,本发明的乳杆菌属乳酸菌可用于抑制血中尿酸值的上升或用于预防和/或治疗高尿酸血症。此外,也可以考虑利用本发明的乳杆菌属乳酸菌的嘌呤体分解能力,制造嘌呤体量降低了的食品。

[0036] 作为本发明的“具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力的乳杆菌属乳酸菌”的具体例子,可列举出以保藏号 NITE BP-224 特定的格氏乳杆菌 OLL2959。本发明人等对多种乳酸菌进行了有无嘌呤体分解能力和气体产生能力的研究,具体地发现了命名为格氏乳杆菌 OLL2959 的乳杆菌属乳酸菌具有嘌呤体分解能力且不具有气体产生能力。此外,通过体内实验确认了格氏乳杆菌 OLL2959 能够显著抑制血中尿酸值的上升。本发明人等将上述菌株保藏于日本独立行政法人产品评价技术基础机构专利微生物保藏中心。以下记载了特定保藏的内容。

[0037] (1) 保藏机构:日本独立行政法人产品评价技术基础机构专利微生物保藏中心(NPMD)

[0038] (2) 联系地址:日本国千葉県木更津市かずさ鎌足 2-5-8 郵便番号 292-0818

[0039] (3) 原保藏日:2006 年 3 月 31 日

[0040] (4) 从国内保藏向根据布达佩斯条约的保藏的移管日:2007 年 11 月 21 日

[0041] (5) 保藏号:格氏乳杆菌 OLL2959 菌株(保藏号 NITE BP-224)

[0042] 另外,本发明还涉及具有嘌呤体分解能力的口乳杆菌(Lactobacillus oris)乳酸菌。本发明是基于本发明人等首次发现的具有嘌呤体分解能力的口乳杆菌乳酸菌(以下也称为“本发明的口乳杆菌乳酸菌”)的发明。

[0043] 本发明的口乳杆菌乳酸菌的分离和培养可采用与上文说明的本发明的乳杆菌属乳酸菌的分离和培养相同的方法。另外,本发明的口乳杆菌乳酸菌也可用于抑制血中尿酸值的上升和用于预防和 / 或治疗高尿酸血症。

[0044] 作为本发明的“具有嘌呤体分解能力的口乳杆菌乳酸菌”的具体例子,可列举出以保藏号 NITE BP-223 特定的口乳杆菌 OLL2779。本发明人等从多种乳酸菌中发现口乳杆菌 OLL2779 是具有嘌呤体分解能力的乳酸菌。另外,通过体内实验确认了口乳杆菌 OLL2779 能够显著抑制血中尿酸值的上升。本发明人等将上述菌株保藏于日本独立行政法人产品评价技术基础机构专利微生物保藏中心。以下记载了特定保藏的内容。

[0045] (1) 保藏机构:日本独立行政法人产品评价技术基础机构专利微生物保藏中心 (NPMD)

[0046] (2) 联系地址:日本国千葉県木更津市かずさ鎌足 2-5-8 郵便番号 292-0818

[0047] (3) 原保藏日:2006 年 3 月 31 日

[0048] (4) 从国内保藏向根据布达佩斯条约的保藏的移管日:2007 年 11 月 21 日

[0049] (5) 保藏号:口乳杆菌 OLL2779 菌株(保藏号 NITE BP-223)

[0050] 本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌可用于制造用于抑制血中尿酸值上升的饮食品或药品、用于预防和 / 或治疗高尿酸血症的药品或饮食品。

[0051] 利用本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌制作的饮食品的种类和类别没有限制,可以是功能性食品、特定保健用食品、健康食品、护理用食品,也可以是点心、乳酸菌饮料、奶酪和酸奶等乳制品,调味料等。对饮食品的形态也没有限制,可以采用固体、液体、流态食品状、果冻状、片状、颗粒状、胶囊状等可通常流通的所有的饮食品的形态。上述饮食品的制造可通过本领域技术人员的常规方法来进行。在上述饮食品的制造中,只要不妨碍乳酸菌的生长,还可以添加糖类、蛋白质、脂肪、食物纤维、维生素类、生物体必需的微量元素(硫酸锰、硫酸锌、氯化镁、碳酸钾等)、香料或其他配合物。

[0052] 本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌、这些乳酸菌的乳酸菌含有物和 / 或其处理物(例如培养物、浓缩物、糊化物、喷雾干燥物、冷冻干燥物、真空干燥物、滚筒干燥物、液态物、稀释物、破碎物),除了可以如上所述加工成含有乳制品和发酵乳的一般饮食品外,还可以用作制造酸奶或奶酪等乳制品、发酵乳用的引子(starters)。作为引子的时候,只要不妨碍本发明的乳杆菌属乳酸菌和本发明的口乳杆菌乳酸菌的生长和繁殖,并且不妨碍乳制品的制造,则也可以混合其他微生物。例如,可以与主要作为酸奶用乳酸菌的菌种的德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)、嗜酸乳杆菌等混合,另外,也可以和通常用作酸奶用或奶酪用的菌种混合作为引子使用。利用上述引子的乳制品、发酵乳的制造可以按照常规方法来进行。例如,在加温、混合、均质化、杀菌处理后冷却的乳或乳制品中混入上述引子,经过发酵、冷却制成纯酸奶。

