



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116769682 B

(45) 授权公告日 2023. 11. 21

(21) 申请号 202311055492.X

(22) 申请日 2023.08.22

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 116769682 A

(43) 申请公布日 2023.09.19

(73) 专利权人 东北农业大学  
地址 150030 黑龙江省哈尔滨市香坊区长江路600号  
专利权人 湖北均瑶大健康饮品股份有限公司

(72) 发明人 姜毓君 王均豪 满朝新 张宇 郑森 王晨晨

(74) 专利代理机构 南京群迈知识产权代理有限公司 32690  
专利代理师 安士影

(51) Int. Cl.  
C12N 1/20 (2006.01)  
A61K 35/747 (2015.01)  
A61P 37/08 (2006.01)  
C12R 1/225 (2006.01)

(56) 对比文件

- KR 20060096851 A, 2006.09.13
- CN 115927122 A, 2023.04.07
- CN 101772571 A, 2010.07.07
- CN 116019224 A, 2023.04.28
- CN 116121120 A, 2023.05.16
- CN 116042477 A, 2023.05.02
- CN 116531413 A, 2023.08.04
- CN 111575204 A, 2020.08.25
- CN 113201467 A, 2021.08.03
- JP 2006288290 A, 2006.10.26
- US 2005214271 A1, 2005.09.29
- WO 2022208458 A1, 2022.10.06
- CN 110643541 A, 2020.01.03

刘红霞等. 后生元研究进展及应用现状.《食品科学》.2023,1-13.

黄福青等. 益生菌、益生元和后生元对食物过敏的影响和作用机制.《微生物学报》.2022,第62卷(第3期),848-857. (续)

审查员 吴志琳

权利要求书1页 说明书6页 附图20页

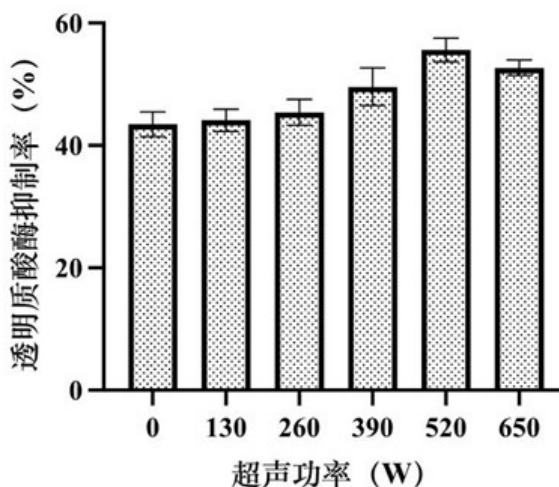
(54) 发明名称

缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元及其应用,属于微生物制剂技术领域。本发明将5%副干酪乳杆菌JY56接种于发酵培养基中培养18h获得发酵液,收集菌体,并用无菌PBS洗涤,重悬成菌悬液,调整菌浓度为 $5 \times 10^9$ CFU/mL,将菌悬液进行热处理85°C,30min后,获得灭活副干酪乳杆菌JY56;准备冰水混合物作为超声介质,使超声处理时超声介质温度维持在 $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ;在520W功率下处理10min,频率为25kHz,超声探头于水面下4cm进行工作5s、间歇5s的超声处理,获得副干酪乳杆菌JY56的后生元。本发明的后生元在制备缓解食物过敏相关疾

病的产品中,具有巨大的应用前景。



CN 116769682 B

[接上页]

**(56) 对比文件**

Peng G-C et al..The efficacy and safety of heat-killed *Lactobacillus paracasei* for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite.《Pediatr Allergy Immunol》.2005,第16卷433-438.

汪玲娥 等.后生元调节肥胖的研究进展.《食品科学》.2022,1-18.

杨景.副干酪乳杆菌L9对小鼠牛乳蛋白过敏的缓解作用及机制研究.《中国博士学位论文全文数据库 基础科学辑》.2020,(第4期),1-95.

Tatiana Colombo Pimentel et al..Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends.《Trends in Food Science & Technology》.2023,第138卷199-214.

1. 一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus Paracasei*) JY56后生元的制法,其特征在于,5%副干酪乳杆菌JY56接种于发酵培养基中培养18h获得发酵液,将发酵液在6000r/min的条件下,离心5min,弃去上清液,收集菌体,并用无菌PBS洗涤,重悬成菌悬液,调整菌浓度为 $5 \times 10^9$ CFU/mL,将菌悬液进行热处理85℃,30min后,获得灭活副干酪乳杆菌JY56;准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的超声介质温度维持在 $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ;将灭活副干酪乳杆菌JY56在520W功率下处理10min,频率为25kHz,超声探头于水面下4cm进行工作5s、间歇5s的超声处理,超声处理后获得副干酪乳杆菌JY56的后生元;

所述副干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus Paracasei*) JY56的保藏号是GDMCC NO.62988。

2. 根据权利要求1所述的一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元的制法,其特征在于,灭活副干酪乳杆菌JY56中含有的菌细胞的数量是 $5 \times 10^9$ 个/mL。

3. 根据权利要求1所述的一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元的制法,其特征在于,无菌PBS洗涤3次;超声介质的深度为9cm。

4. 根据权利要求1所述的一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元的制法,其特征在于,超声探头直径为15mm,超声探头的变幅杆直径为3mm。

5. 根据权利要求1所述的一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元的制法,其特征在于,发酵培养基为MRS液体培养基。

6. 根据权利要求1~5任意一项所述的一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元的制法获得的后生元在制备治疗/缓解或辅助治疗/缓解食物过敏的药品中的应用。

7. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于,食物过敏是卵清蛋白OVA诱导引发的。

8. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于,治疗/缓解食物过敏是降低血清中特异性抗体、过敏介质、炎症因子;促进肠道紧密连接相关因子的表达;促进小鼠肠道短链脂肪酸的生成。

9. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,短链脂肪酸包括乙酸、丙酸和丁酸。

10. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于,药品的剂型包括颗粒剂、胶囊剂、片剂、丸剂或口服液。

## 缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元及其应用,属于微生物制剂技术领域。

### 背景技术

[0002] 食物过敏是指机体摄入特定食物后产生的免疫系统反应,通常由各种食物来源中发现的蛋白质抗原引起。食物过敏会引起多种临床症状,包括口腔或耳朵瘙痒、鼻炎、哮喘、呕吐、腹泻、呼吸困难等,严重者甚至导致休克、死亡。近年来,全球食物过敏发生率显著增加。据世界过敏组织(World Allergy Organization, WAO)白皮书报告全球大约有2.5亿人患有食物过敏。美国流行病学调查显示,1岁以下婴儿的FA患病率为2.8%,2岁时患病率达到10%,14-17岁青少年的FA患病率为7.1%,成人FA患病率则高达10.8%。调查数据说明,食物过敏在不同国家、不同年龄阶段普遍发生且患病率逐年升高,已经成为一个全球性公共健康问题。

[0003] 食物过敏是一种复杂的免疫性疾病,目前没有完全治愈的方法,最主要、最有效的预防手段仍是避免接触和摄入被确定为过敏原的食物。但由于膳食的复杂性,仅对患者进行饮食管理,不能完全避免食物过敏的发生,仍需要通过其他治疗手段对食物过敏进行治疗。目前针对食物过敏的治疗方法主要包括过敏原特异性免疫疗法和非特异性免疫疗法两类。过敏原特异性免疫疗法在脱敏方面具有显著的功效,但是可能引起过敏反应及胃肠道症状等全身性副作用。非特异性免疫疗法包括抗过敏药物、单克隆抗体、天然生物活性物质等。抗过敏药物主要包括抗组胺药物、肾上腺素和糖皮质激素等,其作用效果迅速,但可能会产生耐药性和药物副作用。单克隆抗体主要包括单克隆抗IgE抗体和抗IL-5单克隆抗体等,均已成功用于食物过敏的治疗中,但需要有资质的医疗机构才可以实施。天然生物活性物质包括海藻或非藻类来源的多糖、中药和药用植物等,其功效已得到了广泛的研究,是预防或治疗各种免疫疾病的重要来源。

[0004] 因此,仍需继续寻找一种药物或治疗方式,既能够用于预防和/或治疗食物过敏,也不会给患者带来副作用,并且还应用于各类别的患者,对患者具有良好的耐受性。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是为了提供一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元,该后生元的透明质酸酶抑制率高,抗食物过敏效果好。

[0006] 同时,本发明的目的是为了提供一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌JY56后生元在制备治疗/缓解或辅助治疗/缓解食物过敏的药品中的应用。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案为:

[0008] 一种缓解食物过敏的副干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus Paracasei*) JY56后生元,5%副干酪乳杆菌JY56接种于发酵培养基中培养18h获得发酵液,将发酵液在6000r/min的条件下,离心5min,弃去上清液,收集菌体,并用无菌PBS洗涤,重悬成菌悬液,调整菌浓度

为 $5 \times 10^9$ CFU/mL,将菌悬液进行热处理85℃,30min后,获得灭活副干酪乳杆菌JY56;准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的超声介质温度维持在 $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ;将灭活副干酪乳杆菌JY56在520W功率下处理10min,频率为25kHz,超声探头于水面下4cm进行工作5s、间歇5s的超声处理,超声处理后获得副干酪乳杆菌JY56的后生元。

[0009] 灭活副干酪乳杆菌JY56中含有的菌细胞的数量是 $5 \times 10^9$ 个/mL。

[0010] 无菌PBS洗涤3次;超声介质的深度为9cm。

[0011] 超声探头直径为15mm,超声探头的变幅杆直径为3mm。

[0012] 发酵培养基为MRS液体培养基。

[0013] 一种副干酪乳杆菌JY56的后生元在制备治疗/缓解或辅助治疗/缓解食物过敏的药品中的应用。

[0014] 食物过敏是卵清蛋白OVA诱导引发的。

[0015] 治疗/缓解食物过敏是降低血清中特异性抗体、过敏介质、炎症因子;促进过肠道紧密连接相关因子的表达;促进小鼠肠道短链脂肪酸的生成。

[0016] 短链脂肪酸包括乙酸、丙酸和丁酸。

[0017] 药品的剂型包括颗粒剂、胶囊剂、片剂、丸剂或口服液。

[0018] 本发明具有以下有益效果:

[0019] 本发明筛选得到了一株副干酪乳杆菌JY56,此副干酪乳杆菌JY56制备的后生元具有缓解食物过敏的作用,具体体现在:

[0020] (1)显著改善小鼠临床过敏症状;

[0021] (2)显著降低血清中的特异性抗体、过敏介质及炎症因子水平;

[0022] (3)促进过敏小鼠肠道紧密连接相关因子的表达;

