



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 106974262 A

(43) 申请公布日 2017. 07. 25

(21) 申请号 201610028004. X

A61P 3/10(2006. 01)

(22) 申请日 2016. 01. 15

(71) 申请人 深圳华大基因研究院

地址 518083 广东省深圳市盐田区北山工业
区综合楼

(72) 发明人 冯强 张东亚

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限
公司 31266

代理人 马莉华 陆凤

(51) Int. Cl.

A23L 33/00(2016. 01)

A23L 33/135(2016. 01)

A23K 10/18(2016. 01)

A23L 2/38(2006. 01)

A61K 35/741(2015. 01)

A61P 3/04(2006. 01)

A61P 3/06(2006. 01)

A61P 9/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书17页 附图12页

(54) 发明名称

肠道益生杆菌在治疗和预防肥胖及其相关疾病中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种肠道益生杆菌在治疗和预防肥胖相关疾病中的应用,具体地,本发明的肠道益生杆菌用于制备组合物或制剂,所述组合物或制剂用于选自下组的一种或多种用途:(a) 预防和/或治疗肥胖;(b) 降低血脂;(c) 预防或治疗心血管疾病;和/或(d) 预防和/或治疗糖尿病。本发明的肠道益生杆菌能够显著降低体重、降低血脂、降低体脂比。

1. 一种肠道益生杆菌的用途,其特征在于,用于制备组合物或制剂,所述组合物或制剂用于选自下组的一种或多种用途:(a)预防和/或治疗肥胖;(b)降低血脂;(c)预防或治疗心血管疾病;和/或(d)预防和/或治疗糖尿病,其中,所述肠道益生杆菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。

2. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述肠道益生杆菌包括产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)。

3. 如权利要求2所述的用途,其特征在于,所述产甲酸草酸杆菌选自下组:*Oxalobacter formigenes* OXCC13、*Oxalobacter formigenes* DSM 4420、*Oxalobacter formigenes* ATCC 35274、或其组合。

4. 一种肠道益生杆菌的用途,其特征在于,用于制备组合物或制剂,所述组合物或制剂用于选自下组的一种或多种用途:(i)降低哺乳动物中单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的水平;和/或(ii)改善瘦素抵抗,提高体内对Leptin的敏感性,其中,所述肠道益生杆菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。

5. 如权利要求4所述的用途,其特征在于,所述组合物或制剂还独立地或额外地用于选自下组的一种或多种用途:

(iii)抑制哺乳动物的体重增长;

(iv)降低哺乳动物的体脂比(脂肪重量/体重之比);

(v)降低哺乳动物的血脂水平;

(vi)提高哺乳动物中的高密度脂蛋白(HDLC)的水平;

(vii)降低哺乳动物中的低密度脂蛋白(LDLC)水平。

6. 一种用于治疗 and/或预防肥胖的组合物,所述组合物包括:(i)安全有效量的肠道益生杆菌;和(ii)食品上或药学上可接受的载体;其中,所述肠道益生杆菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。

7. 如权利要求6所述的组合物,其特征在于,所述组合物含有 1×10^4 - 1×10^{20} cfu/mL或cfu/g的肠道益生杆菌,较佳地 1×10^4 - 1×10^{15} cfu/mL或cfu/g的肠道益生杆菌,按所述组合物的总体积或总重量计。

8. 如权利要求6所述的组合物,其特征在于,所述的组合物中,含有0.0001-99wt%,较佳地0.1-90wt%所述的肠道益生杆菌,以所述组合物的总重量计。

9. 如权利要求6所述的组合物,其特征在于,所述的组合物还含有其它肠道益生杆菌和/或益生元。

10. 一种权利要求6所述组合物的制法,包括步骤:

将(i)肠道益生杆菌、与(ii)食品上可接受的载体或药学上可接受的载体混合,从而形成权利要求6所述的组合物。

肠道益生菌在治疗和预防肥胖及其相关疾病中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于微生物学领域,具体地,本发明涉及肠道益生菌在治疗和预防肥胖及其相关疾病中的应用,也涉及包含肠道益生菌的组合物及其应用。

背景技术

[0002] 人体内存在大量共生微生物,它们大部分寄居在人的肠道中,数量超过1000万亿(10^{14} 数量级),是人体细胞总数的10倍以上。在漫长的进化过程中,肠道微生物与人类达成了良好的合作,对人体的营养、代谢和免疫都起着至关重要的作用,许多研究者更多地是将人体肠道微生物群落看作是人体的一个“器官”,或者是人体第二基因组,其中蕴含的海量遗传信息与人类健康密切相关。通过对糖尿病、冠心病、肥胖、结肠癌等数百种疾病近万种样品的研究发现,某些特定的物种与疾病呈现出显著的关联,这些结果在疾病的临床评定和诊断以及后期的干预治疗提供了一个全新的方向。

[0003] 肥胖症是一种慢性疾病,许多因素都会导致肥胖,其发病起源至今未研究清楚。肥胖同时也是一系列疾病的诱导因子,如高血压、糖尿病、冠心病、胆囊病、骨关节炎、睡眠中呼吸窒息、呼吸失调、子宫瘤、前列腺癌、乳腺癌和结肠癌等。根据NIH的报告,目前约有9700万美国人超重和过度肥胖,其中与过度肥胖相关的II型糖尿病人数达到约1510万人,每年约有20万人死于与肥胖症相关的疾病。

[0004] 肥胖通常是由于生理或生物化学功能改变而导致的体脂肪过剩。脂肪通常包括中性脂、磷脂和胆固醇。脂肪的增加是由于能量摄入大于能量的消耗。从发病原理上讲,肥胖有两种类型:(a)单纯性肥胖(simple obesity)和(b)继发性肥胖(second obesity)。单纯性肥胖可划分为先天性肥胖(idiopathic obesity)和后天性肥胖(acquired obesity),单纯性肥胖患者数量可占95%以上的总肥胖数目。先天性肥胖是由大量的脂肪细胞所致,且常见于儿童期肥胖。后天性肥胖是由更大尺寸的脂肪细胞所致,且常见于成年期肥胖。继发性肥胖又被称为症状性肥胖,其通常是由内分泌或新陈代谢疾病所致。

[0005] 目前有五种治疗肥胖的策略:节食、锻炼、行为治疗、药物治疗和康复手术(therapeutic operation)。采取哪种策略主要视病人的健康危险因子和体重减轻的速度和效果而定,可选择或组合这些策略对肥胖病人进行治疗。其体重减轻的速度和效果受诸如年龄、身高、家族史和危险因子等多个因素的影响。饮食—锻炼疗法,即吃低热量、低脂肪食物和进行有氧锻炼,但这种方法一般认为对普通大众不成功,且需要长期经常性地坚持;去除体内脂肪手术能达到立竿见影的效果,但存在诸多限制,如手术风险、除脂效果难以持久和花费过于昂贵等。

[0006] 药物治疗是目前主要的临床治疗肥胖及其肥胖相关疾病(如糖尿病)的方法。药物治疗的机制包括抑制食欲、增加能量消耗、刺激脂肪移动、降低甘油三酯合成和抑制脂肪吸收。目前主要的药物为:苯丙醇胺(phenylpropanolamine, PPA)、罗氏鲜(orlistat, Xenical III)和诺美婷(sibutramine, Reductil™)。某些糖尿病人的高血糖通过饮食和/或锻炼疗法或使用上述治疗化合物仍然不能得到适当控制。对于这些病人,应使用外源胰岛素。对病人

来说,使用外源胰岛素是很昂贵和痛苦的方法,还会给病人带来多种并发症。例如,由于没有吃饭或不正常锻炼,胰岛素剂量的计算错误会导致胰岛素响应(低血糖)。此外,使用药物还可能发生对药物的局部或全身过敏或免疫抗性。

[0007] 目前本领域还没有一种有效的、副作用小的治疗和预防肥胖及其相关疾病的方法和药物。

[0008] 因此本领域迫切需要开发一种的新的,无毒副作用的,用于治疗 and 预防肥胖及其相关疾病的药物。

发明内容

[0009] 本发明的一个目的是提供肠道益生菌在治疗和预防肥胖及其相关疾病方面的用途。

[0010] 本发明的另一目的是提供一种有效的无毒副作用的,用于治疗 and 预防肥胖及其相关疾病的药品、饮料、食品组合物,或动物饲料组合物。

[0011] 本发明的另一目的是提供一种降低体重和/或血糖的方法及其应用。

[0012] 本发明第一方面提供了一种肠道益生菌的用途,用于制备组合物或制剂,所述组合物或制剂用于选自下组的一种或多种用途:(a)预防和/或治疗肥胖;(b)降低血脂;(c)预防或治疗心血管疾病;和/或(d)预防和/或治疗糖尿病,其中,所述肠道益生菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。

[0013] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)。

[0014] 在另一优选例中,所述产甲酸草酸杆菌选自下组:*Oxalobacter formigenes* OXCC13、*Oxalobacter formigenes* DSM 4420、*Oxalobacter formigenes* ATCC 35274、或其组合。

[0015] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)。

[0016] 在另一优选例中,所述人罗斯拜瑞杆菌选自下组:*Roseburia hominis* A2-183、*Roseburia hominis* A2-181、或其组合。

[0017] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)。

[0018] 在另一优选例中,所述普氏栖粪杆菌包括*Faecalibacterium prausnitzii* L2-6。

[0019] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)。

[0020] 在另一优选例中,所述副流感嗜血杆菌包括*Haemophilus parainfluenzae* T3T1。

[0021] 在另一优选例中,所述的肠道益生菌包括选自表3中的一种或多种。

[0022] 在另一优选例中,所述的肠道益生菌选自表3,且来自相同或不同的属。

[0023] 在另一优选例中,所述组合物选自下组:食品组合物、保健组合物、药物组合物、饮料组合物、饲料组合物、或其组合。

[0024] 在另一优选例中,所述的组合物为口服制剂。

- [0025] 在另一优选例中,所述的组合物为液态制剂、固态制剂、半固态制剂。
- [0026] 在另一优选例中,所述的组合物的剂型选自下组:粉末剂、散剂、片剂、糖衣剂、胶囊剂、颗粒剂、悬浮剂、溶液剂、糖浆剂、滴剂、和舌下含片。
- [0027] 在另一优选例中,所述的食物组合物包括乳液制品、溶液制品、粉末制品、或悬浮液制品。
- [0028] 在另一优选例中,所述的食物组合物包括乳品、乳粉、或乳液。
- [0029] 在另一优选例中,所述的液态制剂选自下组:溶液制品或悬浮液制品。
- [0030] 本发明第二方面提供了一种肠道益生菌的用途,用于制备组合物或制剂,所述组合物或制剂用于选自下组的一种或多种用途:(i)降低哺乳动物中单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的水平;和/或(ii)改善瘦素抵抗,提高体内对Leptin的敏感性,其中,所述肠道益生菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。
- [0031] 在另一优选例中,所述组合物或制剂还独立地或额外地用于选自下组的一种或多种用途:
- [0032] (iii)抑制哺乳动物的体重增长;
- [0033] (iv)降低哺乳动物的体脂比(脂肪重量/体重之比);
- [0034] (v)降低哺乳动物的血脂水平;
- [0035] (vi)提高哺乳动物中的高密度脂蛋白(HDLC)的水平;
- [0036] (vii)降低哺乳动物中的低密度脂蛋白(LDLC)水平。
- [0037] 在另一优选例中,所述哺乳动物包括人、啮齿动物(如大鼠、小鼠)。
- [0038] 在另一优选例中,所述降低哺乳动物的血脂水平包括降低总胆固醇(TC)水平和/或甘油三酯水平。
- [0039] 本发明第三方面提供了一种用于治疗 and/或预防肥胖的组合物,所述组合物包括:(i)安全有效量的肠道益生菌;和(ii)食品上或药学上可接受的载体;其中,所述肠道益生菌选自下组:产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、或其组合。
- [0040] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)。
- [0041] 在另一优选例中,所述产甲酸草酸杆菌选自下组:*Oxalobacter formigenes* OXCC13、*Oxalobacter formigenes* DSM 4420、*Oxalobacter formigenes* ATCC35274、或其组合。
- [0042] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)。
- [0043] 在另一优选例中,所述人罗斯拜瑞杆菌选自下组:*Roseburia hominis* A2-183、*Roseburia hominis* A2-181、或其组合。
- [0044] 在另一优选例中,所述肠道益生菌包括普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)。
- [0045] 在另一优选例中,所述普氏栖粪杆菌包括*Faecalibacterium prausnitzii* L2-6。