[0053] 本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌可与生理学上可容许的载体、赋形剂或稀释剂等混合,以医药组合物的形式经口或非经口给予,但优选的给予方法是经口给予。作为经口给予制剂,可制成公知的各种剂型,例如颗粒剂、散剂、片剂、丸剂、胶囊剂、液体剂、糖浆剂、乳剂、悬浮剂、锭片(troche)等剂型。另外,通过利用本领域技术人员公知的方法制成的肠溶性制剂,可不受胃酸的影响,从而将本发明的乳杆菌属乳酸菌更高效地运送到肠道。

[0054] 利用本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌制造的药品以及饮食品,有望凭借饮食品中上述菌的作用,发挥抑制血中尿酸值上升的效果及预防和/或治疗高尿酸血症的效果。

[0055] 另外,利用本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌的嘌呤体分解能力,可以制造嘌呤体量降低了的饮食品。本发明的嘌呤体量降低了的饮食品的制造方法包含使本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌与饮食品的原料或中间产品接触的工序。通过该工序,可以高效地降低该原料或中间产品中含有的嘌呤体的量。上述工序优选在本发明的乳杆菌属乳酸菌以及本发明的口乳杆菌乳酸菌能够生存的条件下进行。本发明的制造方法除了上述工序外,还可包含粉碎工序、混合工序、干燥工序、杀菌以及填充工序等目标饮食品的通常的制造工序。利用本发明的方法制造的饮食品的种类和类别没有限制,例如,可以是功能性食品、特定保健用食品、健康食品、护理用食品,也可以是一般的食品,例如可以是被分类为嗜好品的食品,但对于需要限制嘌呤体摄入量的疾病或症状的患者或上述疾病或症状的准患者是非常有用的日常性或辅助性饮食品。本发明的方法使得需要限制嘌呤体摄入量的或希望抑制嘌呤体摄入量的人们可以摄取原本嘌呤体含量多的食品,并且享受其营养素和美味。

[0056] 需要说明的是,本说明书中引用的全部的现有技术文献作为参考引入本说明书中。

[0057] 实施例

[0058] 以下基于实施例更加详细地说明本发明,但本发明并不受下述实施例的限定。另外,在实施例中,菌株名中记有 JCM 的菌株是从日本独立行政法人理化学研究所生物资源中心的微生物材料开发室获得的标准株、菌株名中记有 ATCC 的菌株是从 American Type Culture Collection 获得的标准株、菌株名中记有 MEP 的菌株是明治乳业株式会社拥有的菌株。

[0059] [实施例 1] 关于乳酸菌的降低尿酸作用的体外的实验方法

[0060] 采用以下的方法对各种乳酸菌有无嘌呤体分解能力进行研究。

[0061] 各种乳酸菌(菌体)采用 Difco Lactobacilli MRS Broth(BD 制)培养基,与氧吸附剂(AnaeroPack)(三菱气体株式会社制)一起装入密闭容器中,在温度 37℃ 下厌氧培养过夜。培养后的菌体悬浮液在转速为 3000rpm、温度为 4℃ 下离心 10 分钟,沉淀回收(集菌)菌体。

[0062] 利用上述菌体,采用 0.1M 的磷酸钠缓冲液制备 1×10^9 CFU/mL 的菌体悬浮液。

[0063] 各种菌体悬浮液制备好后,在各种菌体悬浮液中分别加入肌苷和鸟苷,使其分别达到 1.25mM。将这些菌体悬浮液放入 37℃ 的恒温槽内,以水平转速 140rpm 振荡培养 30 分钟或 2 小时。

[0064] 对振荡培养后的菌体悬浮液(反应液),采用 HPLC 以 5-溴尿嘧啶为内标测定核苷的消耗量和作为核苷分解物的碱基(次黄嘌呤和鸟嘌呤)的生成量。向流动相 A 的 780 μ L 中加入反应液 200 μ L、作为内标的 5-溴尿嘧啶(1.6mg/mL)20 μ L 后混合。将该混合液用过滤器(孔径为 0.45 μ m)过滤后,将滤液 50 μ L 注入到 HPLC 中。HPLC 的具体操作条件如下。