[0023] (4)显著促进小鼠肠道短链脂肪酸的生成。

[0024] 因此,副干酪乳杆菌JY6制备的后生元在制备缓解食物过敏相关的疾病的产品中,具有巨大的应用前景。

## 附图说明

[0025] 图1为不同超声功率处理后的后生元的透明质酸酶抑制率对比图;

[0026] 图2为连续超声工作和间歇超声工作的后生元的透明质酸酶抑制率对比图;

[0027] 图3为不同超声位置处理后的后生元的透明质酸酶抑制率对比图;

[0028] 图4为不同超声温度处理后的后生元的透明质酸酶抑制率对比图;

[0029] 图5为OVA诱导后各组小鼠体重变化图;

[0030] 图6为OVA诱导后各组小鼠直肠温度变化图;

[0031] 图7为OVA诱导后各组小鼠过敏症状评分图;

[0032] 图8为OVA诱导后各组小鼠血清中OVA-sIgE抗体(卵清蛋白特异性IgE抗体)的含量变化图;

[0033] 图9为OVA诱导后各组小鼠血清中OVA-sIgG抗体(卵清蛋白特异性IgG抗体)的含量变化图;

[0034] 图10为OVA诱导后各组小鼠血清中组胺(HIS)的含量变化图;

[0035] 图11为OVA诱导后各组小鼠血清中小鼠肥大细胞蛋白酶(MMCP-1)的含量变化图;

- [0036] 图12为OVA诱导后各组小鼠血清中促炎因子IL-4(白细胞介素-4)的含量变化图;
- [0037] 图13为OVA诱导后各组小鼠血清中促炎因子IFN- $\gamma$ (干扰素- $\gamma$ )的含量变化图;
- [0038] 图14为OVA诱导后各组小鼠血清中促炎因子IL-17A(白细胞介素-17A)的含量变化图;
- [0039] 图15为OVA诱导后各组小鼠血清中促炎因子TNF- $\alpha$ (肿瘤坏死因子- $\alpha$ )的含量变化图;
- [0040] 图16为各组小鼠空肠组织中紧密连接蛋白Claudin-1的含量变化图;
- [0041] 图17为各组小鼠空肠组织中紧密连接蛋白Occludin的含量变化图;
- [0042] 图18为各组小鼠空肠组织中紧密连接蛋白ZO-1的含量变化图;
- [0043] 图19为各组小鼠空肠组织中黏蛋白MUC-2的含量变化图;
- [0044] 图20为各组小鼠盲肠内容物乙酸的含量变化图;
- [0045] 图21为各组小鼠盲肠内容物丙酸的含量变化图;
- [0046] 图22为各组小鼠盲肠内容物丁酸的含量变化图。

### 具体实施方式

[0047] 下面结合附图对本发明作更进一步的说明。

[0048] 本发明中,副干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus Paracasei*) JY56保藏于广东省微生物菌种保藏中心,保藏日期为2022年11月21日,保藏号是GDMCC NO.62988,保藏地址是:广州市先烈中路100号大院59号楼5楼,广东省科学院微生物研究所,发明人通过菌种保藏中心购买得到。

[0049] 下述实施例中涉及的BALB/c小鼠购自北京维通利华公司。

[0050] 下述实施例中涉及的培养基如下:

[0051] MRS液体培养基:酵母粉5.0g/L、牛肉膏10.0g/L、蛋白胨10.0g/L、葡萄糖20.0g/L、无水乙酸钠2.0g/L、柠檬酸氢二胺2.0g/L、磷酸氢二钾2.6g/L、一水合硫酸锰0.25g/L、七水合硫酸镁0.5g/L、吐温-80 1mL/L,加水至1L。

[0052] MRS固体培养基:酵母粉5.0g/L、牛肉膏10.0g/L、蛋白胨10.0g/L、葡萄糖20.0g/L、无水乙酸钠2.0g/L、柠檬酸氢二胺2.0g/L、磷酸氢二钾2.6g/L、一水合硫酸锰0.25g/L、七水合硫酸镁0.5g/L、吐温-80 1mL/L以及琼脂20.0g/L,溶剂为水(测定菌浓度使用固体培养基)。

[0053] 一、副干酪乳杆菌JY56灭活前培养

[0054] 副干酪乳杆菌JY56灭活前培养的方法是:5%副干酪乳杆菌JY56接种于发酵培养基(即MRS液体培养基)中培养18h获得发酵液,将发酵液在6000r/min的条件下,离心5min,弃去上清液,收集菌体,并用无菌PBS洗涤3次,重悬成菌悬液,调整菌浓度为 $5 \times 10^9$ CFU/mL,将菌悬液进行热处理(85 $^{\circ}$ C,30min的热处理)后,获得灭活副干酪乳杆菌JY56,灭活副干酪乳杆菌JY56中含有的菌细胞的数量是: $5 \times 10^9$ 个/mL。

[0055] 二、灭活副干酪乳杆菌JY56制备后生元

[0056] 准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的介质温度维持在4 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C。分别在130、260、390、520、650W功率下处理10min,频率为25kHz,超声探头直径为15mm,变幅杆直径为3mm,无超声处理组(即灭活副干酪乳杆菌JY56)为对照组。超声

探头于水面下4cm进行工作5s、间歇5s的不同功率超声处理(水深为9cm),超声处理后获得副干酪乳杆菌JY56的后生元。测定不同超声处理条件下的后生元透明质酸酶抑制率。

[0057] 后生元透明质酸酶抑制率测定方法:

[0058] 根据后生元样品数量对试管进行标记,不同超声功率处理后的后生元样品均进行如下操作:向A、C试管中加入0.5mL、800U/mL的透明质酸酶溶液,B、D试管中加入pH=5.6的醋酸缓冲液,同时向A、B、C、D试管中分别加入0.1mL、2.5mmol/L的氯化钙溶液,37℃处理20min。取后生元样品0.5mL于A、B试管,蒸馏水0.5mL于C、D试管,37℃处理20min。向A、C试管中加入0.5mL、0.4mg/mL的透明质酸钠溶液,B、D试管中加入pH=5.6的醋酸缓冲液,37℃处理40min,室温静置10min。同时向四只试管中分别加入0.5mL乙酰丙酮溶液和0.1mL、0.4mol/mL的氢氧化钠溶液,振荡混匀,沸水浴15min后,立即冰浴10min,冷却至室温。向四只试管中分别缓慢加入1mL的Ehrlich试剂,振荡混匀,室温静置显色30min,在530nm波长下测定各试管吸光度,以*L. rhamnosus* GG作为对照菌株(*L. rhamnosus* GG对照菌株的处理方式为:用无菌PBS将*L. rhamnosus* GG重悬成菌悬液,调整菌浓度为 $5 \times 10^9$ CFU/mL,再热灭活(85℃,30min的热处理))。根据下述式(1)计算样品透明质酸酶抑制率。

[0059] 透明质酸酶抑制率(%)=[(C-D)-(A-B)]/(C-D)×100 (1)

[0060] 式(1)中:A-实验组吸光度(透明质酸酶溶液+试样+透明质酸钠溶液);

[0061] B-试样空白组吸光度(醋酸缓冲液+试样+醋酸缓冲液);C-对照组吸光度(透明质酸酶溶液+蒸馏水+透明质酸钠溶液);D-空白组吸光度(醋酸缓冲液+蒸馏水+醋酸缓冲液)。

[0062] 如图1所示,520W功率的超声条件下,后生元的透明质酸酶抑制率最高,达到55.61%,*L. rhamnosus* GG对照菌株的透明质酸酶抑制率为45.68%,无超声处理组(即灭活副干酪乳杆菌JY56)的透明质酸酶抑制率为43.47%。准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的介质温度维持在4℃±2℃。在520W功率下超声处理副干酪乳杆菌JY56后生元,频率为25kHz,超声探头直径为15mm,变幅杆直径为3mm,超声探头位于水面下4cm。改变工作方式(1)连续工作10min,(2)工作5s、间歇5s,工作10min。

[0063] 如图2所示,连续超声工作的后生元的透明质酸酶抑制率显著低于间歇超声工作的透明质酸酶抑制率。

[0064] 准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的介质温度维持在4℃±2℃。在520W功率下超声处理副干酪乳杆菌JY56后生元,频率为25kHz,超声探头直径为15mm,变幅杆直径为3mm,超声探头分别位于水面下3、4、5cm。

[0065] 如图3所示,超声探头位于水面下4cm时,透明质酸酶抑制率最高。

[0066] 在520W功率下超声处理副干酪乳杆菌JY56后生元,频率为25kHz,超声探头直径为15mm,变幅杆直径为3mm,超声探头分别位于水面下4cm。(1)在室温下工作,水为超声介质(23℃±2℃);(2)在低温下工作,准备冰水混合物作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的介质温度维持在4℃±2℃;(3)在高温下工作,准备80℃水作为超声介质,通过添加冰块的方式,使超声处理时的介质温度维持在80℃±2℃;

[0067] 如图4所示,低温(4℃±2℃)下超声获得的后生元的透明质酸酶抑制率最高。

[0068] 结果表明,在低温(4℃±2℃)下工作,520W功率超声处理副干酪乳杆菌JY56后生元,频率为25kHz,超声探头直径为15mm,变幅杆直径为3mm,超声探头位于水面下4cm,副干酪乳杆菌JY56后生元的透明质酸酶抑制率最高,为55.61%,具有最高的抗过敏活性。

[0069] 三、副干酪乳杆菌JY56后生元对食物过敏小鼠的缓解作用

[0070] 实验动物选用56只雌性BALB/c小鼠(5周龄),以 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的温度和 $55\pm 5\%$ 的湿度喂养,12h昼夜交替,小鼠自由采食和饮水。适应喂养一周后,将小鼠随机分成7组( $n=8$ 只/组):正常组(NC)、OVA致敏组(OVA)、低剂量超声处理后生元组(LLP, $1\times 10^7$ 个/d)、中剂量超声处理后生元组(MLP, $1\times 10^8$ 个/d)、高剂量超声处理后生元组(HLP, $1\times 10^9$ 个/d)、未超声处理后生元组(LP, $1\times 10^9$ 个/d)、对照组(LGG, $1\times 10^9$ 个/d)。正常组小鼠在第0天和第14天腹腔注射 $200\mu\text{L}$ 的PBS,其余各组小鼠分别在第0天和第14天腹腔注射 $50\mu\text{g}$  OVA和 $2\text{mg}$ 氢氧化铝佐剂(溶于 $200\mu\text{L}$ 的PBS中)。除正常组外,各组小鼠分别在第28、31、34、37、40、43天口服灌胃 $50\text{mg}$  OVA进行激发,共6次。除正常组(NC)和OVA致敏组(OVA)外,其余各组小鼠每天(即0~43天)灌胃 $200\mu\text{L}$ 不同剂量的菌液。