[0046] 在另一优选例中,所述肠道益生杆菌包括副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)。

[0047] 在另一优选例中,所述副流感嗜血杆菌包括*Haemophilus parainfluenzae* T3T1。

[0048] 在另一优选例中,所述组合物选自下组:食品组合物、保健组合物、药物组合物、饮料组合物、饲料组合物、或其组合。

[0049] 在另一优选例中,所述组合物含有 $1 \times 10^{-1} \times 10^{20}$ cfu/mL或cfu/g的肠道益生杆菌,较佳地 $1 \times 10^4 - 1 \times 10^{15}$ cfu/mL或cfu/g的肠道益生杆菌,按所述组合物的总体积或总重量计。

[0050] 在另一优选例中,所述的组合物中,含有0.0001-99wt%,较佳地0.1-90wt%所述的肠道益生杆菌,以所述组合物的总重量计。

[0051] 在另一优选例中,所述的组合物为单元剂型(一片、一粒胶囊或一小瓶),每个单元剂型中所述组合物的质量为0.05-5g,较佳地为0.1-1g。

[0052] 另一优选例中,所述的组合物还含有其它肠道益生杆菌和/或益生元。

[0053] 在另一优选例中,所述的其他肠道益生杆菌选自下组:乳酸菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、或其组合。

[0054] 在另一优选例中,所述的益生元选自下组:低聚果糖(FOS)、低聚半乳糖(GOS)、低聚木糖(XOS)、低聚乳果糖(LACT)、大豆低聚糖(SOS)、菊粉(Inulin)、或其组合。

[0055] 本发明第四方面提供了一种本发明第三方面所述组合物的制法,包括步骤:

[0056] 将(i)肠道益生杆菌、与(ii)食品上可接受的载体或药学上可接受的载体混合,从而形成本发明第三方面所述的组合物。

[0057] 在另一优选例中,所述的组合物为口服制剂。

[0058] 本发明第五方面提供了一种降低体重和/或血脂的方法,给所述对象施用(i)肠道益生杆菌或本发明第三方面所述的组合物。

[0059] 在另一优选例中,所述的施用包括口服。

[0060] 在另一优选例中,所述的施用剂量为0.01-5g/50kg体重/天,较佳地,0.1-2g/50kg体重/天。

[0061] 在另一优选例中,所述的对象包括哺乳动物,如人。

[0062] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

[0063] 图1显示了灌胃产甲酸草酸杆菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况。

[0064] 图2显示了灌胃人罗斯拜瑞杆菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况。

[0065] 图3显示了灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况。

[0066] 图4显示了灌胃组合菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况。

[0067] 图5显示了灌胃产甲酸草酸杆菌9周后各组小鼠的体脂比。

[0068] 图6显示了灌胃人罗斯拜瑞杆菌9周后各组小鼠的体脂比。

- [0069] 图7显示了灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合9周后各组小鼠的体脂比。
- [0070] 图8显示了灌胃组合菌9周后各组小鼠的体脂比。
- [0071] 图9显示了灌胃产甲酸草酸杆菌对血脂的影响。
- [0072] 图10显示了灌胃人罗斯拜瑞杆菌对血脂的影响。
- [0073] 图11显示了灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合对血脂的影响。
- [0074] 图12显示了灌胃组合菌对血脂的影响。
- [0075] 图13显示了灌胃产甲酸草酸杆菌对单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的影响。
- [0076] 图14显示了灌胃人罗斯拜瑞杆菌对单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的影响。
- [0077] 图15显示了灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合对单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的影响。
- [0078] 图16显示了灌胃组合菌对单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的影响。
- [0079] 图17显示了灌胃产甲酸草酸杆菌对瘦素(Leptin,LEP)的影响。
- [0080] 图18显示了灌胃人罗斯拜瑞杆菌对瘦素(Leptin,LEP)的影响。
- [0081] 图19显示了灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合对瘦素(Leptin,LEP)的影响。
- [0082] 图20显示了灌胃组合菌对瘦素(Leptin,LEP)的影响。

具体实施方式

- [0083] 本发明人经过广泛而深入的研究和实验,意外地发现,产甲酸草酸杆菌(*Oxalobacter formigenes*)、人罗斯拜瑞杆菌(*Roseburia hominis*)、普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、和/或副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)具有预防和治疗肥胖及其相关疾病(如心血管疾病)的作用,将含有上述肠道益生杆菌的活性组合物饲喂食实验对象,发现该组合物能够抑制体重增加,降低体脂比,降低血脂,有效减轻心血管及肥胖等病症。在此基础上完成本发明。
- [0084] 如本文所用,术语“含有”表示各种成分可一起应用于本发明的混合物或组合物中。因此,术语“主要由...组成”和“由...组成”包含在术语“含有”中。
- [0085] 如本文所用,所述“体脂比”是指脂肪重量/体重的比值。
- [0086] 本发明的肠道益生杆菌及其应用
- [0087] 如本文所用,所述“本发明的肠道益生杆菌”指产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌四种菌属的一个或多个菌属的混合或每个菌属中多个菌的一个或多个混合。
- [0088] 其中,产甲酸草酸杆菌是一种厌氧菌,革兰氏染色呈阴性,在肠道中可代谢草酸盐。
- [0089] 人罗斯拜瑞杆菌首先从人类粪便中分离出来,厌氧,革兰氏染色呈阴性或可变,杆状略弯曲,能够运动。细胞大小从0.5-1.5 μm 到5.0 μm 不等。
- [0090] 普氏栖粪杆菌是一种严格厌氧菌,革兰氏染色呈阳性,不能运动,不产生芽孢。杆状,具有圆形末端。
- [0091] 副流感嗜血杆菌是一种革兰氏阴性杆菌,不能运动,不产生芽孢,呈球杆状、丝状

等多种形态。该细菌为微需氧菌,最适生长温度为35~37℃。

[0092] 本发明提供了肠道益生杆菌在治疗和预防肥胖及其相关疾病(如心血管疾病)方面的应用。受验者摄入高脂肪的食物,肠道益生杆菌具有(i)抑制该受验者体重增加;(ii)降低血脂;和(iii)降低体脂比的能力。根据本发明的一个优选例,经本发明的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)来治疗的被喂以可导致肥胖的高脂肪的食物的C57BL/6J雄性小鼠,与未接受治疗的对照组相比,其体重增加幅度减缓且血脂下降,并且各种与肥胖或心血管疾病相关的指标也下降,如瘦素(LEP)以及单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)。因此,本发明的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够用以预防和治疗肥胖及由肥胖引起的疾病,如心血管疾病等。

[0093] 组合物及其应用

[0094] 本发明还提供了一种组合物,优选地,为药物组合物。所述组合物包括有效量的本发明的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合),在一个优选例中,所述组合物还包括选自下组的肠道益生杆菌:乳酸菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、或其组合;和/或选自下组的益生元:低聚果糖(FOS)、低聚半乳糖(GOS)、低聚木糖(XOS)、低聚乳果糖(LACT)、大豆低聚糖(SOS)、菊粉(Inulin)、或其组合。

[0095] 在一优选例中,所述的组合物为液态制剂、固态制剂、半固态制剂。

[0096] 在一优选例中,所述的液态制剂选自下组:溶液制品或悬浮液制品。

[0097] 在一优选例中,所述的组合物的剂型选自下组:粉末剂、散剂、片剂、糖衣剂、胶囊剂、颗粒剂、悬浮剂、溶液剂、糖浆剂、滴剂、和舌下含片。

[0098] 本发明药物组合物可以以药物片剂,针剂或胶囊的任一种形式给药,所述药物制剂包括赋形剂、药物允许的媒介和载体,这些物质可根据给药途径进行选择。本发明中药物制剂可进一步包含辅助的活性组份。

[0099] 乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、细结晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟苯甲酸甲酯、羟苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁或矿物油等都可用作本发明中药物组合物的载体、赋形剂或稀释剂等。

[0100] 此外,本发明的药物组合物可进一步包括润滑剂、润湿剂、乳化剂、悬浮液稳定剂、防腐剂、甜味剂和香料等。本发明的药物组合物可通过多种公知的方法以肠衣制剂生产,以便于药物组合物的活性成分即微生物能顺利通过胃而不被胃酸所破坏。

[0101] 另外,本发明的微生物可以常规方法制备的胶囊形式使用。例如,标准赋形剂和本发明的冷干微生物混合制成小球药丸,然后将药丸装填入明胶胶囊中。此外,本发明的微生物和药物允许使用的赋形剂如液体胶、纤维素、硅酸盐或矿物油等混合制作悬浮液或分散液,这种悬浮液或分散液可装入软的明胶胶囊中。

[0102] 本发明的药物组合物可制成肠衣片供口服使用。本申请中的术语“肠衣”,包括所有常规药物允许使用的包衣,这些包衣不被胃酸降解,但在小肠中能充分分解并快速释放出本发明的微生物。本发明的肠衣能在合成胃酸如pH=1的HCl溶液中在36-38℃维持2小时以上,并优选在合成肠液如pH=7.0的缓冲液中在1.0小时内分解。

[0103] 本发明的肠衣为以每片约16-30mg进行包衣,较佳地16-25mg,更佳地16-20mg进行

包衣。本发明中肠衣厚度为5-100 μm ，理想的厚度为20-80 μm 。肠衣成分选自自己公开知晓的常规聚合物。

[0104] 本发明优选的肠衣由纤维素乙酸邻苯二甲酸酯聚合物或偏苯三酸酯聚合物以及异丁烯酸的共聚物(例如,含有40%以上异丁烯酸和含有甲基纤维素邻苯二甲酸羟丙酯或其酯类衍生物的异丁烯酸的共聚物)制备。

[0105] 本发明中肠衣所使用的纤维素乙酸邻苯二甲酸酯的粘度为约45-90cp,乙酰含量17-26%,邻苯二甲酸含量30-40%。用于肠衣中的纤维素乙酸偏苯三酸酯粘度为约5-21cp,乙酰含量17-26%。纤维素乙酸偏苯三酸酯由Eastman科达公司生产,可用于本发明中的肠衣材料。

[0106] 用于本发明肠衣中的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯,分子量一般为20,000-130,000道尔顿,理想分子量为80,000-100,000道尔顿,羟丙基含量为5-10%,甲氧基含量为18-24%,邻苯二甲酰基含量为21-35%。

[0107] 用于本发明肠衣中的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯为HP50,由日本Shin-Etsu Chemidnl Co.Ltd.生产。HP50含有6-10%羟丙基,20-24%甲氧基,21-27%的丙基,其分子量为84,000道尔顿。另一种肠衣物质为HP55,HP55含有5-9%的羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯,18-22%甲氧基,27-35%的邻苯二甲酸,其分子量为78,000道尔顿。

