

母乳低聚糖

功能、法规管理及应用前景

HMOs

中国营养学会营养健康研究院

支持单位：



母乳是婴儿最理想的天然“功能性食品”，是婴儿喂养的“金标准”。母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOs)是母乳中仅次于乳糖和脂肪的第三大营养物质，HMOs的发现及其结构解析、功能的不断被证实是母乳研究中具有里程碑意义的事件。

HMOs作为众多低聚糖的复杂混合物，具有多种结构和功能，在婴幼儿生长发育中发挥着重要作用。近年来，HMOs更是母婴营养与健康领域研发热点。为了更好地呈现国内外该领域科学研究进展、最新科技成果与应用现状，我们对母乳中HMOs结构特点、含量及影响因素进行了总结；并从临床前研究和临床试验两个层次，对HMOs促进肠道中的有益菌生长和平衡肠道菌群、支持免疫功能、对于致病菌具有抗粘附作用、支持肠道屏障功能，以及对减少腹泻和呼吸道感染、减少食物过敏/湿疹风险等作用进行了全面综述和客观翔实的汇总；同时系统梳理国内外市场和法规实际情况，全面介绍了HMOs主要单体或混合物的生产技术、法规政策管理及市场使用情况。在此基础上，提出了HMOs在我国研发创新以及发展措施建议，形成了《母乳低聚糖：功能、法规管理及应用前景》（简称《报告》）。

《报告》由中国营养学会营养健康研究院牵头编撰，过程中查阅了大量国内外书籍、文献和法规条例，研究前沿与产业指导并重，希望可以帮助该领域从业者详细了解和系统知晓HMOs知识、生产技术、质量管理和法规，同时也期冀借此进一步搭建政府监管部门、行政审批部门、学术界和产业界之间的良好合作和交流，从而推动我国相关领域的健康持续高质量发展。

本《报告》倾注了国内和国际诸多专家学者的大量心血和汗水。报告编写过程中，得到国内外营养、食品、法规、风险交流等多领域知名专家的指导和帮助，得到了荷兰皇家帝斯曼集团的大力支持，在此一并表示衷心的感谢。由于HMOs相关研究进展迅猛、文献与日俱增，报告中未免疏漏，期盼同行专家与广大读者不吝指正（邮箱wy@cnsi.org，电话010-83554778-826/010-83554782）。

《报告》编撰组

2021年12月

引用本报告内容，务必严格标注出处：中国营养学会营养健康研究院，中营惠营养健康研究院编撰，2021年，《母乳低聚糖：功能、法规管理及应用前景》

中英文对照词表 / 001

摘要 / 005

01/ 母乳低聚糖的定义与结构特点 / 007

02/ 母乳中低聚糖的含量及影响因素 / 013

(一) 影响母乳中HMOs含量及组成的主要因素 013

(二) 母乳中HMOs与牛/羊乳中低聚糖的差异 019

(三) 母乳中HMOs与低聚半乳糖和低聚果糖的差异 021

03/ 母乳低聚糖的临床前研究、临床研究与功能 / 023

(一) HMOs的临床前研究 023

(二) HMOs的人群研究结果 035

04/ 母乳低聚糖的生产工艺及市场情况 / 044

(一) HMOs的主流生产工艺 044

(二) HMOs的产品质量规格 047

(三) HMOs原料的行业供给格局 049

(四) 国际上添加HMOs的产品类型及市场概况 050

05/ 母乳低聚糖的法规批准情况 / 059

(一) 概述 059

(二) 2'-FL 066

(三) LNnT 068

(四) 2'-FL/DFL 070

(五) LNT 071

(六) 3'-SL 073

(七) 6'-SL 074

(八) 3-FL 076

06/ 我国相关产业现状和发展措施建议 / 078

(一) HMOs不同组分的生产现状 078

(二) 我国HMOs相关使用法规管理 078

(三) 我国相关工作和产业发展建议 079

参考文献 / 082

致谢 / 100

中英文对照词表

| 中文 Chinese | 英文 English |
|---------------|------------------------------------|
| 母乳低聚糖 | Human milk oligosaccharides, HMOs |
| D-葡萄糖 | D-Glucose, Glc |
| D-半乳糖 | D-Galactose, Gal |
| N-乙酰氨基葡萄糖 | N-Acetylglucosamine, GlcNAc |
| L-岩藻糖 | L-Fucose, Fuc |
| D-乳糖 | D-Lactose |
| 唾液酸 | Sialic acid, Sia |
| N-乙酰神经氨酸 | N-Acetylneuraminic acid, Neu5Ac |
| N-羟乙酰神经氨酸 | N-Glycolylneuraminic acid, Neu5Gc |
| N-乙酰乳糖胺 | N-Acetylglucosamine, LacNAc |
| N-乙酰甘露糖胺 | N-Acetylmannosamine, ManNAc |
| 2'-岩藻糖基乳糖 | 2'-Fucosyllactose, 2'-FL |
| 3'-岩藻糖基乳糖 | 3-Fucosyllactose, 3-FL |
| 二岩藻糖基乳糖 | Difucosyllactose, DFL |
| 乳糖-N-二糖 | Lacto-N-biose, LNB |
| 乳糖-N-二糖 I | Lacto-N-biose I, LNB I |
| 乳糖-N-二糖 II | Lacto-N-biose II, LNB II |
| 乳糖-N-丙糖 II | Lacto-N-triose II, LNT II |
| 乳糖-N-四糖 | Lacto-N-tetraose, LNT |
| 乳糖-N-新四糖 | Lacto-N-neotetraose, LNnT |
| 乳糖-N-六糖 | Lacto-N-hexaose, LNH |
| 乳糖-N-新六糖 | Lacto-N-neohexaose, LNnH |
| 二岩藻糖基乳糖-N-四糖 | Difucosyllacto-N-tetraose, DFLNT |
| 乳糖-N-岩藻五糖 I | Lacto-N-fucopentaose I, LNFP I |
| 乳糖-N-岩藻五糖 II | Lacto-N-fucopentaose II, LNFP II |
| 乳糖-N-岩藻五糖 III | Lacto-N-fucopentaose III, LNFP III |

续 表

| 中文 Chinese | 英文 English |
|-----------------------|---|
| 乳糖 -N- 岩藻五糖 V | Lacto-N-fucopentaose V, LNFP V |
| 乳糖 -N- 二岩藻六糖 I | Lacto-N-difucosylhexaose I, LNDFH I |
| 乳糖 -N- 二岩藻六糖 II | Lacto-N-difucosylhexaose II, LNDFH II |
| 岩藻糖基乳糖 -N- 六糖 II | Fucosyllacto-N-hexaose, F-LNH II |
| 二岩藻糖基乳糖 -N- 六糖 a | Difucosyllacto-N-hexaose a, DFLNH a |
| 二岩藻糖基乳糖 -N- 六糖 II | Difucosyllacto-N-hexaose II, DFLNH II |
| 岩藻二唾液酸乳糖 -N- 六糖 | Fucodisialyllacto-N-hexaose, FDSLNH |
| α -3'-乙酰半乳糖胺乳糖 | α -3'-N-Acetylgalactosaminylactose, α -3'-GalNAcL |
| 6'-乙酰葡萄糖胺乳糖 | 6'-N-Acetylglucosaminylactose, 6'-GlcNAcL, NAL |
| 3'-唾液酸乳糖 | 3'-Sialyllactose, 3'-SL |
| 6'-唾液酸乳糖 | 6'-Sialyllactose, 6'-SL |
| 6'-唾液酸乳糖胺 | 6'-Sialyllactosamine, 6'-SLN |
| 二唾液酸乳糖 | Disialyllactose, DSL |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 a | Sialyllacto-N-tetraose a, LST a |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 c | Sialyllacto-N-tetraose c, LST c |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 d | Sialyllacto-N-tetraose d, LST d |
| 二唾液酸乳糖 -N- 四糖 | Disialyllacto-N-tetraose, DSLNT |
| 二唾液酸乳糖 -N- 六糖 | Difucosyllacto-N-hexaose, DSLNH |
| 3'-半乳糖基乳糖 | 3'-Galactosyllactose, 3'-GL |
| 4'-半乳糖基乳糖 | 4'-Galactosyllactose, 4'-GL |
| 6'-半乳糖基乳糖 | 6'-Galactosyllactose, 6'-GL |
| 低聚半乳糖 | Galactooligosaccharides, GOS |
| 低聚果糖 | Fructooligosaccharides, FOS |
| 岩藻糖基转移酶 2 | Fucosyltransferase 2, FUT2 |
| 岩藻糖基转移酶 3 | Fucosyltransferase 3, FUT3 |
| 岩藻糖基转移酶 x | Fucosyltransferase x, FucTx |

续 表

| 中文 Chinese | 英文 English |
|-------------------|---|
| N-乙酰氨基葡萄糖-2-反向异构酶 | N-Acetylglucosamine-2-epimerase, AGE |
| 糖萼 | Glycocalyx |
| 胞苷 5'-单磷酸 | Cytidine 5'-monophosphate, CMP |
| CMP-N-乙酰神经氨酸 | CMP-N-acetylneuraminic acid, CMP-Neu5Ac |
| 三磷酸胞苷 | Cytidine triphosphate, CTP |
| 厚壁菌门 | <i>Firmicutes</i> |
| 变形菌门 | <i>Proteobacteria</i> |
| 拟杆菌门 | <i>Bacteroidetes</i> |
| 放线菌门 | <i>Actinobacteria</i> |
| 拟杆菌属 | <i>Bacteroides</i> |
| 双歧杆菌属 | <i>Bifidobacterium</i> |
| 乳酸杆菌 | <i>Lactobacillus</i> |
| 婴儿双歧杆菌 | <i>Bifidobacterium infantis</i> |
| 长双歧杆菌婴儿亚种 | <i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i> |
| 长双歧杆菌长亚种 | <i>Bifidobacterium longum subsp. longum</i> |
| 短双歧杆菌 | <i>Bifidobacterium breve</i> |
| 两歧双歧杆菌 | <i>Bifidobacterium bifidum</i> |
| 多形拟杆菌 | <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> |
| 干酪乳杆菌 | <i>Lactobacillus casei</i> |
| 鲁米诺球菌 | <i>Ruminococcus gnavu</i> |
| 大肠杆菌 | <i>Escherichia coli, E. coli</i> |
| 枯草芽孢杆菌 | <i>Bacillus subtilis</i> |
| 普拉梭菌 | <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> |
| 诺如病毒 | Norovirus |
| 轮状病毒 | Rotavirus |
| 人类免疫缺陷病毒 | Human immunodeficiency virus, HIV |

续表

| 中文 Chinese | 英文 English |
|----------------|---|
| 组织血型抗原 | Histo-blood group antigens, HBGA |
| 黏蛋白 -2 | Mucin 2, MUC2 |
| C 型凝集素 | C-type lectins |
| 半乳凝素 | Galectins |
| 选择素 | Selectins |
| 唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素 | Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins, Siglecs |
| Toll 样受体 | Toll-like receptors, TLR |
| 炎症性肠病 | Inflammatory bowel disease, IBD |
| 坏死性小肠结肠炎 | Necrotising enterocolitis, NEC |
| 肠易激综合征 | Irritable bowel syndrome, IBS |
| 极低出生体重 | Very low birth weight, VLBW |
| 身体质量指数 | Body mass index, BMI |
| 长时程增强效应 | Long-term potentiation, LTP |
| 出生后天数 | Postnatal day |
| 胃肠道生活质量指数 | Gastrointestinal quality of life index, GIQLI |
| 美国健康与营养调查 | National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES |
| 食品药品监督管理局 | Food and drug administration, FDA |
| 美国食品安全与应用营养学中心 | Center for food safety and applied nutrition, CFSAN |
| 欧洲食品安全管理局 | European food safety authority, EFSA |
| 一般认为安全 | Generally recognized as safe, GRAS |
| 新食品原料 | Novel food |
| 现行良好生产规范 | Current good manufacturing practice, CGMP |
| 危害分析关键控制点 | Hazard analysis and critical control points, HACCP |
| 一锅合成法 | One-pot synthesis |
| 从头合成法 | De novo |
| 补救合成法 | Salvage |
| 规律间隔成簇短回文重复序列 | Clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR |

摘要

母乳是婴儿最理想的天然“功能性食品”，是婴儿喂养的“金标准”。除了满足婴儿生命最初几个月生长和发育的营养需求以外，母乳还含有多种生物活性物质，如乳铁蛋白、免疫球蛋白、母乳低聚糖、益生菌等，对婴幼儿的健康起着重要的作用。

母乳低聚糖（human milk oligosaccharides, HMOs）是母乳中仅次于乳糖和脂肪的第三大固体组分，是众多低聚糖的复杂混合物，具有多种结构和功能。目前，已分离和鉴定出 200 多个 HMO 结构，其在母乳中的含量差异很大，含量比例高的 HMO 单体数量相当集中。一般而言，其中 10-15 个 HMO 单体占 HMO 总量的 70%-75% 以上。HMOs 的组成和含量受遗传和非遗传因素的影响，包括母亲的分泌型（特定碳水化合物活性基因，如岩藻糖转移酶基因），哺乳阶段，分娩时的胎龄（足月或早产），以及地理区域等。HMOs 在婴幼儿生长发育中起到重要作用。人体摄入后，大部分 HMOs 不能在上消化道被消化和吸收，绝大多数 HMOs 完好无损地到达远端小肠和结肠，发挥刺激肠道中的有益菌（如双歧杆菌）的生长，维持肠道菌群平衡；抑制有害菌的生长，结合病原体，降低感染发生率；支持肠道屏障功能；促进免疫发育和潜在的神经发育等作用。

由于 HMOs 单体生产的复杂性，目前还不可能生产出混合物来模拟天然母乳中 HMOs 的多样性，因此 HMOs 在全球范围内都是基于其中的单个成分获得批准的（除 2'-岩藻糖基乳糖 / 二岩藻糖基乳糖混合物）。行业选择哪些最有意义或应用价值的 HMO 单体进行生产，一般有三个考量指标：（1）涵盖 HMO 的所有结构类别（包含所有结构组成和尽可能多的结构特点），（2）覆盖最大比例的 HMO 总量与尽可能少的 HMOs 单个成分，（3）基于某种 HMO 有大量临床前期，功能和临床研究数据。

目前，欧盟和美国已经分别批准了最广泛的 HMO 单体作为新食品原料和“一般公认安全”（GRAS）物质。截至 2021 年 12 月 1 日，在这两个地区共有 7 种不同的 HMO 的单个成分（和它们的混合物）被批准，它们是：2'-岩藻糖基乳糖（2'-fucosyllactose, 2'-FL）、乳糖-N-新四糖（lacto-N-neotetraose, LNnT）、乳糖-N-四糖（lacto-N-tetraose, LNT）、2'-岩藻糖基乳糖 / 二岩藻糖基乳糖（2'-fucosyllactose / Difucosyllactose, 2'-FL/DFL）、3'-唾液酸乳糖（3'-sialyllactose, 3'-SL）、6'-唾液酸乳糖（6'-sialyllactose, 6'-SL）和 3-岩藻糖

基乳糖 (3-fucosyllactose, 3-FL)。澳新已经批准了 (微生物发酵生产) 2'-FL、LNnT 这两种 HMOs 成分的使用。在被批准的 HMO 成分中, 微生物发酵是大规模工业化生产 HMOs 最有效和主流的方法, 酶法合成次之, 化学合成为小规模生产 HMOs 的技术。随着科技进步可以预见, 未来几年将有更多的 HMO 单体被批准应用。

随着 HMOs 对于婴幼儿和成人健康起到的重要作用不断被认知和证实, 欧美、拉丁美洲、中东地区和部分亚太地区已在婴儿配方食品中使用 HMOs。我国尚未批准 HMOs 作为婴儿配方食品的配料, 但消费者已从跨境电商等途径购买添加 HMOs 的婴幼儿配方粉。近期, HMOs 作为营养强化剂新品种正在公开征求意见。我们期待通过客观翔实地报告国内外 HMO 功能研究、法规管理及生产使用现状, 为我国政府监管部门、行政审批部门、学术界和企业之间的美好合作和交流提供科学的事实依据, 从而推动 HMOs 在国内的研发创新和科学应用。

母乳低聚糖的定义与结构特点

母乳是婴儿的天然理想食品, 世界卫生组织建议新生儿出生后前六个月进行完全母乳喂养。母乳中不仅含有新生儿在引入辅食之前的生长发育所需的全部营养成分, 而且还含有大量生物活性物质。其中, 母乳低聚糖 (HMOs) 是母乳中继乳糖、脂肪之后的第三大固体成分。HMOs 是母亲在妊娠末期和哺乳期乳腺分泌的水溶性低聚糖, 由 3-23 个单糖分子通过糖苷键组合而成^[1]。母乳低聚糖是由 5 个基本糖单元组成的乳糖衍生寡糖: D-葡萄糖 (glucose, Glc)、D-半乳糖 (galactose, Gal)、N-乙酰氨基葡萄糖 (N-acetylglucosamine, GlcNAc)、L-岩藻糖 (fucose, Fuc) 和唾液酸 (sialic acid, Sia), 其中 N-乙酰神经氨酸 (N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac) 是唾液酸最主要的存在形式^[2]。目前, 已经鉴定出的 HMOs 结构有 200 多种^[3,4]。