[0071] 在第0、14、28、31、34、37、40、43天测定各组小鼠体重并记录,共测定8次。最后一次刺激时,用肛温温度计测量并记录刺激前后小鼠的直肠温度,计算各组小鼠在刺激前后体温的变化,每组选取3只进行测定。灌胃1h内观察各组小鼠过敏症状,进行评分。共分为5级:0分=无症状;1分=抓耳朵、鼻子;2分=眼睛、耳朵肿,呼吸急促,不活跃;3分=嘴巴、尾巴出现疹子,哮喘,呼吸困难;4分=灌胃后不动,肌肉收缩,抽筋;5分=死亡,休克。

[0072] 结果如图5所示,为OVA诱导后各组小鼠体重变化,可以看出从第2次口服灌胃激发后部分处理组小鼠体重出现下降趋势,最后一次激发后,副干酪乳杆菌JY56后生元干预组小鼠体重均高于模型组,其中OVA组小鼠体重较NC组和HLP组均具有显著性差异( $P<0.05$ )。如图6所示,为OVA诱导后各组小鼠直肠温度变化,用肛温温度计测量OVA激发1h后各组小鼠的体温,OVA组小鼠体温下降最为显著,下降 $0.92\pm 0.040^{\circ}\text{C}$ ,灌胃副干酪乳杆菌JY56后生元后各组小鼠体温均显著高于模型组,且呈现剂量趋势,其中MLP组、HLP组体温变化均趋于正常组,无显著性差异( $P<0.05$ )。如图7所示,为OVA诱导后各组小鼠过敏症状评分,NC组无明显的过敏反应,OVA组小鼠在灌胃激发后表现出挠鼻、抽搐、哮喘等过敏症状,而在灌胃副干酪乳杆菌JY56后生元后过敏症状有所缓解,且呈现剂量趋势。

[0073] 在实验第44天,小鼠隔夜禁食不禁水12h后断颈处死,取出脾脏、结肠、空肠等组织,并在生理盐水中漂洗、过滤。部分脾脏、空肠组织用4%的多聚甲醛溶液固定,常温保存,用于病理学分析。其余组织均用无酶管收集编号,迅速冻存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。血清样本 $4^{\circ}\text{C}$ 下 $3000\text{r}/\text{min}$ 离心20min,收集上层血清并冻存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

[0074] 取小鼠血清,使用酶联免疫试剂盒进行特异性抗体、炎症介质及细胞因子的测定,所测指标包括:卵清蛋白特异性IgE抗体(OVA-sIgE)、卵清蛋白特异性IgG抗体(OVA-sIgG)、组胺(HIS)、小鼠肥大细胞蛋白酶(MMCP-1)、IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-17A和TNF- $\alpha$ ,结果如图8~图15。

[0075] 实验结果如图8所示。图8为OVA诱导后各组小鼠血清中OVA-sIgE抗体的含量变化,OVA组的OVA-sIgE抗体水平显著高于NC组,与OVA组相比灌胃不同剂量副干酪乳杆菌JY56后生元均可以显著降低小鼠血清中OVA-sIgE抗体水平( $P<0.05$ )。图9为OVA诱导后各组小鼠血清中OVA-sIgG抗体的含量变化,OVA干预后显著增加了食物过敏小鼠血清中OVA-sIgG抗体的含量( $P<0.05$ )。与OVA组相比,LLP组、MLP组和HLP组显著降低了食物过敏小鼠血清中OVA-sIgG抗体的含量( $P<0.05$ )。以上结果表明副干酪乳杆菌JY56后生元可以减少小鼠血清中过敏相关的特异性抗体,从而缓解食物过敏症状。



[0076] 实验结果如图10~图11所示。与NC组相比, OVA组小鼠的炎症介质组胺和肥大细胞蛋白酶均显著升高( $P<0.05$ ), 表明OVA引起小鼠食物过敏, 并诱导了多种炎症介质的释放。与OVA组相比, 灌胃低、中、高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元的小鼠的组胺和肥大细胞蛋白酶的含量均有不同程度的降低。其中, 与对照组相比, 灌胃中、高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠血清中的组胺的含量均显著下降( $P<0.05$ ); 灌胃低、中、高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠血清的肥大细胞蛋白酶的含量均显著下降( $P<0.05$ )。结果表明, 副干酪乳杆菌JY56后生元干预食物过敏小鼠可以在不同程度上下调炎症介质的分泌, 进而缓解食物过敏反应, 且具有一定的剂量依赖性。

[0077] 实验结果如图12~图15所示, 与NC组相比, OVA组小鼠的促炎因子IL-4、IL-17A、IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 水平均显著升高( $P<0.05$ )。与OVA组相比, 灌胃低、中、高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠血清的IL-4和IL-17A的含量均显著下降( $P<0.05$ )。不同的是, 灌胃低剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠相较OVA组小鼠而言, TNF- $\alpha$ 的含量没有显著性差异, 但灌胃中、高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠TNF- $\alpha$ 的含量相对OVA组小鼠出现显著性差异( $P<0.05$ )。灌胃低、中剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠血清的IFN- $\gamma$ 含量下降, 但无显著性差异。灌胃高剂量副干酪乳杆菌JY56后生元组小鼠IFN- $\gamma$ 含量相较于OVA组小鼠出现显著下降( $P<0.05$ )。上述结果表明副干酪乳杆菌JY56后生元干预食物过敏小鼠可以在不同程度上调节细胞因子的分泌, 进而对食物过敏小鼠进行免疫调节, 且具有一定的剂量依赖性。

[0078] 取小鼠空肠组织, 采用RT-PCR测定肠道屏障相关基因mRNA的表达, 所测指标包括: 肠道中紧密连接蛋白Claudin-1、Occludin、ZO-1和黏蛋白MUC-2, 结果如图16~图19。

[0079] 结果如图16~图19所示, 与NC组相比, OVA组小鼠中的紧密连接蛋白Claudin-1、Occludin、ZO-1和黏蛋白MUC-2的基因表达量均显著下降( $P<0.05$ )。与OVA组相比, 灌胃低、中、高剂量的副干酪乳杆菌JY56后生元均不同程度上调了紧密连接蛋白Claudin-1、Occludin、ZO-1和黏蛋白MUC-2的基因表达量, 且具有剂量依赖性。结果表明, 副干酪乳杆菌JY56后生元干预后可以增加小鼠肠道中紧密连接蛋白的表达量, 增加黏蛋白MUC-2的转录水平, 改善结肠紧密连接结构, 提高肠道屏障的完整性以缓解食物过敏症状。

[0080] 取小鼠盲肠内容物, 使用气相色谱测定乙酸, 丙酸和丁酸的含量, 结果如图20~图22。

[0081] 结果如图20~图22所示, 与NC组小鼠相比, OVA组小鼠盲肠内容物中所测定的乙酸, 丙酸和丁酸含量显著降低( $P<0.05$ )。与OVA组相比, 在LLP、MLP、HLP组中鼠盲肠内容物中所测定的乙酸, 丙酸和丁酸含量均有不同程度的升高, 其中HLP组效果最好, 与OVA组含量具有显著性差异( $P<0.05$ ), 乙酸, 丙酸和丁酸含量分别升高了67.78%, 51.71%, 140.84% ( $P<0.05$ ), 且显著高于对照组LP及LGG组( $P<0.05$ )。上述结果表明, 副干酪乳杆菌JY56后生元可通过促进短链脂肪酸的生成来发挥其益生调节作用, 进而缓解食物过敏症状。

[0082] 以上所述仅是本发明的优选实施方式, 应当指出: 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以做出若干改进和润饰, 这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