[0108] 本发明肠衣如下制备:使用常规方法将肠衣溶液喷雾到核心上。该肠包衣方法中所有溶剂为醇类(如乙醇)、酮类(如丙酮)、卤代烃化合物(如二氯甲烷)、或其组合物。将软化剂如二-正丁基邻苯二甲酸酯和三乙酸甘油酯加入到肠衣溶液中,其比例为1份包衣物对约0.05份或约0.3份软化剂。喷雾方法优选连续执行,所喷雾的料量可根据包衣所采用的条件进行控制。喷雾压力可随意调节,一般而言,能在平均1-1.5帕压力下获得理想的结果。

[0109] 说明书中“药物有效量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人和/或动物所接受的量。比如,在本发明中,可制备含有 1×10^1 - 1×10^{20} cfu/ml或cfu/g(特别的,可含有 1×10^4 - 1×10^{15} cfu/ml或cfu/g;更特别地,可含有 1×10^6 - 1×10^{11} cfu/ml或cfu/g)的本发明的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的制剂。

[0110] 当用于制备药物组合物时,所用的本发明的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的有效剂量可随施用的模式和待治疗的疾病的严重程度而变化。适用于内服的剂量形式,包含与固态或液态药学上可接受的载体密切混合的约 1×10^1 - 1×10^{20} cfu/ml或cfu/g(特别的,可含有 1×10^4 - 1×10^{15} cfu/ml或cfu/g;更特别地,可含有 1×10^6 - 1×10^{11} cfu/ml或cfu/g)的活性肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的活性成分。可调节此剂量方案以提供最佳治疗应答。例如,由治疗状况的迫切要求,可每天给予若干次分开的剂量,或将剂量按比例地减少。

[0111] 所述的肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)可通过口服等途径给予。固态载体包括:淀粉、乳糖、磷酸二钙、微晶纤维素、蔗糖和白陶土,而液态载体包括:培养基、聚乙二醇、非离子型表面活性剂和食用油(如玉米油、花生油和芝麻油),只要适合肠道益生杆菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)特性和所需的特定给药方式。在制备药物组

合物中通常使用的佐剂也可有利地被包括,例如调味剂、色素、防腐剂和抗氧化剂如维生素E、维生素C、BHT和BHA。

[0112] 从易于制备和给药的立场看,优选的药物组合物是固态组合物,尤其是片剂和固体填充或液体填充的胶囊。口服给药是优选的。

[0113] 将本发明组合物施用给所述个体,每天给药1次或多次。给药剂量单位表示其形式上能分开且适用于人类或其他所有哺乳动物个体的剂量。每一单位含有药物允许的载体和有效治疗量的本发明微生物。给药量随病人的体重和肥胖严重程度、所包括的补充活性组份和所使用的微生物而变化。此外如可能,可分开给药,并且如需要可连续给药。因此,所述给药量不会对本发明造成限制。此外,本发明中的“组合物”不仅意味着药品而且表示可作为功能性食品和健康补充食品。在一个优选例中,所述组合物包括:饮料、食品、药品、动物饲料等。

[0114] 在本发明的一个优选例中,还提供了一种食品组合物,它含有有效量的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合),以及余量的食品上可接受的载体,所述的食物组合物的剂型选自固体、乳品、溶液制品、粉末制品、或悬浮液制品。

[0115] 在一优选例中,所述组合物的配方如下:

[0116] $1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{20}$ cfu/mL的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合);以及食品上或药学上可接受的载体,和/或赋形剂。

[0117] 在另一优选例中,所述组合物的配方如下:

[0118] $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{11}$ cfu/mL的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合);以及食品上或药学上可接受的载体,和/或赋形剂。

[0119] 降低体重和/或血脂的方法

[0120] 在另一优选例中,所述方法包括:摄取本发明的药物组合物、食品组合物、饮料组合物、或其组合。所述实验对象为人。

[0121] 在另一优选例中,所述方法包括:摄取本发明的药物组合物、食品组合物、或动物饲料,或其组合。所述实验对象为动物,较佳地为鼠类,兔类。

[0122] 本发明的主要优点包括:

[0123] (a)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够显著降低体重、降低血脂、降低体脂比。

[0124] (b)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够显著降低与肥胖及其相关疾病(如心血管疾病)相关的指标(如胆固醇和甘油三酯)。

[0125] (c)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够显著降低总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白的水平。

[0126] (d)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够显著提高高密度脂蛋白的水平。

[0127] (e)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够改善胰岛素抵抗,还可降低动脉粥样硬化和心血管疾病发

生的风险。

[0128] (f)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够显著降低单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)水平。

[0129] (g)本发明的肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)能够有效地改善肥胖症伴随的瘦素抵抗,提高体内对Leptin的敏感性。

[0130] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件如Sambrook等人,分子克隆:实验室手册(New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989)中所述的条件,或按照《微生物:实验手册》(James Cappuccino和Natalie Sherman编,Pearson Education出版社)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。

[0131] 实施例1 含肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的食品组合物

[0132] 原料配比如表1。

[0133] 表1 食品组合物配方

[0134]

原料	质量百分比(%)
菌组分	0.5
牛奶	90.0
白糖	9.5

[0135] 配方1-7中的菌组分为单细菌组分,分别含有Oxalobacter formigenes OXCC13、Oxalobacter formigenes DSM 4420、Oxalobacter formigenes ATCC 35274、Roseburia hominis A2-183、Roseburia hominis A2-181、Faecalibacterium prausnitzii L2-6、Haemophilus parainfluenzae T3T1。

[0136] 配方8中的菌组分为上述7种菌的任意两种或两种以上(优选2种、3种或4种)的混合物(重量比为1:1或1:1:1或1:1:1:1)。

[0137] 按照上述配方比例混合牛奶、白糖,搅拌至完全混合,预热,20Mpa压力均质,90℃左右杀菌5-10分钟,冷却至40-43℃,接种 $1-100 \times 10^6$ cfu/g的菌组分,即制成含菌组分(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的食品组合物。

[0138] 实施例2

[0139] 含肠道益生菌(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的药物组合物

[0140] 原料配比见表2。

[0141] 表2 药物组合物配方

[0142]

原料	质量百分比(%)
菌组分	1.0%
乳糖	2.0%

酵母粉	2.0%
蛋白胨	1.0%
纯净水	94.0%

[0143] 配方1-7中的菌组分为单细菌组分,分别含有Oxalobacter formigenes OXCC13、Oxalobacter formigenes DSM 4420、Oxalobacter formigenes ATCC 35274、Roseburia hominis A2-183、Roseburia hominis A2-181、Faecalibacterium prausnitzii L2-6、Haemophilus parainfluenzae T3T1。

[0144] 配方8中的菌组分为上述7种菌的任意两种或两种以上(优选2种或3种)的混合物(重量比为1:1或1:1:1)。

[0145] 按照比例将乳糖、酵母粉、蛋白胨以纯净水混合均匀,预热到60-65℃,20Mpa压力均质,90℃左右杀菌20-30分钟,冷却至36-38℃,接入菌组分($1-50 \times 10^6$ cfu/mL),36-38℃发酵至pH值为6.0,离心,冷冻干燥至水份含量小于3%,即制备含有菌组分的冷冻干燥物。称取0.5克含菌组分的冷冻干燥物与麦芽糊精等量混合后装入胶囊中,即制成含菌组分(如产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合)的药物组合物。

[0146] 实施例3 对于肥胖模型小鼠的治疗作用

[0147] 实验材料:

[0148] 小鼠:购买C57BL/6J雄性小鼠(购自广东省医学实验动物中心),为正常饲养小鼠,6周龄。小鼠生长过程处于同一环境,且喂养同样的食物。

[0149] 发明人从保藏机构获得7株肠道益生杆菌,并保存于深圳华大基因研究院。同时,选取植物乳杆菌(Lactobacillus plantarum),来自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏编号CGMCC No.8198,作为对照组(LP组),于MRS培养液中,37℃培养24-48h。

[0150] 其中,上述7株肠道益生杆菌的来源信息如表3所示。所有菌株经16S rDNA测序鉴定无误后开始实验。

[0151] 菌株信息见表3。

[0152] 表3 菌株信息

[0153]

编号	菌株种名	菌株	保藏机构	保藏编号
菌 1	产甲酸草酸杆菌	<i>Oxalobacter formigenes</i> OXCC13	美国阿拉巴马大学伯明翰分校	--
菌 2		<i>Oxalobacter formigenes</i> DSM 4420	DSMZ	DSM 4420
菌 3		<i>Oxalobacter formigenes</i> ATCC 35274	ATCC	ATCC 35274
菌 4	人罗斯拜瑞杆菌	<i>Roseburia hominis</i> A2-183	DSMZ	DSM 16839
菌 5		<i>Roseburia hominis</i> A2-181	英国罗威特研究所	--
菌 6	普氏栖粪杆菌	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> L2-6	英国罗威特研究所	--
菌 7	副流感嗜血杆菌	<i>Haemophilus parainfluenzae</i> T3T1	桑格中心	--

[0154] 其中,*Oxalobacter formigenes* OXCC13(菌1)来源于美国阿拉巴马大学伯明翰分校(Ellis,M.L.,Shaw,K.J.,Jackson,S.B.,Daniel,S.L.,&Knight,J.(2015).Analysis of Commercial Kidney Stone Probiotic Supplements.Urology,85(3):517-521.);*Roseburia hominis* A2-181(菌5)来源于英国罗威特研究所(Duncan SH,Aminov RI,Scott KP et al(2006).Proposal of *Roseburia faecis* sp.nov.,*Roseburia hominis* sp.nov.and *Roseburia inulinivorans* sp.nov.,based on isolates from human faeces.International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,56:2437-2441.);*Faecalibacterium prausnitzii* L2-6(菌6)普氏栖粪杆菌同样来源于英国罗威特研究所(Rowett Research Institute)(Duncan,S.H.,Hold,G.L.,Harmsen,H.J.M.,Stewart,C.S.,Flint,H.J.(2002).Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*,and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen.nov.,comb.nov.Int.J.Syst.Evol.Microbiol.52:2141-2146.);*Haemophilus parainfluenzae* T3T1(菌7)来源于桑格中心(Sanger Centre)(Juhas,M.,Power,P.M.,Harding,R.M.,Ferguson,D.J.,Dimopoulou,I.D.,Elamin,A.R.,...&Smith,A.(2007),Sequence and functional analyses of *Haemophilus* spp.genomic islands.Genome Biol,8(11):R237.)。

[0155] 高脂饲料(HF):含78.8%基础饲料、1%胆固醇、10%蛋黄粉、10%猪油和0.2%胆盐,购自南通特洛菲饲料科技有限公司。

[0156] 普通维持饲料:购自广东省医学实验动物中心。

[0157] 实验方法:

[0158] 选取正常喂养的C57BL/6J成年雄性小鼠,随机分组,分别为对照组(CK),菌剂组(菌1组,菌2组,菌3组,菌4组,菌5组,菌4+5组,菌6组,菌7组,菌6+菌7组,菌1+菌4组,菌3+菌6组,菌2+菌5+菌7,菌3+菌6+菌7组,菌2+菌4+菌6+菌7组),对照菌剂组(LP,*Lactobacillus plantarum* CGMCC No.8198)和肥胖模型组(HF),每组10只,在SPF(Specific pathogen Free)环境下自由进食和饮水。LP组、HF组和菌剂组喂食高脂饲料,CK组喂食普通维持饲料。

喂养4周后,菌剂组和LP组开始灌胃相应菌株菌液;HF组和CK组灌胃等量培养基,灌胃9周。

[0159] 灌喂菌量定为0.15mL/10g体重,菌浓度为 1×10^7 cfu/mL,浓缩后浓度为 1×10^8 cfu/mL,频率为隔天一次。菌液需提前培养,每周活化保证新鲜,分别测定浓度,并调整至 1×10^8 cfu/mL。对于单一菌剂组,取相应菌液按上述剂量灌胃;对于混合菌剂组,将各单菌菌液等比例混合后按上述剂量灌胃。

