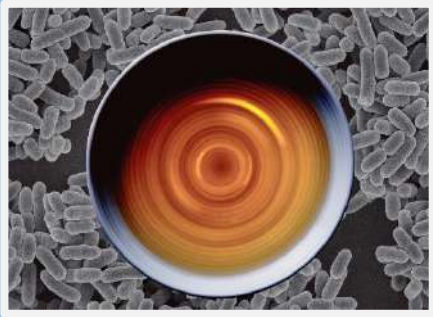


提高免疫力、抗過敏、抗花粉症、  
促進成纖維細胞的增殖、促進透明質酸產  
生、介於外泌體促進膠原蛋白合成的原料

# IMMUNOL®

在植物源性培養基中接種從果實中分離的醋酸菌，通過培養發酵所得的原料。該原料具有通過激活免疫功能達到抑制花粉症及其它過敏性症狀之作用。並且，還具有促進成纖維細胞的增殖，促進透明質酸產生等護膚美容之效果。



## 免疫平衡～提高先天性免疫力～

- 醋酸菌發酵物IMMUNOL的有效成分之一的脂多糖(LPS), 是構成以醋酸菌等革蘭氏陰性菌的細胞壁的主成分, 具有維持身體的正常免疫平衡, 提高自然治愈力以及促進皮膚的新陳代謝之效果
- IMMUNOL能激活巨噬細胞的活性
- 與乳酸菌並用, 通過兩者之間的增效作用使巨噬細胞的活性更為提高 (專利第7165363号)
- 攝取IMMUNOL能增加黏膜的免疫功能, 因此可將它作為防止外來病原體入侵預防感染的原料

## 免疫平衡～改善過敏體質～

- IMMUNOL具有抑制 I 型超過敏反應(IgE介導)的過敏症狀, 尤其可望其對花粉症以及過敏性皮膚炎的抑制效果

## 介於巨噬細胞或外泌體促進成纖維細胞的活性化 ～美容效果～

- IMMUNOL具有介於促進巨噬細胞的活性, 促進成纖維細胞的增殖和促進透明質酸的生成作用
- IMMUNOL中富含源於醋酸菌的外泌體, 介於這些外泌體達到促進成纖維細胞生成膠原蛋白的作用。  
(專利申請中)

製品名	醋酸菌發酵物
名称	醋酸菌發酵物含有食品
原材料名	糊精、醋酸菌發酵物(含大豆)
推薦使用量	50～100 mg/日
内容量	1kg/鋁袋
保存方法	避免於直射陽光和高溫多濕處保存
食用期限	生產日起3年(未開封時)

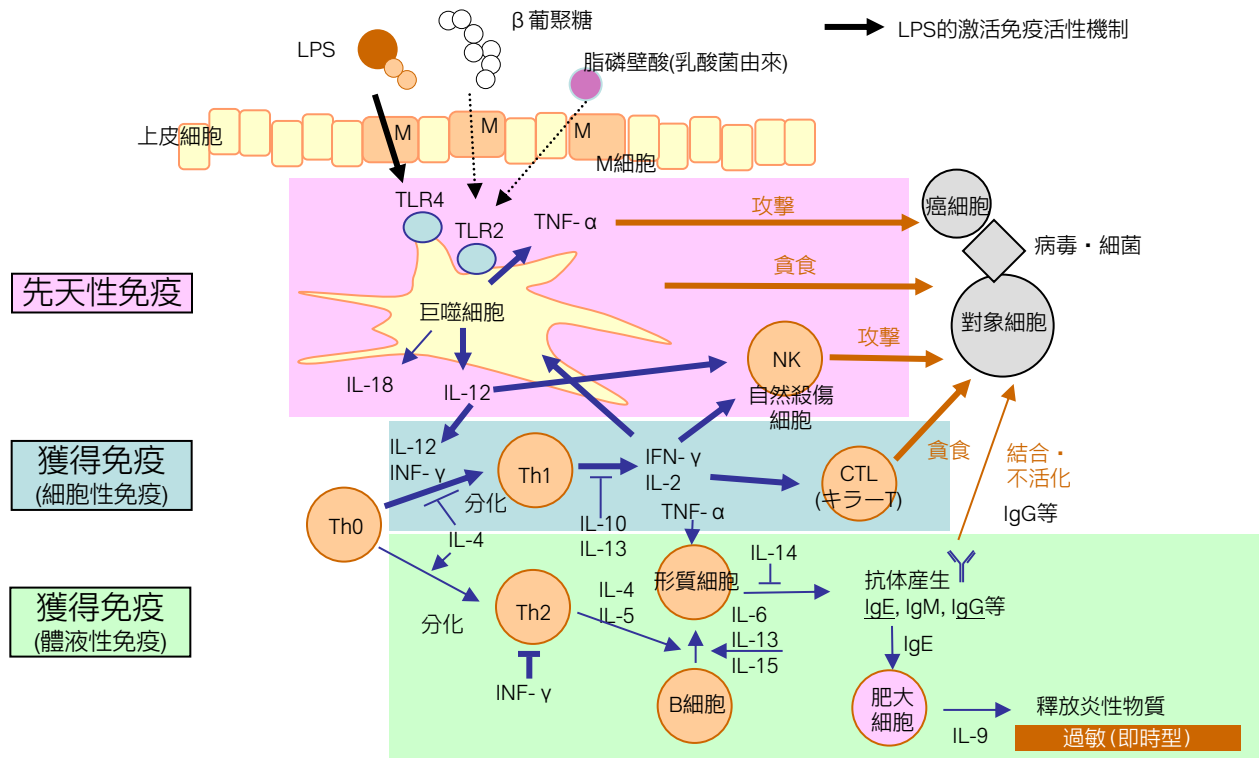
規格項目	規格	試驗法
性状	淡黃色～黃褐色的粉末	感官檢查
異物	確認無異物	目視檢查
糖脂質	60 μ g/g以上	Limulus法
水分	7%以下	常壓加熱乾燥法
重金屬(Pb)	20ppm以下	硫酸鈉比色法
砷(As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2.0ppm以下	(ICP)原子吸收光譜分析法
一般細菌數	1000個/g以下	稀釋倒平板培養法
大腸杆菌	陰性	BGLB法
黴菌・酵母菌	100個/g以下	AOAC法 (Petrifilm™測試片法)

