



(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 I355272B1

(45)公告日：中華民國 101 (2012) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：099101068

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 15 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/74 (2006.01)* *A23C9/127 (2006.01)*  
*A61P37/04 (2006.01)*

(71)申請人：豐華生物科技股份有限公司 (中華民國) GLACT BIOTECH CO, LTD (TW)  
 臺南市新市區國際路 17 號 3 樓之 2

(72)發明人：謝佩珊 HSIEH, PEI SHAN (TW)；蔡宜鈞 TSAI, YI CHUN (TW)；郭仲偉 KUO, ALBERT (TW)

(74)代理人：蔡朝安；鄭淑芬

(56)參考文獻：

JP 2000-95697A

Abrahamsson, TR et al., "Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial", JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, Vol.119, No. 5, p.1174-1180, 2007/05

Forsythe, P et al., "Oral treatment with live Lactobacillus reuteri inhibits the allergic airway response in mice", AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE, Vol.175, No.6, p.561-569, 2007/03/15

Casas, IA et al., "Validation of the probiotic concept: Lactobacillus reuteri confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals", Microbial Ecology in Health and Disease, Vol.12, No.4, p. 247-285(1-45), 2000/11

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：4 共 0 頁

(54)名稱

用於治療過敏之乳酸菌菌株之食品組合物以及醫藥組合物

FOOD AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION WITH STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA  
 FOR TREATMENT OF ALLERGY

(57)摘要

本發明係有關新穎之乳酸菌菌株及含過去未知可用於增進治療過敏能力之該菌株之新穎組合物，該組合物可呈食品或醫藥組合物形式存在。其中亦說明如何篩選測定該乳酸菌菌株組合物而增進 Th1 型免疫能力藉此調控因過敏而反應過度之 Th2 型之免疫反應的方法。

The invention described relates to novel strains of lactic acid bacteria and to novel compositions containing strains not previously known to be useful in treatment of allergy. The composition may be in the form of foodstuffs or in the form of pharmaceutical compositions. The invention described how to screen the strains of lactic acid bacteria can regulate the immune balance between Th1 type and Th2 type.

# 發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99101068

A61K 37/44 (2006.01)

※申請日：99.1.15

※IPC 分類：

A23C 9/17 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

## 一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療過敏之乳酸菌菌株之食品組合物以及醫藥組合物

FOOD AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION WITH STRAINS  
OF LACTIC ACID BACTERIA FOR TREATMENT OF ALLERGY

## 二、中文發明摘要：

本發明係有關新穎之乳酸菌菌株及含過去未知可用於增進治療過敏能力之該菌株之新穎組合物，該組合物可呈食品或醫藥組合物形式存在。其中亦說明如何篩選測定該乳酸菌菌株組合物而增進 Th1 型免疫能力藉此調控因過敏而反應過度之 Th2 型之免疫反應的方法。

## 三、英文發明摘要：

The invention described relates to novel strains of lactic acid bacteria and to novel compositions containing strains not previously known to be useful in treatment of allergy. The composition may be in the form of foodstuffs or in the form of pharmaceutical compositions. The invention described how to screen the strains of lactic acid bacteria can regulate the immune balance between Th1 type and Th2 type.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明是有關一種食品組合物以及醫藥組合物，特別是一種包含抗過敏之乳酸菌菌株之食品組合物以及醫藥組合物。

### 【先前技術】

一般食用含乳酸菌(LAB)之產品僅具有調整腸道的健康效果，雖然有數以萬計的乳酸菌菌株存在自然界，但僅有少數乳酸菌菌株具有抗過敏的特質。少數這些細菌株所具有的耐酸與耐膽鹽能力、吸附黏膜表皮細胞之能力以及在通過腸胃道後仍可存活的能力等特性，是篩選有促進健康效果的菌株時的重要依據。時至今日，僅有少數幾株經證明其具有抗過敏健康效果之乳酸菌菌株被確認出來，而乳酸菌對身體健康的功能在於菌株(strain)的特異性而非菌種(species)，此種對於人之身體健康有特殊功效之菌株稱為功能性益生菌(Guidelines for the evaluation of probiotics in food; Report of joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food; London Ontario, Canada April 30 and May 1, 2002: 1-7)。

國內外有許多乳酸菌與過敏反應有關之文獻報導。在針對乳酸菌減低過敏的能力進行動物試驗之研究方面，熱致死的乳酸菌 *L. plantarum* L-137 所作的動物試驗能夠誘導 DBA/2 鼠的巨噬細胞與脾臟細胞產生 IL-12 及 IFN- $\gamma$ ，並且能抑制已具酪蛋白(casein)專一性的 IgE，增加對酪蛋白專一性的 IgG1 抗體(Murosaki, 1998)。針對 OVA-TCR-Tg 鼠餵食 *L. casei* Shirota 四週，增加脾臟細胞分泌 IFN- $\gamma$  和 IL-12，降低分泌 IL-4 和 IL-5 (Shida et al., 2002)。OVA 致敏 BALB/c 鼠餵食乳酸菌 *Lactobacillus* 發酵奶 27 天，可降低血清中具有 OVA 特異性 IgE (Ishida et al., 2003)。C3H/HeJ 鼠經 OVA 與霍亂毒素(cholera toxin)致敏，餵食 *B. bifidum* BGN4、*L. casei* 911，可使血清中具 OVA