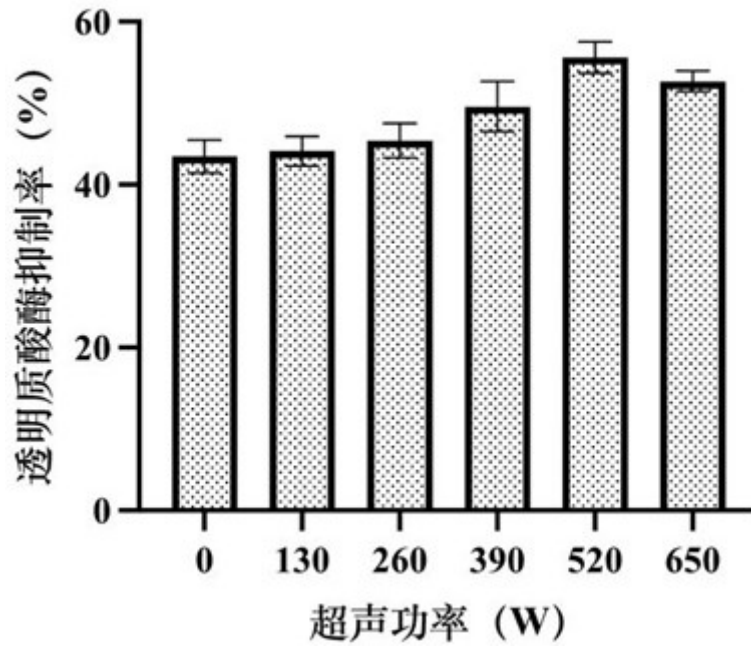


图 1

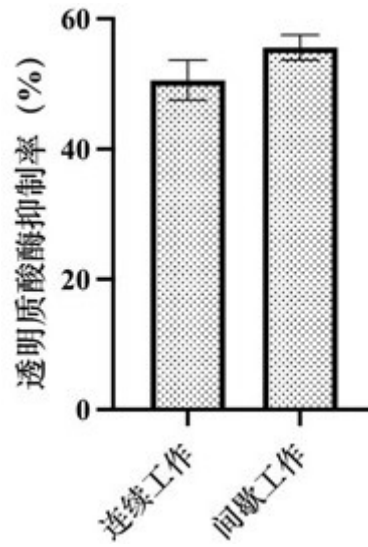


图 2

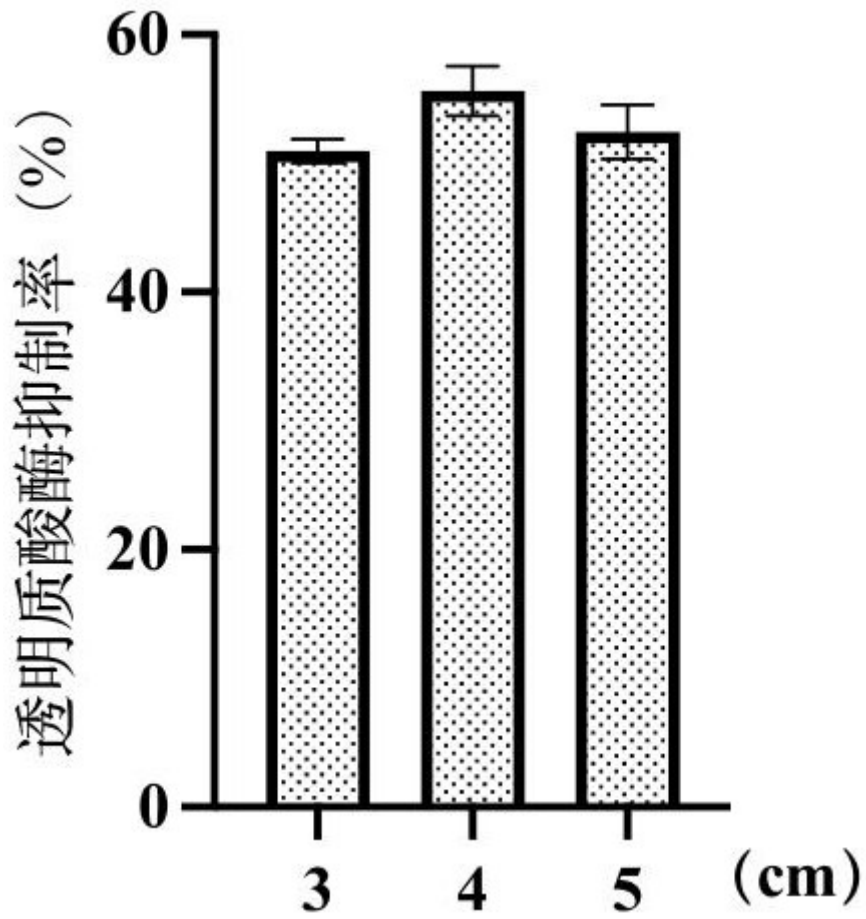


图 3

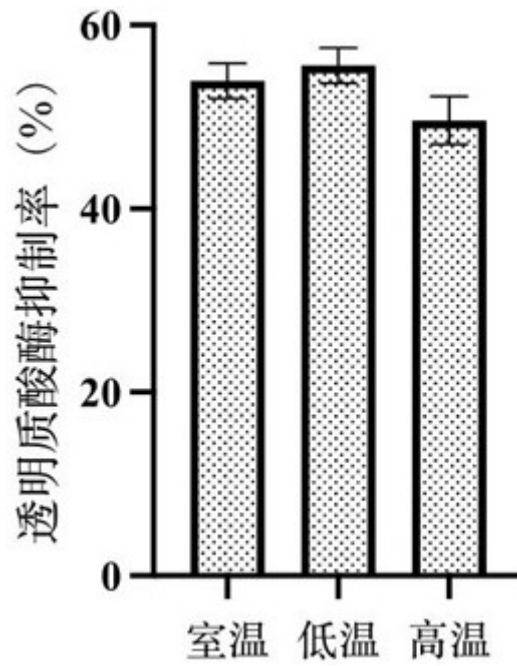


图 4