HMOs 的还原末端由乳糖基 (Gal β 1-4Glc) 构成, 并在此基础上以特定的顺序和糖苷键连接单糖形成多种多样的低聚糖结构。在乳糖基上可以通过 α 1-2 或 α 1-3 键连接岩藻糖和通过 α 2-3 或 α 2-6 键连接唾液酸^[5]。对于糖链的延伸, 乳糖-N-二糖 (lacto-N-biose, LNB, Gal β 1-3GlcNAc-, 类型 1) 或 N-乙酰乳糖胺 (N-acetyl-lactosamine, LacNAc, Gal β 1-4GlcNAc-, 类型 2) 可以通过 β 1-3- 或 β 1-6- 键与乳糖连接。当 LNB 或 LacNAc 通过 β -1,3 键与乳糖连接时, 延伸为线性, 当 LNB 或 LacNAc 通过 β -1,6 键与乳糖连接时, 形成支链 (图 1.1)。

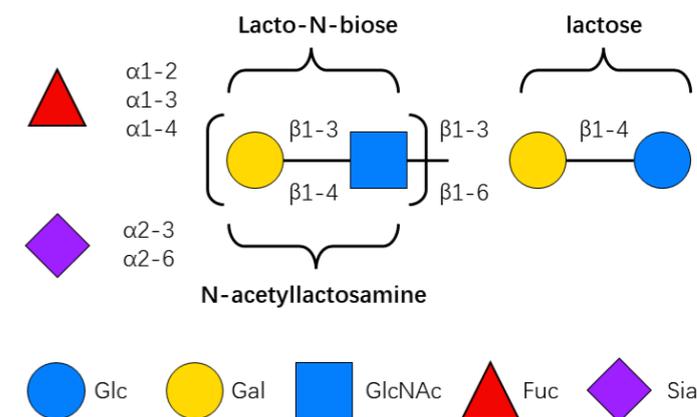


图 1.1 HMOs 核心结构和链延伸示意图

续表

根据分子末端连接的单体可以将 HMOs 分为三类：中性岩藻糖基化 HMOs、中性非岩藻糖基化 HMOs 和酸性 HMOs，在母乳中各类分别占 64-72%、17-21% 和 11-15%^[6]。酸性 HMOs 还可以进一步分为含有岩藻糖的和不含有岩藻糖的类型。各分类下主要的 HMOs 见表 1.1。其中，中性岩藻糖基化 HMOs 的最简单结构是 2'-岩藻糖基乳糖 (2'-fucosyllactose, 2'-FL) 和 3-岩藻糖基乳糖 (3-fucosyllactose, 3-FL)，分别是岩藻糖通过 α 1-2 键连接在乳糖的 Gal 末端，和通过 α 1-3 键连接在乳糖的 Glc 末端。酸性 HMOs 中最简单结构是 3'-唾液酸乳糖 (3'-sialyllactose, 3'-SL) 和 6'-唾液酸乳糖 (6'-sialyllactose, 6'-SL)，分别是在乳糖的 Gal 末端通过 α 2-3 键或 α 2-6 连接唾液酸^[7]。

表 1.1 主要的中性和酸性 HMOs

| 中文名称 | 英文名称及缩写 | 示意图 |
|---------------|--|-----|
| 中性岩藻糖基化 HMOs | | |
| 2'-岩藻糖基乳糖 | 2'-Fucosyllactose (2'-FL) | |
| 3-岩藻糖基乳糖 | 3-Fucosyllactose (3-FL) | |
| 二岩藻糖基乳糖 | Difucosyllactose (DFL) | |
| 乳糖-N-二岩藻六糖 I | Lacto-N-difucosylhexaose I (LNDFH I) | |
| 乳糖-N-二岩藻六糖 II | Lacto-N-difucosylhexaose II (LNDFH II) | |
| 乳糖-N-岩藻五糖 I | Lacto-N-fucopentaose I (LNFP I) | |
| 乳糖-N-岩藻五糖 II | Lacto-N-fucopentaose II (LNFP II) | |

| 中文名称 | 英文名称及缩写 | 示意图 |
|-----------------|---|-----|
| 乳糖-N-岩藻五糖 III | Lacto-N-fucopentaose III (LNFP III) | |
| 乳糖-N-岩藻五糖 V | Lacto-N-fucopentaose V (LNFP V) | |
| 三岩藻糖基乳糖-N-六糖 | Trifucosyllacto-N-hexaose (TF-LNH) | |
| 岩藻糖基乳糖-N-六糖 I | Fucosyllacto-N-hexaose I (F-LNH-I) | |
| 岩藻糖基乳糖-N-六糖 II | Fucosyllacto-N-hexaose II (F-LNH-II) | |
| 岩藻糖基乳糖-N-六糖 III | Fucosyllacto-N-hexaose III (F-LNH-III) | |
| 二岩藻糖基乳糖-N-六糖 a | Difucosyllacto-N-hexaose a (DF-LNH-I a) | |
| 二岩藻糖基乳糖-N-六糖 b | Difucosyllacto-N-hexaose b (DF-LNH-I b) | |
| 中性非岩藻糖基化 HMOs | | |
| 乳糖-N-四糖 | Lacto-N-tetraose (LNT) | |

续表

| 中文名称 | 英文名称及缩写 | 示意图 |
|----------------|------------------------------------|-----|
| 乳糖 -N- 新四糖 | Lacto-N-neotetraose (LNnT) | |
| 乳糖 -N- 六糖 | Lacto-N-hexaose (LNH) | |
| 乳糖 -N- 新六糖 | Lacto-N-neohexaose (LNnH) | |
| 酸性非岩藻糖基化 HMOs | | |
| 3'-唾液酸乳糖 | 3'-Sialyllactose (3'-SL) | |
| 6'-唾液酸乳糖 | 6'-Sialyllactose (6'-SL) | |
| 二唾液基乳糖 -N- 四糖 | Disialyllacto-N-tetraose (DSLNT) | |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 a | Sialyllacto-N-tetraose a (LST a) | |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 b | Sialyllacto-N-tetraose b (LST b) | |
| 唾液酸乳糖 -N- 四糖 c | Sialyllacto-N-tetraose c (LST c) | |
| 二唾液酸乳糖 -N- 六糖 | Disialyllacto-N-hexaose (DS-LNH-I) | |

续表

| 中文名称 | 英文名称及缩写 | 示意图 |
|----------------------|---|-----|
| 酸性岩藻糖基化 HMOs | | |
| 岩藻糖基二唾液酸乳糖 -N- 六糖 I | Fucosyl-disialyllacto-N-hexaose I (FDS-LNH-I) | |
| 岩藻糖基二唾液酸乳糖 -N- 六糖 II | Fucosyl-disialyllacto-N-hexaose II (FDS-LNH-II) | |
| 3'-唾液酸-3-岩藻糖基乳糖 | 3'-Sialyl-3-fucosyllactose (FSL) | |

HMOs 岩藻糖基化的组成高度依赖于编码 α 1-2 岩藻糖基转移酶 (fucosyltransferase 2, FUT2) 的 Secretor (Se) 基因和编码 α 1-3/4 岩藻糖基转移酶 (fucosyltransferase 3, FUT3) 的 Lewis (Le) 基因的表达^[2]。具有活跃 Se 位点的乳母被归类为分泌型, 可以表达岩藻糖基转移酶 FUT2, 该酶以 α 1-2 键将 Fuc 连接至 Gal 末端。2'-FL、LNFP I 和 LNDFH I 是这类分泌型女性母乳中最丰富的 HMOs。相反, 在不表达 FUT2 的非分泌型女性的母乳中几乎不含这些 HMOs。具有活跃 Le 位点的乳母可表达岩藻糖基转移酶 FUT3, 该酶通过 α 1-3 键或 α 1-4 键连接 Fuc 与 GlcNAc (另外, α 1-3 岩藻糖连接也可以由其他酶来介导, 即岩藻糖基转移酶 FUT5 和 FUT6)。因此, 基于 FUT2 和 FUT3 岩藻糖基转移酶的表达, 可以将乳母分为 4 组: Se+Le+、Se+Le-、Se-Le+ 和 Se-Le-, 其中 Se 代表 Secretor 表型, Le 代表 Lewis 表型, 其主要表达的岩藻糖基化 HMOs 类型可见表 1.2。

就岩藻糖基化而言, Se+Le+ 女性的母乳中 HMOs 组成最复杂, 而 Se-Le- 女性的母乳中 HMOs 复杂性最低^[8]。在欧洲、亚洲和非洲的调查显示, Se⁺Le⁺ 母亲为最主要的群体 (占调查人数的 45-77%); 第二个主要的组是 Se⁺Le⁻ (7-34%), 其次是 Se⁺Le⁻ (4-28%) 和 Se⁻Le⁻ (1-26%)^[5]。另一篇研究则报道全球人群中的 Se⁺Le⁺, Se⁺Le⁻, Se⁻Le⁺, Se⁻Le⁻ 的典型分布为 70%, 20%, 9% 和 1%^[6]。

表 1.2 四组不同表型女性母乳中的岩藻糖基化 HMOs 组成差异

| 分组 | 在人群中的典型分布 | Secretor 基因 (FUT2) | Lewis 基因 (FUT3) | 表型 | 岩藻糖基化 HMOs 类型 |
|-----|-----------|--------------------|-----------------|--------|---|
| I | 70% | (+) | (+) | Se+Le+ | α 1-2, α 1-3, α 1-4 岩藻糖基化 HMOs, 如 2'-FL、LNFP I、LNDFH I |
| II | 20% | (-) | (+) | Se-Le+ | α 1-3, α 1-4 岩藻糖基化 HMOs, 如 3-FL、LNFP II |
| III | 9% | (+) | (-) | Se+Le- | α 1-2, α 1-3 岩藻糖基化 HMOs, 如 2'-FL、LNFP I |
| IV | 1% | (-) | (-) | Se-Le- | α 1-3 岩藻糖基化 HMOs, 如 3-FL、F-LNH-II、LNFP III |



母乳中低聚糖的含量及影响因素

从孕期第 10 周起, HMOs 已经在孕妇的血液中循环, 通过羊水并可能通过脐带透过胎盘到达胎儿。1 月龄内的婴儿每天消耗约 500-650 mL 母乳, 在四到五个月后, 母乳消耗量增加到 750-800 mL^[9], 母乳中 HMOs 的含量平均总水平在 4 g/L 到 22 g/L 之间, 个别甚至可以超过 30 g/L^[10]。母亲的分泌型、哺乳阶段、分娩胎龄 (如足月或早产分娩)、不同地区都对母乳中低聚糖含量有影响^[10]。另外, 由于 HMOs 结构复杂、未有统一的分析测定方法, 不同实验室用的测定方法不同, 也一定程度上带来数据差异。

(一) 影响母乳中 HMOs 含量及组成的主要因素

1. 母亲分泌型的影响

影响母乳中 HMOs 含量的最重要的内在因素之一是岩藻糖基转移酶的遗传倾向。HMOs 岩藻糖基化的组成高度依赖于编码 α 1-2 岩藻糖基转移酶 (fucosyltransferase 2, FUT2) 的 Secretor (Se) 基因和编码 α 1-3/4 岩藻糖基转移酶 (fucosyltransferase 3, FUT3) 的 Lewis (Le) 基因的表达^[2]。具有活跃 Se 位点的乳母被归类为分泌型, 可以表达岩藻糖基转移酶 FUT2。不具有活跃 Se 位点的乳母为非分泌型, 不表达 FUT2。如表 1.2 和图 2.1 所示, Se+Le+, Se-Le+, Se+Le- 和 Se-Le- 四组不同表型女性母乳中主导的 HMOs 分别为: 第 I 组可分泌所有类型的 HMOs, 由 2'-FL、LNFP I、LNDFH I、LNT 和 6'-SL 主导, 第 II 组由 3-FL、LNT、LNFP II 和 6'-SL 主导, 第 III 组由 2'-FL、LNFP I、LNT 和 6'-SL 主导, 第 IV 组由 LNT、3-FL、F-LNH-II、LNFP III、6'-SL 和 DSLNT 主导。各组之间未观察到唾液酸化低聚糖的平均水平差异。值得注意的是, 除此分组外, Se-Le- 母亲的乳汁也含有少量岩藻糖基化的 HMOs, 这可能是 FUT2/3 以外的岩藻糖基转移酶, 如岩藻糖基转移酶 x (fucosyltransferase x, FucTx) 也会影响 HMOs 的生成^[11, 12]。

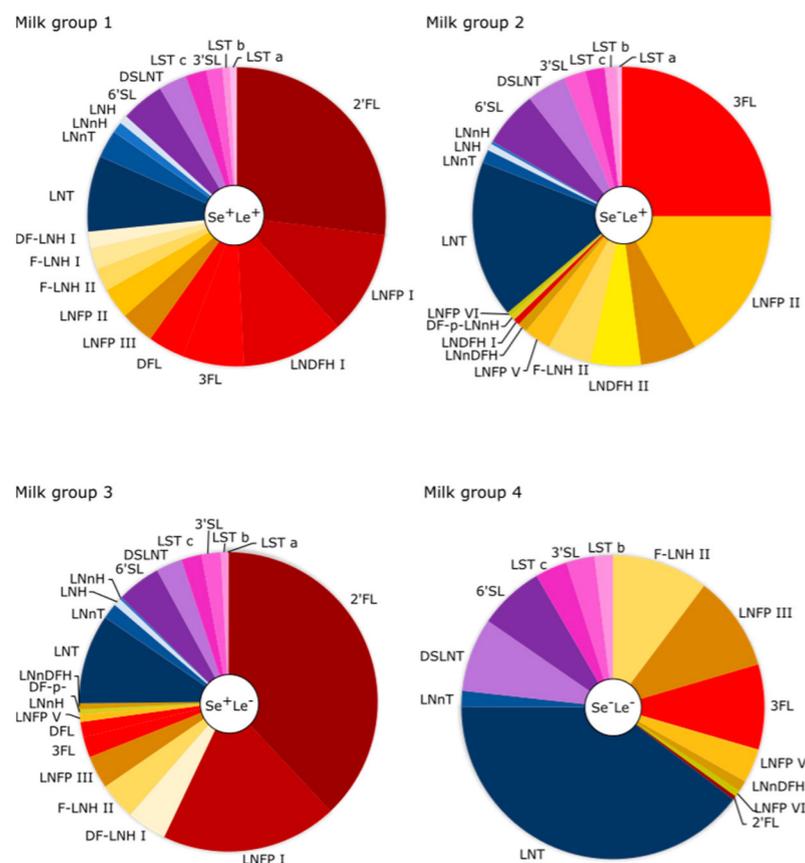


图 2.1 四组不同表型女性母乳中最主要的 HMOs^[10]

2. 哺乳期的影响

大量研究表明, 无论 Secretor 和 Lewis 表型如何, 总的 HMOs 浓度随哺乳阶段和婴儿年龄的增长而降低。初乳 (1-5 天) 和过渡乳 (6-14 天), HMOs 浓度分别为 16-22 g/L 和 14-20 g/L, 成熟乳中的 HMOs 浓度与早期乳相比下降约 38% 至 65% (出生后 22 g/L vs. 18-20 周后 8-13 g/L)^[10]。另一篇综述总结了 1996-2020 年间发表的 57 篇关于 HMOs 总量的文章, 得出总 HMOs 的含量均数分别为初乳 (0-5 天) 17.7 ± 3.3 g/L, 过渡乳 (6-14 天) 13.3 ± 6.5 g/L, 成熟乳 (15-90 天) 11.3 ± 2.2 g/L^[6]。随着哺乳期的延长, 中性岩藻糖基化、中性非岩藻糖基化、酸性 HMOs 三种不同类型的 HMOs 浓度均有所下降, 而乳糖浓度则升高。在 8-20 周时, 中性岩藻糖基化和唾液酸化 HMOs 较早期乳分别降低了 44-61% 和

1 图中展示了 10 个最主要的中性岩藻糖基化 HMOs (除了 Se-Le- 表型)、4 个最主要的中性非岩藻糖基化 HMOs 和 6 个最主要的酸性 HMOs, 分别以红色至浅橙色、蓝色、紫色至粉红色显示。比例以重量计。

65-66%, 而中性非岩藻糖基化 HMOs 含量下降最为明显, 达 77-86%^[13]。

如图 2.2 所示, 在已知含量变化的 HMO 单体中, 3-FL 是唯一哺乳期内浓度上升的 HMO, 晚期浓度比早期增加 2~3 倍。此外, 6'-SL, LNT, 二岩藻糖基乳糖 -N- 六糖 a (difucosyllacto-N-hexaose a, DFLNH_a), 二唾液酸乳糖 -N- 四糖 (disialyllactose-N-tetraose, DSLNT), 岩藻糖基乳糖 -N- 六糖 II (fucosyllacto-N-hexaose, F-LNH-II) 等在晚期乳中减少, 但其含量最高的时期为过渡期晚期 (第 2 周) 或成熟乳早期 (第 3 周), 其他的 HMOs 一般在初乳中的含量最高^[14]。