## 介紹

## IMMUNOL®

### LPS的免疫激活機制

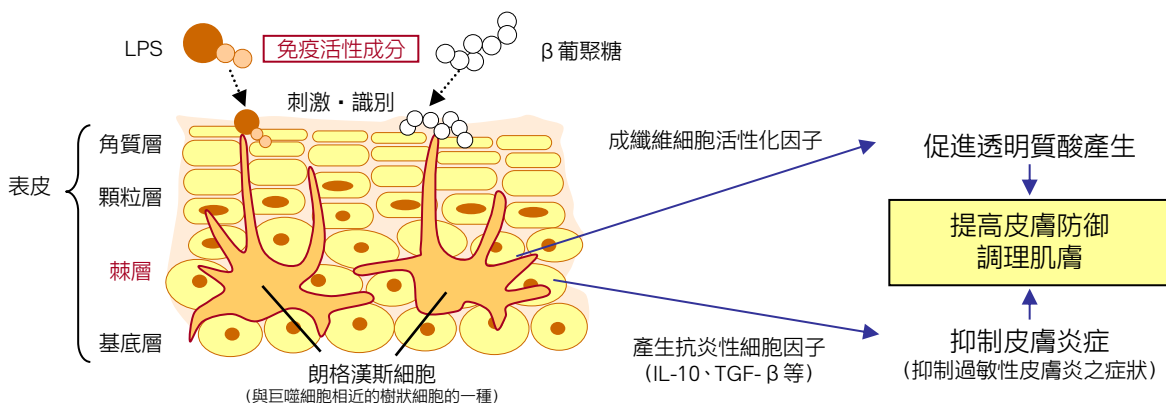
IMMUNOL中所含的LPS被巨噬細胞表面的TLR4樣受體(Toll-Like Receptor4)等復合物識別之後，經過各種信息傳達，激活NF $\kappa$ B。激活的NF $\kappa$ B向細胞核內移動，誘導在免疫系統中起著重要作用的TNF- $\alpha$ 及白細胞介素等細胞因子的基因表達。於此相比，同樣具有免疫活性作用的 $\beta$ 葡聚糖和肽聚糖，乳酸菌等則與TLR2受體結合，然後開啟同樣的信息傳達激活NF $\kappa$ B。LPS對巨噬細胞的免疫激活能力，以NO產生能為指標，其比 $\beta$ 葡聚糖和肽聚糖高1000~10000倍。另外，LPS的激活免疫活性作用是以先天性免疫和Th1為中心的細胞免疫為主，它能抑制向Th2的分化，因此使不易產生過敏症狀。



### LPS的美膚效果

存在于肌膚中的朗格漢斯細胞，是一種類同於巨噬細胞的樹狀細胞，當肌膚受到外來異物刺激時能產生細胞因子的免疫細胞。朗格漢斯細胞所產生的細胞因子中，有抗炎症細胞因子IL-10和TGF- $\beta$ ，它們能抑制過度的免疫反應和抑制皮膚的炎症。另外，朗格漢斯細胞能刺激成纖維細胞的活性，進而促進透明質酸的產生維持肌膚的水分和彈性。