[0065] HPLC: Waters alliance 2690

- [0066] 色谱柱 :CAPCELL PAK C₁₈ SG120、粒径为 5 μ m、柱尺寸为 4.6×250
- [0067] mm(资生堂)
- [0068] 流动相 :A :25mM KH₂PO₄(0.1% 甲醇)
- [0069] B :25mM KH₂PO₄(0.1% 甲醇)/ 甲醇 (75 : 25)
- [0070] 梯度 A/B(min) :100/0(0)-100/0(10)-20/80(20)
- [0071] -20/80(25)-100/0(26)-100/0(40)
- [0072] 检测器 :光电二极管阵列 (Waters 996) 检测波长为 254nm
- [0073] 流速 : 1mL/min
- [0074] 柱温 : 常温
- [0075] 结果示于图 1 ~ 3。各化合物的定量根据 HPLC 图谱中峰面积值进行。另外,图 1 及图 2 的分解率根据下式计算得出。
- [0076] 分解率 = 100 - (肌苷或鸟苷的量 / 空白中的肌苷或鸟苷的量) × 100
- [0077] 另外,图 3 的计算方法如下。
- [0078] (次黄嘌呤量 + 鸟嘌呤量) / 5 - 溴尿嘧啶量
- [0079] 根据图 1 ~ 3 的结果,挑选可判断为核苷分解能力显著的乳酸菌。
- [0080] [实施例 2] 关于乳酸菌的降低尿酸作用的体内的实验方法
- [0081] 按照现有文献 (非专利文献 1) 中记载的方法,制作饮食性高尿酸血症动物模型,研究微生物 (乳酸菌) 对该动物的血清尿酸值的影响。上述方法具体为下述方法 :制备含有 2.5 重量 % 的氧嗪酸钾和 1.0 重量 % 的 RNA 的混合饲料,喂养大鼠,比较阴性组和对照组摄食后的血中尿酸值。本方法的动物模型在经口给予尿酸生成的阻滞剂别嘌呤醇后,可知该动物模型的血中尿酸值被显著抑制 (食品機能研究ニュース (第 14 号)、2005 年 3 月 9 日発行、(株)メルシヤンクリンテック環境検査センター、http://www.m-cleantec.com/gizyutu/news_0503.html)。上述内容显示作为针对高尿酸血症的食品的有效性的评价系统,上述方法是有用的。
- [0082] (2-1 材料及实验步骤)
- [0083] (微生物)
- [0084] 使用在上述体外实验中被判断为核苷分解能力高的 5 个菌株 *Lactobacillus fermentum* MEP181504 菌株 (以下根据情况将 “*Lactobacillus*” 简记为 “L. ”)、*L. brevis* MEP181507 菌株、*L. gaserri* JCM8787 菌株、*L. gaserri* OLL2959 菌株、*L. oris* OLL2779 菌株。与体外实验同样地利用各种乳酸菌制备菌体悬浮液。向大鼠经口给予菌体悬浮液 1 × 10⁹CFU/10mL/kg。
- [0085] (实验动物)
- [0086] 使用大鼠 (Wister SPF、雄性、7 周龄)。饲养 (驯化和实验) 中使用大鼠用塑料笼,每个笼子仅收容一只大鼠。明暗周期中将明期设定为上午 7 点 ~ 下午 7 点 (12 小时)。
- [0087] (预备饲养 (驯化) 和分组)
- [0088] 实验动物搬入后进行一周的预备饲养 (驯化)。驯化中,使它们自由摄取作为饵料 (饲料) 的 AIN-93G (Oriental 酵母工业株式会社)、作为饮水的自来水。预备饲养后的大鼠 (入选 7 天后、8 周龄、第 0 天) 在上午非绝食下从尾静脉采血。该血液在室温下放置 30 分钟以上后,以转速 10000rpm 离心分离 10 分钟,分离血清,血清中的尿酸值采用磷钨酸

法测定。

[0089] 分组时使各组的血清中尿酸值相等。实验中每组使用 5 只大鼠,设定阴性组(第 1、5 组)、对照组(第 2、6 组)、菌体给予组(第 3、4、7~9 组)共 9 组。以下给出组名、饵料、给予物(给予用量)、只数等。

[0090] • 阴性组(第 1、5 组):给予“AIN-93G”饵料、给予“生理盐水”(10mL/kg)、5 只

[0091] • 对照组(第 2、6 组):“给予混合了 2.5 重量%的氧嗪酸钾、1.0 重量%的 RNA 的 AIN-93G”饵料、给予“生理盐水”(10mL/kg)、5 只

[0092] • 菌体给予组(第 3、4、7~9 组):所有组都给予“混合了 2.5 重量%的氧嗪酸钾、1.0 重量%的 RNA 的 AIN-93G”饵料、5 只。各组的给予菌体及给予量为:

[0093] 第 3 组:给予“*L. fermentum* MEP181504 菌株的悬浮液 (1×10^8 CFU/mL)”(10mL/kg)、

[0094] 第 4 组:给予“*L. brevis* MEP181507 菌株的悬浮液 (1×10^8 CFU/mL)”(10mL/kg)、

[0095] 第 7 组:给予“*L. oris* OLL2779 菌株的悬浮液 (1×10^8 CFU/mL)”(10mL/kg)、

[0096] 第 8 组:给予“*L. gaserri* JCM8787 菌株的悬浮液 (1×10^8 CFU/mL)”(10mL/kg)、

[0097] 第 9 组:给予“*L. gaserri* OLL2959 菌株的悬浮液 (1×10^8 CFU/mL)”(10mL/kg)。

[0098] (正式饲养(实验))