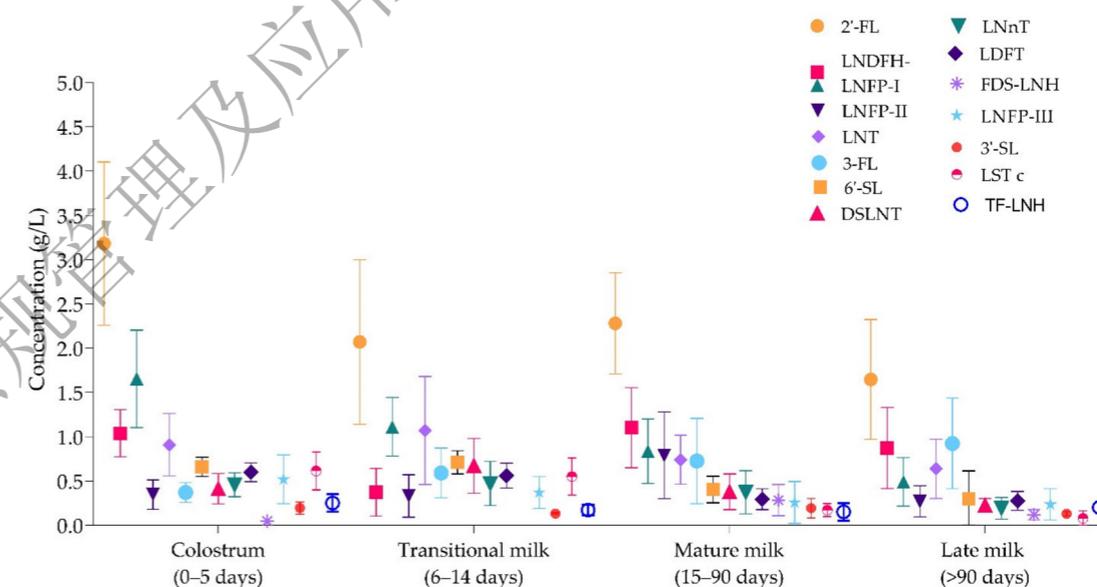


图 2.2 不同哺乳期 HMOs 的含量^[6]

3. 分娩孕周的影响

早产母乳与足月母乳中 HMOs 的比较研究, 是 HMOs 研究的热点之一。美国一项研究发现, 哺乳期第 10-23 天的早产儿母亲乳汁中的总 HMOs 浓度比哺乳期同一时期的足月儿母亲乳汁低近 2 倍 (分别为 3.6g/L 和 6.1g/L)^[15]。但另一项西班牙的研究则发现早产儿母亲乳汁中的总 HMOs 浓度与足月儿母亲乳汁在各个阶段没有明显差异, 包括初乳 (早产儿: 8.7 g/L, 足月儿: 7.5 g/L)、过渡乳 (早产儿: 8.6 g/L, 足月儿: 9.1 g/L)、成熟乳 (早产儿: 8.6 g/L, 足月儿: 8.2 g/L), 并且中性 HMOs 浓度和酸性 HMOs 浓度也无显著差异^[16]。

一项瑞士的研究报告说, 在哺乳的第一个月, 早产母乳中含有 α -1,2- 岩藻糖的 HMOs

浓度较低，唾液酸化的 HMOs 也与足月母乳不同，特别是 3'-SL 在早产母乳中含量升高^[17]。2017 年一项对母乳中 HMOs 含量的系统综述分析显示，与足月儿母亲乳汁相比，早产儿母亲乳汁中性 HMOs 的浓度低 28%，但由于足月儿母亲乳汁的研究中定量了更多的 HMOs 结构，该结论还需要进一步研究。早产儿母亲乳汁酸性 HMOs 的浓度比足月儿母亲乳汁高 54%，并且各个单体 HMO 在早产儿母亲乳汁中的浓度都更高^[18]。

4. 地区和种族的影响

母乳中 HMOs 浓度和母亲分泌型在不同地区和种族间存在差异^[19]。表 2.1 汇总了不同地区母乳中总 HMOs 的含量。我国母乳中 HMOs 的浓度与全球平均浓度大致相似。表 2.2 汇总了不同地区和种族中分泌型与非分泌型的比例。美国华盛顿、加拿大、欧洲的瑞典和西班牙中分泌型约为 68-79%，但在秘鲁和美国加利福尼亚的西班牙裔母亲中分泌型的百分比 >95%^[19]。值得注意的是，这些结论是基于小样本量，比如美国加利福尼亚的西班牙裔母亲仅纳入了 19 人。农村和城市的分泌型比例也有不同，如在冈比亚的城市与农村、埃塞俄比亚的城市与农村的分泌型母亲的比例不同^[19]。然而，在这两个国家，农村和城市人口之间的这些差异并没有统计学意义。五项针对中国母亲的独立研究结果表明，77-81% 为分泌型，19-23% 为非分泌型，与全球情况一致（表 2.3）。

对于分泌型中含量最高的 2'-FL，表 2.4 进一步汇总了不同国家/地区的含量研究，发现不同国家和地区分泌型母亲中 2'-FL 含量在同一哺乳时期存在不同，如美国加利福尼亚的西班牙裔分泌型母亲在成熟乳阶段的 2'-FL 平均含量为 3.44g/L，远远高于同一时期加纳的分泌型母乳中的含量。我国分泌型母乳的 2'-FL 含量处于已发表研究的中间水平，与全球平均值一致^[6]。需要注意的是，不同研究的检测方法不同，数值比较时需要考虑方法的差异；另外，一些研究的样本例数较少，尚不足以确信地区间的差异。但是，这些数据依然提示，在添加 HMOs 作为婴幼儿喂养的成分时，需要考虑当地母乳的含量情况，从而更好地满足不同种族、地区婴幼儿的需要。近期发表的一项系统回顾和荟萃分析研究汇总了我国母乳中的 HMO 含量，包含来自分泌型和非分泌型母亲，数据显示 2'-FL 的平均含量在 1-7 天时为 2.9g/L，8-14 天时为 1.8g/L，15-60 天为 1.7g/L，2-4 个月为 1.2g/L，4 个月之后为 0.9g/L^[223]。

表 2.1 不同地区母乳中 HMOs 总浓度汇总结果

| HMOs 含量 /g·L ⁻¹ | 观察期 /d | 来源 | n (母亲例数) | 参考文献 |
|----------------------------|--------|-----|----------|------|
| 3.5-18.5 | 1-90 | 法国 | NA | [20] |
| 15.2-16.7 | 2-7 | 法国 | 15 | [21] |
| 12.9-20.9 | 4-120 | 意大利 | 46 | [22] |
| 7.9 | 2-28 | 德国 | 10 | [23] |
| 8.6-19.6 | 10-120 | 美国 | 45 | [13] |
| 5.3-6.5 | 180 | 马拉维 | 88 | [13] |
| 7.8-22.4 | 1-140 | 中国 | 30 | [24] |
| 6.7-13.1 | 1-120 | 欧洲 | 290 | [14] |

注：NA，文献中未报道数据。

表 2.2 母亲分泌型占比的研究汇总

| 地区 | 分泌型 (%) | 非分泌型 (%) | 参考文献 |
|-------------------|---------|----------|------|
| 欧洲 | | | |
| 瑞典 | 79 | 21 | [19] |
| 西班牙 | 76 | 24 | [19] |
| 北美洲 | | | |
| 美国 (加利福尼亚州, 西班牙裔) | 95 | 5 | [19] |
| 美国 (华盛顿) | 68 | 32 | [19] |
| 加拿大 | 72 | 28 | [25] |
| 南美洲 | | | |
| 秘鲁 | 98 | 2 | [19] |
| 巴西 | 88 | 12 | [26] |
| 非洲 | | | |
| 冈比亚 (城市) | 85 | 15 | [19] |
| 冈比亚 (农村) | 65 | 35 | [19] |

续表

| 地区 | 分泌型 (%) | 非分泌型 (%) | 参考文献 |
|------------|---------|----------|------|
| 加纳 | 68 | 32 | [19] |
| 埃塞俄比亚 (城市) | 78 | 22 | [19] |
| 埃塞俄比亚 (农村) | 65 | 35 | [19] |
| 肯尼亚 | 81 | 19 | [19] |

表 2.3 对于中国人群母亲分泌型占比的研究汇总

| n (母亲例数) | 分泌型 (%) | 非分泌型 (%) | 参考文献 |
|----------|---------|----------|------|
| 222 | 77 | 23 | [27] |
| 30 | 80 | 20 | [24] |
| 446 | 79 | 21 | [28] |
| 116 | 81 | 19 | [29] |
| 56 | 77 | 23 | [30] |

表 2.4 不同国家/地区分泌型母亲中 2'-FL 含量 (均数) 的研究汇总

| 国家/地区 | 研究类型及母亲例数 | 哺乳时期 ^a | | | | | |
|--------|---|-------------------|--------|---------|-------|-------|-------|
| | | 0-4 天 | 5-11 天 | 12-30 天 | 1-2 月 | 2-4 月 | 4-8 月 |
| 多篇文献平均 | 10 个研究总结 (仅 25 例中国分泌型人群数据), 353 例 ^[18] | 平均值: 2.74 | | | | | |
| 中国 | 横断面研究 (分泌型共计 350 例) ^[28b] | NA | 2.70 | 2.39 | 2.29 | 1.87 | 1.35 |
| 中国 | 队列研究 (分泌型 39 例) ^[27] | 3.02 | 2.54 | 2.35 | 1.96 | 1.56 | NA |
| 德国 | 队列研究 (分泌型 21 例) ^[31] | 4.13 | 3.37 | 3.02 | 2.82 | 2.59 | NA |
| 意大利 | 队列研究 (分泌型 18 例) ^[32] | 3.93 | 3.02 | 2.78 | 1.84 | 2.46 | — |

续表

| 国家/地区 | 研究类型及母亲例数 | 哺乳时期 ^a | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|-------------------|--------|-----------|-------|-------|-------|
| | | 0-4 天 | 5-11 天 | 12-30 天 | 1-2 月 | 2-4 月 | 4-8 月 |
| 美国 (加利福尼亚州, 西班牙裔) | 横断面研究 (分泌型 18 例) ^[19] | — | — | 平均值: 3.44 | | | |
| 美国 (华盛顿) | 横断面研究 (分泌型 28 例) ^[19] | — | — | 平均值: 2.03 | | | |
| 秘鲁 | 横断面研究 (分泌型 42 例) ^[19] | — | — | 平均值: 3.19 | | | |
| 瑞典 | 横断面研究 (分泌型 19 例) ^[19] | — | — | 平均值: 2.77 | | | |
| 西班牙 | 横断面研究 (分泌型 31 例) ^[19] | — | — | 平均值: 1.91 | | | |
| 冈比亚 (城市) | 横断面研究 (分泌型 34 例) ^[19] | — | — | 平均值: 2.06 | | | |
| 冈比亚 (农村) | 横断面研究 (分泌型 26 例) ^[19] | — | — | 平均值: 1.44 | | | |
| 加纳 | 横断面研究 (分泌型 27 例) ^[19] | — | — | 平均值: 0.70 | | | |
| 埃塞俄比亚 (城市) | 横断面研究 (分泌型 31 例) ^[19] | — | — | 平均值: 1.39 | | | |
| 埃塞俄比亚 (农村) | 横断面研究 (分泌型 26 例) ^[19] | — | — | 平均值: 1.11 | | | |
| 肯尼亚 | 横断面研究 (分泌型 34 例) ^[19] | — | — | 平均值: 1.65 | | | |

注: a. 不同文献报道的时间有差异, 按照最接近的哺乳阶段合并, 即 0-4 天, 5-11 天, 12-30 天, 1-2 月, 2-4 月, 4-8 月; b. 根据母乳 1ml=1.04g 对文献数据进行折算; NA, 文献中未报道。

(二) 母乳中 HMOs 与牛/羊乳中低聚糖的差异

与人乳相比, 哺乳动物乳汁中的低聚糖含量要低得多, 多样性也较低。哺乳动物乳汁同人乳一样, 从初乳向成熟乳过渡的过程中, 总的低聚糖含量都有所下降, 低聚糖的成分组成也会发生变化。

表 2.5 概述了人乳和动物乳中低聚糖含量的对比。在人乳中, 50%-80% 是岩藻糖基化低聚糖, 在分泌型和非分泌型的母亲之间有所差别; 10%-30% 是唾液酸化低聚糖。大多

数家畜（包括奶牛、山羊、绵羊和猪）乳中的低聚糖浓度比人乳低，且唾液酸化低聚糖比例高于岩藻糖基化低聚糖。此外，家畜乳中构成低聚糖的单糖含有人乳不含的 N-羟乙酰神经氨酸（N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc），并且人乳中不含有这类低聚糖。

1. 牛乳

目前，在牛乳中已经发现了 35 种酸性低聚糖的结构^[33]。牛乳中的低聚糖浓度和构成与乳牛品种有关^[34, 35]。此外，母牛的产次对低聚糖含量也存在一定的影响，第二胎的母牛中例如 3'-SL 和 6'-SL 的酸性低聚糖以及中性低聚糖 LNT 的浓度更高。

牛乳中的低聚糖含量远低于人乳，初乳和成熟牛乳中的浓度分别为 1g/L 和 0.03-0.06 g/L^[36]。除浓度外，牛乳中低聚糖的结构和多样性也明显低于人乳^[37]。牛乳中唾液酸化的低聚糖占比很高，占牛乳中总低聚糖的约 70%^[38]。但与人乳相比，牛乳中总低聚糖的绝对量低得多，因此，牛乳中酸性低聚糖的浓度依然明显低于人乳，尤其是 3'-SL 和 6'-SL。在人乳中，6'-SL 是最主要的酸性低聚糖；然而，在牛乳中，3'-SL 的浓度高于 6'-SL。因此，牛乳基的婴儿配方奶中低聚糖的含量远低于人乳中的含量。

2. 山羊乳

山羊乳低聚糖的浓度在初乳中约为 0.4-1.35 g/L，在成熟乳中为 0.25-0.3 g/L^[39]。山羊初乳中已鉴定出总共 78 种不同结构的低聚糖，其中约有 45% 是酸性低聚糖^[40]；在山羊成熟乳中鉴定出 64 种低聚糖，其中 37 种是酸性低聚糖。山羊乳中的酸性低聚糖浓度也因品种不同存在区别^[41]。山羊乳中也含有 2'-FL，但是含量远低于人乳^[42]。山羊乳基的婴儿配方奶中低聚糖的含量远低于人乳中的含量。与人乳相同，山羊乳中最主要的酸性低聚糖是 3'-SL 和 6'-SL^[41]。虽然山羊乳的总体乳低聚糖含量达不到人乳中的含量，但仍明显高于牛乳和绵羊乳，有报告称其含量在成熟乳中分别高出牛乳 5 倍、绵羊乳 10 倍^[43]。

表 2.5 人乳和动物乳中低聚糖含量的对比（哺乳期内平均值的范围）

| 低聚糖 | 人乳, g/L | 牛乳, g/L ^[44] | 山羊乳, g/L ^[44] |
|-----------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 初乳中低聚糖总量 | 9.1-25 ^[6] | 1 | 0.4-1.35 |
| 成熟乳中低聚糖总量 | 8.6-16.8 ^[6] | 0.03-0.06 | 0.25-0.3 |
| 2'-FL | 0.00-4.28 ^[6] | 痕量 | 痕量 |
| 3-FL | 0.10-2.57 ^[6] | 痕量 | 痕量 |

续表

| 低聚糖 | 人乳, g/L | 牛乳, g/L ^[44] | 山羊乳, g/L ^[44] |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| DFL | 0-0.7 ^[6] | — | — |
| LNT | 0.1-3.9 ^[6] | 痕量 | 痕量 |
| LNnT | 0.04-1.24 ^[6] | 痕量 | — |
| LNFP I | 0.00-2.14 ^[6] | — | — |
| LNFP II | 0.00-1.814 ^[6] | — | — |
| LNFP III | 0.02-0.89 ^[6] | — | 痕量 |
| 3'-SL | 0.00-0.70 ^[6] | 0.035-0.119 | 0.03-0.05 |
| 6'-SL | 0.00-1.297 ^[6] | 0.014-0.088 | 0.05-0.07 |
| LST a | 0.03-0.2 ^[44] | 痕量 | — |
| LST b | 0.01-0.16 ^[44] | — | — |
| LST c | 0.00-0.941 ^[6] | 痕量 | — |
| 6'-SLN | 0.00-0.02 ^[6] | 0.009-0.176 | 痕量 |
| DSL | 0.01-0.02 ^[6] | 0.002-0.07 | 0.001-0.005 |
| DSLNT | 0.00-1.30 ^[6] | 痕量 | — |
| α3'-GL | 0.005-0.039 ^[6] | 痕量 | 0.03-0.05 |
| β3'-GL | 痕量 ^[44] | 痕量 | 0.03 |
| 4'-GL | 0.0013-0.0018 ^[6] | — | — |
| 6'-GL | 0.004-0.7 ^[17, 42, 45, 46] | 痕量 | 痕量 |
| α-3'-GalNAcL | — ^[44] | 0.003-0.065 | 痕量 |
| 6'-GlcNAcL, NAL | — ^[44] | 痕量 | 0.02-0.04 |
| LNDFH I | 0.00-2.53 ^[6] | — | — |
| LNH | 0.00-0.16 ^[6] | — | 0.001-0.005 |
| LNnH | 0.01-0.18 ^[6] | — | — |

注：— 表示未检出



(三) 母乳中 HMOs 与低聚半乳糖和低聚果糖的差异

低聚半乳糖 (galactooligosaccharides, GOS) 和低聚果糖 (fructooligosaccharides, FOS) 在我国可作为营养强化剂在婴儿配方食品中使用。GOS 和 FOS 的混合物已经广泛添加到婴儿配方奶粉中。GOS 和 FOS 与 HMOs 主要的不同在于结构不同, 包括构成 GOS 和 FOS 的单糖种类较少, 缺乏 HMOs 中含有的单糖, FOS 含有 HMOs 中不含的果糖; 此外, GOS 和 FOS 的结构较单一, 缺乏 HMOs 的支链结构和结构多样性。由于结构不同, 它们在菌群调节方面作用也与 HMOs 不同^[47]。