LPS、 $\beta$ 葡聚糖等免疫活性成分，同樣可以刺激朗格漢斯細胞產生細胞因子，達到抑制皮膚的炎症和維持肌膚處於正常狀態的效果。



# 実験列表

## IMMUNOL®

### (1) 先天性免疫の活性化(巨噬細胞活性化能)の評価試験

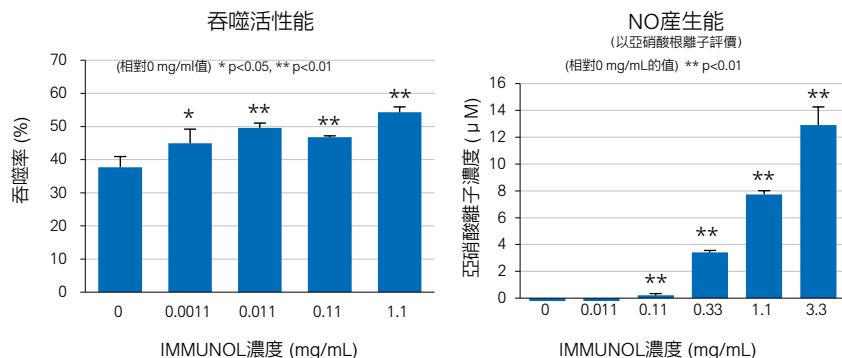
#### < 試験方法 >

在一定濃度の巨噬細胞株(J774.1, RAW264.7)培養液中,添加如右圖所示濃度の醋酸菌發酵物後進行培養。巨噬細胞吞噬作用:加具有PE標志的乳膠珠後,回收細胞,以流動式細胞測試儀(flow cytometer)評價細胞的吞噬能。

NO產生量:在細胞培養上清液中添加格裏斯試劑後於室溫條件下反應,然後在波長OD 550nm/668nm下測定吸光度,NO濃度以亞硝酸根離子的濃度來換算。

#### < 結果 >

細胞內添加醋酸菌發酵物後,細胞的吞噬活性以及產生NO的能力均明顯提高了。



### (2) 與滅活乳酸菌體併用時的巨噬細胞活性化作用

#### < 試験方法 >

調節細胞濃度 $8 \times 10^5$ 細胞/mL的巨噬細胞(RAW264.7)乳懸液,取100 μL加入96孔培養盤中培養6個小時後,於陰性對照群中僅添加培養基100 μL,單獨群(IMMUNOL或僅為乳酸菌加熱殺菌菌體)中添加各溶液和培養基各50 μL,兩者的並用群(IMMUNOL和乳酸菌加熱殺菌菌體同時添加)中各添加50 μL,最終的濃度如右圖所示。培養24小時後,用Griess試劑測量亞硝酸根離子濃度來評價NO的產生能。

乳酸菌加熱殺菌菌體:

(E-1~E-3) *Enterococcus faecalis*

(L-1~L-3) *Lactobacillus paracasei*

增效作用倍數=(混合時實際的亞硝酸根離子濃度)÷(IMMUNOL單獨+單獨乳酸菌情況下的亞硝酸根離子濃度總合)。

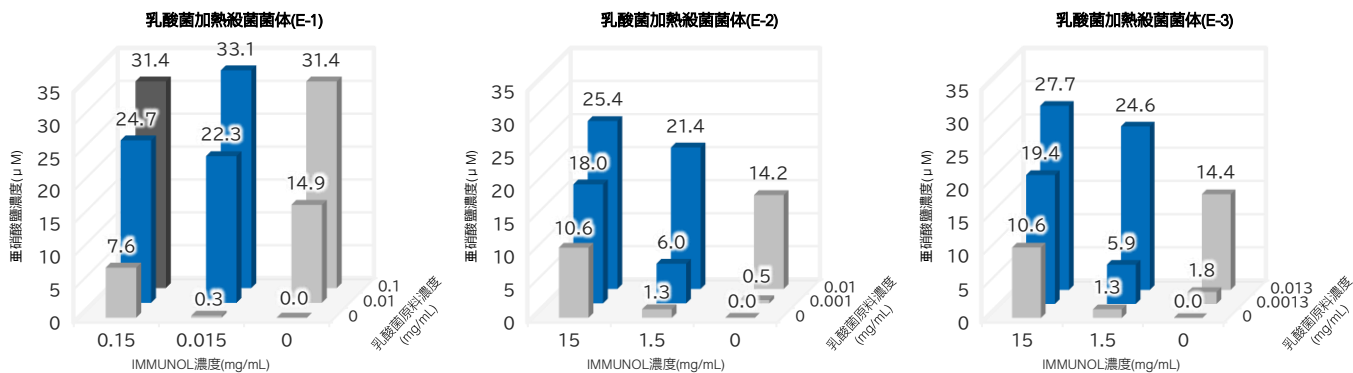
結果1以上為具有並用時的增效作用。

#### < 結果 >

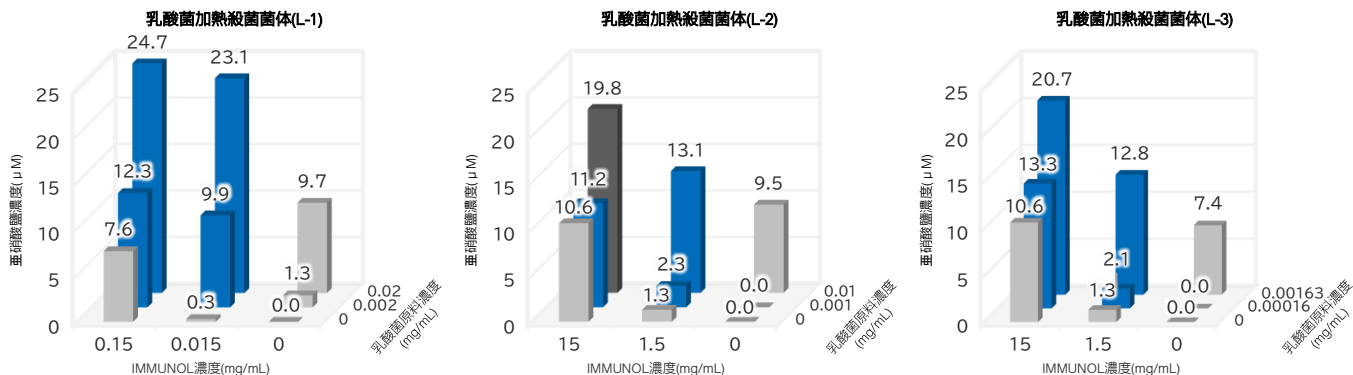
下圖的藍色部分表明此濃度範圍內具有並用增效作用。尤其在低濃度範圍內增效作用更明顯。由此可以推測低濃度的組合更為容易產生增效作用。

#### ■與乳酸菌加熱殺菌菌體(E-1~E-3) *Enterococcus faecalis* 的併用-增效作用

■ 增效作用的濃度範圍



#### ■與乳酸菌加熱殺菌菌體(L-1~L-3) *Lactobacillus paracasei* 的併用-增效作用



# 実験列表

## IMMUNOL®

### (3) 人體功效評價- 對體內免疫機能的激活作用

#### < 試驗方法 >

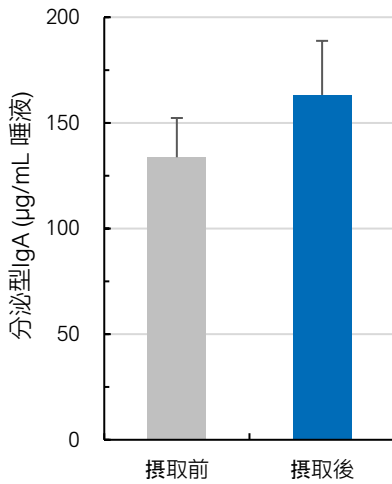
對健康成人12名(男性:8名、女性:4名、年齡:29~62)進行了免疫激活作用的評估試驗。IMMUNOL攝取量為100mg咀嚼片1粒/日,連續服用28日。免疫機能的評價指標 1)測試 黏膜的免疫機能指標分泌型IgA的量; 2) 測試血NK細胞活性、IFN- $\gamma$  (干擾素)的量

#### < 結果 >

實驗結果顯示,攝取IMMUNOL 100m後,分泌型IgA以及IFN- $\gamma$  的量得以增多, NK細胞活性得以增強。通過IMMUNOL具有提高黏膜免疫機能作用,可望將其作為阻止病原體入侵預防感染之原料。