特異性 IgE、IgA 及總 IgE、IgG1 降低(Kim et al., 2005)，這些文獻証實在過敏模式的動物試驗上，餵食乳酸菌能夠降低血清中 IgE 的含量，藉此改善過敏的情形。

乳酸菌在臨床實驗上，具有過敏疾病的患者確實能改善過敏反應，合併服用乾燥的乳酸菌 *L. rhamnosus* 及 *L. reuteri* 六週，對過敏疾病有益處，以問卷調查家長評估益生菌對一至十三歲兒童異位性皮膚炎，發現 56% 的兒童異位性皮膚炎有改善(Rosenfeldt et al., 2003)。Ishida (2005)學者針對四十九位過敏性鼻炎患者，飲用 *L. acidophilus* strain L-92，也發現過敏症狀獲得改善。服用 *L. fermentum* VRI 003 PCCTM 八週，五十三位具有異位性皮膚炎症狀的小孩可以增加 PBMC 細胞產生 IFN- $\gamma$ ，並改善過敏情形(Prescott et al., 2005)。Fölster-Holst (2006)等學者研究指出針對五十四位具有異位性皮膚炎患者所作的試驗，給予服用 *L. rhamnosus* strain GG 及安慰劑後，能有效改善過敏症狀。

研究指出乳酸菌細胞壁成分具有免疫調節能力，包括 Peptidoglycans (PG)、Lipoteichoic acids (LTA)、Phosphopolysaccharide。例如 *L. lactis* 細胞壁中的 Phosphopolysaccharide 能刺激小鼠白血球產生 IFN- $\gamma$ ，Teichoic acid 和 Muramyl dipeptide 增加刺激 PBMC 產生 IFN- $\gamma$  (Cross et al., 2001)；*L. paracasei* KW3110 細胞壁成分 LTA 可影響 NF- $\kappa$ B 訊號傳遞途徑，具有很強的免疫調控能力(Fujiwara et al., 2004)。

益生菌株對於人體具有良好功效性，且有許多可能的機制被提出說明為何益生菌株對人體有良好的影響。這些機制大都集中在改善腸道黏膜細胞屏蔽功能來直接影響人體之免疫系統，例如抑制前發炎細胞激素的分泌、影響調節型 T 細胞的活性以及調整 Th1/Th2 之間的平衡。在嬰幼兒時期改善調整腸胃道共生菌的菌相是十分重要的，許多過敏的嬰幼兒腸道缺乏益生菌菌叢，且腸道菌叢皆存在有較多的產氣夾膜梭菌及較少的雙歧乳桿菌菌叢。因此益生菌叢存在腸道，對於人體的免疫能力建構及具備健全的免疫調控能力是十分重要的關鍵。然

而，對於益生菌影響人體的機制依舊尚未有定論，針對此點，在未來的發展上，仍需更多的體外及體內試驗去說明，對人體有如此良好影響的機制為何以及研究應用於人體上最佳的條件(Michael et al., 2008)。

### 【發明內容】

本發明一方面廣義的包括由下列任一種生物性培養物：路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)GL-104 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910404 及路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)TE-33 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910441，以及生理上可接受的賦形劑或稀釋劑所組成之食品組合物或醫藥組合物。

在另一項具體實施例中，增強抗過敏能力之生理上可接受之下列任一種菌株之同種或突變種之生物性培養物：路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)GL-104 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910404 及路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)TE-33 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910441。

又，另一項具體實施例中，本發明可廣義的包括經由促進細胞間白素(IL-12)或干擾素 $\gamma$  (IFN-gamma)調控 Th1 型免疫反應而抑制免疫球蛋白 IgE，改善 Th2 型免疫反應過剩的過敏現象，其係對哺乳動物投予可達到刺激 Th1 型免疫效果劑量之任一種前述生物性培養物。

本發明亦可廣義的包括本申請案說明書中分開或總合說明之部分、構成要件與特徵，及任何包含該等部分、構成要件與特徵中任何一者或更多者之任何或全部組合，且若本文所述及之明確完整事物已於與本發明有關之相關技藝中出現已知之同等物時，此等已知之同等物將如同獨立事項併入本文中。

### 【實施方式】

本發明一方面廣義的包括由下列任一種生物性培養物：路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)GL-104 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910404 及路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)TE-33 菌株，食品工業發展研究所寄存編號 BCRC 910441，以及生理上可接受的賦形劑或稀釋劑所組成之食品組合物或醫藥組合物。