GOS 是一种在半乳糖或葡萄糖分子上通过 β 1-3, β 1-4 或者 β 1-6 键连接 1-7 个半乳糖基形成的低聚糖。在母乳中天然存在乳糖分子和半乳糖分子的连接结构, 主要以三糖形式存在, 目前已经检测到微量的 3'-GL, 4'-GL 和 6'-GL^[45]。在初乳中 6'-GL 的含量较高, 其次为 3'-GL 和 4'-GL, 分别为 3-700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5-39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.06-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[45]。

FOS 按结构可分为蔗-果型低聚果糖和果-果型低聚果糖。蔗-果型低聚果糖是在蔗糖分子的果糖基上通过 β 2-1 糖苷键继续连接一到多个果糖基而成的聚合度为 3-9 的直链低聚糖混合物, 以蔗果三糖, 蔗果四糖, 蔗果五糖等为主要成分。果-果型低聚果糖是 2-9 个果糖基通过 β (2-1) 糖苷键连接而成的直链低聚糖混合物, 以果果二糖至果果八糖为主要成分^[48]。母乳中不存在低聚果糖的结构。



母乳低聚糖的临床前研究、临床研究与功能

越来越多的临床前研究, 如体外和动物研究发现了 HMOs 的多种功能。HMOs 促进有益菌的生长, 如婴儿特异性双歧杆菌。HMOs 具抗粘附作用, 可作为可溶性诱饵受体, 抑制病原体附着在粘膜表面, 并降低病毒、细菌和原生动物寄生虫感染的风险。此外, HMOs 可以直接或间接调节上皮和免疫细胞反应, 支持肠道屏障功能, 增强短链脂肪酸的产生, 并提供唾液酸作为大脑发育和认知的潜在重要营养素^[49]。

有以新生儿为对象的观察和临床研究发现 HMOs 对减少腹泻^[50, 51]、呼吸道感染^[51, 52]以及减少抗生素和退烧药使用^[52]等有积极影响。如高水平的 2'-FL、LNDFH I, LNFP II 与减少腹泻有关, 低水平的 DSLNT 与坏死性小肠结肠炎 (NEC) 发生的风险有关, 在婴儿配方奶粉中补充 2'-FL 和 LNnT 可减少呼吸道感染的发生率以及抗生素和退烧药的使用^[52]。同时, HMOs 能够调节肠道菌群, 促进最佳胃肠道菌群的建立, 包括双歧杆菌的定植^[53]。在婴儿配方奶粉中补充 2'-FL 和 LNnT 可使肠道微生物群更接近母乳喂养婴儿^[54]。婴儿深度水解配方奶中补充 2'-FL 和 LNnT 在高过敏风险婴儿中耐受性良好^[55], 2'-FL、LNFP III 等 HMOs 可能对预防食物过敏、湿疹等也有积极作用^[56, 57]。

(一) HMOs 的临床前研究

1. 肠道菌群调节——益生元作用

根据《中国营养学会益生元与健康专家共识》, 益生元是指一般不能被人体所消化吸收但可被人体微生物选择性利用, 能够改善肠道微生物组成和/或活性从而有益于人体健康的食物成分^[58]。HMOs 能够抵抗胃酸的破坏和消化酶的分解, 仅有约 1% 的完整 HMOs 在消化道被吸收, 绝大部分可到达远端小肠和结肠, 被肠道菌群内的细菌发酵利用, 从而促进有益菌群生长, 以及有益的代谢产物的生成。从这个意义上讲, HMOs 是益生元^[5, 59]。

生命早期的第一年对于建立肠道微生物组至关重要，HMOs 在其中发挥着重要作用。分娩时，婴儿暴露在来自母亲和环境的一系列微生物中，肠道成为密集的微生物群的家园。最早定植的细菌是可建立厌氧环境的兼性厌氧菌。双歧杆菌是母乳喂养婴儿在出生后几天内的最大微生物群^[60, 61]。据报道，母乳喂养婴儿中双歧杆菌占细菌总数的 50%-90%（在配方奶粉喂养婴儿中双歧杆菌通常较少）。双歧杆菌具有多种益处，包括支持免疫发育，以及生产乳酸盐和醋酸盐等短链脂肪酸。这些 SCFA 作为肠道上皮的营养来源，以及促进产生丁酸盐的细菌的生长，帮助肠道健康和发育^[62]。母乳喂养婴儿的粪便中双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）和乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）含量更高，潜在病原体含量低于配方奶喂养婴儿的粪便，这种差异部分取决于母乳中含有大量的 HMOs，这些成分完整地到达婴儿结肠并可刺激有益微生物如双歧杆菌的生长。

HMO 在建立婴儿特异性肠道微生物群方面发挥着重要作用。如上所述，HMO 不被婴儿消化，而是被特定有益的肠道细菌选择性地利用，如长双歧杆菌婴儿亚种（*Bifidobacterium longum subsp. infantis*, *B. infantis*）和两歧双歧杆菌（*Bifidobacterium bifidum*, *B. bifidum*），以及其他在母乳喂养婴儿肠道中占主导地位的菌种^[49]。婴儿所具备的双歧杆菌菌株具有多种转运体，碳水化合物结合蛋白，和能够参与 HMOs 导入和处理的糖苷水解酶^[49, 63]。对双歧杆菌而言，降解 HMOs 的酶仅存在于短双歧杆菌（*Bifidobacterium breve*, *B. breve*），两歧双歧杆菌（*B. bifidum*），长双歧杆菌长亚种（*Bifidobacterium longum subsp. Longum*, *B. longum*），长双歧杆菌婴儿亚种（*B. infantis*），某些情况下，包括假链状双歧杆菌（*Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *B. pseudocatenulatum*）。HMOs 并不支持所有双歧杆菌的生长。通常与婴儿肠道无关的双歧杆菌菌种不能很好地利用 HMOs 进行生长^[47, 49]。除了婴儿肠道相关的双歧杆菌外，一些拟杆菌和乳酸杆菌也可利用 HMOs。例如双歧杆菌属和乳酸杆菌属能够特异性表达唾液酸酶和岩藻糖苷酶来切割唾液酸和岩藻糖基^[64]。虽然双歧杆菌的多个菌株可以利用 HMOs，但不同菌株对 HMOs 的利用程度不一。体外研究发现，HMOs 作为唯一碳水化合物来源时，长双歧杆菌婴儿亚种（JCM1222）生长良好，数目明显增多。JCM1222 可以完全消耗 HMOs，包括其降解的单糖和二糖产物^[65]，其基因组编码 24 种不同的糖苷酶，包括 2 α - 唾液酸酶和 5 α -L- 岩藻糖苷酶，负责将 HMOs 降解为单糖^[66]。其他双歧杆菌菌株，如两歧双歧杆菌（JCM1255），长双歧杆菌长亚种（JCM1217）和短双歧杆菌（JCM1192）能部分利用 HMOs^[65]。除了体外发酵研究，在无菌小鼠中的研究显示，与多形拟杆菌（*Bacteroides thetaiotaomicron*）相比，LNnT 可选择

性地促进婴儿双歧杆菌（*Bifidobacterium infantis*）的生长^[67]。无菌小鼠同时接种婴儿双歧杆菌和多形拟杆菌，当小鼠饮食中不含 LNnT 时，婴儿双歧杆菌的相对丰度仅为 2% 左右，而当小鼠饮用水中添加 LNnT 时，婴儿双歧杆菌的相对丰度则增加至 40% 以上。

HMOs 除了能够调节肠道中双歧杆菌的组成外，它们还可以直接与其他有益菌相互作用并影响肠道微生物的分布。研究表明，许多拟杆菌属（*Bacteroides*）都能代谢 2'-FL, 3-FL, 3'-SL, 6'-SL 和 DFLNT^[68]，而干酪乳杆菌（*Lactobacillus casei*）可以利用 LNB I 和 LNB II^[69]。

此外，婴儿双歧杆菌等有益菌对 HMOs 的降解可产生短链脂肪酸、乳酸等代谢产物，并同时降低肠道 pH 值，有利于宿主对基本营养物质的摄取，并创造有利于共生菌生长而对抗潜在病原体的环境^[70]。短链脂肪酸还支持产生丁酸的细菌的生长^[71]，丁酸又可支持婴儿的肠道发育和健康，例如预防过敏的发生^[72]。

有益菌株粘附于肠上皮的能力在影响肠道菌群的组成中起着关键作用，菌株在肠上皮的定殖通过更具黏附性来与其他物种竞争。近年来，许多研究表明，HMOs 可通过影响细菌粘附素的表达来增强有益菌株的粘附能力^[73]。这种增强的粘附性可能会延长有益菌的肠道转运时间，增加宿主 - 微生物和 / 或微生物 - 微生物的相互作用，从而使宿主获得更大的健康益处。HT-29 和 Caco-2 细胞系通常被用来模拟益生菌对肠道上皮细胞的粘附。Chichlowski 等人的一项体外研究表明，在 HMOs 上培养婴儿双歧杆菌 ATCC 15697（*Bifidobacterium infantis* ATCC 15697）明显增加了该菌株对肠道细胞的附着性^[74]。同样地，在 3'-SL 和 6'-SL 存在的情况下可以显著提高婴儿双歧杆菌对 HT-29 细胞的粘附力^[73]。随后的转录组分析显示，这种粘附性的增加与伴侣蛋白、转录因子、粘附相关蛋白和糖基水解酶的上调有关^[75]。

因此，作为益生元，HMOs 不仅可以作为有益菌生长的底物，还可以通过增加有益菌与上皮细胞的结合能力来延长其在胃肠道中的持久性，从而维护宿主的健康。

2. HMOs 对病原体的结合作用

许多病毒、细菌或原生动植物病原体需要粘附在粘膜表面才能定殖或侵入宿主并引起疾病。HMOs 可以通过充当抗粘附剂来直接减少微生物感染^[2, 76, 77]。病原体粘附通常是由凝集素 - 聚糖相互作用引起的，病原体必须附着在“糖萼”上才能侵入宿主并引起疾病。糖萼（glycocalyx）是指覆盖在质膜外表面的糖蛋白或糖脂的统称。一些 HMOs 的结构与粘膜细胞表面聚糖类似，可“模仿”上皮细胞的表面聚糖，用作可溶性诱饵受体，防止病原体结合粘膜细胞表面并降低感染风险^[78]。被 HMOs 阻断的细菌凝集素受体不能

参与识别宿主细胞表面糖位的反应，从而阻止它们的粘附和定殖，形成细菌-HMOs 复合物随粪便排出。例如，具有 1 型菌毛的大肠杆菌与含甘露糖的聚糖结合，而带有 S 菌毛的大肠杆菌以及幽门螺杆菌与唾液酸化的聚糖结合^[79, 80]。糖介导的附着机制也适用于诸如病毒或轮状病毒等许多病毒，它们是婴幼儿严重腹泻的最常见原因，每年导致全球 45.3 万的 5 岁以下婴幼儿及儿童的死亡^[81]。与婴儿相关的其他几种病原体也受到这种机制的抑制，包括空肠弯曲菌 (*Campylobacter jejuni*)、肠沙门氏菌 (*Salmonella enterica*)、流感病毒 (influenza virus) 和呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus) 以及轮状病毒 (rotavirus)^[10, 49]。

除了 HMOs 对凝集素的竞争性结合作用外，研究还表明了其对病原体的其他作用模式。例如，HMOs 对无乳链球菌和鲍曼不动杆菌的某些菌株具有抑菌作用，还对无乳链球菌和金黄色葡萄球菌的某些菌株具有抗生物膜活性^[82]。推测是由于 HMOs 通过结合了细菌细胞壁上荚膜多糖和肽聚糖，从而提高了整体膜通透性并干扰生物膜的产生^[10, 83]。HMOs 能够干扰白色念珠菌的菌丝形态发生的细胞和基因表达，从而抑制病原体-宿主相互作用^[84]。3'-SL 能够通过减少唾液酸转移酶的表达来调节糖萼，从而可能减少致病性大肠杆菌粘附位点^[85]。另外，HMOs 的抗凋亡和抗炎特性，能够对溶组织内阿米巴和尿路致病性大肠杆菌的侵袭起到细胞保护作用^[86]。表 3.1 总结了 HMOs 对不同病原体的影响。

表 3.1 HMOs 对不同病原体的影响^[10]

| 病原体 | 菌株/亚型 | HMOs | 作用机制 |
|------------|---|--|------------------------|
| 鲍曼不动杆菌 | ATCC 19606 | 总 HMOs | 抑菌作用 |
| 空肠弯曲菌 | 81-176, 287ip, 84sp, 166ip, 10sp, 57sp | 总 HMOs, 2'-FL | 抗侵入; 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 艰难梭菌 | N/A | 总 HMOs, 中性非岩藻糖基化 HMOs, 以及 8 种 HMOs | TcdA 毒素抑制 |
| 艰难梭菌 | N/A | 11 种 HMOs | TcdB 毒素抑制 |
| 大肠杆菌 | O18:K1 | 3'-SL | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 肠出血性大肠杆菌 | N/A | 20 种 HMOs | HLT, Stx1, Stx2 毒素抑制 |
| 肠致病性大肠杆菌 | O119, E2348/69, O1163, O111:H2, O1736, O119:H6, 851/71, O142:H6 | 总 HMOs, 中性 HMOs, 岩藻糖基化 HMOs, 酸性 HMOs, 2'-FL, 3-FL, DFL, LNFI, LNFP II, LNFP III, LNT, LNnT, 3'-SL, 6'-SL | Sta 毒素抑制; 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 肠毒性大肠杆菌 | H4 CFA/I, 23 CFA/II, F18 | 酸性 HMOs, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL, DSLNT, LST a, 3-FL | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 尿路致病性大肠杆菌 | CTF073, FVL 25 Fimbria P-like | 总 HMOs, 中性, 三糖, 五糖, 高分子量 HMOs, 唾液酸 HMOs, 3'-SL, 6'-SL, DSLNT, LST a, 3-FL | 凝集素-聚糖结合抗粘附; 抗侵入; 细胞保护 |
| 铜绿假单胞菌 | DSM1707 | 2'-FL, 3'-FL, LNFP II, LNnFP V, LNnDFH II, 3'-SL | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 幽门螺杆菌 | 1832, CP22, 1351 | 3'-SL | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 单核细胞增生李斯特菌 | EGD-e | 总 HMOs | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 脑膜炎奈瑟氏球菌 C | 8013 | 酸性和中性 HMOs | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 肠沙门氏菌 | Serovar fyris | 酸性和中性低分子量 HMOs, 6'-SL, 2'-FL, 3-FL | 凝集素-聚糖结合抗粘附 |
| 金黄色葡萄球菌 | USA300 | 总 HMOs | 抑菌作用; 干扰生物膜产生 |

续表

| 病原体 | 菌株/亚型 | HMOs | 作用机制 |
|----------|--|--|-------------------------|
| 无乳链球菌 | CNCTC 10/84、GB590、GB2、ST III (COH-I、A909、NCTC) | 总 HMOs、中性 HMOs、岩藻糖基化 HMOs、LNT、LNnT、DFL、LNFP I、LNFP II、LNFP III、LNnH、LNDFHI、LST a、LST c、DSLNT、3'-SL、6'-SL | 抑菌作用；干扰生物膜产生 |
| 肺炎链球菌 | R6、SIII、AII | LNT、LNnT、3'-SL、6'-SL、LST c、LNnT、3'GL | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 霍乱弧菌 | N/A | 酸性 HMOs、中性高分子量 HMOs、18 种中性和唾液酸 HMOs、3'-SL | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附；霍乱毒素 B 抑制 |
| 流感病毒 | H1N1、H1Nx、H9N2 | 3'-SL、6'-SL | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 人类免疫缺陷病毒 | N/A | 总 HMOs | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 诺如病毒 | G.I、G.II.4、G.II.10、G.17 | 2'-FL、3-FL、LNFP I | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 呼吸多核体病毒 | NM232 | 2'-FL、3'-SL、LNnT | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 轮状病毒 | OSU; GIP、G2P | 3-FL、3'-SL、6'-SL | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 烟曲霉 | CBS 113.26 | 3'-SL | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附 |
| 白色念珠菌 | SC5314 | 总 HMOs | 抑制菌丝形态发生的细胞和基因表达 |
| 溶组织性变形虫 | HM-1:IMSS | 总 HMOs、中性非岩藻糖基化 HMOs、LNT、LNFP II、LNFP III | 凝集素 - 聚糖结合抗粘附；细胞保护 |

1) 对细菌感染的影响

导致腹泻的最常见的空肠弯曲菌是一种可被特定 HMOs 抑制的致病菌。HMOs 可以抑制空肠弯曲菌在小鼠体内和人类肠粘膜的体外培养物中的致病作用。体外研究表明， α 1-2 岩藻糖基化的 HMOs 分子可以抑制空肠弯曲菌对肠道细胞上的 H-2 抗原的粘附^[87]。最近的一项调查发现，2'-FL 不仅能抑制空肠弯曲菌与粘膜表面的结合，还能将其入侵率降低 80%。在小鼠模型中也观察到抗空肠弯曲菌的效果，通过测量粪便中的空肠弯曲菌的数量和观察结肠、脾脏和淋巴结的病理变化，发现 2'-FL 减少了空肠弯曲菌感染^[88]。

临床前研究数据显示 HMOs 也具有减少大肠杆菌致病的功能。肠道致病性大肠杆菌引起严重的腹泻疾病，在婴儿中导致极高的死亡率^[89]。HMOs 可显著降低肠道致病性大肠杆菌在上皮细胞的定殖，HMOs 干预的幼鼠比空白对照组或 GOS 干预的幼鼠明显减少肠道致病性大肠杆菌感染^[86]。动物实验的结论与此前体外研究的结果一致，即大肠杆菌 O119 血清型的感染性受到酸性 HMOs 及一些高分子量和低分子量 HMOs 组分的抑制^[90]。除了减少病原体的粘附，2'-FL 和 LNFP I 还可以通过结合 1 型不耐热肠毒素来降低病原体的感染性^[91]。岩藻糖基化 HMOs 能有效缓解肠道致病性沙门氏菌的粘附和感染性^[92]，而 3'-SL 等唾液酸化 HMOs 可以抑制幽门螺杆菌对胃肠道上皮细胞的粘附^[93]。