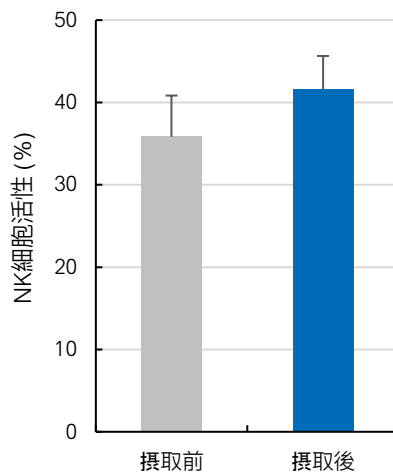
#### 分泌型IgA

與病原體結合中和毒性,阻止其附著於黏膜,從而起到防制病原體入侵體內達到預防疾病之作用



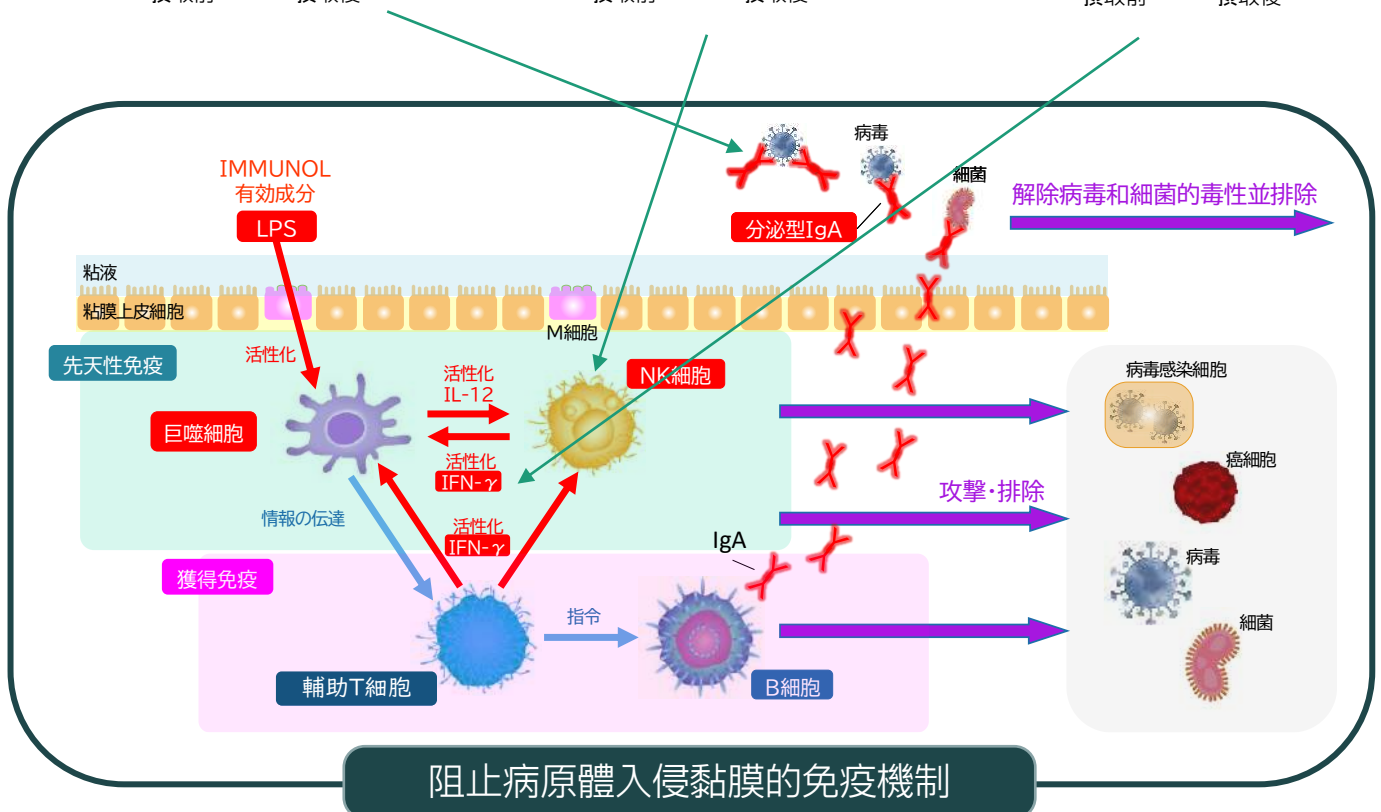
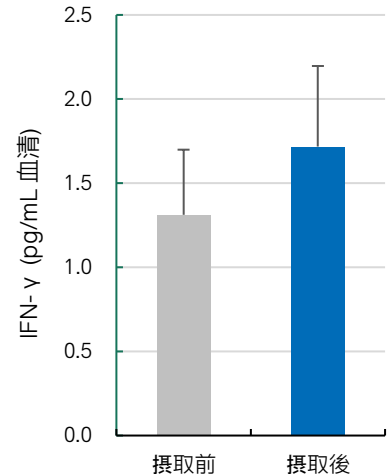
#### NK細胞