[0099] 分组后第二天开始为试验期间,分别利用喂食器让大鼠自由摄取“AIN-93G”饲料(阴性组)和“AIN-93G+氧嗪酸钾+RNA”饲料(对照组、菌体给予组)8 天。将正式饲料的喂食开始日作为第一天,以后按照日期来计算天数。“AIN-93G+氧嗪酸钾+RNA”饲料含有氧嗪酸钾(100g、ALDRICH)2.5 重量%和 RNA(500g、MP Biomedicals, Inc.)1.0 重量%。以 1×10^9 CFU/10mL/kg 向菌体给予组的实验动物强制经口给予上述菌体悬浮液。对阴性组和对照组不给菌体悬浮液,而是以 10mL/kg 强制经口给予生理盐水。

[0100] (测定和检查等)

[0101] • 一般状态的观察和体重的测量

[0102] 所有例(所有组)从第 1 天开始到第 8 天的每一天,在给予时观察一般状态,第 0 天、第 1 天、第 5 天、第 8 天的上午 9~10 点定时测量体重。

[0103] • 摄食量和饮水量的测定

[0104] 所有例(所有组)的第 1 天(设定值)、第 5 天(剩余值、设定值)、第 8 天(剩余值)的上午 9~10 点定时测定摄食量和饮水量。

[0105] • 采血和生化学检查

[0106] 所有例(所有组)在第 0 天(上午)、第 2 天(给予 1 小时后)、第 5 天(给予 1 小时后)、第 8 天(给予前)从尾静脉采血。采取的血液以 10000rpm 的转速离心分离 10 分钟,分离血清,血清中的尿酸值采用磷钨酸法测定。如前所述,在第 0 天当天测定血清中尿酸值以用来分组。

[0107] • 解剖和生化学检查

[0108] 所有例(所有组)在第 8 天从尾静脉采血后经口给予菌体悬浮液。给予 1 小时后在 nembutal 麻醉(苯巴比妥 40mg/kg)状态下,从腹主动脉采全部血液处死。采取的血液以 3000rpm 的转速离心分离 15 分钟,分离血清,测定血清中的肌酐、尿酸、尿素氮。

[0109] • 脏器重量的测量

[0110] 取大鼠的肾脏,测量湿重。

[0111] (统计处理)

[0112] 结果用平均值 \pm 标准差表示,比较对照组和菌体给予组各组。对数值化的检测值的方差比率进行 F 检验,方差齐时进行 Student' s t- 检验、方差不齐时进行 Aspin-Welch t- 检验。统计处理时使用 Excel 统计 2004 的统计分析,最低显著水平为双侧 5%。

[0113] (2-2 结果)

[0114] 一般状态的结果示于表 1(L. fermentum 和 L. brevis) 和表 2(L. oris 和 L. gasseri),血清尿酸值的变化示于图 4 和 5。

[0115] 对于给予各种乳酸菌引起的血清中尿酸值的下降,如图 5 所示,在 L. oris OLL 2779 给予组与 L. gasseri OLL2959 给予组可见显著性差异。关于一般状态,所有组的肾功能(肌酐值、血清中尿素氮、肾脏重量)都没有问题,体重、摄食量、摄水量在所有组中也均没有问题。另外,一般状态的所见情况在各种乳酸菌之间未观察到显著性差异。L. oris OLL2779 及 L. gasseri OLL2959 的科学特征示于表 3。

[0116] 表 1

[0117]

	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组
实验期间中的体重增加量 (g)	28.6 \pm 2.3	23.0 \pm 2.9	20.0 \pm 3.5	20.0 \pm 3.7
实验期间中的摄食量 (g)	106.9 \pm 7.7	88.2 \pm 3.9	82.7 \pm 4.2	85.1 \pm 6.3
实验期间中的摄水量 (g)	96.7 \pm 15.1	192.2 \pm 11.9	183.3 \pm 12.7	190.8 \pm 16.7
血清中肌酐值 (第 8 天) (mg/dL)	0.7 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.0
血清中尿素氮量 (第 8 天) (mg/dL)	15.5 \pm 1.5	15.2 \pm 2.4	16.3 \pm 2.0	14.8 \pm 1.7
肾脏绝对重量 (第 8 天) (g)	1.5 \pm 0.1	1.6 \pm 0.0	1.6 \pm 0.1	1.6 \pm 0.1

[0118] 表 2

[0119]

	第5组	第6组	第7组	第8组	第9组
实验期间的体重增加量 (g)	29.2±2.8	18.4±7.3	19.2±1.4	18.6±4.0	21.3±4.5
实验期间的摄食量 (g)	102.8±7.4	87.6±4.7	87.8±4.4	94.4±12.3	87.9±6.7
实验期间的摄水量 (g)	108.0±13.0	170.7±15.3	173.0±13.4	183.6±8.1	168.2±13.1
血清中肌酐值 (第8天) (mg/dL)	0.7±0.0	0.8±0.1	0.7±0.0	0.7±0.1	0.7±0.0
血清中尿素氮量 (第8天) (mg/dL)	14.5±1.1	14.5±2.0	13.5±0.7	15.1±2.4	13.1±1.4
肾脏绝对重量 (第8天) (g)	1.5±0.1	1.6±0.0	1.6±0.1	1.6±0.1	1.6±0.1