除了减少病原体的粘附性和抵御病原体的入侵，临床前研究数据证实 HMOs 还可以通过改变上皮表面的基因表达来减少感染风险。HMOs 可以改变 Caco-2 细胞的基因表达，通过诱导未折叠蛋白反应和 eIF2 信号传导，导致单核细胞增生李斯特菌对其的粘附力显著降低^[94]。HMOs 还可以通过直接抑制病原体的生长发挥抗感染作用^[95]，如 LNT 和 LNFP I 对 B 族链球菌的生长有显著抑制作用^[96]。

2) 对病毒感染的影响

临床前研究数据证实 HMOs 通过模仿病毒受体位点减弱病毒进入细胞和在细胞内复制来发挥抗病毒作用。如 HMOs 可抵抗诺如病毒 (norovirus) 和轮状病毒 (rotavirus)，这两种病毒是全球胃肠炎爆发的主要原因^[97]。HMOs 可降低基因组 I 基因型 1 (GI.1) 和基因组 II 基因型 4 (GII.4) 的诺如病毒与组织血型抗原 (histo-blood group antigens, HBGA) 的结合，从而降低诺如病毒感染力^[98]。HBGA 是诺如病毒粘附的关键结合位点^[99]，而一些 HMOs 表现出与 HBGA 的同源性，例如岩藻糖基化的 HMOs 可模仿 HBGA 与病毒进行结合，从而竞争性地减少诺如病毒的粘附^[100]。

唾液酸化的 HMOs 在体外可抑制轮状病毒的复制，并在动物实验中减轻胃肠炎的症

状^[101]。体外实验发现 3'-SL 和 6'-SL 对猪轮状病毒有抗感染作用,进一步通过仔猪模型的体内研究,发现酸性(3'-SL、6'-SL 和唾液酸混合物)和中性(LNnT)HMOs 成分均能显著降低轮状病毒的感染性^[102]。最近,HMOs 被证明可以降低猴肾上皮细胞中 2 种优势轮状病毒菌株的感染性,并且具有明显的菌株特异性差异。轮状病毒 G1P^[8]型的感染性受到 2'-FL 的抑制最显著,而 3'-SL 和 6'-SL 对 G2P^[4]型的影响最显著^[103]。

除了对肠道病毒的抑制作用外,HMOs 还可以预防呼吸道病毒的感染^[104]。体外研究发现唾液酸化 HMOs 可降低流感病毒的传染性,2'-FL 则可降低了呼吸道合胞病毒的病毒载量。此外,在小鼠流感疫苗接种模型中,2'-FL 的干预导致获得性和先天性免疫力的提高^[105]。

3) 对真菌感染的影响

HMOs 抗真菌作用的研究较少,但 HMOs 也具有减少真菌感染的作用。如一项使用 H4 早熟肠上皮细胞的体外研究发现 HMOs 改变了白色念珠菌的菌丝诱导,从而防止了其肠上皮的入侵^[84]。

4) 对原生动动物寄生虫感染的影响

已有 HMOs 对原生动动物寄生虫作用的报道。溶组织内阿米巴主要寄生于结肠,引起阿米巴痢疾和各种类型的阿米巴病。据统计,全球约有 5000 万人感染了溶组织内阿米巴,导致每年约 100,000 人死亡,成为寄生虫病死亡的第三大原因^[106]。溶组织内阿米巴感染需要附着在宿主的结肠粘膜上。不能附着的寄生虫会随粪便排出体外,不会引起疾病。HMOs 在消化道几乎不被消化和吸收,因此可以到达结肠中与溶组织内阿米巴感染相同的部位。体外模型中,非岩藻糖基化的 HMOs 可以作为可溶性诱饵受体,通过对凝集素的竞争性结合作用,减少了溶组织内阿米巴的粘附和细胞毒性^[107]。

3. 对肠道发育的促进作用

小肠和结肠的肠上皮细胞形成肠腔和循环系统之间的物理屏障,是先天免疫的第一道防线^[108],并与共生微生物群、免疫细胞和基质细胞协同作用,在最前沿保卫身体免受病原体侵害。多能干细胞从隐窝沿绒毛轴分化成吸收营养的肠细胞、分泌型的杯状细胞、肠内分泌细胞和潘氏细胞,以及与肠道免疫系统通信的微褶皱和簇状细胞。这种细胞屏障通过紧密连接以及糖萼和黏液层得到加强。紧密连接控制上皮表面的细胞旁通透性,而糖萼是糖脂和糖蛋白的复杂网状结构,负责表面的微生物粘附、识别、通讯和毒素排斥。黏液层覆盖在胃肠道的内表面,并对病原体和外源性分子起到屏障功能。屏障完整性的受损会导致机体产生多种免疫反应,包括胃肠道感染、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)和过敏^[109]。

目前 HMOs 对肠道细胞和结构的直接调节作用的临床干预研究较少。然而,临床前研究的数据显示 HMOs 对肠道的成熟有积极影响。通常在体外使用 HT-29, Caco-2 或其他肠道细胞系培养物用于研究营养物和微生物代谢物影响上皮完整性的机制。已有研究证明,HMOs (LNnT, 2'-FL 和 6'-SL)可以促进紧密连接蛋白的表达,并增加沿隐窝-绒毛轴的细胞分化。研究发现① 2'-FL 显著增加 HT-29 细胞的分化;② LNnT, 6'-SL 以及 2'-FL 可剂量依赖性抑制细胞过度增殖;其中 LNnT 与 6'-SL 效果更加明显;③ LNnT 能够降低跨上皮屏障通透性^[110]。这表明 HMOs 的功能具有结构特异性^[59, 111]。

在白介素 10 基因敲除小鼠模型中,2'-FL 减少了结肠炎的发生。该研究通过测量血清 FITC-右旋糖酐水平来测定肠通透性,结果表明补充 2'-FL 可以显著增加上皮完整性^[112]。这些影响与共生的鲁米诺球菌(*Ruminococcus gnavus*)的丰度增加和盲肠中丙酸盐的含量升高有关。这意味着通过促进有益细菌的生长,HMOs 可以通过创造更健康的 SCFA 平衡来有利地调节上皮屏障。

糖萼作为糖脂和蛋白聚糖骨架,为微生物提供结合位点,并可以充当防止毒素入侵的物理屏障。糖萼层的成熟不良会导致各种胃肠道疾病。体外研究表明,HMOs 通过改变各种糖萼成分的表达来支持肠屏障功能。最近的研究证明,岩藻糖基化的 HMOs 显著增强了 Caco-2 细胞中糖萼的发育^[113]。2'-FL 和 3-FL 显著增加了白蛋白吸收,而 3-FL 在增加 Caco-2 细胞糖萼中白蛋白、硫酸乙酰肝素和透明质酸的覆盖面积方面的作用比 2'-FL 更明显。白蛋白的吸附增加与糖萼的稳定性提高和病原菌的粘附性降低有关。硫酸乙酰肝素和透明质酸在糖萼中形成主要的糖胺聚糖链,并与蛋白聚糖的核心蛋白相连。胃肠道疾病,如 IBD,与这些糖胺聚糖链表达的改变有关。硫酸乙酰肝素和透明质酸的表达改善支持肠上皮修复和先天免疫的稳态。HMOs 对黏液屏障中黏蛋白糖蛋白的表达也有积极作用。黏液层变薄与肠道通透性增加和胃肠疾病如坏死性小肠结肠炎(necrotising enterocolitis, NEC)发病有关^[114]。

HMOs 还可以通过诱导黏蛋白的产生来保护肠道。黏蛋白是构成肠道黏液并防止肠道感染的主要蛋白质^[115]。在体外实验中,HMOs 可诱导人类肠上皮细胞和类器官的黏蛋白-2(Mucin 2, MUC2)的表达,还可以激活二硫键异构酶^[116]。在补充了 HMOs 的小鼠 NEC 模型中,也观察到 MUC2 表达增加和肠道通透性降低^[117]。总之,体内和体外研究结果均表明,HMOs 对肠道屏障功能有积极影响,可以通过改善紧密连接蛋白、糖蛋白和黏蛋白的表达在一定程度上减轻肠道功能障碍和 NEC。

续表

4. 免疫调节

虽然绝大多数 HMOs 未被消化而进入结肠，但有一小部分被完整地吸收。早在 1996 年就有母乳喂养的婴儿尿液中存在完整的 HMOs 的报道^[118]，表明 HMOs 可被直接吸收，随后的临床研究表明 HMOs 从胃肠道到循环系统的吸收率为 1-5%^[119]。HMOs 除了在婴儿的肠道中发挥作用外，还可能有助于其他器官和全身细胞系统的发育和生理功能。HMOs 可通过免疫细胞表面表达的受体分子调节免疫细胞之间的相互作用来平衡炎症反应^[120]。动物研究发现，补充 2'-FL 和 / 或 6'-SL 可减少小鼠和乳猪 NEC 的发生，这与炎症细胞因子（如 TNF-alpha）的表达减少有关，此外 2'-FL 和 6'-SL 可与 Toll 样受体（toll-like receptors, TLR）中的 TLR4 结合从而阻止 LPS 结合和 TLR4 信号通路。TLR4 信号通路被认为在 NEC 中起着至关重要的作用^[121]。表 3.2 总结了一些在 T 细胞、中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞等免疫细胞上的具有 HMOs 结合特异性的受体。

对婴儿而言，HMOs 被认为可通过调节对细胞运输很重要的炎症标记物的表达和帮助炎症和抗炎细胞因子的平衡来调节新生儿免疫反应。例如，一项研究表明，从初乳中分离出来的 HMOs 减少了促炎细胞因子的表达，并将 Th1/Th2 细胞因子的平衡转变为更成熟的状态^[122]。

表 3.2 HMOs 参与识别的生物学受体^[59]

| 类型 | 受体名称 | 表达细胞 | 功能 | HMOs |
|----------------|------------|------------------|--|-------------------------------------|
| C 型凝集素 | DC-SIGN | 抗原呈递细胞 | 含有糖表位的抗原的内化。在 IgA 转胞吞作用中发挥作用并与各种病原体相互作用。 | 2'-FL、3-FL、LNFP III、LNFP IV、LNDFH I |
| 半乳凝素 | Galectin-3 | T 细胞、肠上皮细胞 | 免疫细胞稳态和炎症的调节。参与调节 T 细胞功能。 | 3'-SL、LNFP I、LNFP II、LNFP III、LNDFH |
| 选择素 | P-selectin | 白细胞、内皮细胞 | 促进白细胞运输的细胞粘附分子。 | Sialyl-lewis X 结构的 HMOs |
| | E-selectin | | | |
| 唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素 | Siglec-4 | 中性粒细胞、单核细胞、树突状细胞 | 抑制细胞活化和增殖、调节巨噬细胞 / 树突状细胞产生的细胞因子。调节 B 淋巴细胞和 T 细胞功能。 | α2-3 键连接的唾液酸 |
| | Siglec-2 | | | α2-6 键连接的唾液酸 |
| | Siglec-5 | | | Sialyl-lewis c 结构 |
| | Siglec-9 | | | 唾液酸化 HMOs |

| 类型 | 受体名称 | 表达细胞 | 功能 | HMOs |
|-----|------|------------|--------------------------------|-------------------------|
| TLR | TLR2 | 巨噬细胞、树突状细胞 | 激活 NF-kB 和干扰素调节因子通路、导致促炎因子的分泌。 | 3-FL, 3'-SL, 6'-SL |
| | TLR3 | | | 3'-GL, 4'-GL, 6'-GL |
| | TLR4 | | | LNFP I, LNFP III, 2'-FL |

5. 对神经发育的影响

越来越多临床前研究表明，岩藻糖基化和唾液酸化 HMOs 对神经发育可能有积极影响。表 3.3 总结了 HMOs 对神经发育的影响的研究。动物研究发现 2'-FL 的摄入可以影响神经发育及认知能力^[123]。对口服 2'-FL 的大鼠及空白组在其 12 月龄进行行为学检测，结果表明 2'-FL 可以增加其幼年期及成年期的认知能力。还有研究表明，2'-FL 能够改善学习和记忆功能。大鼠摄入 2'-FL 能刺激其中枢神经系统功能和改善海马体的长时程增强效应（long-term potentiation, LTP）^[124]，并且长期补充 2'-FL 还增加了参与存储新获得记忆的分子的表达^[123]。仔猪摄入 2'-FL 后，在新物体识别测试中有更好的表现，在延迟 48 小时后表现出更好的识别记忆^[125, 126]。对啮齿动物的进一步的研究表明，这可能是通过脑-肠轴发挥作用，因为切割迷走神经抑制了 HMOs 补充的作用^[124]。

母乳是唾液酸的丰富来源，这可能是新生儿和婴儿用于合成新的唾液酸化分子的外源性唾液酸来源^[127]。母乳中唾液酸主要以结合态存在于 HMOs、糖蛋白和糖脂等糖聚合物，此外还以游离态存在。其中，HMOs 是母乳中唾液酸最丰富的来源，母乳中大约 70-83% 的唾液酸与 HMOs 结合，14-28% 与糖蛋白聚糖结合，0.2-0.4% 与糖脂结合（主要为神经节苷脂）^[128]。有趣的是，一项观察性研究发现，与配方奶喂养的婴儿相比，母乳喂养的婴儿脑组织中唾液酸含量更高^[129]。母乳中总唾液酸浓度在哺乳初期最高，在第 1-6 天高达 5.04 ± 0.21 mmol/L，在哺乳 1 个月和 3 个月时分别下降到 1.98 ± 0.08 mmol/L 和 1.04 ± 0.06 mmol/L^[130]。哺乳动物的神经细胞与其他细胞相比，含有高含量的唾液酸，其作为神经节苷脂和神经细胞粘附分子的关键成分，在神经发育过程起到重要作用。从胎龄 10 周到 5 岁期间，人类大脑额叶中 GM1 和 GD1a 神经节苷脂的水平增加了大约 12-15 倍^[131]。放射性标记唾液酸在大鼠大脑中的分布分析表明，其 80% 位于突触附近，可以通过突触膜对学习行为产生影响^[132]。其后的研究表明，唾液酸参与神经细胞之间的信号传递，增强学习能力和记忆力等认知功能^[35]。动物实验表明，在唾液酸化 HMOs 干预的大鼠和仔猪中，表现出了更好的学习和记忆能力，并且存在唾液酸代谢、髓鞘形成和神经节苷脂生物合成的基因表达上调^[133-135]。

表 3.3 HMOs 对神经发育的影响 [136]

| HMOs | 物种 | 干预起止时间 | 测试 | 主要结局 | 参考文献 |
|--------------|------|-----------------------|---------------------------------|---|-------|
| 岩藻糖基化 HMOs | | | | | |
| 2'-FL | 大鼠 | 从 PND3- 断奶 | 新物体识别测试; Y 迷宫; 莫里斯水迷宫; 长时程增强效应 | 在 12 月龄时, 2'-FL 喂养组在新物体识别测试和 Y 迷宫实验中有更好的表现。在莫里斯水迷宫实验中没有观察到差异。长时程增强效应在补充 2'-FL 的组中更强、更持久 (n=10)。 | [123] |
| 2'-FL | 大鼠 | 从 2.5-4 月龄开始, 持续 5 周 | 操作性条件反射; 长时程增强效应 | 2'-FL 组显示出增加的长时程增强效应。迷走神经切断术抑制了口服 2'-FL 对长时程增强效应 (n=10)。口服 2'-FL 影响大鼠认知, 提升其学习和记忆能力。 | [124] |
| 2'-FL | 仔猪 | PND2-33 | 新物体识别测试 | 同时食用 2'-FL 和低聚果糖组, 在延迟 48 小时后表现出更好的识别记忆。 | [125] |
| 2'-FL + LNnT | 仔猪 | PND2-33 | 新物体识别测试 | 接受 HMOs 的仔猪 (n=12) 显示出增强的物体识别能力, 并且在延迟 1 小时后表现出更好的识别记忆。 | [126] |
| 2'-FL | 大鼠 | 3 月龄时急性给药 | 操作性条件反射 | | |
| 2'-FL | 小鼠 | 从 2.5-4 月龄开始, 持续 5 周 | 长时程增强效应 | 2'-FL 组在操作性条件反射 (大鼠 n=10, 小鼠 n=28) 并表现出增加的长时程增强效应 (大鼠和小鼠 n=8)。长期补充 2'-FL 还增加了参与存储新获得记忆的分子的表达。 | [123] |
| 2'-FL | 小鼠 | 从 2-3.5 月龄开始, 持续 12 周 | 操作性条件反射长时程增强效应 | | |
| 唾液酸化 HMOs | | | | | |
| 6'-SL | 大鼠 | 从 PND3 到 12 月龄 | 新物体识别测试; Y 迷宫; 操作性条件反射; 长时程增强效应 | 补充 6'-SL 的雄性大鼠 (n=8) 在所有行为测试中表现出改善的表现, 并且与对照组相比表现出增加的长时程增强效应 (n=10)。 | [134] |
| 6'-SL+ 3'-SL | 早产仔猪 | 从 PND3 到实验结束 | A spatial T 迷宫 | 与对照组相比, 更多唾液酸化 HMOs 补充组的仔猪达到 T 迷宫学习目标。唾液酸化 HMOs 补充组中存在唾液酸代谢、髓鞘形成和神经节苷脂生物合成的基因表达上调 (n=20)。 | [135] |
| 唾液酸化 HMOs | 仔猪 | PND2-PND22 | 新物体识别测试 | 没有观察到影响 (n=17)。 | [137] |