許多文獻指出增加第一型 T 細胞細胞激素包括細胞間白素(IL-12)、干擾素  $\gamma$  (IFN-gamma)的分泌增加，可以有效改善過敏症狀；進一步的研究也指出特定的乳酸菌株和樹狀細胞上類鐸受體(Toll-like receptor)結合，活化細胞內的轉譯蛋白移至核內而釋放大量細胞激素，屬於先天免疫的一環，因此某些特定的乳酸菌菌株藉由其細胞壁多醣類物質如 peptidoglycan、polysaccharide 等，經先天免疫系統，確實能活化體內 T 細胞的發育。

本發明所述之菌株之冷凍乾燥培養物已寄存在台灣食品工業發展研究所，地址為中華民國新竹市食品路 331 號。寄存之詳細資料如表 1 所示：

表 1

菌株名	編號	日期
路乳酸桿菌 GL-104	BCRC910404	2008 年 10 月 29 日
路乳酸桿菌 TE-33	BCRC910441	2009 年 08 月 28 日

如表 1 所列已寄存的兩株乳酸菌已發現具有抗過敏的能力，包括對於異位性皮膚炎、蕁麻疹、過敏性鼻炎、食物過敏及氣喘的症狀有減緩及治療的功能。

實例 1：抗過敏乳酸菌之形態學及一般性質。

根據 16S rDNA 序列分析及 API 細菌鑑定系統分析結果來確認菌株在分類學上的特徵。發現，豐華菌株編號 GL-104 為路乳酸桿菌；

豐華菌株編號 TE-33 為路乳酸桿菌。此菌株在形態學及一般性質上的特徵詳細列於表 2：

表 2

菌株名	形態特徵
路乳酸桿菌 GL-104	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 於 MRS 培養液培養時，菌體呈短桿狀，二端呈圓形，通常單獨出現、成對或成短鏈狀。</li> <li>2. 革蘭氏染色陽性桿菌，不生成孢子，不具觸酶、氧化酶及運動性，在好氧及厭氧環境均能生長，最適宜的生長溫度為 <math>37\pm 1^{\circ}\text{C}</math>，屬於兼性異質發酵性菌株，葡萄糖代謝時不產生氣體。</li> </ol>
路乳酸桿菌 TE-33	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 於 MRS 培養液培養時，菌體呈短桿狀，二端呈圓形，通常單獨出現、成對或成短鏈狀。</li> <li>2. 革蘭氏染色陽性桿菌，不生成孢子，不具觸酶、氧化酶及運動性，在好氧及厭氧環境均能生長，最適宜的生長溫度為 <math>37\pm 1^{\circ}\text{C}</math>，屬於兼性異質發酵性菌株，葡萄糖代謝時不產生氣體。</li> </ol>

實例 2：抗過敏乳酸菌對促進干擾素  $\gamma$  的分泌調控 Th1 型免疫能力的作用(以周邊血液單核球細胞為體外功效驗證平台)。

檢視兩株抗過敏乳酸菌菌株一路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 以及路乳酸桿菌 TE-33 菌株 BCRC 910441 對 Th1 型免疫能力的增進效果，其係測定人類周邊血液單核球細胞(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC)與前述抗過敏乳酸菌分別共同培養後測定干擾素  $\gamma$  的分泌量，來驗證具有抗過敏能力的菌株。使用如下之實驗步驟：

1. 取適當人類血液量每次約 200 mL 全血。

2. 取等比例之血球分離液(Ficoll-paque)與血液在 18-20°C 以 400 g 離心 30-40 分鐘。
3. 取人類周邊血液白血球細胞層，緩衝溶液清洗細胞 2-3 次後，以適當之培養基(例如 RPMI-1640)懸浮細胞。
4. 將細胞與已活化 3 天之乳酸菌菌株以 1:10 比例共同培養 48 小時。
5. 收取細胞培養之上清液。利用酵素免疫分析法(ELISA)偵測干擾素  $\gamma$  (IFN-gamma)在上清液中的含量。

數據之統計分析如表 3 及圖 1 所示，以 Mean  $\pm$  SD 表示之。圖 1 所示為當分別以  $10^6$  至  $10^8$  個 cfu 路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 以及路乳酸桿菌 TE-33 菌株 BCRC 910441 與  $10^5$  至  $10^7$  個人類周邊血液單核球細胞(PBMC)分別共同培養 48 小時，收取細胞上清液，以酵素免疫分析法偵測干擾素  $\gamma$  (IFN-gamma)在上清液中的含量。其中以無抗過敏功能乳酸菌(*Lactobacillus casei* BCRC 17001)及實驗背景值(Cell only)為負控制組，以發表多數文獻證明其有抗過敏功效之乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)及 PHA (Phytohemagglutinin)為正控制組，偵測干擾素  $\gamma$  受刺激濃度。結果顯示試驗組可以顯著的刺激人類周邊血液單核球(PBMC)分泌干擾素  $\gamma$  與負控制組(*Lactobacillus casei* BCRC 17001)有顯著性差異並比正控制組(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)之刺激量分別高出 2.3 倍與 4.7 倍(PBMC)。表 3 為本發明所述之抗過敏乳酸菌菌株及控制組分別與人類周邊血液單核球細胞(PBMC)培養，刺激干擾素  $\gamma$  的分泌量(means $\pm$ SD)：