[0120] 表 3

[0121]

		格氏乳杆菌 OLL2959 (<i>L. gasseri</i> OLL2959) (NITE BP-224)	口乳杆菌 OLL2779 (<i>L. oris</i> OLL2779) (NITE BP-223)
培养条件		培养温度: 37°C 需氧性: 兼性厌氧	培养温度: 37°C 需氧性: 兼性厌氧
培养基上的菌落性状 (<i>Lactobacilli</i> MRS Agar, DIFCO)		圆形, 淡黄色, 光滑型, 扁平状	圆形, 淡黄色, 光滑型, 扁平状
菌形态		杆菌	杆菌
革兰氏染色		阳性	阳性
乳酸发酵形式		同型乳酸发酵	同型乳酸发酵
有氧生长		+	+
生长温度		15°C- 45°C+	15°C- 45°C+
糖类 发 酵 性	阿拉伯糖	-	+
	木糖	-	+
	鼠李糖	-	-
	核糖	-	+
	葡萄糖	+	+
	甘露糖	+	-
	果糖	+	+
	半乳糖	+	+
	蔗糖	+	+
	纤维二糖	+	-
	乳糖	-	+
	海藻糖	-	-
	密二糖	-	+
	棉子糖	-	+
	松三糖	-	-
	甘露醇	-	-
山梨醇	-	-	
气体产生		-	+

[0122] [实施例 3] 发酵乳的制造

[0123] (发酵乳的制造例 1)

[0124] 利用 *L. gasseri* OLL2959(NITE BP-224)、*L. bulgaricus* JCM 1002^T、*S. thermophilus* ATCC 19258 制备纯酸奶。首先,使用脱脂奶粉 10%培养基制备 *L. gasseri* OLL2959(NITE BP-224)、*L. bulgaricus* JCM 1002^T、*S. thermophilus* ATCC19258 的团块引子 (bulk starters)。接着,95°C 下加热处理酸奶混合物 (无脂乳固体成分 (SNF) :9.5%、脂肪成分 (FAT) :3.0%) 5 分钟。向该加热处理后的酸奶混合物中接种 *L. bulgaricus* JCM1002^T 和 *S. thermophilus* ATCC19258 的引子各 1%、*L. gasseri* OLL2959(NITE BP-224) 的引子 5%,在 43°C 下发酵 4 小时,获得纯酸奶。将该纯酸奶在冰箱 (5°C) 中冷却后,确认风味和物性。此时的风味和物性均良好。

[0125] (发酵乳的制造例 2)

[0126] 利用 *L. oris* OLL2779(NITE BP-223)、*L. bulgaricus* JCM 1002^T、*S. thermophilus* ATCC19258 制备纯酸奶。首先,使用脱脂奶粉 10%培养基制备 *L. oris* OLL2779(NITE BP-223)、*L. bulgaricus* JCM1002^T、*S. thermophilus* ATCC 19258 的团块引子。接着,在 95°C 下加热处理酸奶混合物 (无脂乳固体成分 (SNF) :9.5%、脂肪成分 (FAT) :3.0%) 5 分钟。向

该加热处理后的酸奶混合物中接种 *L. bulgaricus* JCM1002[†] 和 *S. thermophilus* ATCC19258 的引子各 1%、*L. oris* OLL2779 (NITE BP-223) 的引子 5%，在 43℃ 下发酵 4 小时，获得纯酸奶。将该纯酸奶在冰箱 (5℃) 中冷却后，确认风味和物性。此时的风味和物性均良好，确认了 *L. oris* OLL2779 可适用于食品制造。

[0127] 本发明提供了能够降低血中尿酸值的乳酸菌。通过经口摄取本发明的乳酸菌能够降低血中的尿酸值，因此本发明的乳酸菌可用于预防 / 或治疗痛风或高尿酸血症的食品或药品。特别是，本发明的乳酸菌在食品制造方面已确认没有气体产生所引起的问题，因此可说是适于实用化的。此外认为，利用本发明的乳酸菌，还能够制造嘌呤体量降低了的加工食品。因此，本发明的乳酸菌在食品以及药品产业上具有极高的应用性。