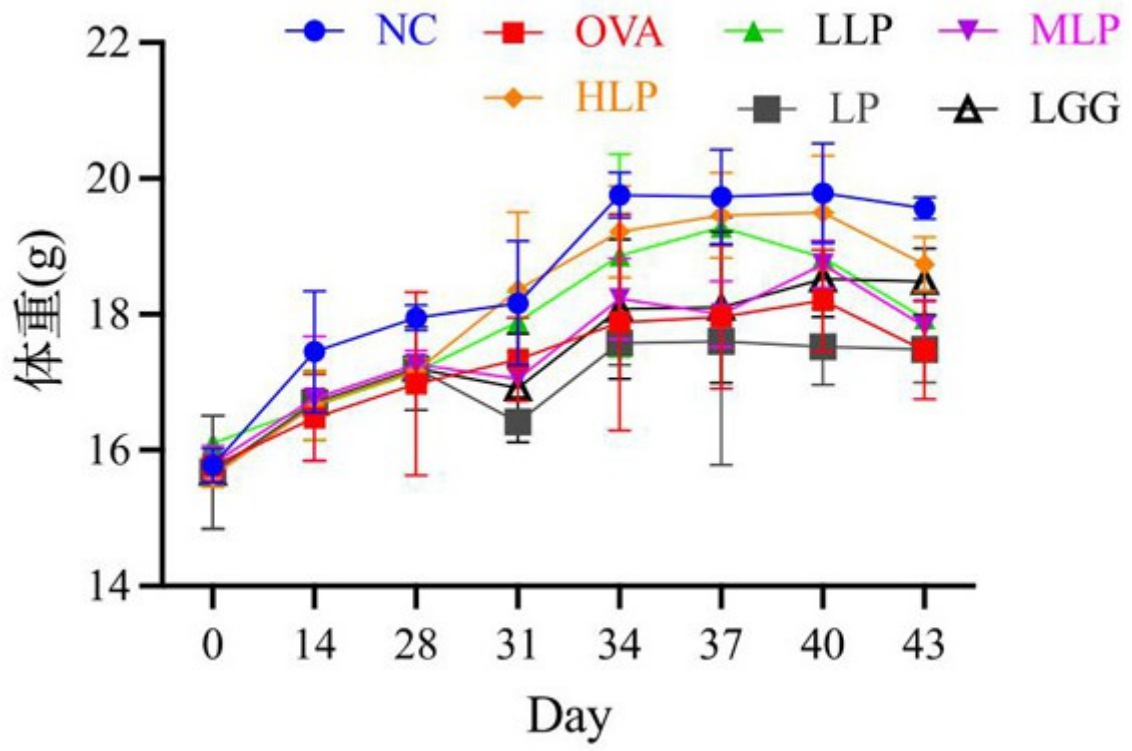


图 5

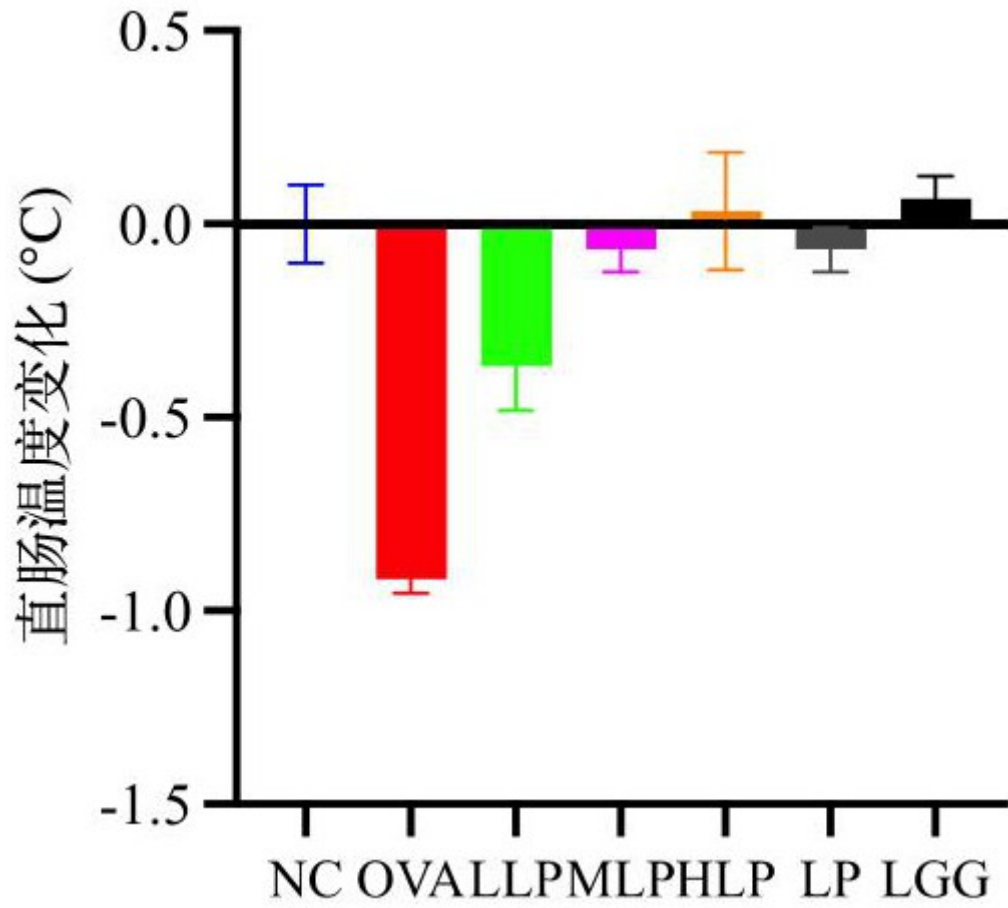


图 6



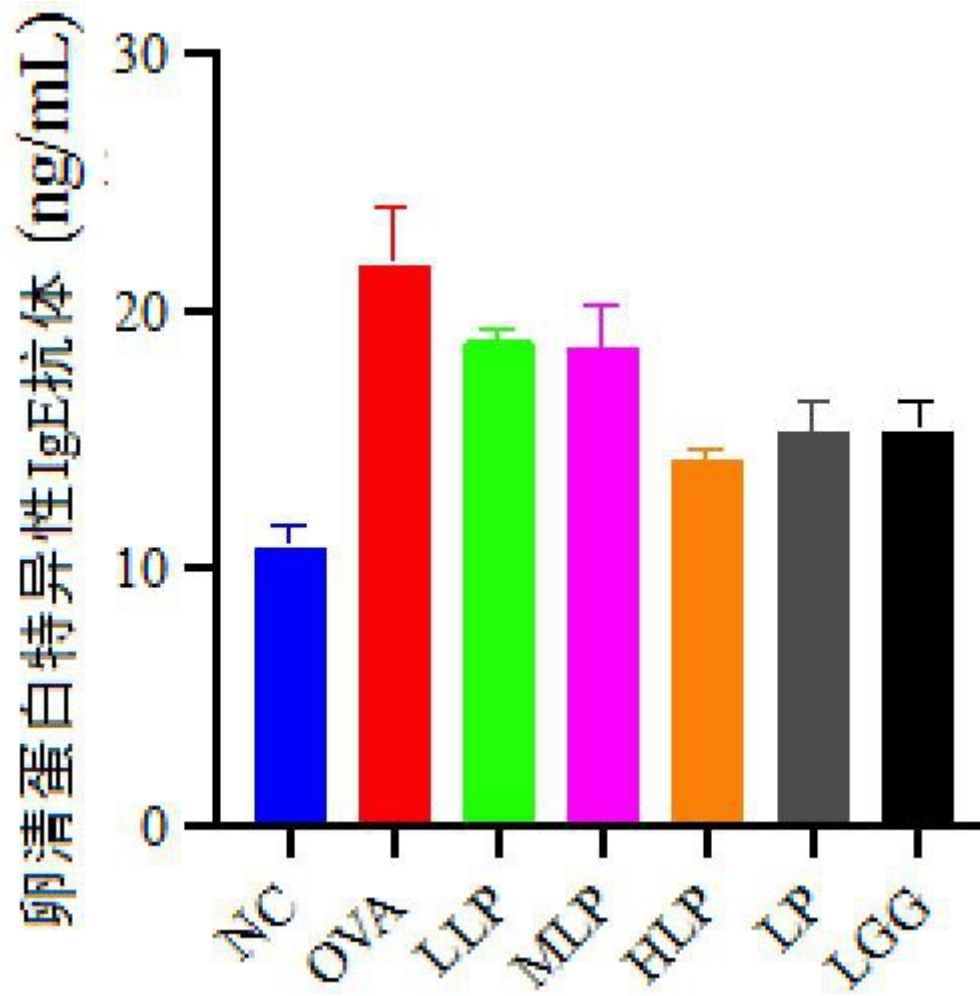


图 8

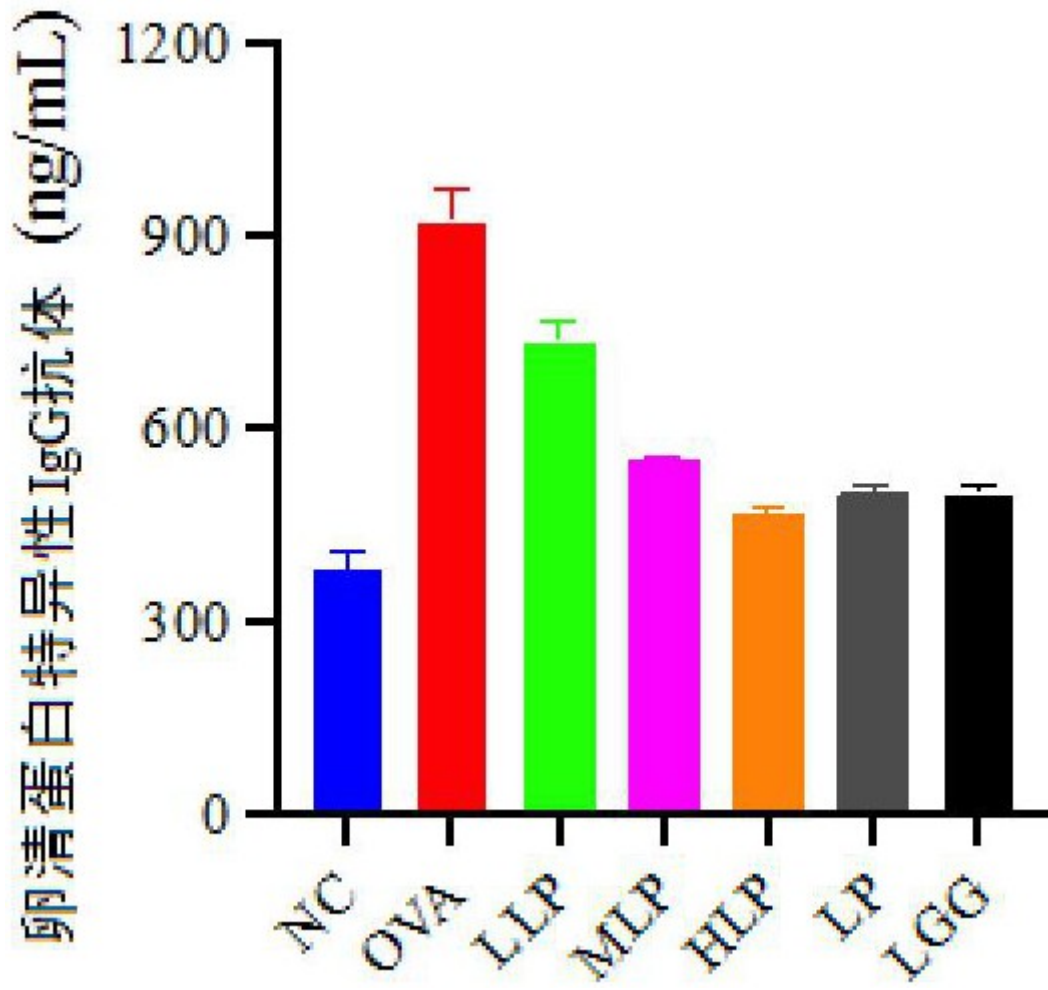


图 9



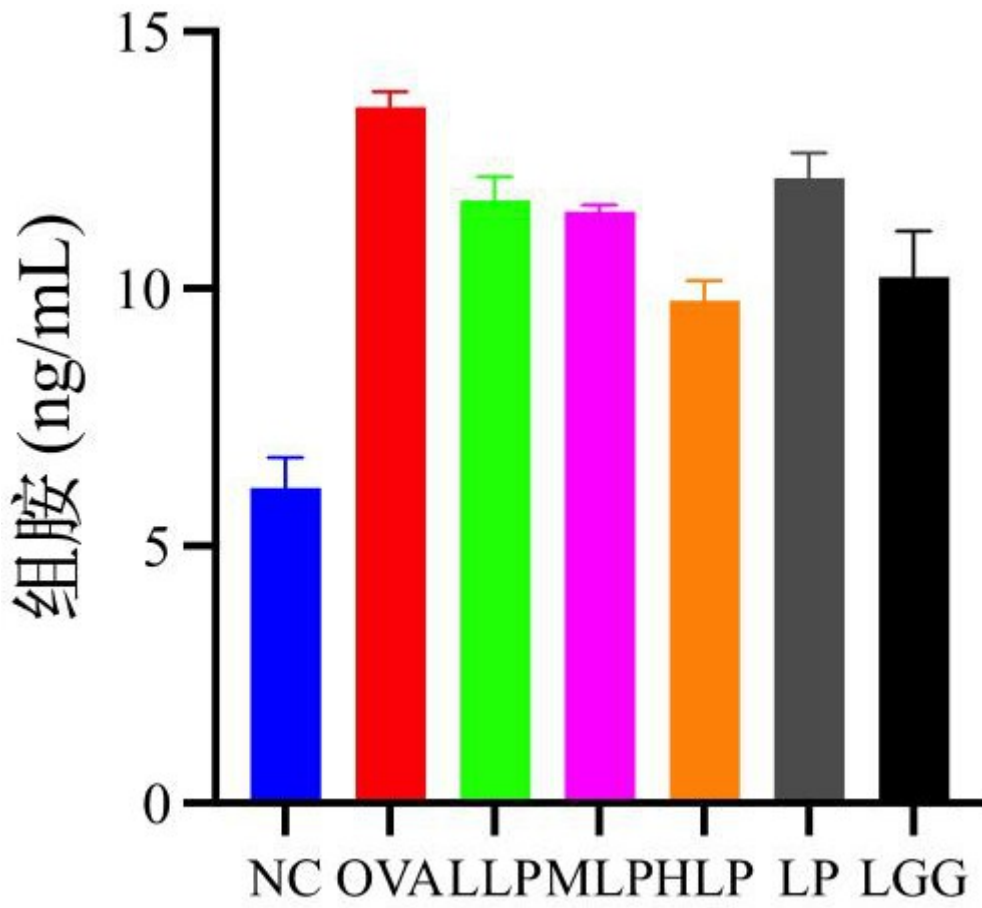