表 3

菌株名稱	干擾素 $\gamma$ 的分泌量 (pg/mL)
正控制組 ( <i>L. rhamnosus</i> GG BCRC 16000)	1587 $\pm$ 585

路乳酸桿菌 GL-104 BCRC 910404	3587±95
路乳酸桿菌 TE-33 BCRC 910441	7473±624
負控制組 ( <i>L. casei</i> BCRC17001)	533±153
正控制組 (PHA)	1573±61
負控制組 (Cell only)	97±27

實例 3：抗過敏乳酸菌對促進細胞間白素 12p40 (IL-12p40)的分泌調控 Th1 型免疫能力的作用(以樹狀細胞 dendritic cell 為體外功效驗證平台)。

檢視本發明所述之抗過敏乳酸菌菌株一路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 對 Th1 型免疫能力的增進效果，其係測定人類樹狀細胞 (dendritic cell)與前述抗過敏乳酸菌共同培養後測定細胞間白素 12p40 (IL-12p40)的分泌量，來驗證具有抗過敏能力的菌株。使用如下之實驗步驟：

1. 抽取適當人類血液量每次約 200mL。
2. 取等比例之血球分離液(Ficoll-paque)與血液在 18-20°C 以 400g 離心 30-40 分鐘。
3. 取人類周邊血液單核球(PBMC)層，緩衝溶液清洗細胞 2-3 次後，以適當之培養基(例如 RPMI-1640)懸浮細胞。
4. 人類周邊血液單核球(PBMC)細胞以 CD14<sup>+</sup> microbeads (MiniMACS system) 將細胞之 CD14<sup>+</sup>單核球純化。
5. 以細胞激素(IL-4)及生長激素(GM-CSF)刺激細胞分化成樹狀細胞，6-7 天的培養時間，將已分化之樹狀細胞收集。
6. 將抗過敏乳酸菌菌株在共同培養之前 3 天活化，之後以 100°C 熱致死乳酸菌菌株 30 分鐘。

7. 將樹狀細胞與已熱致死之乳酸菌株以 1:10 比例共同培養 48 小時。
8. 收取細胞培養之上清液。利用酵素免疫分析法(ELISA)偵測細胞間白素 12p40 (IL-12p40)在上清液中的含量。

數據之統計分析如表 4 及圖 2 所示，以 Mean  $\pm$  SD 表示之。圖 2 所示為當分別以熱致死  $10^6$  至  $10^8$  個 cfu 路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 與  $10^5$  至  $10^7$  個人類樹狀細胞共同培養 48 小時，收取細胞上清液，以酵素免疫分析法偵測細胞間白素 12p40 (IL-12p40)在上清液中的含量。其中以無抗過敏功能乳酸菌(*Lactobacillus casei* BCRC 17001)以及實驗背景值(Cell only)為負控制組，以發表多數文獻證明其有抗過敏功效之乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)及 LPS (Lipopolysaccharide)為正控制組，偵測細胞間白素 12p40 (IL-12p40)受刺激濃度。結果顯示試驗組可以顯著的刺激人類樹狀細胞分泌細胞間白素 12p40 (IL-12p40)與負控制組(*Lactobacillus casei* BCRC 17001)有顯著性差異，並比正控制組(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)之刺激量高出 2 倍。表 4 所示為分別以熱致死抗過敏乳酸菌菌株以及控制組與樹狀細胞培養，刺激細胞間白素 12p40 (IL-12p40)的分泌量 (means $\pm$ SD)：

表 4

菌株名稱	細胞間白素 12p40 的分泌量 (pg/mL)
正控制組 ( <i>L. rhamnosus</i> GG BCRC 16000)	6905 $\pm$ 611
路乳酸桿菌 GL-104 BCRC 910404	14425 $\pm$ 1741
負控制組 ( <i>L. casei</i> BCRC17001)	51 $\pm$ 2
正控制組 (LPS)	22103 $\pm$ 780
負控制組 (Cell only)	20 $\pm$ 147

實例 4：抗過敏乳酸菌之耐胃酸膽鹽試驗。

檢視本發明之抗過敏乳酸菌株—路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 是否具有通過胃酸膽鹽考驗的能力順利在腸道發揮其抗過敏的功能，試驗流程如下：

1. 將本發明之抗過敏乳酸菌活化 3 天。
2. 取 1 mL 菌液計算原始菌數，剩餘之乳酸菌以 500g 離心 10 分鐘，加入去離子水清洗乳酸菌 2-3 次。
3. 加入以鹽酸調配成 pH 2.5 之培養基中，本發明之抗過敏乳酸菌與 pH 2.5 之培養基充分混合後，置於 37°C 培養箱。
4. 每小時取出 1 mL 之菌液以去離子水清洗 2-3 次後，計算存活細胞數，至 3 小時培養時間為止。
5. 剩餘菌液離心後沈澱物再以含 1.5%(w/V)牛膽汁(ox gall, Sigma)之培養基中回溶，充分混合後，於 37°C 培養。
6. 每小時取出 1 mL 之菌液以去離子水清洗 2-3 次後，計算存活細胞數，至 4 小時培養時間為止。
7. 記錄乳酸菌生長速率，計算乳酸菌對胃酸與膽鹽之耐受力，以比較樣品中本發明之抗過敏乳酸菌在胃酸及膽鹽存在下，菌株生長是否受到抑制。