注: PND 代表出生后天数 (postnatal day)

(二) HMOs 的人群研究结果

已发表的 HMOs 的人群研究包括观察性研究和干预性研究。观察性研究发现 HMOs 在多方面带给婴儿健康益处, 如平衡肠道菌群、降低腹泻、感染等发病率, 降低过敏风险, 促进认知发育等。近年来添加 HMOs 的婴幼儿干预试验主要集中在 2'-FL, 以及 2'-FL 和 LNnT 联合使用。这些临床研究数据显示添加 HMOs 后的配方粉可以帮助婴儿的免疫发育与母乳喂养的婴儿更接近^[138], 并使其肠道菌群更接近母乳喂养的婴儿(包括增加双歧杆菌, 特别是剖腹产婴儿)^[54], 此外还有助于减少感染(特别是呼吸道感染)和减少抗生素和抗热药物的使用^[52, 139, 140]、肠道菌群与母乳喂养更接近^[54]。表 3.4 总结了近年来与 HMOs 相关的婴儿人群研究与结果。

表 3.4 与 HMOs 相关的婴儿临床研究结果

| 研究类型 | 与健康有关的影响 | HMOs 的来源 | 研究对象 | 主要结果 | 参考文献 |
|--------|----------|----------|--|---|-------|
| 观察性研究 | | | | | |
| 队列研究 | 腹泻 | 母乳 | 婴儿 (n=93) | (1) 母乳中高水平的 2'-FL 与弯曲杆菌腹泻减少有关 (2) 高水平的 LNDHFI 与杯状病毒性腹泻减少有关。 | [50] |
| 队列研究 | 腹泻 | 母乳 | 婴儿 (n=93) | 2'-FL 较高的母乳对婴儿腹泻保护作用更强。 | [141] |
| 队列研究 | 腹泻和呼吸道感染 | 母乳 | 婴儿 (n=49) | 2 周龄时母乳和婴儿粪便中的 LNFP II 水平与第 6 周和第 12 周时较少的婴儿呼吸道疾病和胃肠道疾病相关。 | [51] |
| 队列研究 | NEC | 母乳 | 极低出生体重儿 | 发生 NEC 的婴儿, 其母亲母乳中 DSLNT 浓度显著偏低。 | [142] |
| 队列研究 | NEC | 母乳 | 早产儿 (n=48) | DSLNT 的含量是可变的, 并且似乎在婴儿发展为 NEC 的母亲母乳中含量较低。 | [143] |
| 病例对照研究 | NEC | 母乳 | 病例组: NEC 早产儿 (n=33), 对照组: 健康早产儿 (n=37) 其中 48 名婴儿 (14 名 NEC, 34 名健康早产儿) 检测了肠道菌群 | 与对照组相比, NEC 婴儿接受的母乳中的 DSLNT 显著降低。此外, 发生 NEC 的婴儿显示出长双歧杆菌丰度显著降低, 以及以双歧杆菌属物种为主的肠道微生物群较少。 | [144] |
| 队列研究 | NEC | 母乳 | 超低体重出生儿 (n=106) | NEC 的发展与低水平的 LNDHFI 有关, 6'SL 和 3'SL 水平也与败血症风险相关。此外, 第一个月内低水平的 LSTa 和 LNnT 与 NEC 的发展有关 | [145] |

续表

| 研究类型 | 与健康有关的影响 | HMOs 的来源 | 研究对象 | 主要结果 | 参考文献 |
|--------|-------------|----------|---|--|-------|
| 病例对照研究 | NEC, HIV 感染 | 母乳 | 受 HIV 感染妇女的婴儿 (n=41) 和未感染妇女的婴儿 (n=41) | (1) 感染 HIV 的母亲母乳中 3'-SL 的相对丰度更高 (2) 母乳中 DSLNT 的浓度低会增加婴儿发生 NEC 的风险。 | [146] |
| 队列研究 | 发病率 | 母乳 | 婴儿 (n=33) | (1) LNFP1 水平与婴儿发病率降低有关 (2) 母乳中 LNnT 水平较高与婴儿发病率较高有关 (3) 3'-SL 可以作为预测年龄别体重的指标。 | [147] |
| 病例对照研究 | 艾滋病传播 | 母乳 | 受艾滋病病毒感染妇女的婴儿 (n=86) 和未受感染妇女的婴儿 (n=36) | (1) 较高浓度的非 3'-SL HMOs 与预防出生后 HIV 传播有关 (2) 较高浓度的乳酸 -N- 新四糖 (LNnT) 与减少传播有关。 | [148] |
| 队列研究 | 艾滋病感染, 死亡率 | 母乳 | 受 HIV 感染的婴儿 (n=103) 和暴露于 HIV 的未感染婴儿 (n=143) | 母乳中富含岩藻糖基化的 HMOs, 可降低婴儿死亡率。 | [149] |
| 队列研究 | 肠道菌群 | 母乳 | 分泌型母亲的婴儿 (n=32) 和非分泌型母亲的婴儿 (n=12) | 分泌型母亲的婴儿肠道中双歧杆菌定植发生的更早, 且丰度更大。 | [150] |
| 队列研究 | 肠道菌群 | 母乳 | 分泌型母亲的婴儿 (n=76) 和非分泌型母亲的婴儿 (n=15) | 在阴道分娩的婴儿中, 母体分泌型状态与微生物群组成无显著关联。在剖腹产出生的婴儿中, 与分泌型母亲的婴儿相比, 非分泌型母亲的婴儿肠道菌群中双歧杆菌丰度更低, 肠球菌更多。 | [53] |
| 队列研究 | 生长指标 | 母乳 | 婴儿 (n=50) | 不同分泌型母亲的母乳喂养的婴儿之间身高、体重、BMI 和头围无差异。 | [151] |

续表

| 研究类型 | 与健康有关的影响 | HMOs 的来源 | 研究对象 | 主要结果 | 参考文献 |
|----------|----------|----------|---|--|-------|
| 队列研究 | 认知发育 | 母乳 | 西班牙裔母婴对 (n=50) | 在婴儿 1 月龄时更频繁的母亲母乳喂养, 可以通过使婴儿更多地暴露于 2'-FL 而促进其认知发展。1 个月时母乳的 2'-FL 浓度与 24 个月龄婴儿的认知发育评分有关。然而, 6 个月时母乳 2'-FL 水平没有预测性, 表明早期暴露于 2'-FL 可能在对婴儿认知发展产生积极影响的关键时间窗口。 | [152] |
| 病例对照队列研究 | 神经发育 | 母乳 | 四组母亲: 正常体重 (n=32)、超重 (n=23)、肥胖 (n=13)、妊娠期糖尿病 (n=14) | 母乳中的 6'-SL 浓度与婴儿 18 月龄时的认知和运动量表分数, 2'-FL 浓度与 6 月龄时的运动量表评分之间正相关 | [153] |
| 队列研究 | 湿疹 | 母乳 | 有过敏风险的婴儿 (n=266) | 2'-FL 与婴儿 2 岁较低的 IgE 相关的湿疹表现相关, 但这种关联仅存在于具有过敏风险的剖腹产婴儿中。 | [56] |
| 病例对照研究 | 牛奶过敏 | 母乳 | 牛奶过敏的婴儿 (n=39) 和没有牛奶过敏的婴儿 (n=41) | 与接受更高水平的 LNFP III 的婴儿相比, 接受低水平 LNFP III 的婴儿患牛奶过敏的可能性更高。 | [154] |
| 队列研究 | 食物过敏 | 母乳 | 婴儿 (n=421) | 母乳中的 HMOs 成分与出生后第一年的食物过敏有关 | [155] |
| 队列研究 | 过敏 | 母乳 | 高过敏风险婴儿 (n=285) | 与暴露于中性 Lewis HMOs 的婴儿相比, 暴露于酸性 Lewis HMO 与儿童期过敏性疾病和哮喘的风险更高有关, 而暴露于酸性主导的 HMOs 与降低食物过敏风险相关。 | [156] |

续表

| 研究类型 | 与健康有关的影响 | HMOs 的来源 | 研究对象 | 主要结果 | 参考文献 |
|--------------------|----------|--------------------------------------|---|---|-------|
| 前瞻性、随机、多中心、双盲、对照试验 | 生长发育和耐受性 | 添加 2'-FL 的配方粉 | 母乳喂养组 (n=42); 配方奶粉组 1: 不添加 HMOs (n=36); 配方奶粉组 2: 添加 0.2g 2'-FL/L + 2g scFOS/L (n=41) | 2'-FL 喂养耐受性良好; 粪便稠度、人体测量数据和呕吐/呕吐的喂养频率, 与喂养不添加 HMOs 的配方奶粉或母乳喂养的婴儿相似。 | [157] |
| 前瞻性、单组、非随机多中心试验 | 生长发育和耐受性 | 添加 2'-FL 的深度水解配方粉 | 60 天以内婴儿 (n=48), 干预前使用深度水解配方粉, 干预后使用添加 2'-FL 的深度水解配方粉, 2'-FL 的添加量为 0.2 g/L | 36 名婴儿完成了试验, 试验第 60 天的年龄别体重的 z 分明显著高于试验第 1 天, 实验配方表现出较好的耐受性。 | [158] |
| 前瞻性, 随机, 多中心, 对照试验 | 生长发育和耐受性 | 添加 2'-FL 和低聚半乳糖 (GOS) 的配方粉 | 对照组: 含有 2.4g/L GOS 的标准配方粉 (n=101); 干预组 1: 含有 2.2g/L GOS + 0.2g/L 2'-FL 的配方粉 (n=104); 干预组 2: 含有 1.4g/L GOS + 1.0g/L 2'-FL 的配方粉 (n=109) | 各组之间在体重、身高或头围增长方面没有明显差异。在粪便稠度、每天的大便次数以及呕吐也没有差异。 | [139] |
| 双盲、随机、对照、多国家试验 | 生长发育和耐受性 | 含有 3'-GL, 2'-FL, 短链 GOS 和长链 FOS 的配方粉 | 对照组 (n=86): 配方粉 +8 g/L scGOS/lcFOS (9:1) 干预组 (n=90): 配方粉 +8 g/L scGOS/lcFOS (9:1) + 1 g/L 2'-FL + 150 mg/L 3'-GL 参考组 (n=56): 母乳喂养婴儿 | 对照组和干预组在体重、身高、头围增长、副反应、胃肠道耐受性方面无明显差异。母乳喂养组比干预组的体重增长较少, 但母乳喂养和 2 种配方奶粉组的年龄别体重、年龄别身高、年龄别 BMI、年龄别头围的 z 分在一个标准差内。 | [159] |

续表

| 研究类型 | 与健康有关的影响 | HMOs 的来源 | 研究对象 | 主要结果 | 参考文献 |
|--------------------|-------------|--|--|--|-------|
| 多中心, 随机, 对照试验 | 生长发育和耐受性 | 添加 5 种 HMOs 混合物 (5HMO-Mix: 5.75 g/L, 其中 52% 2'-FL, 13% 3-FL, 26% LNT, 4% 3'-SL, 5% 6'-SL) 的配方粉 | 对照组 (n=112): 配方粉 +8 g/L scGOS/lcFOS (9:1) 干预组 (n=113): 配方粉 +5HMO-Mix (5.75 g/L, 含有 2.99 g/L 2'-FL, 0.75 g/L 3-FL, 1.5 g/L LNT, 0.23 g/L 3'-SL, 0.28 g/L 6'-SL) 参考组 (n=116): 母乳喂养婴儿 | 两个配方奶粉组在体重、长度或头围增长方面没有差异。5HMO-Mix 耐受性好, 5HMO-Mix 和母乳喂养婴儿的粪便频率高于对照组。所有组的不良事件都相当。 | [160] |
| 多中心, 随机, 双盲试验 | 呼吸道感染和抗生药使用 | 添加 2'-FL+LNnT 的配方粉 | 对照组: 配方粉不添加 HMOs (n=87) 干预组: 配方粉 + 1.0 g/L 2'-FL + 0.5 g/L LNnT (n=88) | HMOs 干预组的婴儿, 父母报告支气管炎和下呼吸道感染较少, 退烧药和抗生素的使用更少。 | [52] |
| 随机, 双盲, 对照试验 | 肠道菌群 | 添加 2'-FL 和 LNnT 的配方粉 | 母乳喂养组 (n=35); 配方奶粉组 1: 不添加 HMOs (n=63); 配方奶粉组 2: 配方粉 + 1.0 g/L 2'-FL + 0.5 g/L LNnT (n=58); | 在 3 个月时, 添加 HMOs 组婴儿的肠道微生物群组成更接近母乳组, 且双歧杆菌增加丰度更高, 大肠杆菌和消化链球菌更低。在剖腹产婴儿中, 配方奶粉组之间的差异更大。干预停止 6 个月 | [54] |
| 前瞻性, 随机, 多中心, 对照试验 | 免疫参数 | 添加 2'-FL 和 GOS 的配方粉 | 对照组: 含有 2.4 g/L GOS 的标准配方粉 (n=101); 干预组 1: 含有 2.2 g/L GOS + 0.2 g/L 2'-FL 的配方粉 (n=104); 干预组 2: 含有 1.4 g/L GOS + 1.0 g/L 2'-FL 的配方粉 (n=109) | 喂养补充了 2'-FL 的配方奶粉的婴儿血浆和离体培养的炎症细胞因子水平较低, 与母乳喂养对照组相似。 | [138] |
| 双盲、交叉、随机对照试验 | 过敏 | 添加 2'-FL+LNnT 的深度水解配方粉 | 患有牛奶过敏的婴儿 (n=82) | 补充 2'-FL 和 LNnT 的深度水解配方粉符合临床低过敏性标准。 | [55] |

1. 母乳中 HMOs 对婴儿作用的观察性研究

HMOs 作为益生元, 大量临床前研究证明了其促进有益菌和降低感染的作用。与此一致的是, 对于母乳喂养婴儿的观察性研究显示, HMOs 对婴儿的肠道菌群^[150, 161]、预防腹泻^[50, 51, 162]、降低 NEC 的发病风险^[163]有积极作用。在婴幼儿腹泻方面, 在墨西哥的临床前和临床观察数据都证实了 HMO 具有降低空肠梭菌感染的功能^[50]。该研究发现摄入低水平 2'-FL 母乳的婴儿比摄入中或高水平 2'-FL 母乳的婴儿更容易发生空肠弯曲杆菌介导的腹泻, 提示 2'-FL 可降低婴儿空肠梭菌介导的腹泻的发生率。以婴儿作为研究对象的观察性研究发现, 与非分泌型母乳喂养的婴儿相比, 分泌型母亲乳汁喂养的婴儿肠道中双歧杆菌定植发生的更早, 且丰度更大^[150]。其后的研究进一步表明, 在阴道分娩的婴儿中, 母体分泌型状态与微生物群组成无显著关联。但在剖腹产出生的婴儿中, 与分泌型母亲的婴儿相比, 非分泌型母亲的婴儿肠道菌群中双歧杆菌丰度更低, 肠球菌更多^[53]。

临床相关数据表明 HMOs 可能有助于减少 NEC。一项美国的病例对照研究观察了 200 名母亲及其极低出生体重 (very low birth weight, VLBW) 婴儿, 发现几乎所有 NEC 病例的母乳中 DSLNT 浓度显著低于对照组, 并且可依据其含量可以在 NEC 发病前识别病例^[142]。另一项最近母乳中 DSLNT 的含量研究也发现, 其含量是可变的, 并且似乎在婴儿发展为 NEC 的母亲母乳中含量较低^[143]。Masi 等最近也报告了类似的数据, 他们发现, 与对照组相比, NEC 婴儿接受的母乳中的 DSLNT 显著降低。此外, 发生 NEC 的婴儿显示出长双歧杆菌丰度显著降低, 以及以双歧杆菌属为主的肠道微生物群较少^[144]。此外, 另一项研究通过观察出生超低出生体重儿 (<1000 克) 的母亲母乳发现, NEC 的发展与低水平的 LNDH I 有关。此外, 第一个月内低水平的 LSTa 和 LNnT 与 NEC 的发展有关^[145]。

一些来自小型观察性研究的数据表明, HMOs 在出现过敏表现的风险方面具有潜在作用。一项研究比较了牛奶蛋白过敏 (cow's milk protein allergy, CMPA) 婴儿和非过敏婴儿母亲前乳, 发现母乳中 HMOs 成分可能与 CMPA 的发病风险有关。当用多重比较校正时, 患有 CMPA 的婴儿的母亲 LNFP III 水平显著降低。当将婴儿的 CMPA 进一步分类时, 所有延迟发作 CMPA 的母亲都是分泌型, 而具有直接类型 (IgE 介导) 的母亲则不是^[154]。一项分析高过敏风险婴儿母亲母乳样本的研究发现, 在剖腹产婴儿中, 2'-FL 水平与某些过敏表现的发生率呈负相关。较高的 2'-FL 水平与较低的任一过敏性疾病、IgE 相关疾病、湿疹和 IgE 相关湿疹的发病率相关, 需要注意, 这种关联仅存在于剖腹产婴儿