图 10

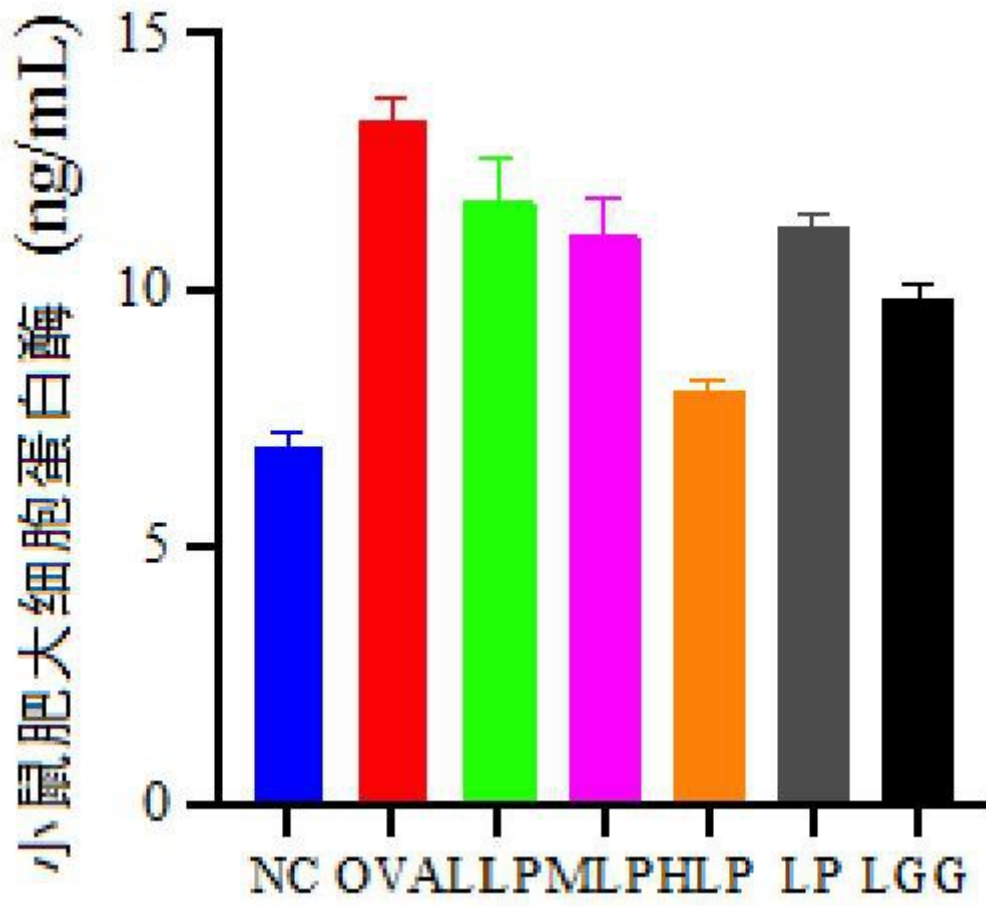


图 11

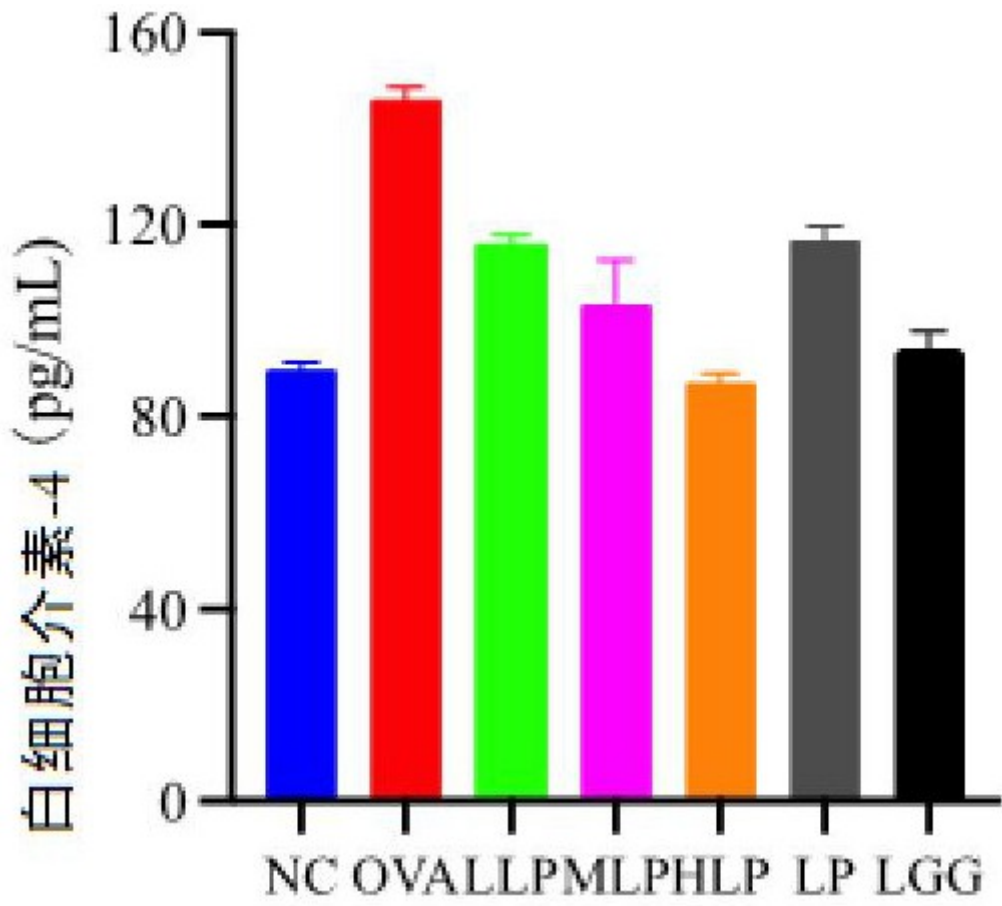


图 12

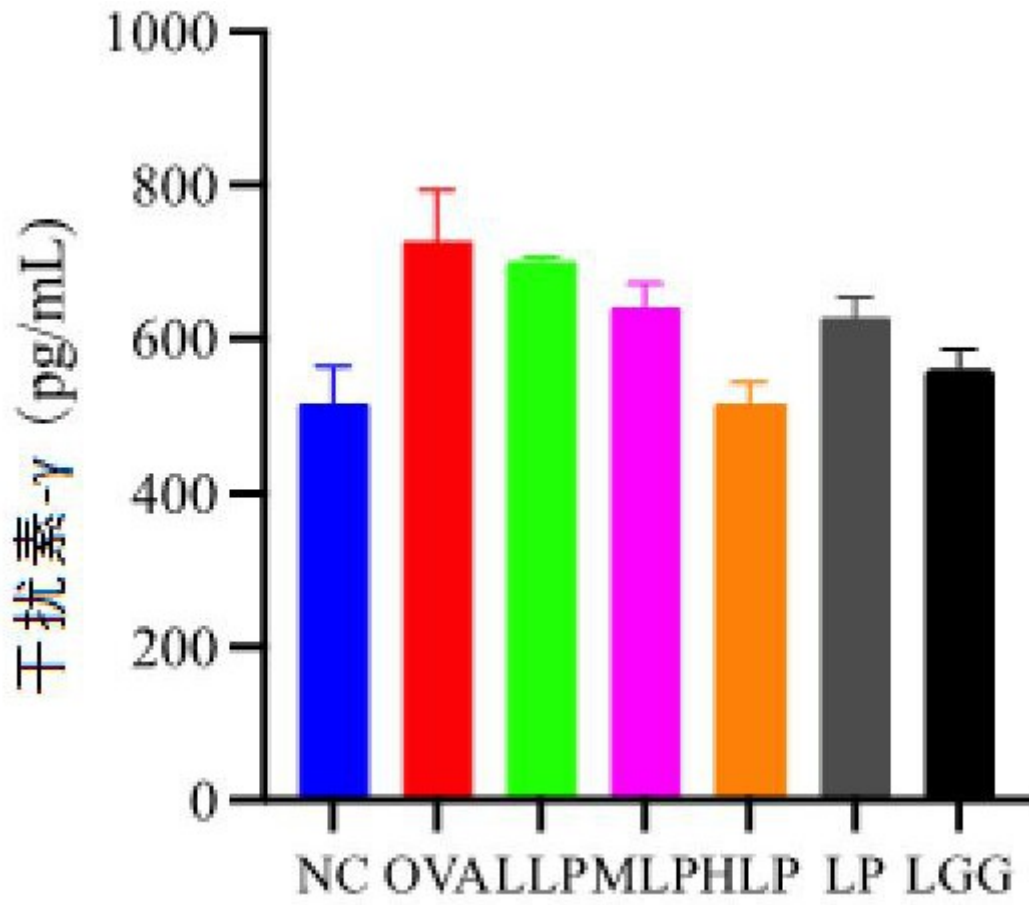


图 13

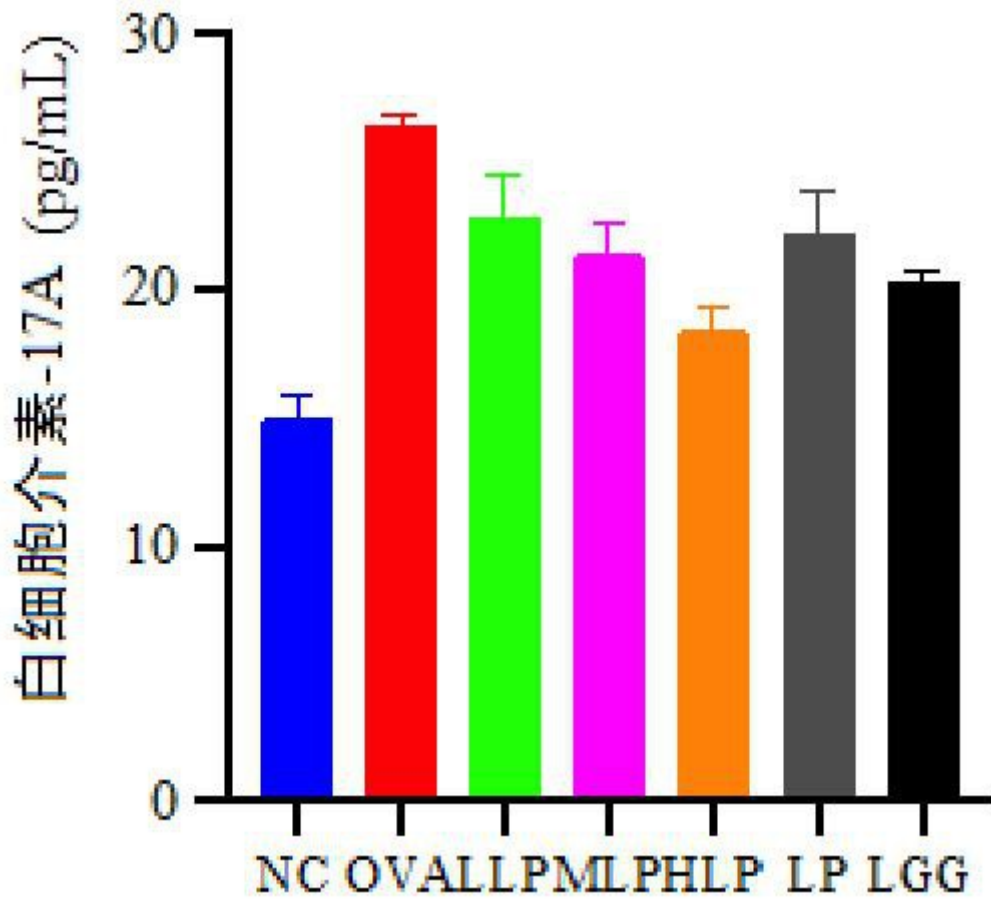