耐胃酸的能力結果與分析整理於表 5 及圖 3 所示，圖 3 所示之結果顯示，本發明之抗過敏乳酸菌在培養基活化後，將菌株處理酸性緩衝溶液及膽鹽，路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 菌數並不受胃酸及膽鹽的影響而急劇下降，証明本發明之抗過敏乳酸菌可以通過人體消化系統嚴格環境的考驗。表 5 為以 pH 值 2.5 的鹽酸與本發明之抗過敏乳酸菌混合測驗其耐胃酸能力(Log means±Log SD)：

表 5

菌株名稱	原始菌數 (Log cfu/mL)	pH2.5-1hr (Log cfu/mL)	pH2.5-2hr (Log cfu/mL)	pH2.5-3hr (Log cfu/mL)
路乳酸桿菌 BCRC 910404	9.33±0.012	9.15±0.15	8.92±0.28	8.49±0.14

耐膽鹽的能力結果與分析整理於表 6 及圖 3 所示，表 6 為以 1.5% 的膽汁與本發明之抗過敏乳酸菌混合測驗其耐膽鹽能力 (Log means±Log SD)：

表 6

菌株名稱	原始菌數 (Log cfu/mL)	1.5%bile -1hr (Log cfu/mL)	1.5%bile -2hr (Log cfu/mL)	1.5%bile -3hr (Log cfu/mL)	1.5%bile -4hr (Log cfu/mL)
路乳酸桿菌 BCRC 910404	9.33±0.012	8.22±0.39	8.03±0.026	8.11±0.091	7.96±0.15

實例 5：抗過敏乳酸菌對人類腸道表皮細胞(Caco-2)的吸附能力試驗。

在活體外採用已分化的細胞株分析本發明之抗過敏乳酸菌菌株吸附人類腸道表皮細胞(Caco-2)的能力。先由人類腸道表皮細胞(Caco-2)單層細胞株於蓋玻片上生長至單層細胞後，置入多孔細胞培養盤中。然後將細胞：乳酸菌之比例為 1：200，共同培養 1-3 小時，以緩衝溶液清洗及利用甲醇固定細胞及剩餘之附著菌數後，進行革蘭氏染色並確定所附著之菌數。參考 Jacobsen 等學者(1999)之分析方法，在 1000 倍顯微鏡下計數 20 個視野，當每個視野的平均菌數少於 40 時，判定為不附著(nonadhesive)；當每個視野的平均菌數介於 41 至 100 時，判定為附著(adhesive)；當每個視野的平均菌數大於 100 時，判定為強烈附著(strongly adhesive)。

數據之統計分析以 Mean ± SD 表示之。平均來說，取 45 個視野

之計算值，其結果整理於表 7 及圖 4。圖 4 顯示路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 判定為「強烈附著」。表 8 為本發明之抗過敏乳酸菌對人類腸道表皮細胞(Caco-2)細胞株之吸附能力試驗。

表 7

菌株名稱	Means±SD
路乳酸桿菌 BCRC 910404	204±58

由於乳酸菌要發揮抗過敏的效果除了要找出具有特定功能的菌株外，更要確認該菌株能通過人體胃酸膽鹽的環境外，還要能對小腸黏膜表皮細胞具有良好吸附能力之乳酸菌菌株，也因為此種特性，本發明之抗過敏乳酸菌才可以提供治療或舒緩過敏症狀的醫療用途。本發明所描述的抗過敏乳酸菌可同時增強 Th1 途徑調控 Th2 過盛的過敏反應。本發明的一個目標就是繼續朝向達成這些希求或至少提供大眾在過敏治療上除類固醇或是抗組織氨的的新選擇，本發明找出對人體無副作用且有益健康的抗過敏乳酸菌來作為過敏治療的新選擇。

以上所述之實施例僅是為說明本發明之技術思想及特點，其目的在使熟習此項技藝之人士能夠瞭解本發明之內容並據以實施，當不能以之限定本發明之專利範圍，即大凡依本發明所揭示之精神所作之均等變化或修飾，仍應涵蓋在本發明之專利範圍內。

### 【圖式簡單說明】

圖 1 顯示，當分別以  $10^6$  至  $10^8$  個 cfu 之路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404、路乳酸桿菌 TE-33 菌株 BCRC 910441 與  $10^5$  至  $10^7$  個人類周邊血液單核球細胞(PBMC)共同培養 48 小時，收取細胞上清液，以酵素免疫分析法偵測干擾素  $\gamma$  (IFN-gamma)在上清液中的含量。其中以無抗過敏功能乳酸菌(*Lactobacillus casei* BCRC17001)及實驗背景值(Cell only)為負控制組，以發表多數文獻證明其有抗過敏功效之乳

酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)及 PHA 為正控制組，偵測干擾素  $\gamma$  受刺激濃度。結果顯示試驗組可以顯著的刺激人類周邊血液單核球(PBMC)分泌干擾素  $\gamma$  與負控制組(*Lactobacillus casei* BCRC17001)有顯著性差異，並比正控制組(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)之刺激量高出 2.2 倍與 4.7 倍。

圖 2 顯示，當分別以熱致死  $10^6$  至  $10^8$ cfu 之路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 與  $10^5$  至  $10^7$  個人類樹狀細胞(dendritic cell)共同培養 48 小時，收取細胞上清液，以酵素免疫分析法偵測細胞間白素 12p40 在上清液中的含量。其中以無抗過敏功能乳酸菌(*Lactobacillus casei* BCRC17001)及實驗背景值(Cell only)為負控制組，以發表多數文獻證明其有抗過敏功效之乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)及 LPS 為正控制組，偵測細胞間白素 12p40 (IL-12p40)受刺激濃度。結果顯示試驗組可以顯著的刺激人類樹狀細胞分泌細胞間白素 12p40 (IL-12p40)與負控制組(*Lactobacillus casei* BCRC17001)有顯著性差異，並比正控制組(*Lactobacillus rhamnosus* GG BCRC 16000)之刺激量高出 2 倍。

圖 3 顯示，路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 在培養基的活化後，總菌數經由模擬胃酸溶液及膽鹽溶液處理不同時間，路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 之菌數並不受胃酸及膽鹽影響而急劇下降，証明本發明之抗過敏乳酸菌菌株可以通過人體消化系統嚴格環境的考驗。

圖 4 顯示，依據 Jacobsen 等學者(1999)之分析方法，當每個視野的平均菌數少於 40 時，判定為不附著(nonadhesive)；當每個視野的平均菌數介於 41 至 100 時，判定為附著(adhesive)；當每個視野的平均菌數大於 100 時，判定為強烈附著(strongly adhesive)。顯示路乳酸桿菌 GL-104 菌株 BCRC 910404 判定為「強烈附著」。

【主要元件符號說明】

無

## 七、申請專利範圍：

## 1. 一種食品組合物，包含：

刺激免疫細胞分泌抗過敏相關細胞激素之乳酸菌菌株，該菌株選自以下任一或多種組合之生物性培養物：路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)GL-104 菌株，寄存編號 BCRC 910404 以及路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)TE-33 菌株，寄存編號 BCRC 910441，上述菌株均寄存於台灣新竹食品工業發展研究所(FIRDI)；以及

生理上可接受的賦形劑或稀釋劑。

2. 如請求項 1 所述之食品組合物，其中該乳酸菌菌株為路乳酸桿菌 GL-104 菌株，寄存編號 BCRC 910404。

3. 如請求項 1 所述之食品組合物，其中該乳酸菌菌株為路乳酸桿菌 TE-33 菌株，寄存編號 BCRC 910441。

4. 如請求項 1 所述之食品組合物，其中該賦形劑或稀釋劑為一種食品。

5. 如請求項 4 所述之食品組合物，其中該食品包含發酵乳、優格、乳酪、乳製飲品乳粉、茶、咖啡或以上之組合。

6. 如請求項 1 所述之食品組合物，其中該乳酸菌菌株為具有活性或去活性(inactivated)的菌株。

## 7. 一種醫藥組合物，包含：

刺激免疫細胞分泌抗過敏相關細胞激素之乳酸菌菌株，該菌株選自以下任一或多種組合之生物性培養物：路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)GL-104 菌株，寄存編號 BCRC 910404 以及路乳酸桿菌(*Lactobacillus reuteri*)TE-33 菌株，寄存編號 BCRC 910441，上述菌株均寄存於台灣新竹食品工業發展研究所(FIRDI)；以及

醫藥上可接受的賦形劑或稀釋劑。

8. 如請求項 7 所述之醫藥組合物，其中該乳酸菌菌株為路乳酸桿菌 GL-104 菌株，寄存編號 BCRC 910404。

9. 如請求項 7 所述之醫藥組合物，其中該乳酸菌菌株為路乳酸桿菌

TE-33 菌株，寄存編號 BCRC 910441。

10. 如請求項 7 所述之醫藥組合物，其中該乳酸菌菌株為具有活性或去活性(inactivated)的菌株。

公告本

99年2月16日修正  
福茂 (全本)