中^[56]。加拿大的一项对421对母婴对的研究，调查了19种HMOs和总HMOs特征与1岁时食物过敏的关联。总HMOs特征在过敏婴儿和非过敏婴儿的母乳种明显不同，其中10种HMOs解释了这一关联。按照影响大小，它们分别为相对较高浓度的岩藻二唾液酸乳糖-N-六糖(fucodisialyllacto-N-hexaose, FDSLNH)、相对较低浓度的LNH, LNFP II(较高)、LNnT(较高)、LNT(较低)、LNFP I(较高)、LST c(较高)、F-LNH(较高)、2'-FL(较低)和二唾液酸乳糖-N-六糖(difucosyllacto-N-hexaose, DSLNH)(较低)^[155]。另一项对高过敏风险的母乳喂养婴儿的研究结果显示，与暴露于中性Lewis HMOs的婴儿相比，暴露于酸性Lewis HMOs与儿童期过敏性疾病和哮喘的风险更高有关，而暴露于酸性主导的HMOs与降低食物过敏风险相关^[156]。

一些相关数据还表明，HMOs可能在婴儿的神经发育中发挥作用。美国一项对西班牙裔母婴对的观察性研究提示，在婴儿1月龄时更频繁的母乳喂养，可以通过使婴儿更多地暴露于2'-FL而促进其认知发展。1个月时母乳的2'-FL浓度与24个月龄婴儿的认知发育评分有关。然而，6个月时母乳2'-FL水平没有预测性，表明早期暴露于2'-FL可能是对婴儿认知发展产生积极影响的关键时间窗口^[152]。另外，最近的一项观察性研究发现，母乳中的6'-SL浓度与婴儿18月龄时的认知和运动量表分数，2'-FL浓度与6月龄时的运动量表评分之间正相关^[153]。

2. 添加 HMOs 对婴儿作用的临床干预研究

干预研究还报告了在婴儿配方奶粉添加特定HMOs的免疫益处。在美国的一项前瞻性随机多中心对照试验中，将婴儿分为三组：对照组喂养含有2.4 g/L GOS的标准配方粉(n=101)；干预组1喂养含有2.2 g/L GOS + 0.2 g/L 2'-FL的配方粉(n=104)；干预组2喂养含有1.4 g/L GOS + 1.0 g/L 2'-FL的配方粉(n=109)。研究发现各组之间在体重、身长或头围增长方面没有明显差异。在粪便稠度、每天的大便次数以及呕吐也没有差异^[139]。相对喂养仅含GOS的对照配方奶粉，喂养含2'-FL和GOS的配方奶粉的婴儿，其血浆炎性细胞因子和TNF- α 的浓度比的婴儿低29-83%，且与母乳喂养的婴儿之间没有差异。与对照组(只添加GOS 2.4 g/L)相比，配方中添加0.2 g/L 2'-FL可降低该组某些疾病感染的发生率^[139]。一项进一步的事后分析报告了添加2'-FL可以特别减少呼吸道感染^[140]。这些发现表明，向婴儿配方食品中添加2'-FL可以使配方奶粉喂养的婴儿在免疫发育和调节方面与母乳喂养婴儿相似，而单独补充GOS并不能达到以上效果^[138]。

欧洲最近的另一项多中心随机双盲试验研究中，对照组婴儿喂养不添加HMOs的配

方粉(n=87)，干预组婴儿喂养含有1.0 g/L 2'-FL + 0.5 g/L LNnT的配方粉(n=88)，研究发现将2'-FL和LNnT联合使用与父母报告的支气管炎发作，下呼吸道感染以及在不同年龄使用退烧药或抗生素呈负相关，包括父母报告支气管炎的病例在0-4月、0-6月和0-12月之间明显减少，下呼吸道感染在0-12月之间明显减少，退烧药使用在0-4月之间明显减少，抗生素使用在0-6月和0-12月之间明显减少。并且，干预组在2个月时大便变软，夜间醒来的次数更少^[52]。有趣的是，感染和抗生素使用减少持续到12月龄，即使婴儿只喂了4个月的HMOs补充配方奶粉。在3个月时，喂养添加2'-FL和LNnT配方粉的婴儿的肠道微生物群组成更接近母乳喂养组，且双歧杆菌增加丰度更高，大肠杆菌和消化链球菌更低。在剖腹产婴儿中，双歧杆菌的增加尤为明显^[54]。

本节综述的大多数研究都是关于将HMO添加到婴儿配方粉中的临床益处。需要强调的是，许多临床研究也报道了含HMO的婴儿配方奶粉是安全的，营养合适的，并且耐受性良好。表3.4总结了对于补充HMOs的安全性、营养必要性和健康益处的研究。

3. 添加 HMOs 对其他人群作用的临床干预研究

已有研究表明患有肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)和溃疡性结肠炎的患者中存在肠道生态失调。在一项开放标签试点试验中，对12名患有IBS或溃疡性结肠炎的成年人进行了含2'-FL营养配方的效果评估。干预6周后，受试者胃肠道生活质量指数(gastrointestinal quality of life index, GIQLI)总分和胃肠道症状域评分、双歧杆菌和普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)的粪便计数均得到改善和提高，粪便中丁酸盐、乙酸盐和总SCFA的水平也显著增加^[164]。最近在瑞典进行的一项随机对照研究证实，10 g剂量的2'-FL和LNnT混合物(2'-FL:LNnT=4:1)可以诱导肠道中有益双歧杆菌增加，同时不会加重IBS患者的胃肠道症状^[165]。最近一项开放标签，多中心单臂试验报告，每天补充5克2'-FL和LNnT(2'-FL:LNnT=4:1)持续12周改善了IBS症状(排便一致性、症状严重性)和生活质量，且没有实质性的副作用^[166]。因此HMOs除了在婴儿的有益作用外，还有望应用于成人，发挥调节肠道菌群和改善胃肠道症状的作用。

母乳低聚糖的生产工艺及市场情况

至今没有适于进行商业开发的天然来源 HMOs，哺乳动物的乳汁是乳低聚糖在自然界中近乎唯一的来源，并且乳低聚糖的组成成分在哺乳动物之间存在着很大的不同。母乳低聚糖在含量、结构多样性以及性质上与其他来源的乳低聚糖存在着显著的差异。因此，养殖动物的乳汁不是母乳低聚糖（HMOs）的有效来源，从母乳中分离提取的少量 HMOs 多用于科学研究。自上世纪 50 年代以来，HMOs 已经从母乳中分离出来，用于结构识别等基础研究。也有研究人员试图从牛奶中提取低聚糖，因为一些牛乳低聚糖在结构上与母乳低聚糖相似（比如，3'-SL）。他们假设，从牛乳中分离出的低聚糖虽然与 HMOs 不完全相同，但它们有一定的重叠，并可能在一定程度上再现 HMOs 的功能^[167]。奶酪生产中的副产物乳清可能作为牛乳低聚糖分离的主要原料。目前，该项工艺尚处于起步阶段，其主要缺点是牛乳低聚糖的浓度低，且牛乳低聚糖和 HMOs 之间的结构不匹配，对其生物学相关性还没有很好地了解。

（一）HMOs 的主流生产工艺

从母乳中分离提取的少量 HMOs 多用于科学研究，大量获得 HMOs 需要进行工业生产。目前，有三种不同的工业生产技术：化学合成技术，酶法合成技术和利用微生物进行的微生物发酵技术^[49, 168]。

1. 化学合成

化学合成是一种高度灵活的生产工艺，用于生产小批量不同结构的 HMOs（产量的典型规模在毫克到克，最多能到千克级）^[49, 168]。全自动固相合成使低聚糖合成能快速、高效地进行^[169]。在固相合成中，所合成的低聚糖被连接到一个不溶性物质上，例如小球珠或树脂，可以实现反应产物和过量反应物快速分离，这一技术被应用于合成已确定结构的低聚糖^[170]。Glycom A/S 曾使用化学合成法生产了少量的 2'-FL 和 LNnT（千克级单位产

量），并向欧盟和美国注册为用于婴儿配方奶粉的新成分^[171, 172]。然而，化学合成方法对于 HMOs 生产来说存在明显的局限性。复杂的反应步骤、高昂的原料成本及有毒试剂的使用使化学合成的 HMOs 对于乳制品和营养应用来说较为昂贵且不适用。目前，化学合成主要用于以分析为目的的小规模 HMOs 生产。

目前，2'-FL 和 LNnT 是仅有的采用多步化学合成方法进行制备并获得欧盟 EFSA（European Food Safety Authority）和美国 FDA（Food and Drug Administration）批准的 HMOs。其生产过程很复杂，工艺的整体效率和经济性都非常低，阻碍其用于大规模工业生产。

2. 酶法合成

酶法合成也是 HMOs 生产的工艺之一，在几种不同的酶技术中，主要使用的酶有两类：糖基转移酶（GT）和工程糖苷酶（糖苷水解酶，GH）^[7, 173]。

第一类糖基转移酶可能是更常用的选择，因为糖基转移酶是在体内组装低聚糖的酶。人们也在研究耦合技术体系包括体内糖供体生成和体外酶转移。

第二类糖苷酶可能是一个不太常用的选择，因为这些酶通常水解糖苷键。然而，已经发现这些酶通常具有二级“转糖苷酶”的功能，可通过特定的基因工程来增强其功能^[174, 175]。这意味着它们将糖（如岩藻糖或唾液酸）从一种低聚糖转移到另一种低聚糖。这种基因工程糖苷酶有时也被称为糖合酶。

使用微生物发酵的体内合成作为体外酶促反应 HMO 的供体和受体是这种方法的一个有意义且有潜力的变化，这种方法的优点是供体和受体原料成本相当低。

酶法多与化学法结合形成化学酶法，如 Wenlong Yao 等人^[176]使用一锅合成法（one-pot synthesis）利用多种酶合成低聚糖，化学酶法具有发展潜力，但是这种潜力很大程度上依赖于新的糖基转移酶或提高糖基转移酶效率的蛋白质工程的发现，目前还无法扩展到工业生产水平^[171]。

采用一锅合成法并且获得美国 FDA 的批准的 HMOs 有 3'-SL（在 GRAS 清单中归档编码为 GRN766）。虽然 3'-SL 可以通过酶法进行生产，但微生物发酵是生产 3'-SL 更高效的方法。

3. 微生物发酵

微生物发酵是目前工业化生产 HMOs 最常用的工艺^[177]。低聚糖直接在活的微生物细胞中合成，微生物充分利用其自身的代谢能力转化廉价的糖原料为 HMO 的组件成分，并

通过基因工程过量表达初始宿主细胞原本缺乏的各种关键酶，使其增添缺失的功能。其优点是可以在合理的时间内很大规模生产，成本相对较低，具有商业应用价值。安全的大肠杆菌菌株已经成为 HMOs 合成的首选微生物，利用大肠杆菌实现了多种 HMOs 的商业化生产，包括 2'-FL 和 LNnT，大肠杆菌已经成为一些制造商的选择，其产品的良好的安全性得到了广泛的认证^[178]，从下面的表 5.3 也可以看出这一点。2'-FL 也可以使用工程酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）合成，一般认为这是安全的^[179]，但工艺效率仍在开发中，目前还不能与大肠杆菌发酵媲美。

目前，采用微生物发酵并且获得欧盟 EFSA 和美国 FDA 批准的 HMOs 有 2'-FL、LNnT、LNT、2'-FL/DFL、3'-SL、6'-SL 和 3-FL。发酵生产过程中，主要采用转基因大肠杆菌 K-12 和 BL21 两个安全菌株，各个公司使用的具体菌株略有不同。由于 HMOs 种类和结构不同，用于微生物发酵的大肠杆菌菌株的生化工程也是不同的，不同的糖（如岩藻糖、唾液酸、半乳糖、N-乙酰基葡萄糖胺）需要以不同的顺序和连接方式添加到乳糖中，这就需要对特定的糖基转移酶的过表达进行定制和调整。

通过实施生物合成技术，HMOs 正在以可接受的成本快速进入应用领域。大肠杆菌和酵母菌作为最具潜力的工业菌株，是当前和未来的研发重点。提升产物产量、生产效率、原料利用率是研发的核心目标。随着以规律间隔成簇短回文重复序列（clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR）、锌指核酶技术（zinc-finger nucleases, ZFN）、转录激活因子样效应物核酸酶（transcription activator-like effector nucleases, TALENs）等为代表的基因编辑技术兴起^[180, 181]，用最少的基因工程技术大幅提升工业菌株生产性能将成为可能。

目前，获得美国和欧盟批准的 HMOs 的生产方法以微生物发酵法为主，相比化学合成，微生物发酵具有以下优势：

- 原材料价格较低，更容易获得，在某些情况下是可再生的（如用于发酵的能源）；
- 培养物可以达到足够商业化生产的量；
- 减少了生产过程中反应步骤的复杂性和总数；
 - 在较短的生产时间内提高总体产量；
 - 减少了资源（材料、时间和精力）的耗费；
 - 减少了废弃物的产生。
- 工艺更安全、对环境危害更小；

- 产生的 HMO 在化学和结构上与合成的同类物质以及母乳中的 HMO 完全相同；

- 爱尔兰食品安全局（the food safety authority of Ireland, FSAI）在 2016 年确认，由微生物发酵生产的 2'-FL 与其化学合成的对比物具有实质性的等效性（成分、营养价值、代谢和不良物质水平）^[182]。

（二）HMOs 的产品质量规格

为了确保生产出一致性好的食品级产品，通过不同工艺生产的 HMOs 的纯度、物理、化学和微生物等指标需要符合既定的规格。美国 FDA 和欧盟审批通过的 HMOs 都有相应的质量规格要求，见表 4.3（以 2'-FL 为例）。

表 4.3 美国和欧盟化学合成法生产的 2'-FL 质量规格

| 美国 GRN 546 ^a | | 欧盟 EU 2016/376 ^b | |
|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| 含量 | ≥95% | 含量 | ≥95% |
| pH (20°C, 5% solution) | 3.0-7.5 | pH (20 °C, 5 % solution) | 3.2-7.0 |
| 含水量 | ≤9% | 含水量 (%) | ≤9.0 w/w% |
| 灰分 | ≤0.2% | 灰分 | ≤0.2% |
| 乙酸 (游离酸和 / 或 乙酸钠) | ≤0.3% | 乙酸 | ≤0.3% |
| 残留溶剂 | ≤50mg/kg (单独) ≤200mg/kg (全部) | 残留溶剂 (甲醇、2-丙醇、乙酸甲酯、丙酮) | ≤50mg/kg (单独) ≤200mg/kg (全部) |
| 蛋白质 | ≤0.1% | 蛋白质 | ≤0.01% |
| 酵母菌 | ≤10 CFU/g | 酵母菌 | ≤10 CFU/g |
| 霉菌 | ≤10 CFU/g | 霉菌 | ≤10 CFU/g |
| 残余内毒素 | ≤10 EU/g | 残余内毒素 | ≤10 EU/g |
| 铅 | ≤0.8mg/kg | 钡 | ≤0.1mg/kg |
| 沙门氏菌 | Absent in 25 g | 镍 | ≤3.0mg/kg |
| 需氧嗜温菌总数 | ≤500 CFU/g | D-乳糖 | ≤1.0 w/w% |
| 肠杆菌 | Absent in 10 g | L-岩藻糖 | ≤1.0 w/w% |

续表

| 美国 GRN 546 ^a | | 欧盟 EU 2016/376 ^b | |
|-------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------|
| 阪崎肠杆菌 | Absent in 10 g | Difucosyl-d-lactose isomers | ≤1.0 w/w% |
| 单增李斯特菌 | Absent in 25 g | 2'-Fucosyl-d-lactulose | ≤0.6 w/w% |
| 蜡样芽胞杆菌 | ≤50 CFU/g | | |
| 颜色 | 白色至类白色 | | |
| 液相色谱法鉴别 | 主成分保留时间为标准保留时间 ± 3% | | |

^a 引自 GRN No. 546 GRAS Exemption Claim for 2'-O-Fucosyllactose (2'-FL).

^b 引自 Commission Implementing Decision (EU) 2016/376 of 11 March 2016 authorising the placing on the market of 2'-O-fucosyllactose as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council.