[0160] 实验期中,每周记录小鼠体重、状态、进食量等数据。实验最后一周各组小鼠进行葡萄糖耐量(OGTT)试验。实验结束后处死小鼠,记录脂肪重量,并取血清,用Elisa试剂盒检测血脂和蛋白因子含量。

[0161] 实验结果:

[0162] (1)产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌对鼠体重的影响。

[0163] 表4 灌胃产甲酸草酸杆菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况(见图1)

[0164]

分组	体重增量 (g)								
	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周	9周
CK	1.69±0.11 e	1.88±0.14 d	2.41±0.17 e	3.32±0.22 e	3.83±0.21 e	4.38±0.32 d	4.73±0.25 e	5.02±0.26 f	5.26±0.28 e
菌1	1.85±0.19 d	2.46±0.14 c	3.13±0.28 d	3.71±0.31 d	4.25±0.31 d	5.14±0.22 c	5.41±0.60 d	6.01±0.53 e	7.00±0.65 d
菌2	2.13±0.15 c	2.75±0.28 c	3.44±0.21 cd	4.34±0.40 c	4.81±0.26 c	5.59±0.43 c	6.20±0.49 c	7.30±0.51 c	7.47±0.50 c
菌3	1.90±0.19 d	2.46±0.16 c	3.58±0.30 c	3.93±0.25 cd	4.63±0.40 cd	5.35±0.53 c	5.51±0.29 d	6.63±0.63 d	7.49±0.80 c
LP	2.49±0.20 b	3.28±0.30 b	4.44±0.24 b	5.57±0.34 b	7.13±0.56 b	8.20±0.64 b	9.06±0.63 b	9.40±0.73 b	10.14±0.95 b
HF	2.82±0.26 a	4.54±0.22 a	5.97±0.53 a	7.57±0.64 a	8.72±0.73 a	10.79±0.93 a	11.68±0.98 a	12.82±0.87 a	13.82±1.38 a

[0165] 注:表中数据为平均值±标准差,对于每一列的任意两组数据,数字后面没有相同字母表示差异显著($p < 0.05$),表5-19与此相同。

[0166] 表5 灌胃人罗斯拜瑞杆菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况(见图2)

[0167]

分组	体重增量 (g)								
	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周	9周
CK	1.71±0.12 d	1.95±0.15 e	2.67±0.19 d	3.30±0.18 e	4.03±0.18 e	4.41±0.28 e	4.95±0.30 d	5.25±0.5 e	5.38±0.37 e
菌4	2.01±0.17 b	2.84±0.28 c	3.41±0.27 c	4.22±0.42 c	5.03±0.25 c	5.81±0.43 c	6.13±0.61 c	6.99±0.61 c	7.27±0.80 c
菌5	1.96±0.14 bc	2.68±0.23 cd	3.11±0.32 c	3.89±0.24 cd	4.79±0.47 c	4.86±0.33 d	5.64±0.33 c	6.81±0.61 c	6.72±0.38 cd
菌4+5	1.86±0.18 cd	2.37±0.18 d	3.13±0.22 c	3.76±0.33 d	4.24±0.24 d	4.54±0.32 e	5.55±0.54 c	5.84±0.0 d	6.31±0.56 d
LP	2.47±0.15 a	3.63±0.21 b	5.03±0.43 b	5.57±0.35 b	6.48±0.65 b	7.56±0.83 b	8.85±0.72 b	9.80±0.88 b	10.32±0.83 b
HF	2.64±0.21 a	4.55±0.37 a	5.87±0.55 a	7.61±0.60 a	8.55±0.92 a	10.59±0.72 a	11.11±0.97 a	13.04±0.79 a	13.42±0.78 a

[0168] 表6 灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况(见图3)

[0169]

分组	体重增量 (g)								
	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周	9周
CK	1.62±0.17 d	2.05±0.40 e	2.57±0.21 e	3.39±0.21 e	3.93±0.24 e	4.51±0.31 e	4.93±0.32 e	5.09±0.30 e	5.33±0.43 e
菌6	1.85±0.14 c	2.84±0.12 c	3.54±0.23 c	4.60±0.21 c	5.34±0.27 c	6.03±0.23 c	7.05±0.42 c	7.54±0.49 c	7.95±0.47 c
菌7	1.81±0.16 c	2.80±0.24 c	3.29±0.20 cd	4.42±0.32 c	5.10±0.33 c	5.80±0.34 c	6.52±0.27 c	7.30±0.59 c	7.54±0.64 c
菌6+7	1.65±0.16 d	2.45±0.26 d	2.85±0.11 de	3.83±0.22 d	4.35±0.29 d	5.22±0.26 d	5.91±0.33 d	6.65±0.79 d	6.97±0.29 d
LP	2.22±0.35 b	3.24±0.38 b	4.39±0.20 b	5.69±0.47 b	7.05±0.71 b	8.65±0.53 b	9.35±0.74 b	10.62±0.84 b	10.96±0.99 b
HF	2.76±0.29 a	3.86±0.20 a	5.42±0.45 a	7.01±0.73 a	8.52±0.42 a	11.02±0.84 a	12.01±1.04 a	12.65±0.87 a	13.57±0.77 a

[0170] 表7 灌胃组合菌后各组小鼠与灌胃前相比的体重增长情况(见图4)

[0171]

分组	体重增量 (g)								
	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周	9周
CK	1.66±0.16 c	2.08±0.14 e	2.62±0.24 e	3.63±0.21 e	4.27±0.27 e	4.43±0.33 e	4.93±0.29 f	5.03±0.29 f	5.29±0.40 f
菌1+4	1.84±0.14 c	2.80±0.18 c	3.47±0.27 c	4.60±0.22 c	5.37±0.34 c	5.58±0.33 cd	6.07±0.42 d	6.72±0.56 cd	7.23±0.45 cd
菌3+6	1.79±0.15 c	2.75±0.17 c	3.35±0.25 c	4.75±0.26 c	5.50±0.26 c	5.85±0.39 c	6.79±0.37 c	7.02±0.6 c	7.78±0.43 c
菌2+5+7	1.71±0.16 c	2.73±0.16 c	3.25±0.24 cd	4.53±0.34 c	4.81±0.32 d	5.19±0.38 d	5.52±0.23 e	6.21±0.58 d	6.80±0.67 d
菌3+6+7	1.74±0.15 c	2.69±0.16 c	3.15±0.24 d	3.85±0.15 d	4.40±0.30 de	4.96±0.32 d	5.31±0.30 e	5.86±0.44 e	6.13±0.27 e

[0172]

菌2+4+6+7	1.69±0.21 c	2.26±0.23 d	3.03±0.29 de	3.82±0.18 d	4.23±0.31 e	4.55±0.28 e	4.85±0.24 f	5.25±0.38 ef	5.63±0.51 ef
LP	2.57±0.25 b	3.88±0.35 b	4.60±0.33 b	6.32±0.44 b	8.04±0.74 b	8.52±0.59 b	9.48±0.79 b	10.09±0.56 b	10.86±0.79 b
HF	2.81±0.29 a	4.14±0.39 a	5.42±0.45 a	7.90±0.80 a	9.47±0.40 a	10.07±0.80 a	11.40±0.85 a	12.78±0.51 a	13.41±0.52 a

[0173] 结果如表4-7和图1-4所示。结果表明,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌可有效减缓肥胖模型小鼠的体重的增长($P<0.05$)。

[0174] (2)产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌对体脂比的影响。

[0175] 表8 灌胃产甲酸草酸杆菌9周后各组小鼠的体脂比(见图5)

[0176]

分组	脂肪重量/体重×100%
CK	2.89±0.12d
菌1	3.92±0.21c
菌2	4.05±0.23c
菌3	3.94±0.20c
LP	5.31±0.24b
HF	7.42±0.41a

[0177] 表9 灌胃人罗斯拜瑞杆菌9周后各组小鼠的体脂比(见图6)

[0178]

分组	脂肪重量/体重×100%
CK	2.87±0.12e
菌4	3.98±0.25c
菌5	3.87±0.18cd
菌4+5	3.73±0.19d
LP	5.29±0.16b
HF	7.54±0.46a

[0179] 表10 灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合9周后各组小鼠的体脂比(见图7)

[0180]

分组	脂肪重量/体重×100%
CK	2.87±0.16d
菌6	3.92±0.19c
菌7	3.82±0.19c
菌6+7	3.77±0.35c
LP	5.69±0.45b
HF	7.53±0.58a

[0181] 表11 灌胃组合菌9周后各组小鼠的体脂比(见图8)

[0182]

分组	脂肪重量/体重×100%
CK	2.83±0.15e
菌1+4	3.97±0.21c
菌3+6	3.94±0.24c
菌2+5+7	3.85±0.22c
菌3+6+7	3.28±0.17d
菌2+4+6+7	3.21±0.10d
LP	5.42±0.46b
HF	7.39±0.44a

[0183] 结果如表8-11和图5-8所示。结果表明,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌能显著降低肥胖模型小鼠的体脂比($P<0.05$)。

[0184] (3)产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌、或其组合菌对血脂的影响。

[0185] 表12 灌胃产甲酸草酸杆菌9周后各组小鼠血脂含量(见图9)

[0186]

分组	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDLC(mmol/L)	HDLc(mmol/L)
CK	3.865±0.178d	0.954±0.056d	1.239±0.039d	3.319±0.262a
菌1	4.850±0.192c	1.083±0.075bc	1.466±0.071c	3.257±0.169a
菌2	4.905±0.186c	1.025±0.060c	1.442±0.084c	3.273±0.147a
菌3	4.884±0.240c	1.095±0.062b	1.420±0.089c	3.323±0.159a
LP	5.315±0.286b	1.233±0.087a	1.803±0.135b	2.723±0.141b
HF	6.459±0.393a	1.285±0.092a	2.385±0.174a	2.048±0.110c

[0187] 表13 灌胃人罗斯拜瑞杆菌9周后各组小鼠血脂含量(见图10)

[0188]

分组	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDLC(mmol/L)	HDLc(mmol/L)
CK	3.877±0.166d	0.961±0.056d	1.288±0.055d	3.364±0.190a
菌4	4.730±0.151c	1.051±0.075c	1.454±0.060c	3.359±0.131a
菌5	4.625±0.196c	1.078±0.073c	1.451±0.081c	3.412±0.144a
菌4+5	4.553±0.181c	1.067±0.056c	1.432±0.064c	3.365±0.182a
LP	5.189±0.346b	1.148±0.083b	1.826±0.124b	2.706±0.143b
HF	6.297±0.309a	1.263±0.091a	2.438±0.161a	2.189±0.058c

[0189] 表14 灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合9周后各组小鼠血脂含量(见图11)

[0190]

分组	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDLC(mmol/L)	HDLc(mmol/L)
CK	3.859±0.192d	1.004±0.077c	1.251±0.066c	3.308±0.219a
菌6	4.615±0.129c	1.017±0.064c	1.310±0.061c	3.376±0.104a
菌7	4.601±0.185c	1.017±0.067c	1.303±0.103c	3.429±0.085a
菌6+7	4.518±0.170c	1.021±0.062c	1.374±0.094c	3.368±0.124a
LP	5.146±0.256b	1.225±0.080b	1.911±0.113b	2.833±0.162b
HF	6.290±0.334a	1.310±0.089a	2.472±0.154a	2.196±0.095c

[0191] 表15 灌胃组合菌9周后各组小鼠血脂含量(见图12)

[0192]