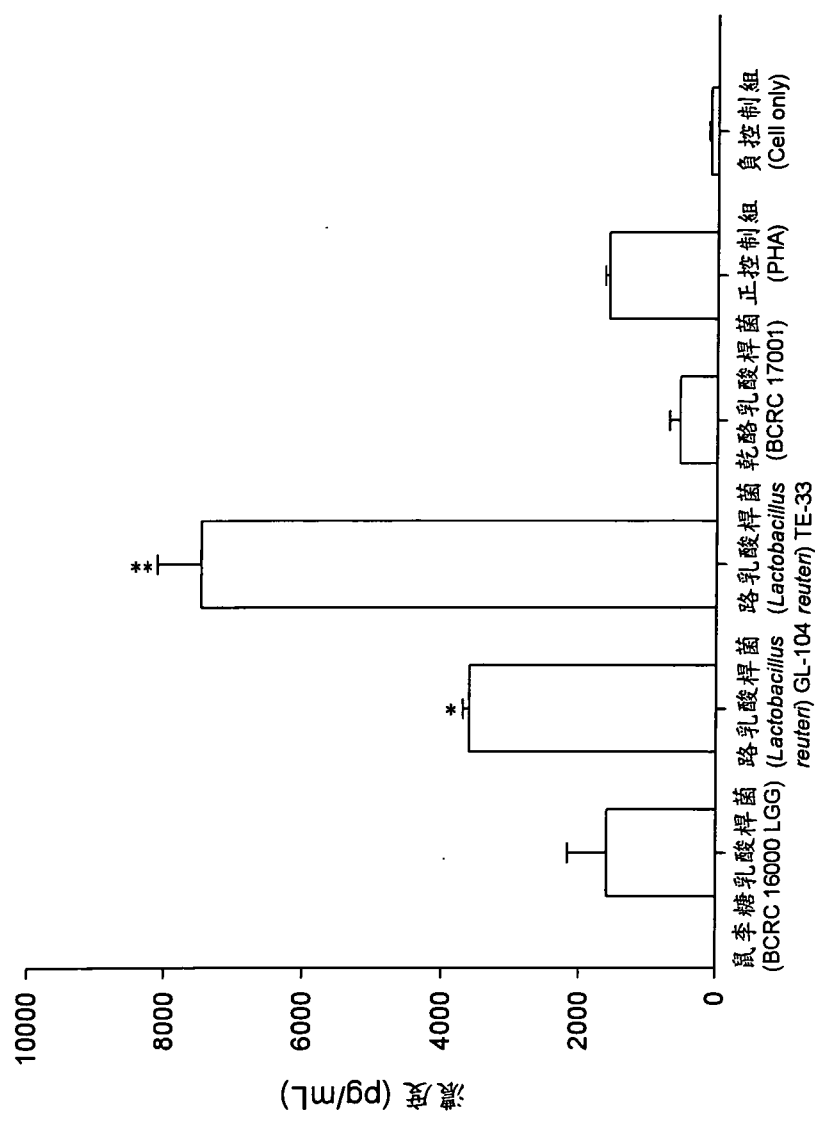


圖 1

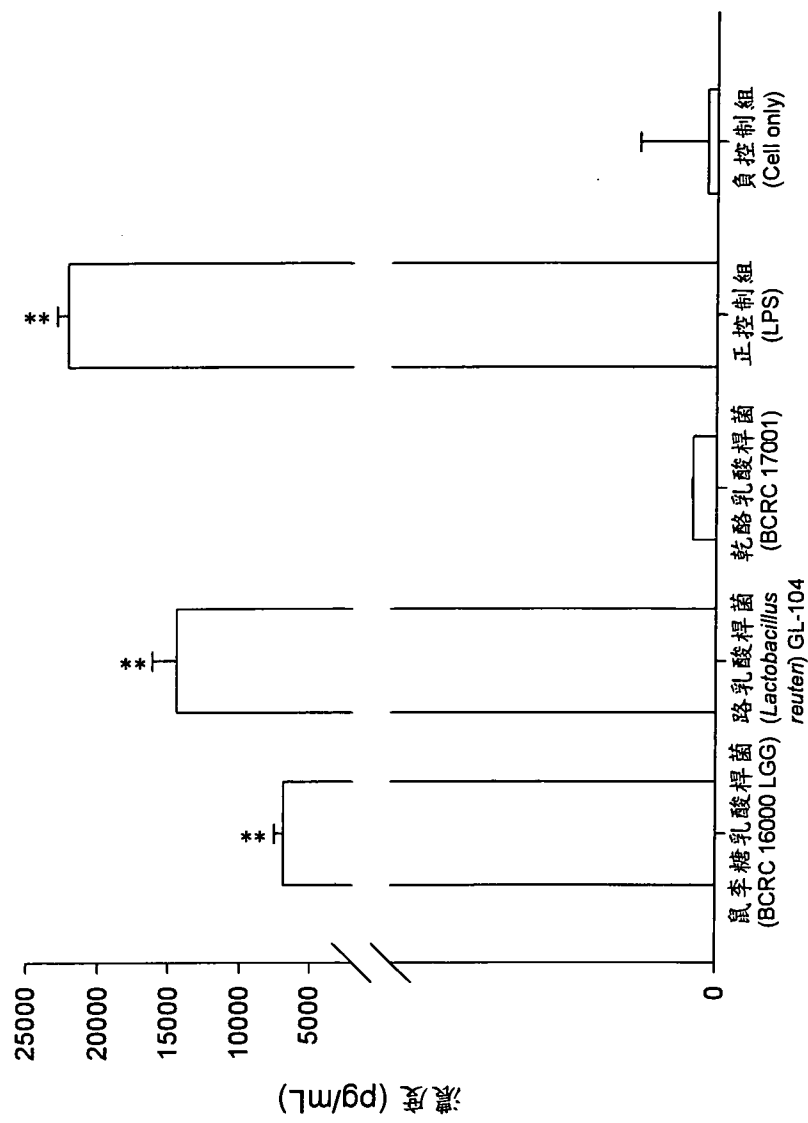


圖 2