图 14

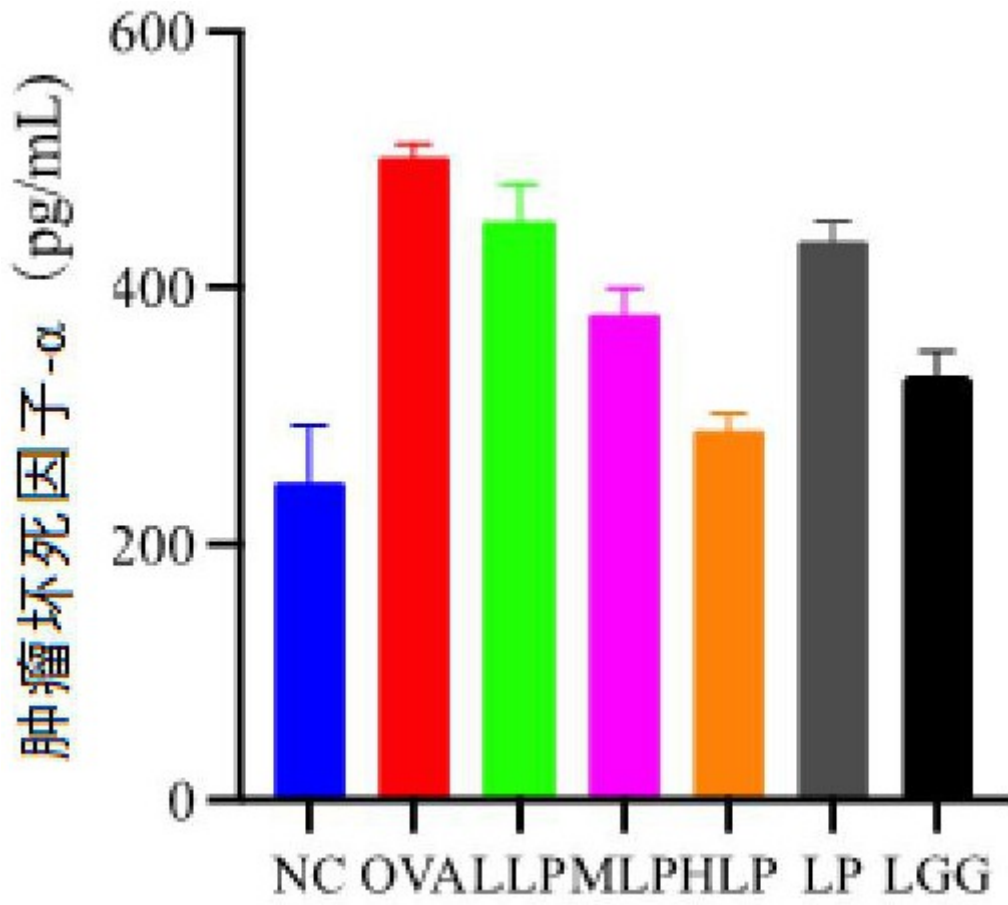


图 15

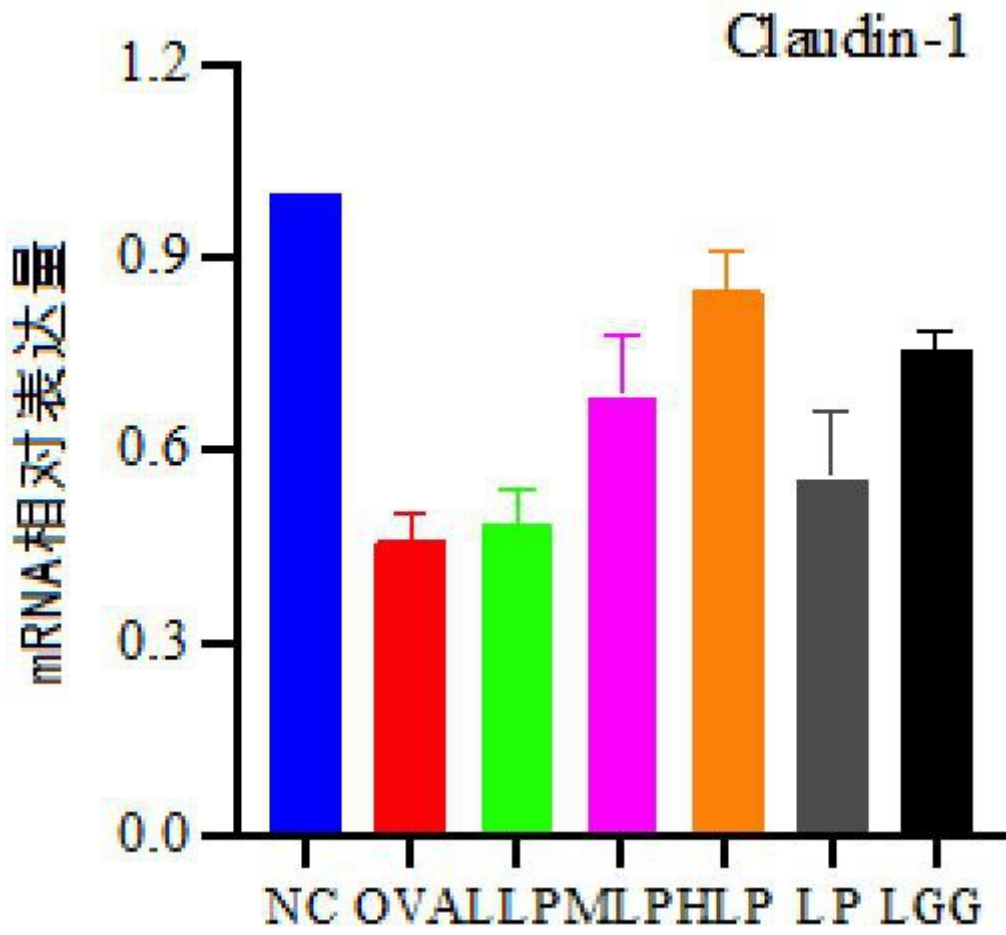


图 16

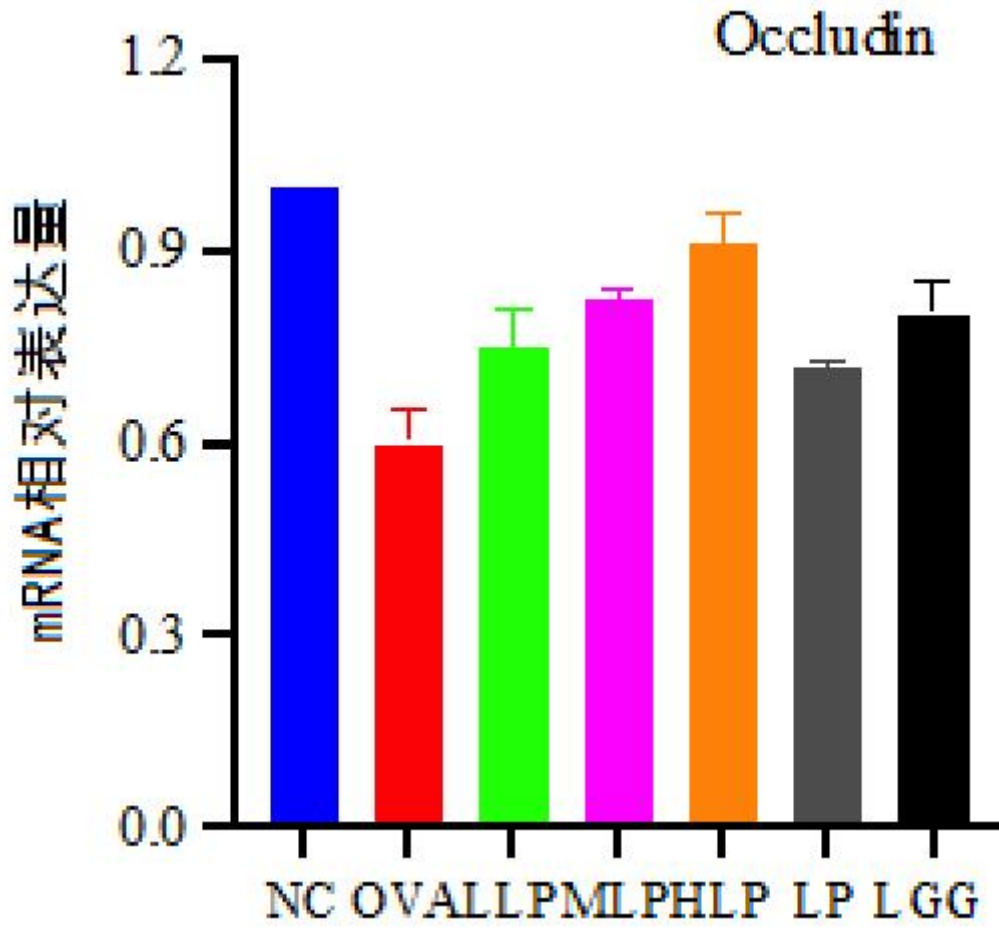


图 17



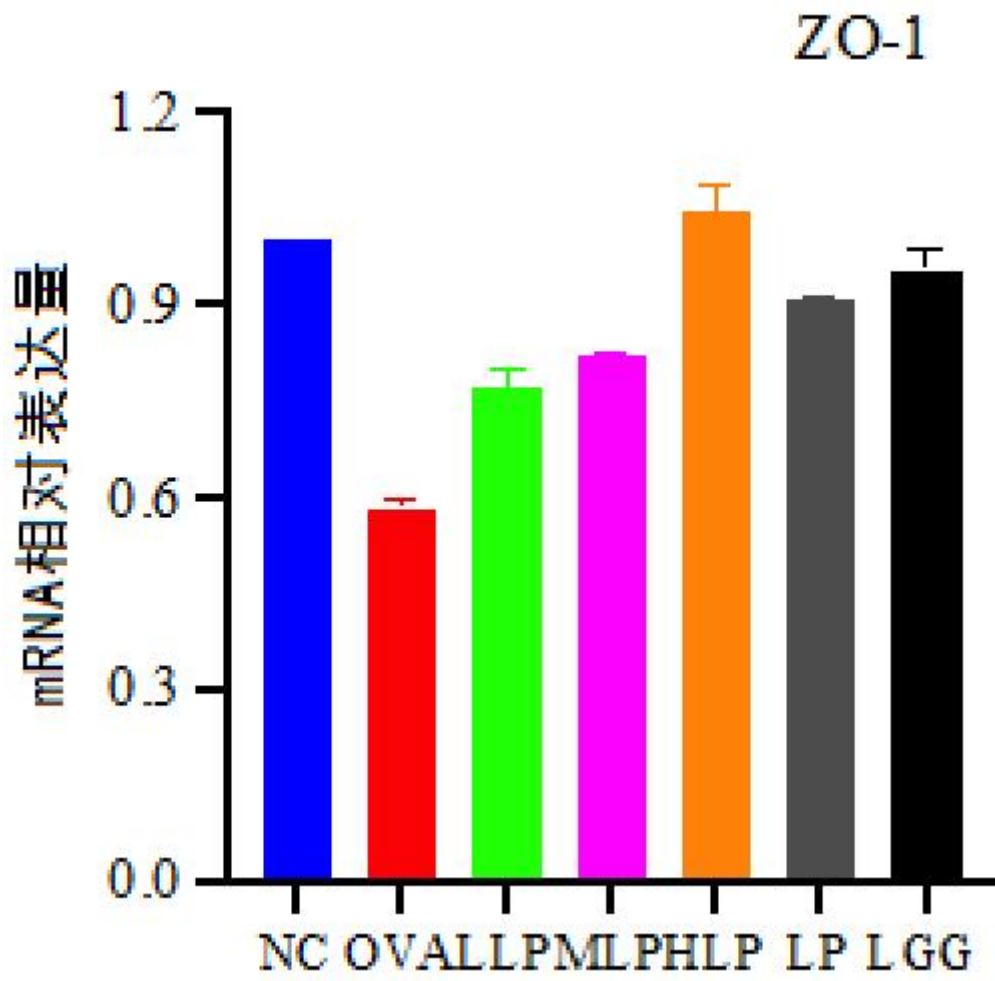