分组	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDLC(mmol/L)	HDLc(mmol/L)
CK	3.910±0.194g	0.923±0.046d	1.237±0.051c	3.229±0.238a
菌1+4	4.735±0.187cd	1.044±0.058c	1.247±0.059c	3.249±0.192a
菌3+6	4.834±0.176c	1.035±0.064c	1.230±0.090c	3.298±0.151a
菌2+5+7	4.722±0.185de	1.018±0.067c	1.206±0.063c	3.354±0.226a

菌3+6+7	4.513±0.195ef	1.037±0.058c	1.165±0.046c	3.431±0.141a
菌2+4+6+7	4.324±0.131f	0.987±0.030d	1.175±0.077c	3.452±0.131a
LP	5.249±0.313b	1.213±0.081b	1.722±0.105b	2.609±0.153b
HF	6.398±0.378a	1.307±0.089a	2.357±0.137a	2.133±0.112c

[0193] 结果如图9-12和表12-15所示。血脂中的主要成份是胆固醇和甘油三酯,血浆中胆固醇和甘油三酯水平的升高与动脉粥样硬化的发生有关。结果表明,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌可降低血脂,降低动脉粥样硬化相关疾病(如心血管疾病)的相关指标。并且,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌能显著降低总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白(LDLC)的含量,显著增加高密度脂蛋白(HDLC)的含量($P<0.05$)。

[0194] (4)产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌对瘦素(Leptin,LEP)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的影响。

[0195] 表16 灌胃产甲酸草酸杆菌9周后各组小鼠瘦素(Leptin,LEP)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)含量(见图13、见图17)

[0196]

分组	MCP-1(pg/ml)	LEP(pg/ml)
CK	333.13±37.24c	1183.00±92.43c
菌1	343.35±33.65c	1219.52±98.29c
菌2	329.80±46.40c	1204.80±128.01c
菌3	341.62±34.19c	1198.74±118.59c
LP	361.86±24.06b	1277.72±110.30b
HF	385.08±32.09a	1380.57±177.93a

[0197] 表17 灌胃人罗斯拜瑞杆菌9周后各组小鼠瘦素(Leptin,LEP)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)含量(见图14、见图18)

[0198]

分组	MCP-1(pg/ml)	LEP(pg/ml)
CK	328.29±28.71b	1159.90±94.14c
菌4	323.52±29.00b	1160.44±116.75c
菌5	320.63±41.82b	1178.92±112.36c
菌4+5	320.66±28.16b	1150.63±101.64c
LP	377.84±35.87a	1278.43±78.00b
HF	380.66±29.85a	1388.41±70.66a

[0199] 表18 灌胃普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合9周后各组小鼠瘦素(Leptin,LEP)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)含量(见图15、见图19)

[0200]

分组	MCP-1(pg/ml)	LEP(pg/ml)
CK	334.91±35.60c	1194.32±109.69c
菌6	337.22±25.76c	1189.56±107.81c
菌7	336.94±33.58c	1155.88±141.71c

菌6+7	337.77±34.50c	1160.91±117.87c
LP	375.21±28.55b	1263.23±122.81b
HF	386.05±49.66a	1389.64±141.06a

[0201] 表19 灌胃组合菌9周后各组小鼠瘦素(Leptin,LEP)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)含量(见图16、见图20)

[0202]

分组	MCP-1(pg/ml)	LEP(pg/ml)
CK	335.84±35.59c	1168.22±109.69c
菌1+4	339.07±29.37c	1152.92±106.28c
菌3+6	337.45±26.37c	1169.52±89.73c
菌2+5+7	335.12±33.82c	1154.95±128.05c
菌3+6+7	334.14±37.45c	1173.61±99.47c
菌2+4+6+7	328.24±23.21c	1165.84±82.03c
LP	360.01±17.55b	1256.33±127.22b
HF	386.57±21.82a	1406.97±157.33a

[0203] 结果如图13-20及表16-19所示。结果显示,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌能显著降低肥胖模型小鼠血清中的瘦素(LEP)和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的含量($P<0.05$)。

[0204] 结果表明,产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌能够显著改善瘦素抵抗,提高体内对瘦素(LEP)的敏感性;并且,经过产甲酸草酸杆菌、人罗斯拜瑞杆菌、普氏栖粪杆菌、副流感嗜血杆菌或其组合菌治疗后血清MCP-1水平显著降低,有利于改善胰岛素抵抗,可降低动脉粥样硬化和心血管疾病发生的风险。