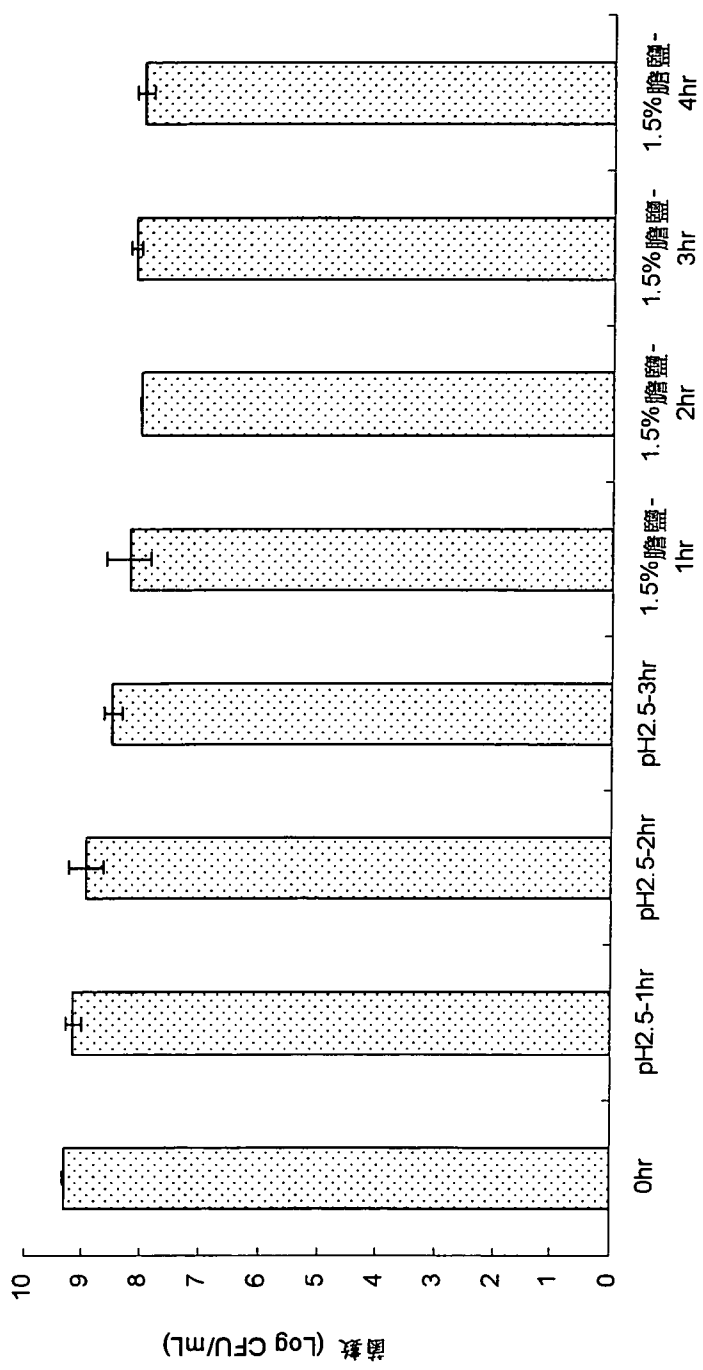


圖 3

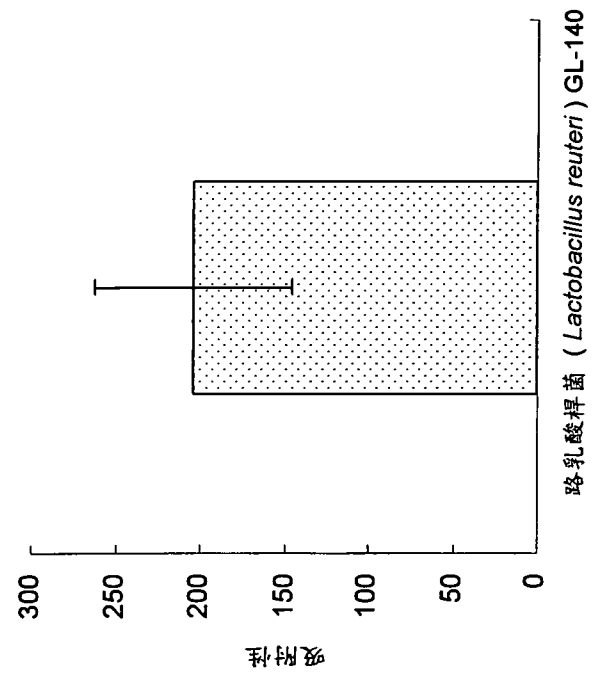


圖 4