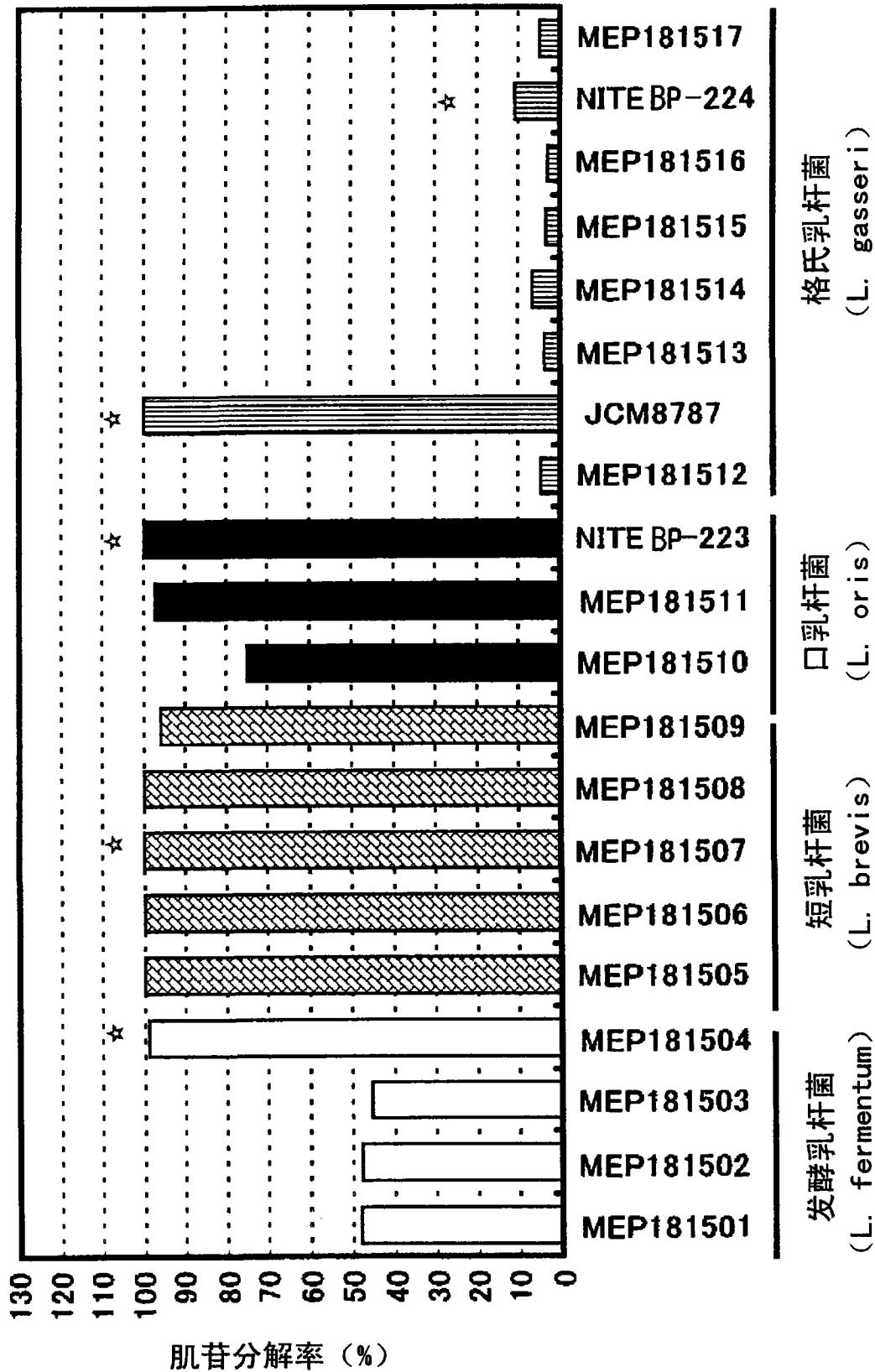


图 1

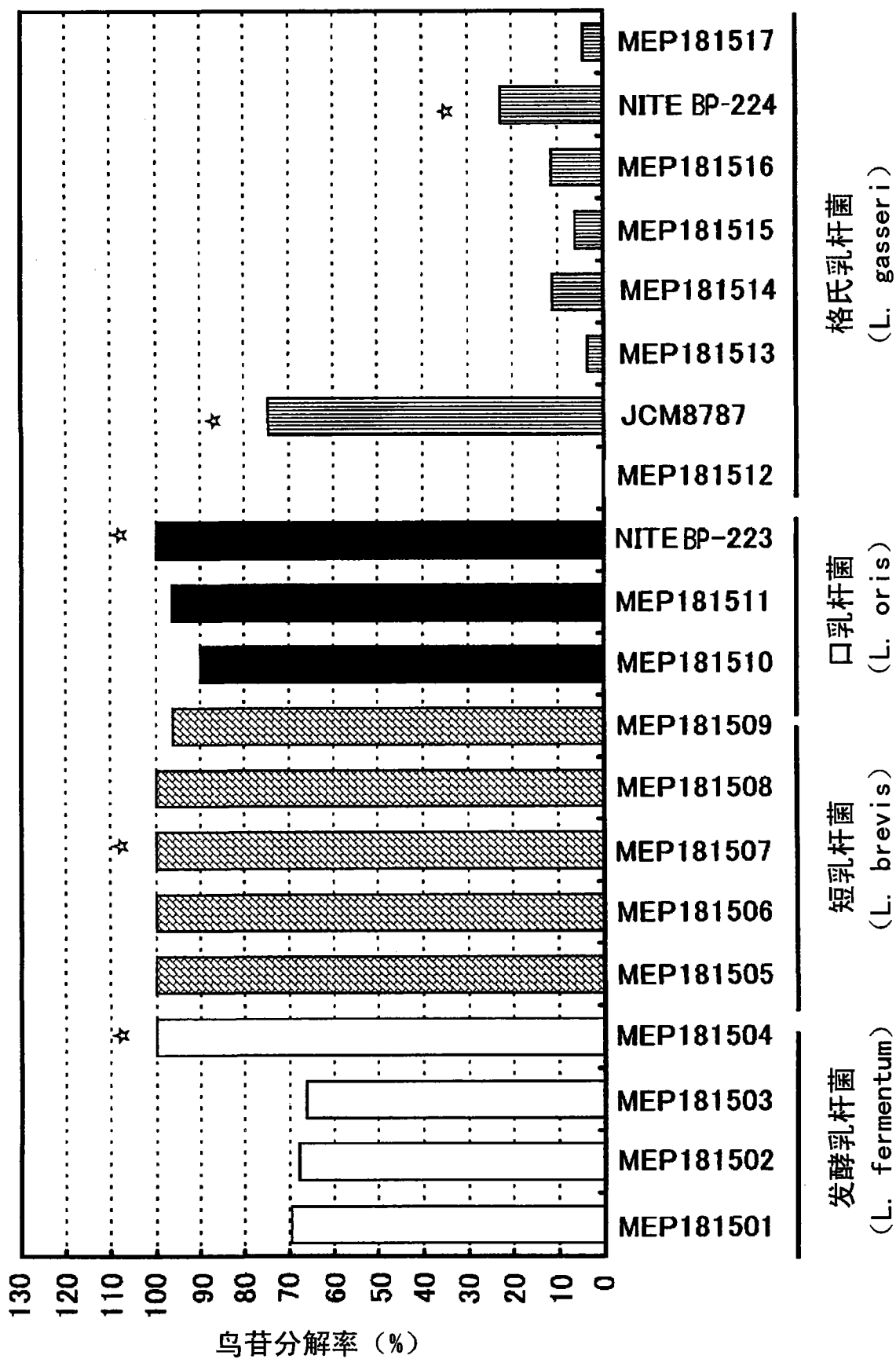