[0205] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

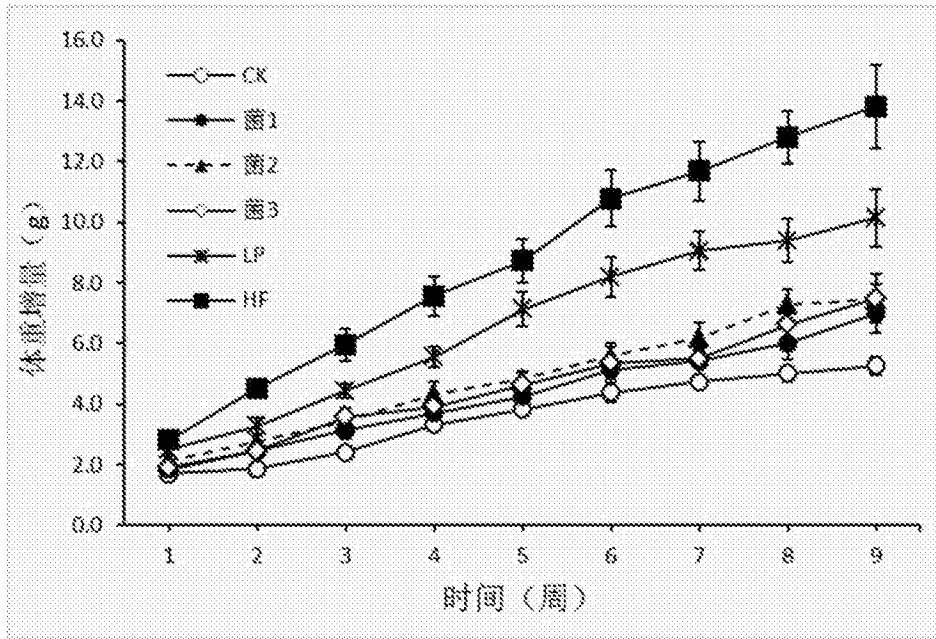


图1

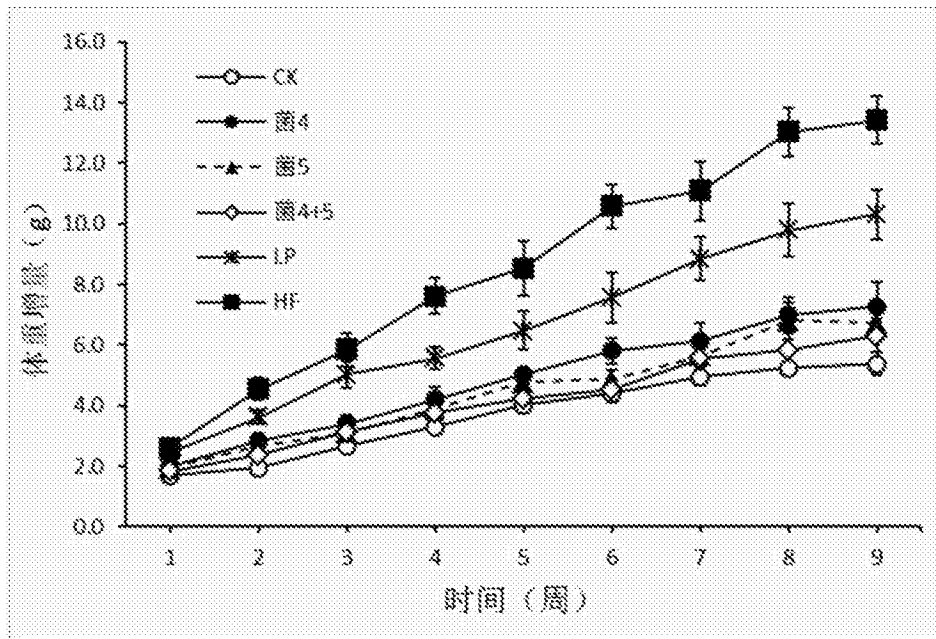


图2

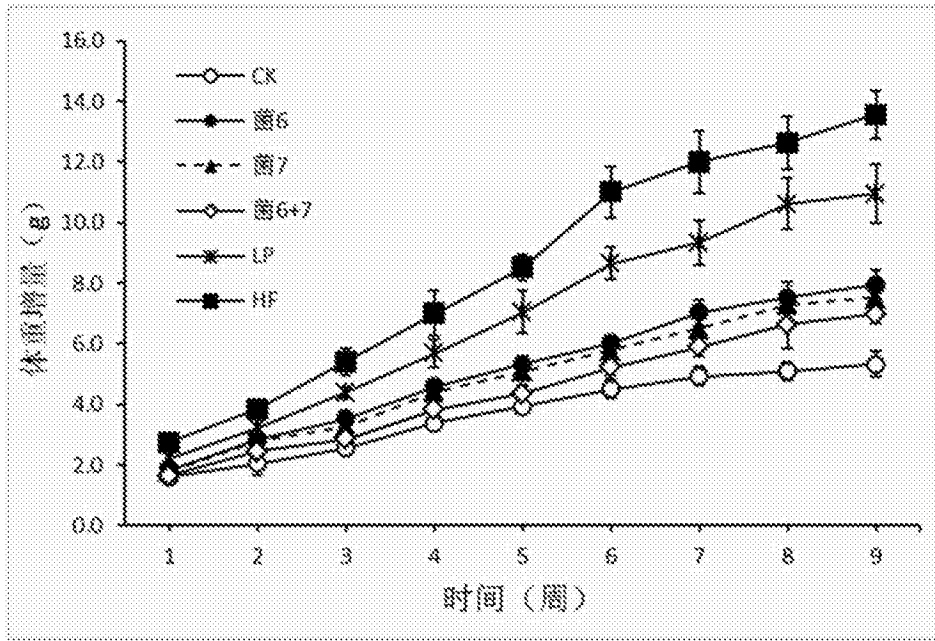


图3

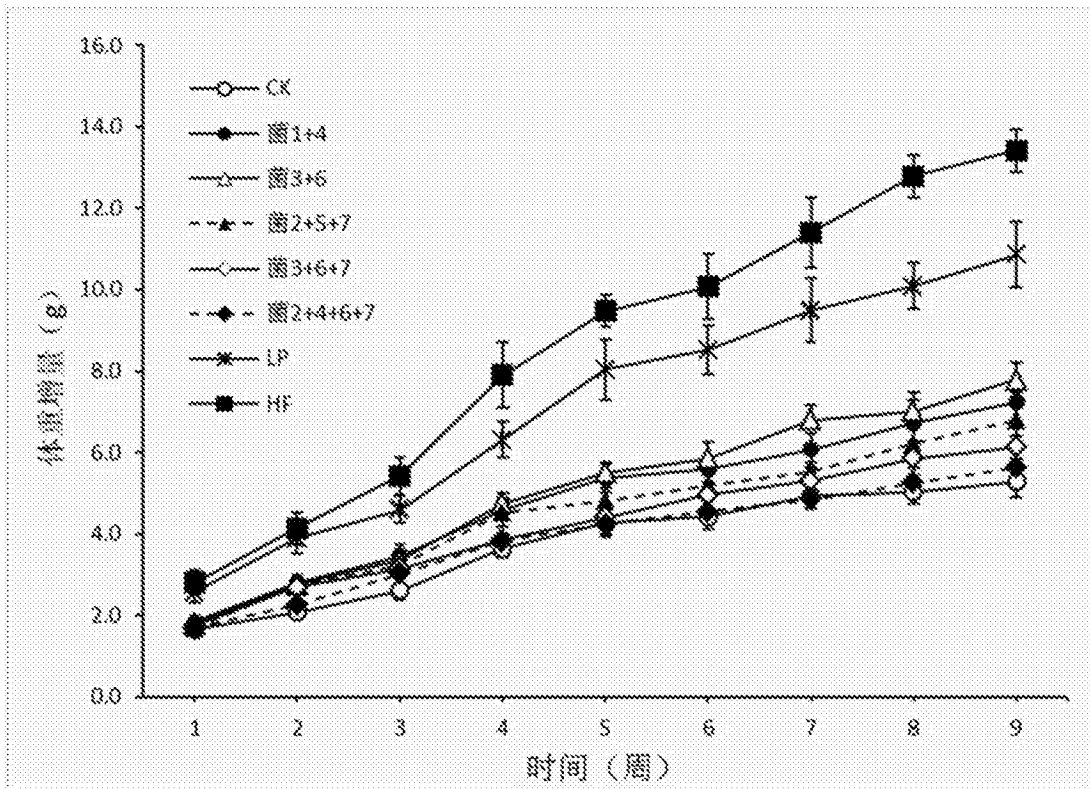


图4

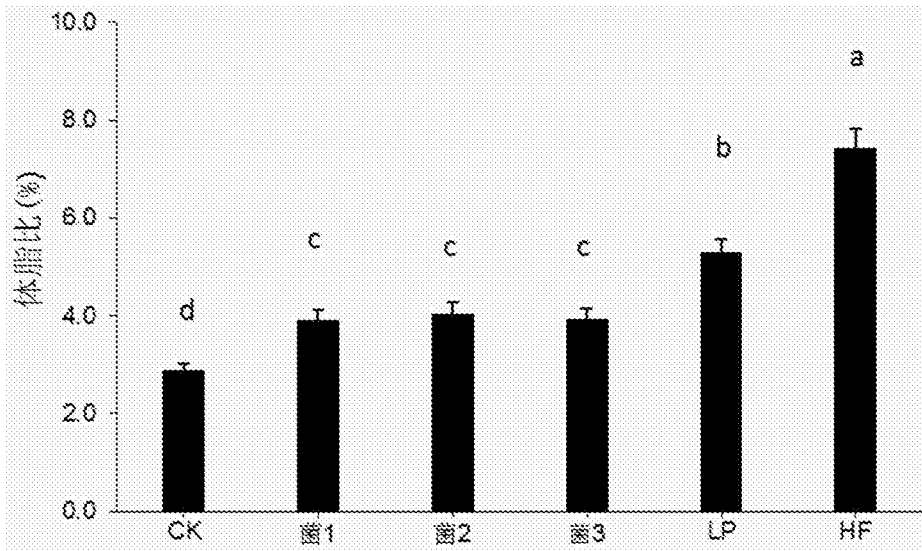


图5

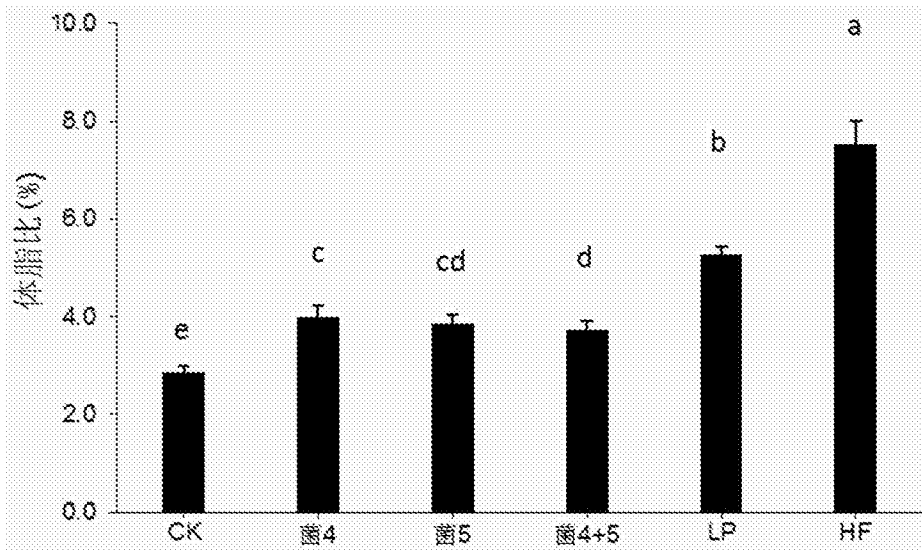