具有一旦發現被病毒感染的細胞以及癌症細胞後,立刻對它們進行徹底攻擊和破壞的作用



#### IFN- $\gamma$

由輔助T細胞和NK細胞等免疫細胞所產生,具有促進巨噬細胞和NK細胞的活性,提高免疫力的作用



## 実験列表

IMMUNOL®

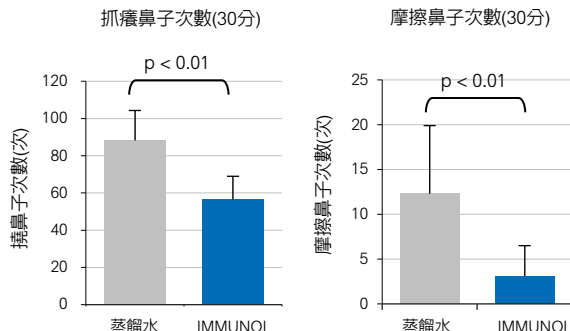
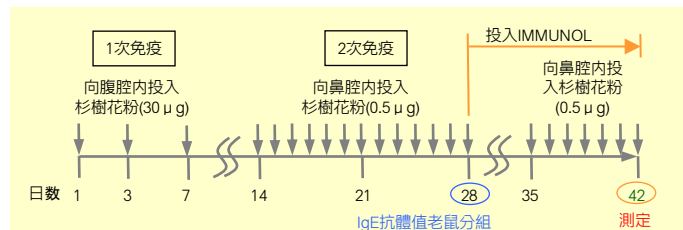
### (4) 抑制花粉症效果(動物小鼠試驗)

#### < 試驗方法 >

用杉樹花粉對20只BALB/c 小鼠(雄)進行2次免疫誘導產生過敏症狀後，參考體重和IgE抗體價，均等地將它們分為二組，每組10只。實驗組攝取用水調製的IMMUNOL水溶液，以833  $\mu\text{g/kg}$ 體重/日為標準，對照組則自由攝取蒸餾水。分組一周後，再次用花粉刺激鼻腔黏膜誘發小鼠鼻子過敏，連續一周。在實驗最後一天，測定小鼠30分鐘內的抓癢鼻子和摩擦鼻子次數。

#### < 結果 >

結果顯示，與對照組相比，IMMUNOL攝取組的小鼠鼻子抓癢和摩擦次數明顯減少。(有統計學意義)



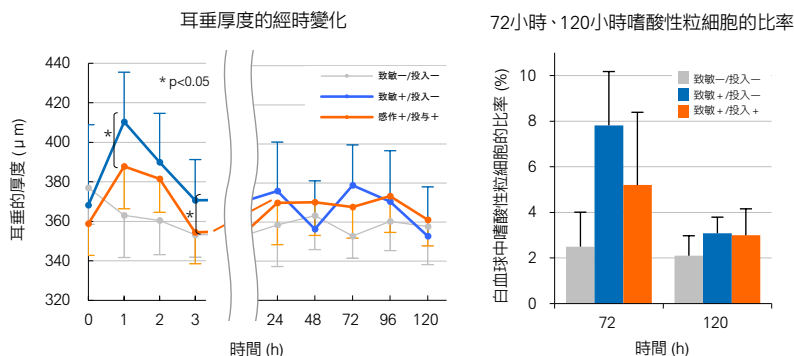
### (5) 對皮膚過敏的抑制效果

#### < 試驗方法 >

在用抗DNP IgE抗體導致致敏狀態的小鼠的耳垂部，塗抹DNFB誘發其產生過敏反應後，定時對耳垂的厚度進行測定。並於塗抹3天(72小時)和5天(120小時)後對嗜酸性粒細胞數進行了測定。實驗鼠10只一組，在塗抹過敏源3小時前和塗抹1~5天之間，IMMUNOL以11.1mg/kg體重/天的量，經口強制性投入。

#### < 結果 >

與未投入的對照組相比，投入IMMUNOL小鼠組的即時型過敏反應(1小時後和3小時後)明顯的減低(有統計學意義)，並且，延遲性過敏反應也有被抑制的傾向。



### (6) 人體功效評價 對花粉過敏症的抑制效果

#### < 試驗方法 >

為明確IMMUNOL對花粉症的抑制效果，對IMMUNOL的攝取前後進行了比較試驗。試驗對象為成年男女7名(對杉樹花粉過敏陽性，女性2名，男性5名)，攝取IMMUNOL 100mg/咀嚼片(其中醋酸菌發酵物含量為10mg/片)，3片/天，為期1年(2015.5~2016.4)。

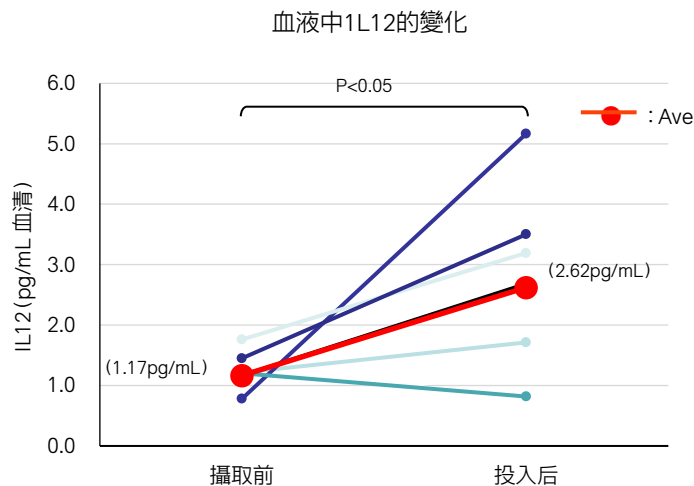
#### < 結果 >

結果顯示，在攝取IMMUNOL后血液中的IL-12明顯的增加(有統計學意義)。由此推測，IMMUNOL對調節體內免疫平衡和緩解過敏症狀有一定的效果。

#### 參考

具有協助細胞免疫和體液免疫作用的輔助T細胞中有Th1細胞和Th2細胞，兩者之間的相互平衡能維持人體的正常免疫。當這平衡受損，機體處於Th1<Th2的狀態時，就會對花粉，蟎蟲等過敏原起異常反應引起產生過敏症狀。