图 2

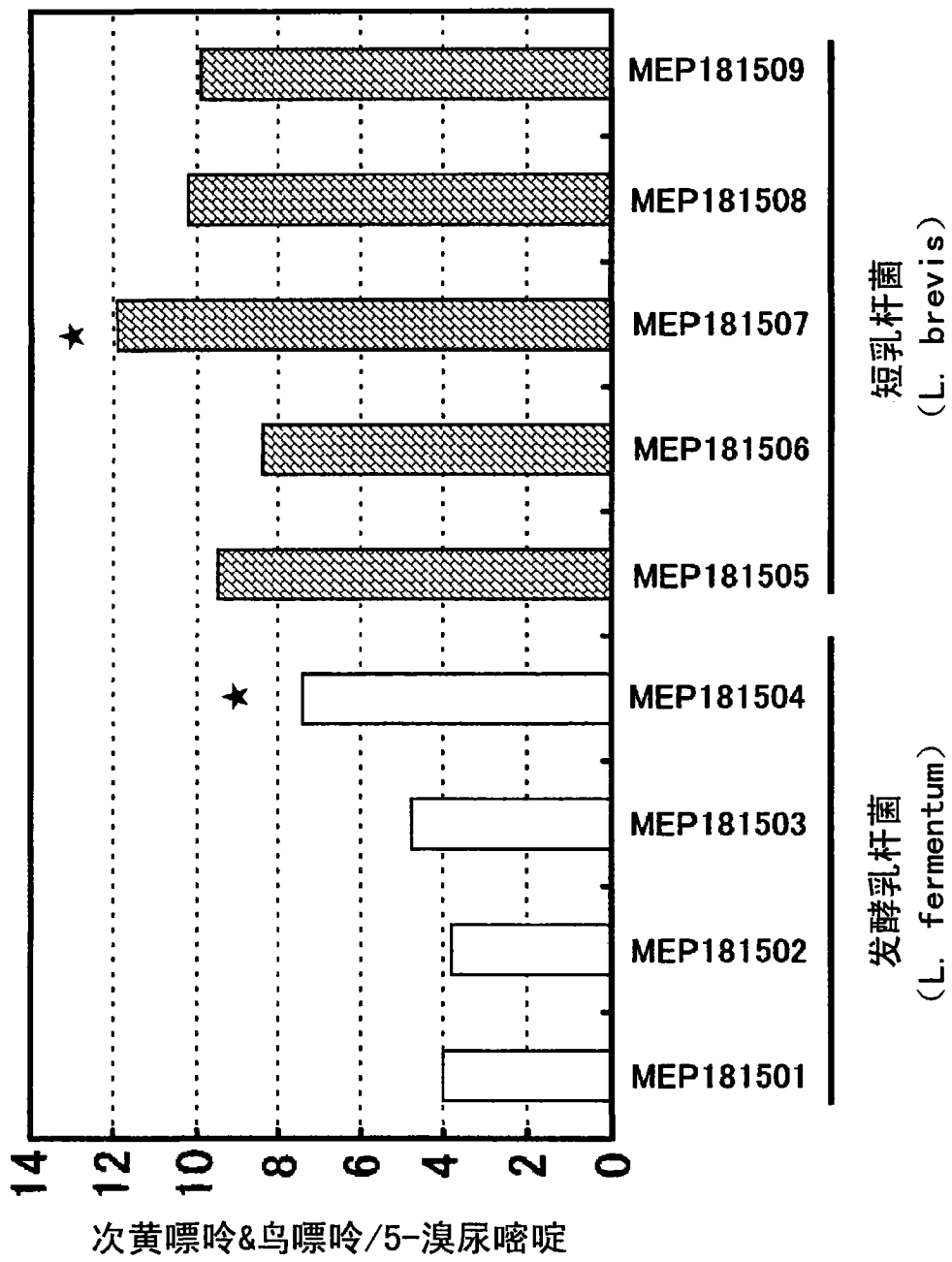


图 3