图6

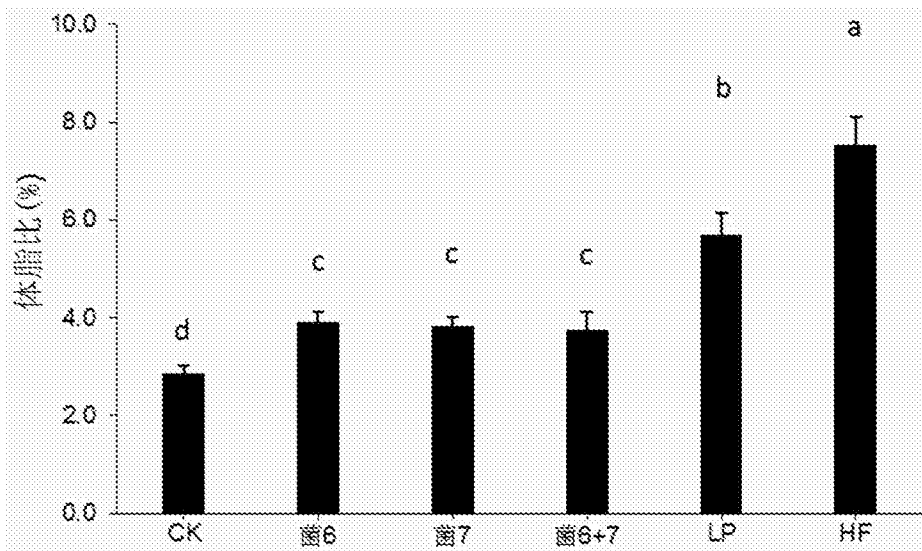


图7

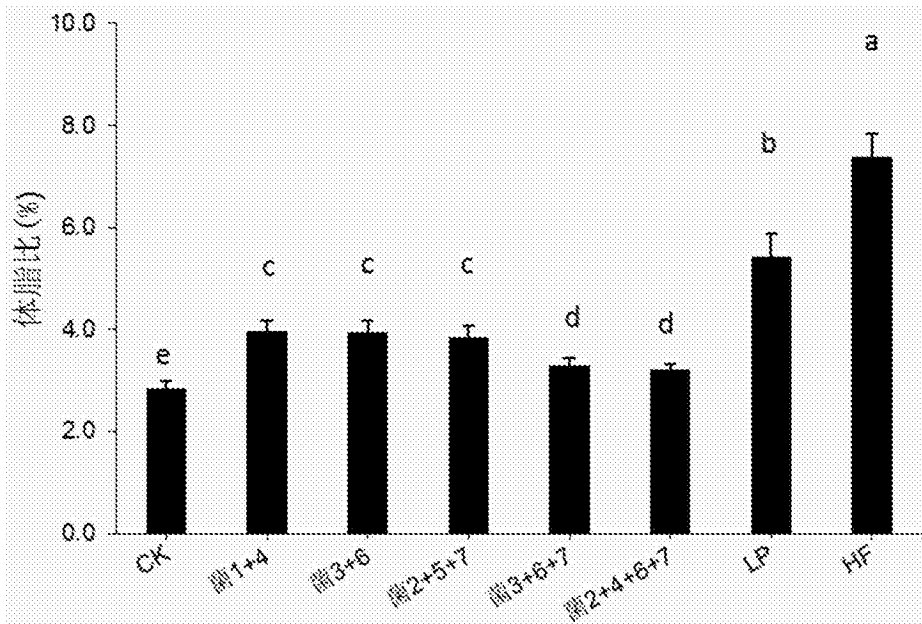


图8

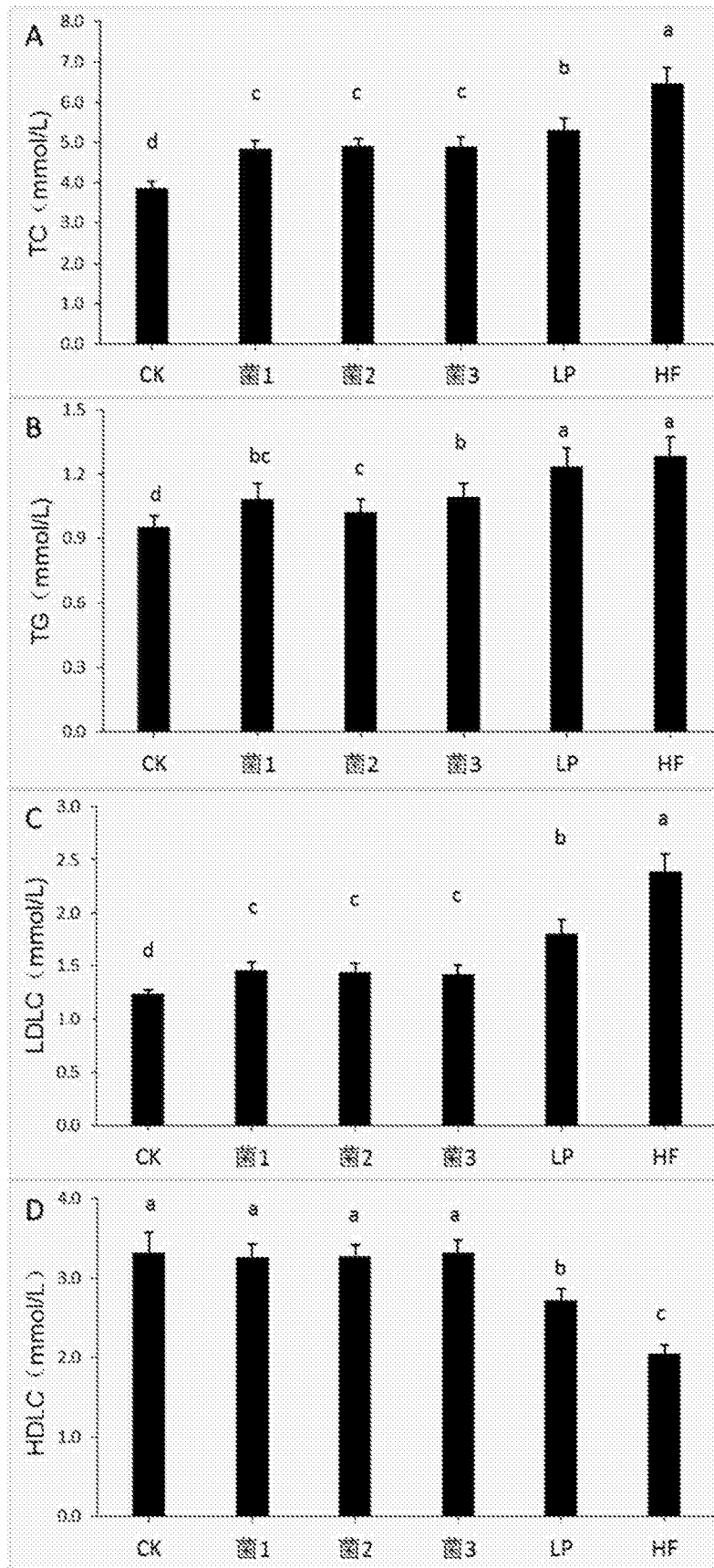


图9

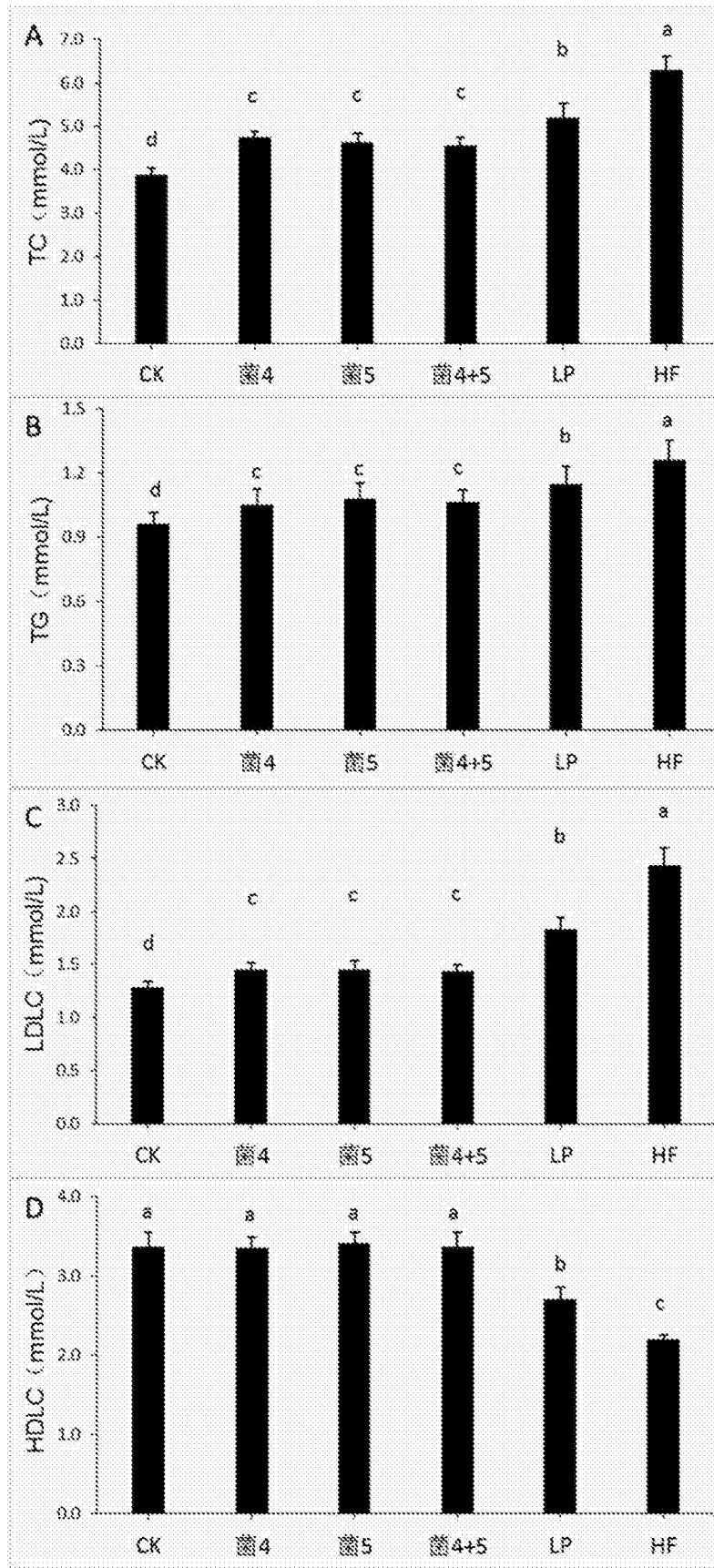


图10

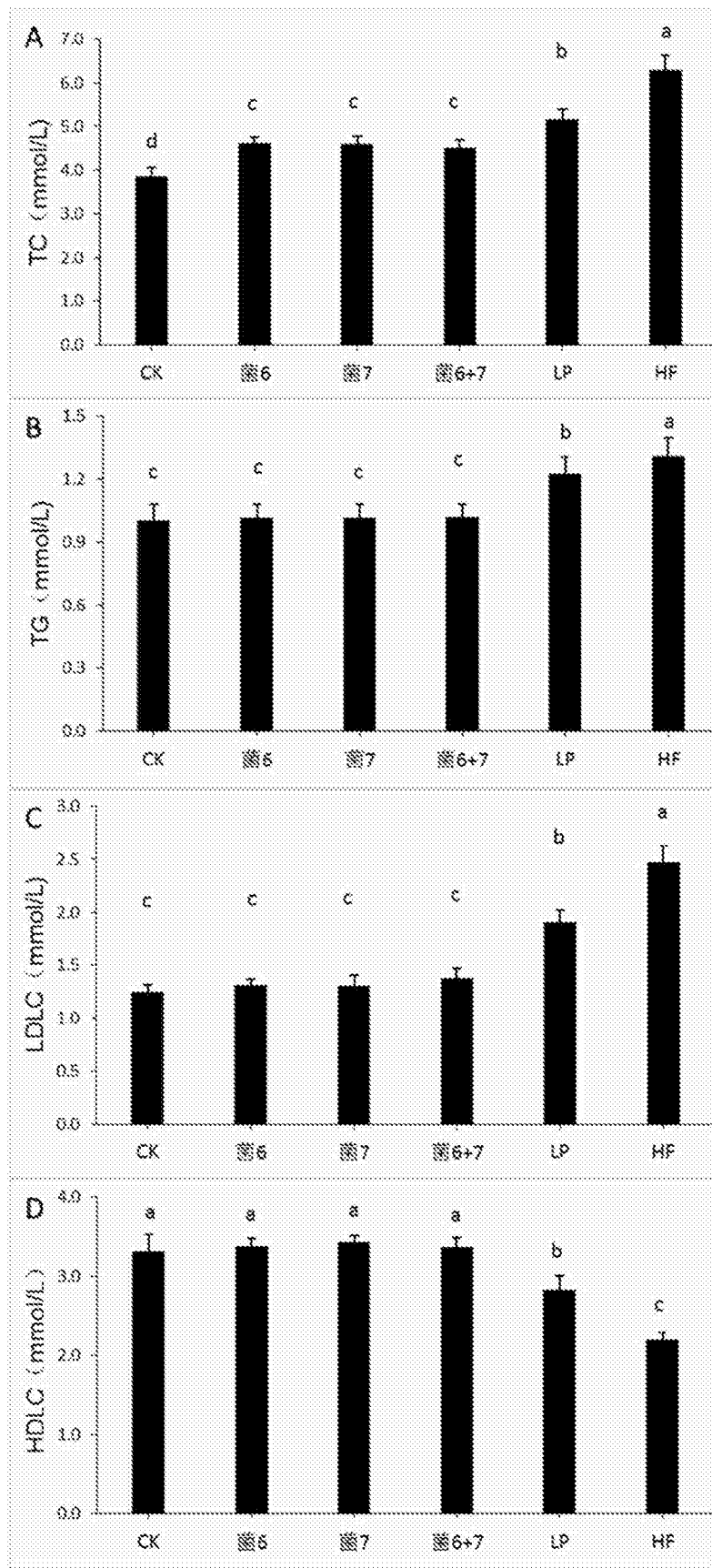


图11

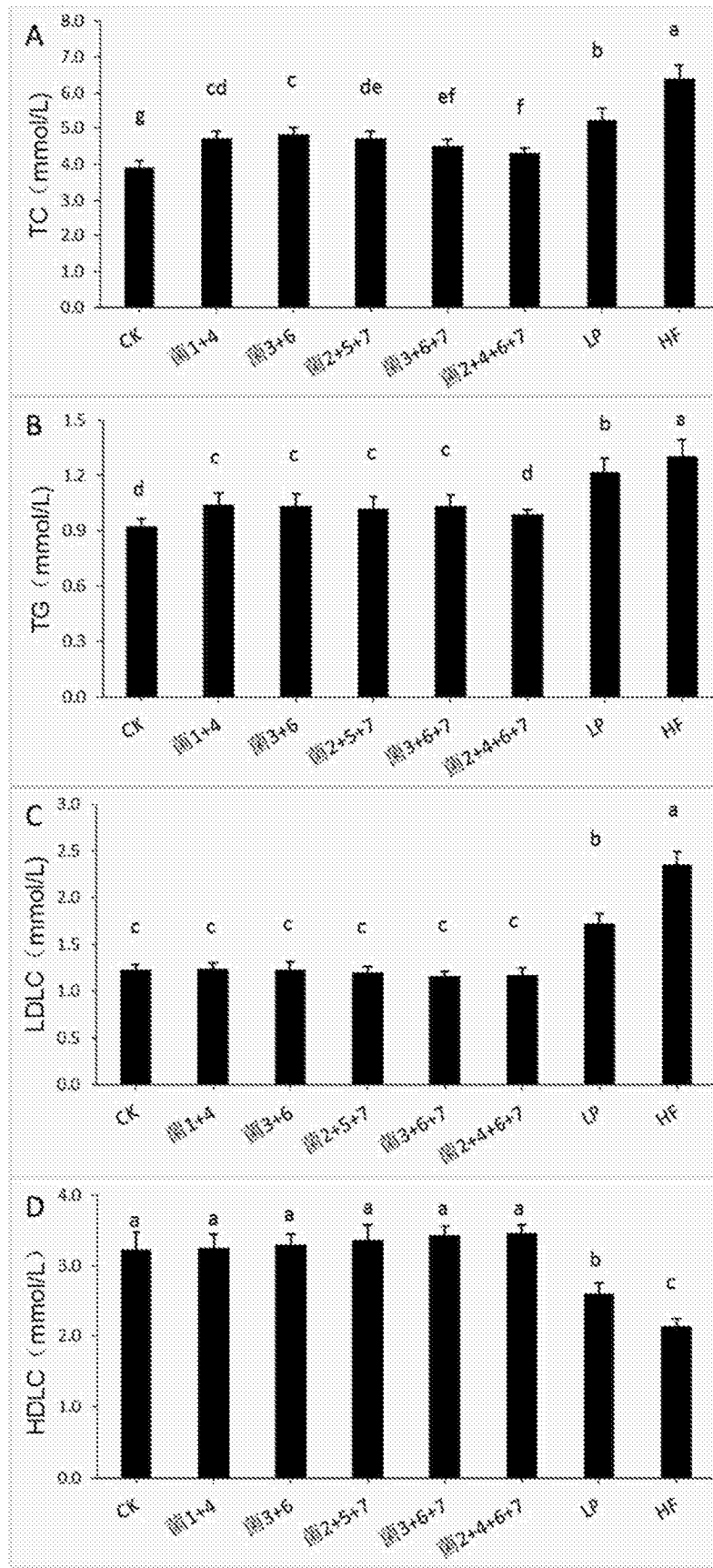


图12

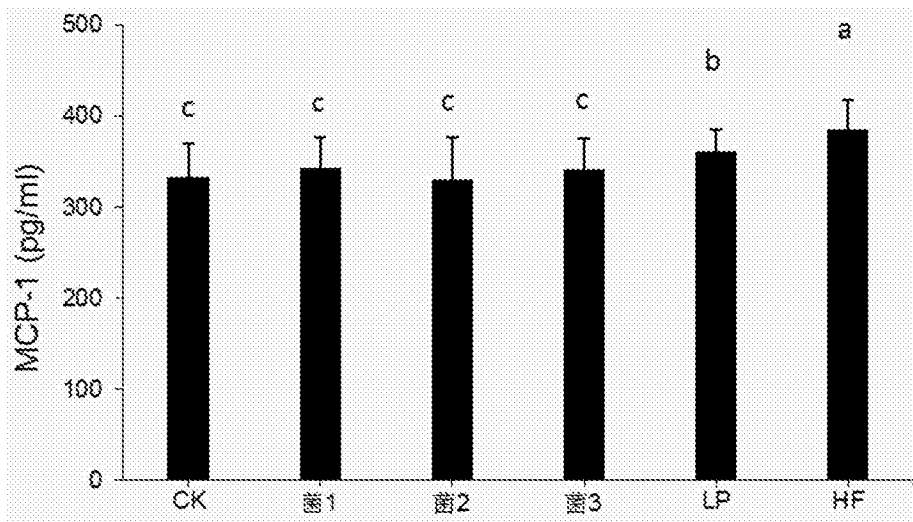