图 18

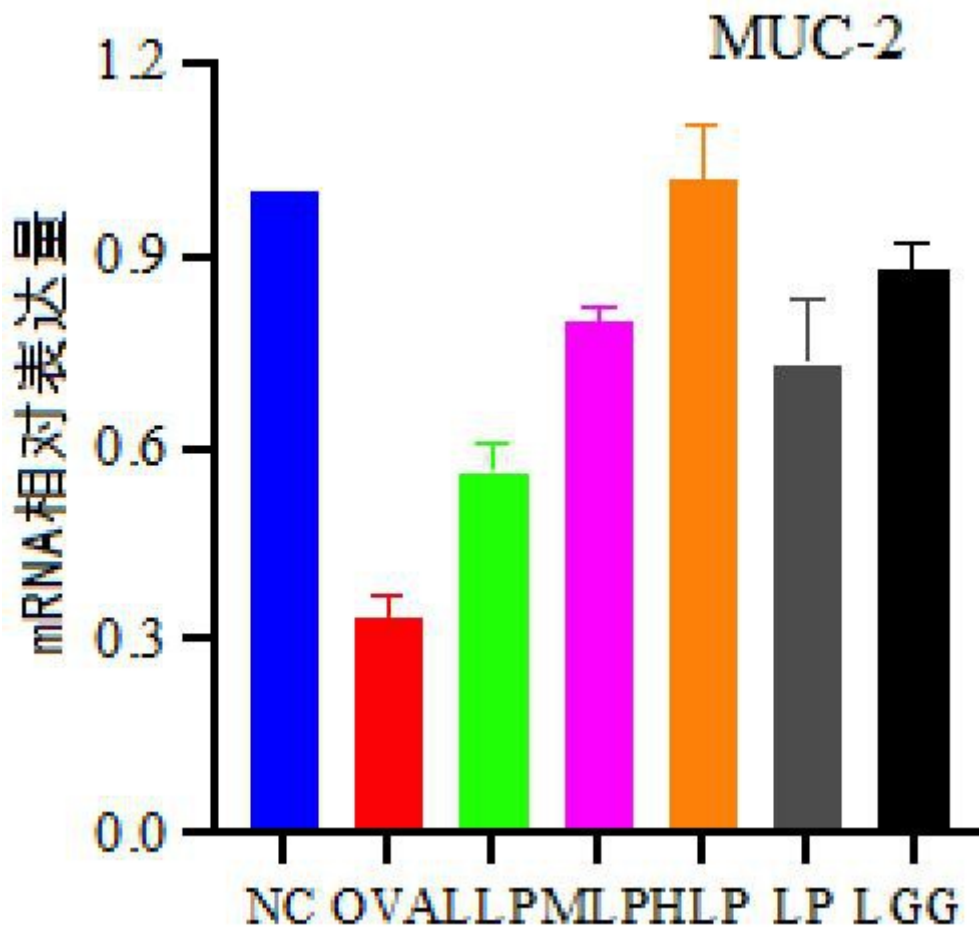


图 19

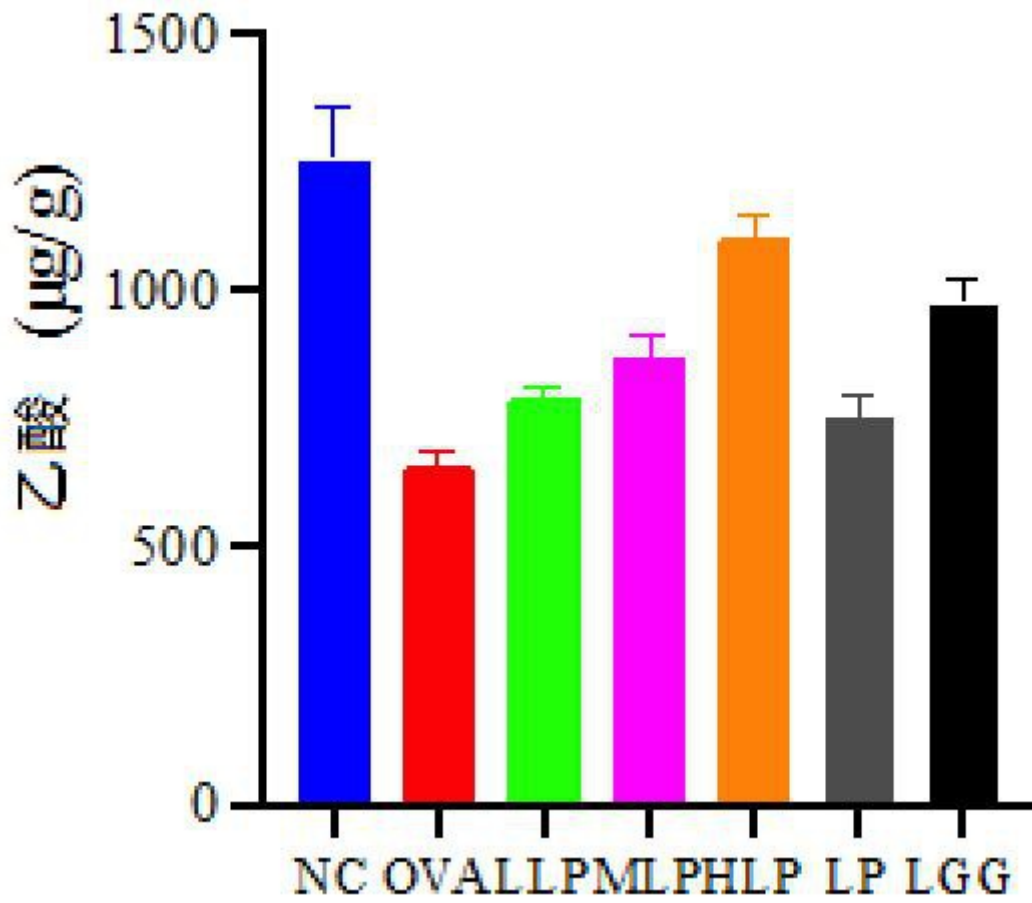


图 20

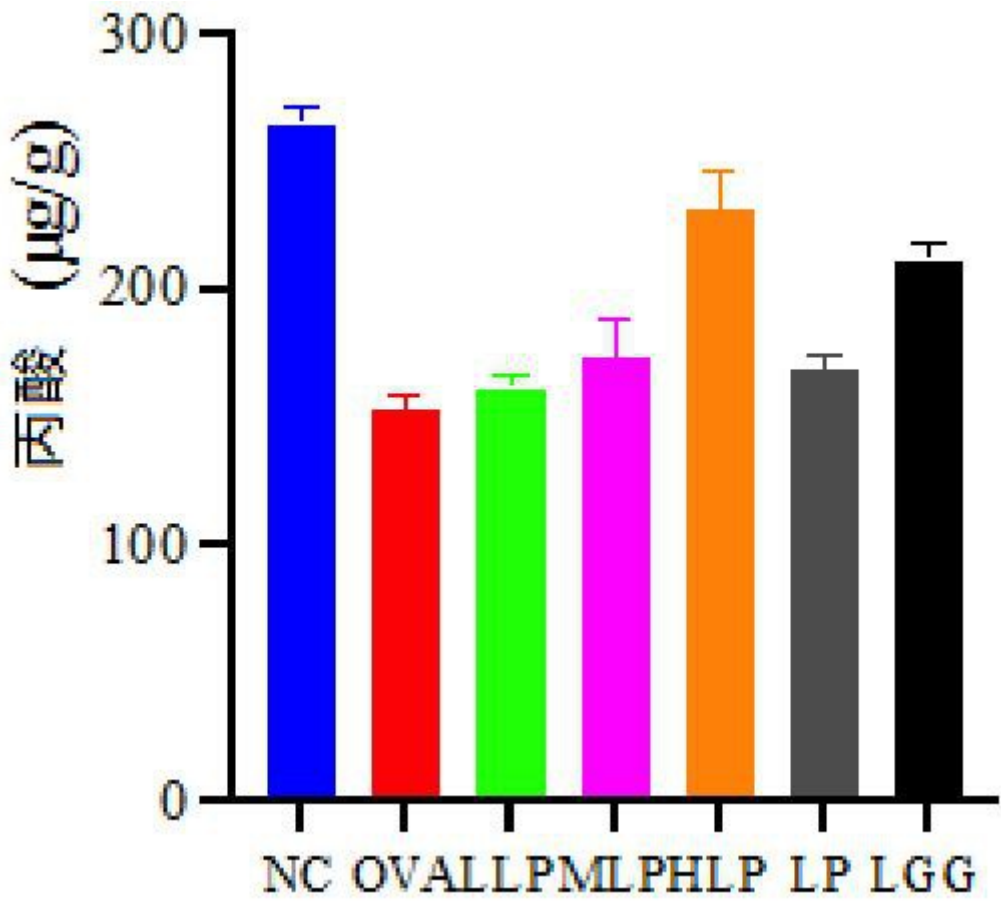


图 21

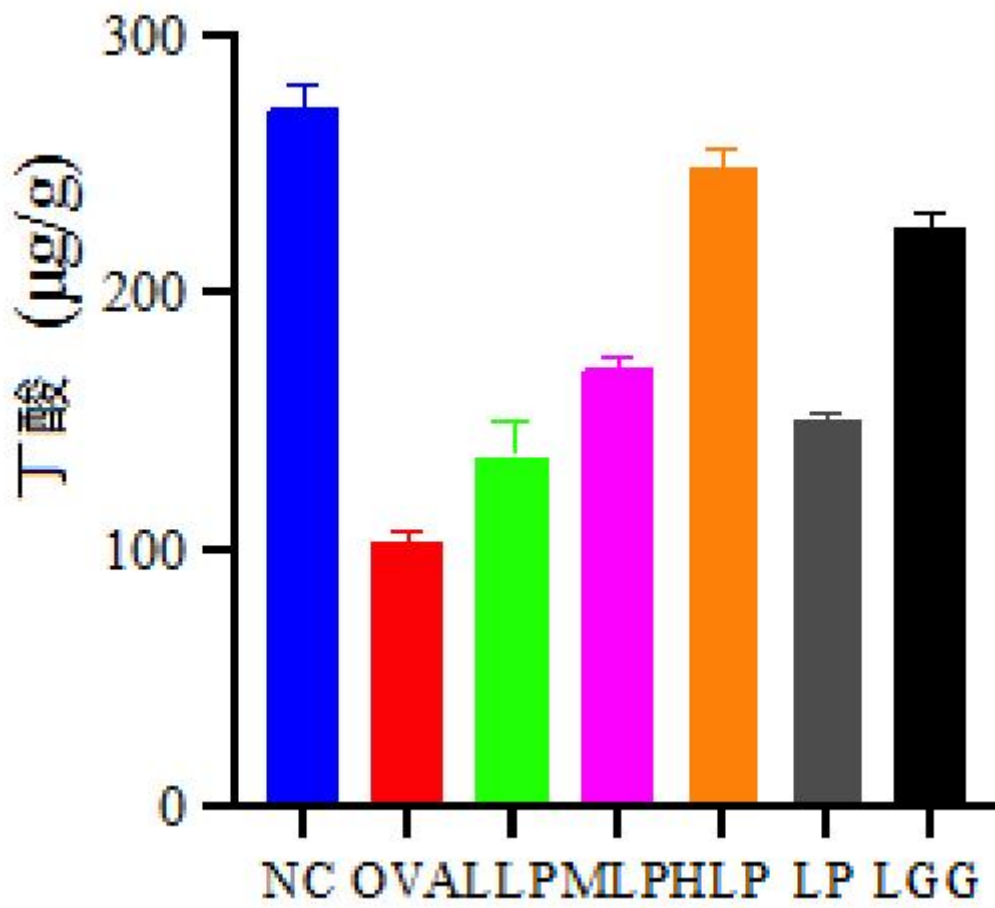


图 22