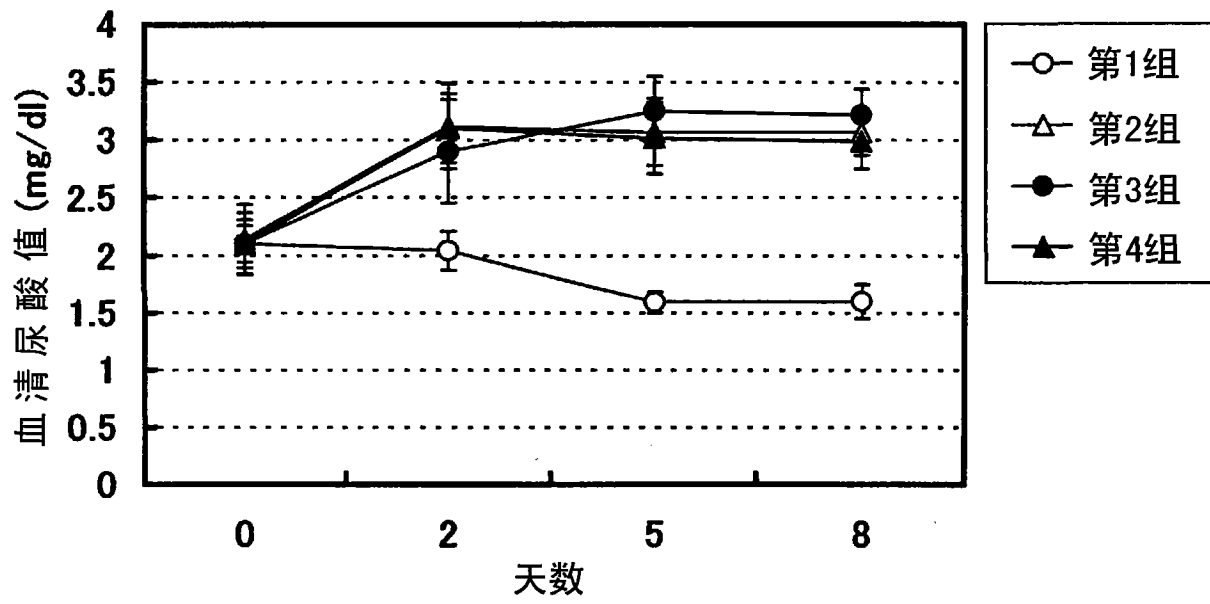


图 4

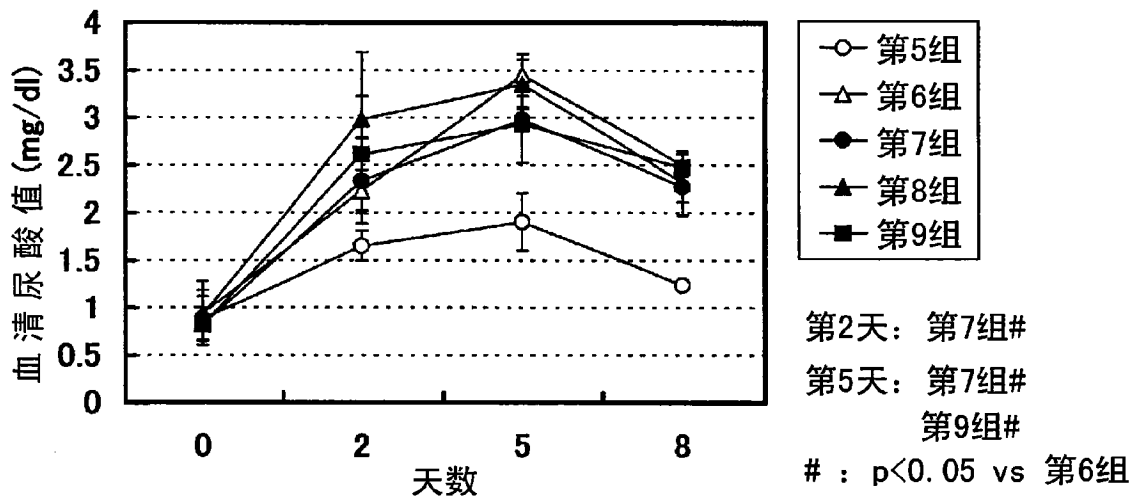


图 5