图13

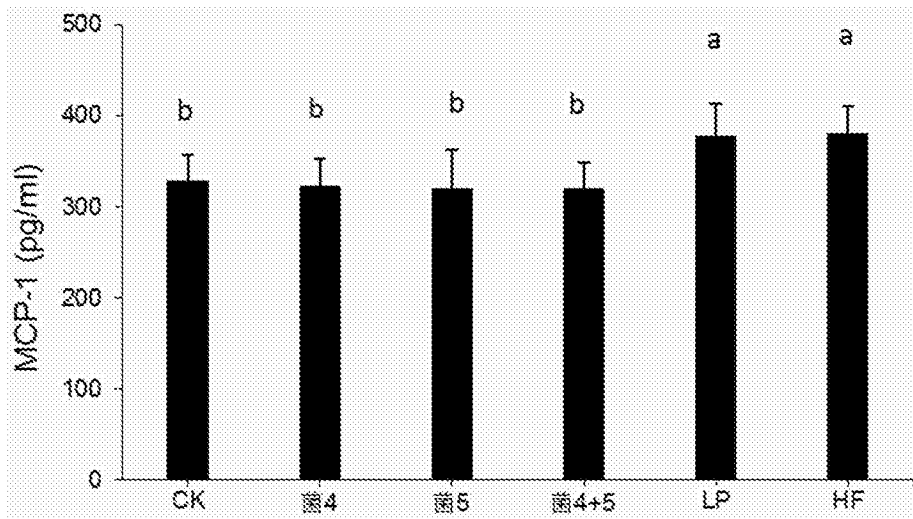


图14

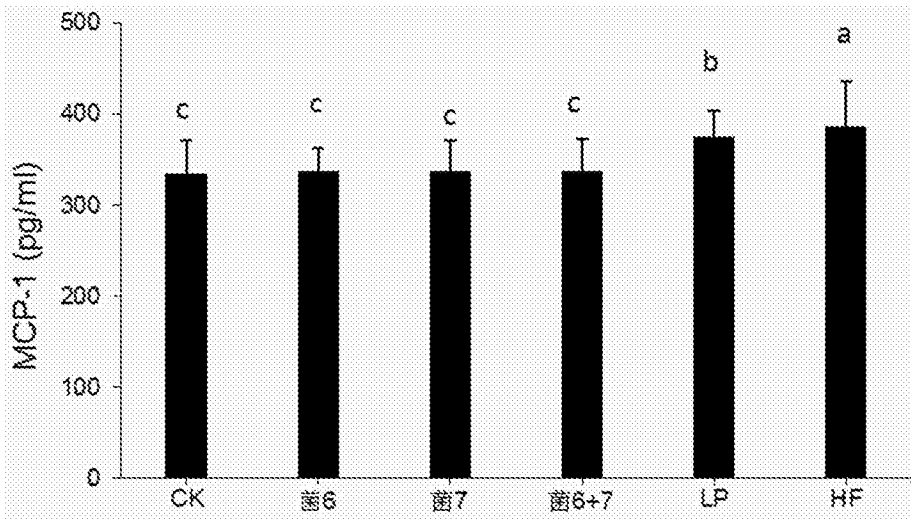


图15

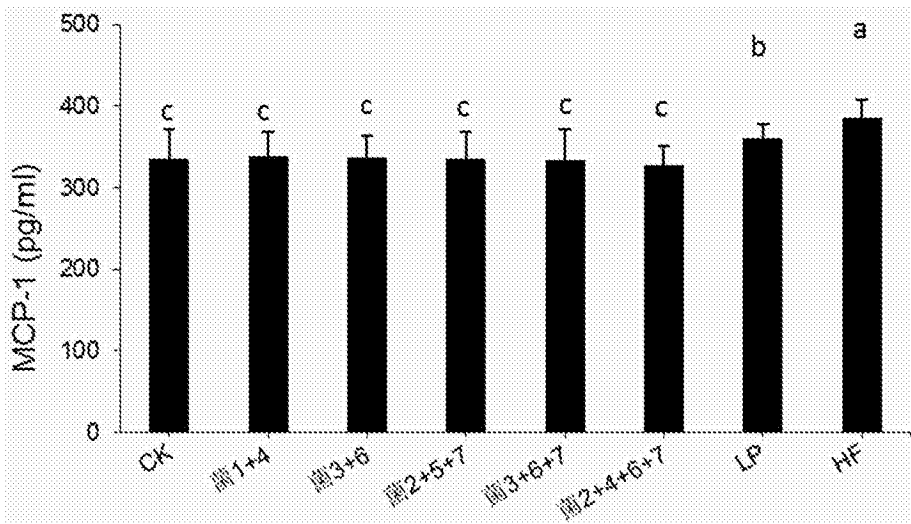


图16

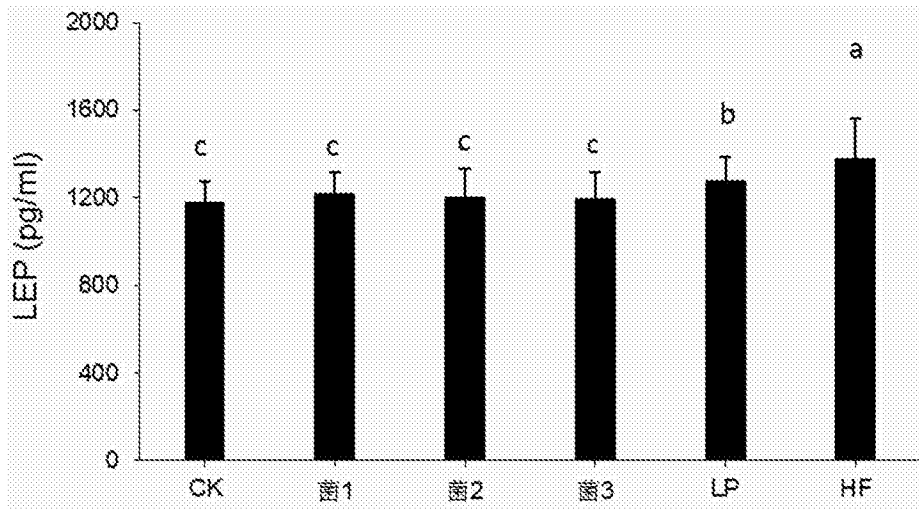


图17

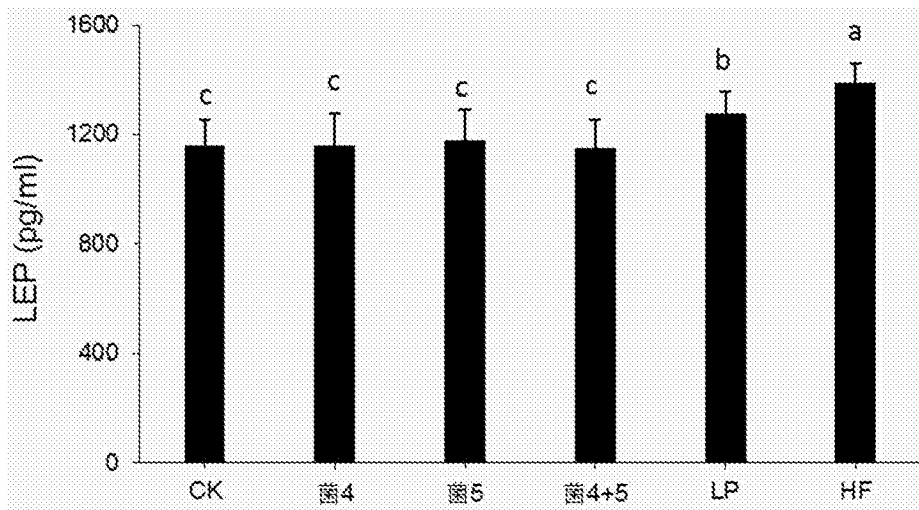


图18

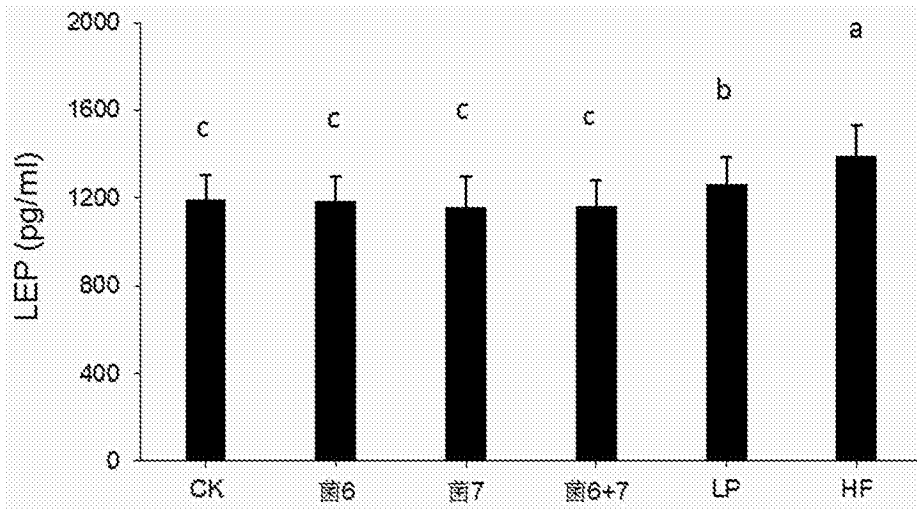


图19

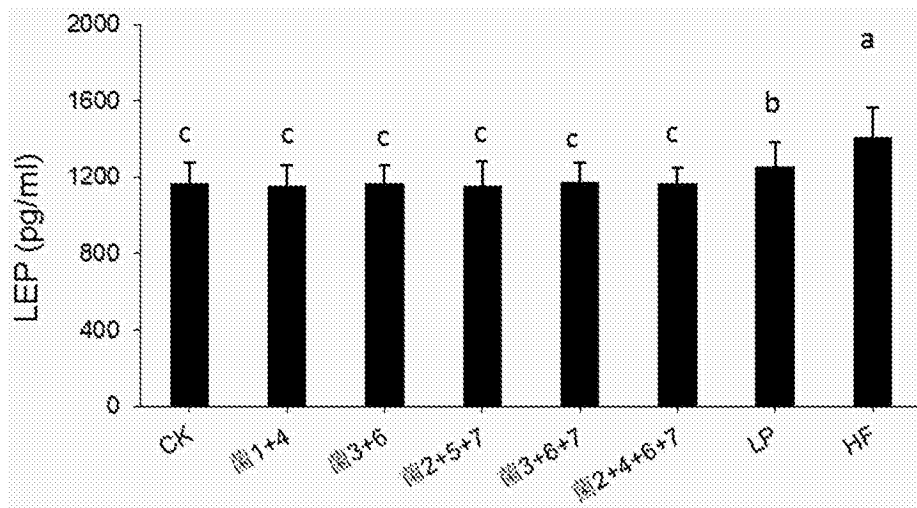


图20