IL-12(白細胞介素12)具有激活Th1細胞，調整Th1與Th2之間的平衡作用。





## 実験列表

IMMUNOL®

### (6) 人體功效評價 對花粉過敏症的抑制效果的問卷調查 ~續

#### < 結果 >

##### 問卷調查的實感評價

比較往年的症狀，實際感到有哪些變化通過如表所示的項目進行了調查。  
每個項目分為5個級別「變好」「稍微變好」「沒有改變」「稍微惡化」「惡化」  
綜合評價結果中除1人外其他人均評價「變好」「稍微變好」。對全部項目的評價結果是半數以上的受驗者評價為好。另外，在任何一個評價項目中都沒有出現「稍微惡化」和「惡化」的評價。

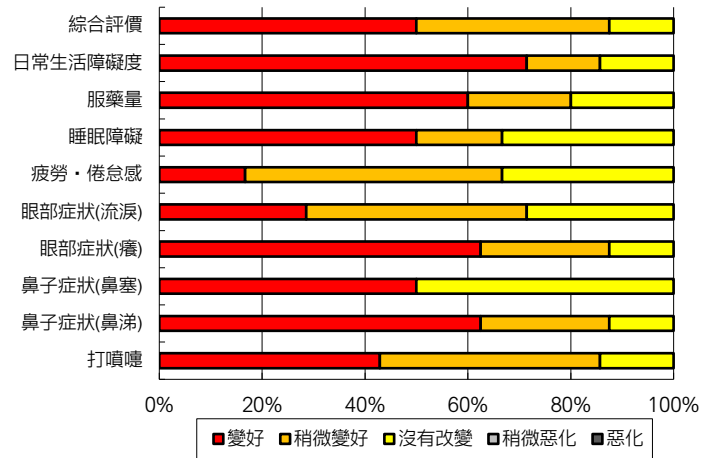
以上結果顯示，攝取IMMUNOL可以得到花粉症改善的實感效果。

##### 問卷調查的信息反饋

- ・感覺症狀的改善與藥物有同樣的效果。(40多歲男性)
- ・與往年相比感覺鼻涕明顯減少變好了。(30多歲男性)
- ・嗓子疼痛比往年減少，不戴口罩外出后的延遲過敏症狀(回家后流鼻涕)幾乎沒有出現。(30多歲男性)
- ・花粉症症狀大約1周左右，往年通常1-1.5個月長，說明還是有效果的。(40多歲男性)
- ・沒必要服藥了，症狀變輕。(40多歲女性)

- ・停止用眼藥水了(以往，杉樹花粉過敏時期由於眼屎過多會睜不開眼睛，以溫水清醒后可以睜開眼睛的情況保持大概5天左右，但這次該情況1天也沒發生)。以手絹按鼻子的頻度也減少了(自我感覺是之前的1/100)。也不特別在意流鼻水了，注意力的集中得到了提高。鼻塞好轉，睡眠質量提高，身體狀況變好。(40多歲男性)

問卷調查結果(與往年對比)



### (7) 激活先天性免疫(激活巨噬細胞)的美容作用

#### < 試驗方法 >

在免疫性巨噬細胞中添加IMMUNOL，經24小時培養後，將該細胞的培養液，添加到成纖維細胞中培養，然後測定成纖維細胞的增殖率和所產生的透明質酸量。作為比較，同時測定了只加IMMUNOL(不含巨噬細胞培養基)的成纖維細胞數和透明質酸量。

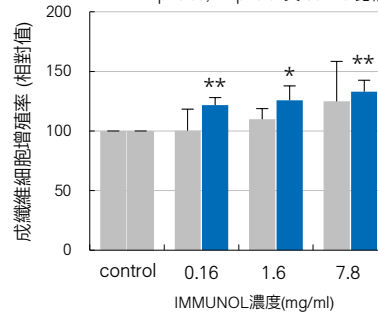
#### < 結果 >

IMMUNOL的單獨添加雖然也顯示了促進成纖維細胞的增殖和透明質酸量的增加之作用，但此作用在添加被激活的巨噬細胞培養液後顯得更高。

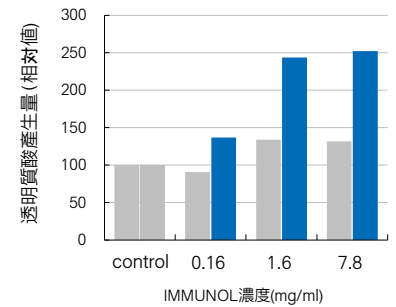
由此可期待IMMUNOL具有通過激活細胞的免疫作用，來促進肌膚新陳代謝達到美容的效果。

成纖維細胞增殖作用

\* :  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  與 control 比較



促進透明質酸的產生



## 実験列表

## IMMUNOL®

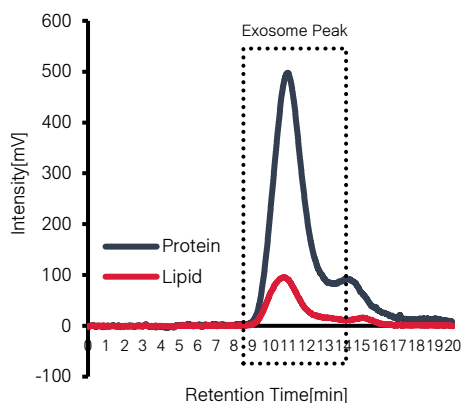
### (8) 介於外泌體的美容效果

近年，外泌體(exosomes)作為一種新型的細胞-細胞間信息傳遞者引起了人們的關注。外泌體是細胞分泌的具有脂質雙層膜的細胞外小囊泡，主要在細胞間發揮信息傳遞作用。外泌體不僅來源於哺乳類動物，也有來源於微生物和植物的(稱為類外泌體奈米囊泡[exosome-like nanovesicles: ELNs])。例如，檸檬、葡萄、積雪草<sup>5)</sup>等。此外，也有報告指出從微生物所衍生出來的ELNPs具有許多有用的功效。例如，來自鼠李糖乳桿菌 GG 菌株的 ELNPs 能在腸道內通過 AhR-Nrf2的信號傳遞增加抗菌多肽(Reg3 γ/Reg3 β)以及緊密結合蛋白的表達，達到預防與酒精相關的肝性疾病。此外，Jo 等發現來自 L. plantarum 的細胞外小囊泡能調節細胞外基質相關基因的 mRNA 表達，抑制皺紋形成和色素沉著。由此，可期待外泌體能對某些特定疾病的治療和發揮維護健康的功效。

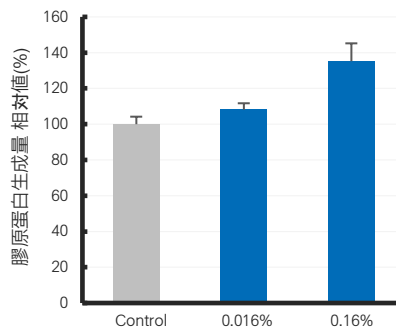
首先為確認醋酸菌培養液粉末化的IMMUNOL是否含有外泌體，採用具有高精度的HPLC-SEC進行外泌體的定性分析。結果如(A)圖所示，在10到13分鐘之間出現一個色譜峰，而這與外泌體的分析時間正好相符。這表明IMMUNOL中確實含有外泌體。

接著，為驗證IMMUNOL對皮膚的功效，我們評估了其對成纖維細胞生成膠原蛋白的能力。結果如(B)所示，證實其具有促進成纖維細胞生成膠原蛋白的作用。此外，為驗證這美容效果是否源於外泌體的作用，我們用精製的外泌體單獨做了同樣的實驗。結果顯示，隨著外泌體濃度的增加其促進膠原蛋白生成的作用越大。以上結果顯示，IMMUNOL中所含的源於醋酸菌的外泌體是產生美容效果的主要成分。

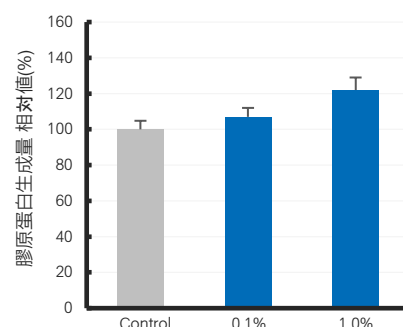
(A) HPLC-SEC測試法的色譜圖



(B) IMMUNOL的促進膠原蛋白生成作用



(C) 精製外泌體的促進膠原蛋白生成作用



\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001 (與Control比較)

### 各種數據

營養成分 (每100g)	
能量	383 kcal
蛋白質	5.5 g
脂肪	0.9 g
碳水化合物	88.2 g
食鹽相當量	1.56 g
鈉	613mg

安全性試驗	結果
急性經口投入毒性試驗	LD <sub>50</sub> 2000 mg/kg以上(大鼠)
微核試驗	陰性(實驗鼠)