目前通过美国和欧盟审批的工业化生产 HMOs 的主要方法有化学合成法和微生物发酵法，两种方法的工艺流程存在一定的差异，因而有着不同的产品规格，见表 4.4（以欧盟批准为新食品原料的 2'-FL 为例）。

表 4.4 不同工艺生产的 2'-FL 产品规格

| EU 2017/2201 ^a (微生物发酵) | | EU 2016/376 ^b (化学合成) | |
|-----------------------------------|---------------|---------------------------------|------------|
| 2'-FL | ≥90% | 含量 | ≥95% |
| 乳糖 | ≤5% | D-乳糖 | ≤1.0 w/w% |
| DFL | ≤5% | Difucosyl-d-lactose isomers | ≤1.0 w/w% |
| 岩藻糖半乳糖 | ≤3% | 2'-Fucosyl-d-lactulose | ≤0.6 w/w% |
| 岩藻糖 | ≤3% | L-岩藻糖 | ≤1.0 w/w% |
| 含水量 | ≤9.0% | pH (20 °C, 5 % solution) | 3.2-7.0 |
| 蛋白质 | ≤100 µg/g | 蛋白质 | ≤0.01% |
| 总灰分 | ≤0.5 % | 灰分 | ≤0.2% |
| 平板总数 (TPC) | ≤104 CFU/g | 需氧嗜温菌总数 | ≤500 CFU/g |
| 酵母菌和霉菌 | ≤100 CFU/g | 酵母菌 | ≤10 CFU/g |
| 沙门氏菌属 | Negative/100g | 霉菌 | ≤10 CFU/g |

续表

| EU 2017/2201 ^a (微生物发酵) | | EU 2016/376 ^b (化学合成) | |
|-----------------------------------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 内毒素 | ≤100 EU/g | 残余内毒素 | ≤10 EU/mg |
| 3-FL | ≤5% | 乙酸 | ≤0.3% |
| 葡萄糖 | ≤3% | 残留溶剂 (甲醇、2-丙醇、乙酸甲酯、丙酮) | ≤50mg/kg (单独) ≤200mg/kg (全部) |
| 半乳糖 | ≤3% | 钡 | ≤0.1mg/kg |
| GMO detection (转基因检测) | 阴性 | 镍 | ≤3.0mg/kg |
| 外观 | 白色至象牙色 | | |
| 铅 | ≤0.02 mg/kg | | |
| 砷 | ≤0.2 mg/kg | | |
| 镉 | ≤0.1 mg/kg | | |
| 汞 | ≤0.5 mg/kg | | |
| 黄曲霉素 M1 | ≤0.025 µg/kg | | |
| 肠杆菌 / 大肠菌群 | absent in 11 g | | |
| 阪崎肠杆菌 | Negative/100g | | |

^a 引自 Commission Implementing Decision (EU) 2017/2201 of 27 November 2017 authorising the placing on the market of 2'-fucosyllactose produced with Escherichia coli strain BL21 as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council

^b 引自 Commission Implementing Decision (EU) 2016/376 of 11 March 2016 authorising the placing on the market of 2'-O-fucosyllactose as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council

(三) HMOs 原料的行业供给格局

本报告总结的原料行业供给格局信息仅为关于 HMOs 的动态和新兴市场的简要汇总。目前，HMOs 原料产能主要集中于八家公司，Glycom/DSM、Jennewein/Chr.Hansen、DuPont (license Inbiose、Lonza)、BASF、FrieslandCampina (license Glycosyn)、AdvancedProtein Technologies Corp、GeneChem 和 Amyris/DSM。其中除了韩国的 GeneChem 公司使用化学-酶技术，其余公司均采用微生物发酵工艺进行工业生产。

成立于 2005 年的 Glycom A/S 公司 (已于 2020 年被荷兰帝斯曼收购) 是 HMOs 的早期工业生产商。在最初几年，Glycom A/S 开发了 2'-FL 和 LNnT 的化学合成方法，这

两个产品在2015年通过了美国食品药品监督管理局（U.S. Food and Drug Administration, FDA）的GRAS（Generally Recognized As Safe）的认证，在FDA的申请存档为GRN 546和GRN 547。同时，通过微生物发酵生产的2'-FL和LNnT也获得了批准。目前主要商业生产的HMO有2'-FL、LNnT、DFL（2'-FL/DFL混合物）、LNT、6'-SL和3'-SL，它们都是由E.coli K-12衍生的安全菌株发酵生产的。此外，目前Glycom A/S公司所有通过微生物发酵生产的HMO产品都已获得FDA和欧洲食品安全局（EFSA）批准。

德国的Jennewein Biotechnologie GmbH公司也成立于2005年，最近被丹麦的Chr. Hansen A/S（科汉森）收购。Jennewein自成立以来就将其技术重点放在微生物发酵上。Jennewein最初专注于使用E. coli BL21作为工程菌生产2'-FL并且分别于2015年和2017年获得FDA的GRAS认证和EFSA的批准。与此同时，该公司的LNnT、LNT、3-FL、3'-SL也获得了FDA的GRAS认证，但尚未得到EFSA的批准。

（四）国际上添加HMOs的产品类型及市场概况

1. 添加了HMOs的婴儿配方奶粉/配方奶

目前，添加HMOs的产品的主要目标人群仍是婴幼儿群体，产品主要是一段和二段配方奶粉/配方奶；此外还有针对儿童和成人消化健康相关的膳食补充剂与功能性食品，产品主要为益生菌粉剂。此外，功能强化的饮料和酸奶、儿童食品等，也是重要的HMO产品开发方向。

相关企业数据显示，2019年末国际婴儿配方奶粉市场消费量约为175万吨，其中含HMO的婴儿配方奶粉的消费量为5万吨，占比为2.9%。2019年末国内婴儿配方奶粉的市场消费量约为70万吨，占全球市场约40%。产值约为1426亿人民币，较2018年同比增长6.9%。其中，含HMO婴儿配方奶粉2019年消费量为4750吨，占比为0.7%。

我国尚未批准HMO作为婴儿配方食品的配料，HMO产品的主要市场目前在欧美和中东地区。雀巢自2017年以来就在欧洲推出产品，主要使用较高剂量的2'-FL和LNnT（1g/L的2'-FL和0.5g/L的LNnT），但在其他市场推出的产品中其添加量仍保持在相对较低的水平（<0.25g/L）。达能也在欧洲推出了含较高剂量的2'-FL（1g/L）的产品。以上与母乳中2'-FL的平均含量水平（通常在2g/L至3g/L之间）相比仍存在一定差距。中东地区HMOs产品的上市数量仅次于欧洲，以雀巢和Abbott的产品为主，详见表4.5。

表 4.5 欧洲地区添加HMO配方奶粉/配方奶

| 国家 | 公司名 | 产品名称 | 上市时间 | 分段 | 添加量 ^a (g/100g) | | 添加量 ^a (g/100mL) | | 添加量 ^b (g/L) | |
|----|-----|--------------------------------------|------|----|---------------------------|-------|----------------------------|------|------------------------|-------|
| | | | | | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT |
| 英国 | 达能 | Aptamil Profutura 1 段配方奶 | - | 1 | 0.73 | - | - | - | 1 | LNnT |
| 英国 | 达能 | Aptamil Profutura 1 段配方奶 | - | 1 | - | 0.1 | - | - | 1 | LNnT |
| 英国 | 达能 | Aptamil Profutura 2 段配方奶 | - | 2 | 0.35 | - | - | 0.5 | - | 2'-FL |
| 英国 | 达能 | Aptamil Profutura 2 段配方奶 | - | 2 | - | 0.05 | - | 0.5 | - | 2'-FL |
| 英国 | 达能 | Aptamil Profutura 3 段配方奶 | - | 3 | 0.13 | - | - | 0.2 | - | LNnT |
| 英国 | 雀巢 | SMA ADVANCED 2 段配方奶 | - | 2 | - | 0.102 | 0.051 | 1.02 | 1.03 | 0.51 |
| 英国 | 雀巢 | SMA ADVANCED 3 段配方奶 | - | 3 | - | 0.103 | 0.051 | 1.03 | 1.03 | 0.51 |
| 英国 | 雀巢 | SMA PRO 2 段配方奶 | - | 2 | - | 0.026 | - | 0.26 | - | 0.26 |
| 英国 | 雀巢 | SMA PRO 3 段配方奶 | - | 3 | - | 0.025 | - | 0.25 | - | 0.25 |
| 法国 | 雀巢 | GUIGOZ Optipro 1 段配方奶 | - | 1 | 0.8 | - | - | 1 | - | - |
| 法国 | 雀巢 | GUIGOZ Optipro 2 段配方奶 | - | 2 | 0.2 | - | - | 0.25 | - | 0.25 |
| 法国 | 雀巢 | GUIGOZ Optipro 2 段配方奶 | - | 2 | - | 0.026 | - | 0.26 | - | 0.26 |
| 法国 | 雀巢 | GUIGOZ Ultima 2 段配方奶 | - | 2 | 0.19 | 0.095 | - | 0.26 | 0.26 | 0.13 |
| 法国 | 雀巢 | ALFAMINO HMO 400g 牛奶蛋白过敏配方奶（0-10岁儿童） | - | - | - | - | 0.1 | 0.05 | 1 | 0.5 |
| 法国 | 雀巢 | ALFARE HMO 400g - 消化吸收不良配方奶 | - | - | - | - | 0.05 | 0.05 | 0.5 | 0.5 |

续表

| 国家 | 公司名 | 产品名 | 上市时间 | 分段 | 添加量 ^a (g/100g) | | 添加量 ^a (g/100mL) | | 添加量 ^b (g/L) | |
|-----|-----|---------------------------|------|----|---------------------------|------|----------------------------|------|------------------------|------|
| | | | | | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT |
| 法国 | 雀巢 | ALThera HMO 400g - 低敏性配方粉 | - | - | 0.76 | 0.38 | - | - | 1 | 0.5 |
| 意大利 | 达能 | Aptamil Profutura 2 段配方粉 | - | 2 | 0.34 | - | - | - | 0.5 | - |
| 意大利 | 达能 | APTAMIL PROFUTURA 2 段配方粉 | - | 2 | - | 0.05 | - | - | 0.5 | - |
| 意大利 | 达能 | Aptamil Profutura 3 段配方粉 | 2019 | 3 | 0.13 | - | - | - | 0.2 | - |
| 意大利 | 雀巢 | Nidima Optipro 2 段配方粉 | 2020 | 2 | - | 0.03 | - | - | 0.3 | - |

^a 数据来源于产品包装标示

^b 计算值

亚太地区中，香港、新加坡、菲律宾、越南、斯里兰卡上市了含有 HMOs 的产品。我国香港地区占市场份额 18% 的雀巢推出了 Illuma 系列产品，含有高剂量的 2'-FL (1g/L) 和 LNnT (0.5 g/L)。占市场份额 10% 的达能则推出了 Aptamil 系列品牌，含 0.2g/L 的 2'-FL (详见表 4.6)。此外，占市场份额 23% 的 FrieslandCampina 推出了 Friso Gold 和 Friso Prestige 系列产品，均添加 0.25g/L 的 2'-FL。

表 4.6 香港地区添加 HMO 配方奶粉

| 公司名 | 产品名 | 上市时间 | 分段 | 添加量 ^a (g/100g) | | 添加量 ^b (g/L) | |
|-------|-------------------------|------|----|---------------------------|-------|------------------------|------|
| | | | | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT |
| 雀巢 | Nan Infini Pro 1 段配方粉 | 2020 | 1 | 0.19 | 0.095 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢 | Nan Infini Pro 2 段配方粉 | 2020 | 2 | 0.19 | 0.095 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢 | Nan Infini Pro 3 段配方粉 | 2020 | 3 | 0.19 | 0.095 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢 | Nan Infini Pro 4 段配方粉 | 2020 | 4 | 0.19 | 0.095 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢/惠氏 | Illuma Stage 1 段配方粉 | 2020 | 1 | 0.75 | 0.38 | 1 | 0.5 |
| 雀巢/惠氏 | Illuma Stage 2 段配方粉 | 2020 | 2 | 0.18 | 0.09 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢/惠氏 | Illuma Stage 3 段配方粉 | 2020 | 3 | 0.15 | 0.075 | 0.26 | 0.13 |
| 雀巢/惠氏 | Illuma Stage 4 段配方粉 | 2020 | 4 | 0.15 | 0.076 | 0.26 | 0.13 |
| 达能 | Aptamil ESSENSIS 2 段配方粉 | 2020 | 2 | 0.13 | - | 0.2 | - |
| 达能 | Aptamil ESSENSIS 3 段配方粉 | 2020 | 3 | 0.13 | - | 0.2 | - |
| 达能 | Aptamil ESSENSIS 4 段配方粉 | 2020 | 4 | 0.13 | - | 0.2 | - |

^a 数据来源于产品包装标示

^b 计算值

其中，越南的各大婴儿配方食品品牌上市了含有不同剂量 HMOs 的产品，Vinamilk 是越南最大的本土乳制品企业，占 27% 婴儿配方食品市场份额，推出了含有 0.3 g/L 2'-FL 的 Optimum Gold 系列产品。占 19% 市场份额的本土乳制品企业 Nutifood Nutrition 也推出了 Nuti IQ 和 Opt Gold 两个系列产品，2'-FL 的添加量均为 0.27 g/L。雅培和雀巢在越南婴配市场的份额分别为 17% 和 8%，雅培的 Similac Eye 系列产品添加 2'-FL 的量为 0.2g/L，雀巢的 Supreme 系列产品则同时添加了 1 g/L 的 2'-FL 和 0.5g/L 的 LNnT (详见表 4.7)。占婴配市场份额 11% 的 FrieslandCampina 公司在越南还没有推出含 HMOs 的产品。

表 4.7 越南地区添加 HMO 配方奶粉 / 配方奶

| 公司 | 产品 | 上市时间 | 分段 | 添加量 ^a (g/100g) | | 添加量 ^a (g/100mL) | | 添加量 ^b (g/L) | |
|--------------------|--------------------------------|------|----|------------------------------|------|-------------------------------|------|---------------------------|-------|
| | | | | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT |
| 雀巢 | NAN Supreme 1 段配方粉 | 2020 | 1 | 0.76 | 0.38 | | | 1 | 0.5 |
| 雀巢 | NAN Supreme 3 段配方粉 | 2020 | 3 | 0.19 | 0.1 | | | 0.333 | 0.125 |
| 雅培 | Similac Eye IQ Plus HMO 1 段配方粉 | 2019 | 1 | 0.16 | | | | 0.20 | |
| 雅培 | Similac Eye IQ Plus HMO 2 段配方粉 | 2019 | 2 | 0.13 | | | | 0.20 | |
| 雅培 | Similac Eye IQ Plus HMO 3 段配方粉 | 2019 | 3 | 0.13 | | | | 0.20 | |
| 雅培 | Similac Eye IQ Plus HMO 4 段配方粉 | 2019 | 4 | 0.13 | | | | 0.20 | |
| 雅培 | Similac Total Comfort 1 段配方粉 | 2020 | 1 | 0.15 | | | | 0.2 | |
| 雅培 | Similac Total Comfort 2 段配方粉 | 2020 | 2 | 0.13 | | | | 0.2 | |
| 雅培 | Similac Total Comfort 3 段配方粉 | 2020 | 3 | 0.13 | | | | 0.2 | |
| Nutifood Nutrition | Nuti IQ Diamond 1 段配方粉 | 2019 | 1 | 0.21 | | | | 0.272 | |
| Nutifood Nutrition | Nuti IQ Diamond 2 段配方粉 | 2019 | 2 | 0.21 | | | | 0.272 | |
| Nutifood Nutrition | Nuti IQ Diamond 3 段配方粉 | 2019 | 3 | 0.16 | | | | 0.272 | |
| Nutifood Nutrition | Nuti IQ Diamond 4 段配方粉 | 2019 | 4 | 0.16 | | | | 0.272 | |

续表

| 公司 | 产品 | 上市时间 | 分段 | 添加量 ^a (g/100g) | | 添加量 ^a (g/100mL) | | 添加量 ^b (g/L) | |
|--------------------|--|------|----|------------------------------|------|-------------------------------|------|---------------------------|------|
| | | | | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT | 2'-FL | LNnT |
| Nutifood Nutrition | Nuti IQ Diamond 配方奶 | 2019 | | | | 0.0288 | | 0.288 | |
| Nutifood Nutrition | Grow Plus+ Diamond 配方奶 (营养不良和发育迟缓儿童) | 2019 | | | | 0.0274 | | 0.274 | |
| Nutifood Nutrition | Grow Plus+ Diamond 配方奶 (营养不良和发育迟缓儿童) (扁桃仁核桃口味) | 2020 | | | | 0.027 | | 0.274 | |
| Nutifood Nutrition | Riso Opti Gold Colostrum 1 段配方粉 | 2020 | 1 | 0.2 | | | | 0.272 | |
| Nutifood Nutrition | Riso Opti Gold Colostrum 2 段配方粉 | 2020 | 2 | 0.2 | | | | 0.272 | |

^a 数据来源于产品包装标示

^b 计算值

尼尔森和英敏特的报告数据显示，在美国，婴儿配方食品市场份额前三位中的两位：雅培（市场份额占比 45%）和雀巢（市场份额占比 13%）都开发了含 HMOs 的婴儿配方食品产品线，如雅培的 Similac Pro 系列产品，雀巢的 BEBA Supreme 系列产品。部分零售商自有品牌（市场份额占比 6%）也开始上市含有 HMOs 的婴儿配方食品。占有 35% 市场份额的 Reckitt 公司还没有添加 HMOs 的产品上市。含有 HMOs 的婴儿配方食品已占据雅培公司在美国市场 18% 的销售份额。

拉美地区的 HMO 产品由雀巢主导，上市了若干款产品，添加的 HMOs 包括 2'-FL、LNnT、LNT、3'-SL、6'-SL、DFL。雅培在墨西哥上市了低 2'-FL 添加量的产品，其他公司尚未有产品上市。

2. 添加了 HMOs 的儿童膳食补充剂

添加 HMOs 的儿童产品以益生菌益生元类的膳食补充剂为主，例如在新加坡、法国和香港，Biostime 上市了添加 2'-FL 的益生菌益生元膳食补充剂；iHealth 在美国上市了添加 2'-FL 的益生菌益生元补充剂，宣称可缓解肠易激惹综合征；Layer Origin 在美国上市了添加 2'-FL 和 LNnT 的粉状膳食补充剂（详见表 4.8）。

表 4.8 添加 HMOs 的儿童膳食补充剂

| 国家 | 公司 | 产品名 | 分类 | 剂型 | 上市时间 | 添加量 g/份 | |
|----|-----------------|--|-------|----|------|---------|------|
| | | | | | | 2'-FL | LNnT |
| 香港 | Biostime | 儿童 HMO 益生菌 | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2020 | 0.15 | |
| 美国 | iHealth | Kids Grow + Thrive | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 1.0 | |
| 美国 | H&H | Daily Probiotics + Prebiotics | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2019 | 0.1 | |
| 美国 | AP Technologies | HMO Probiotics Prebiotics Kids | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 1.0 | |
| 美国 | Layer Origin | Kids Prebiotic Powder, Premium Mix with 2'-FL and LNnT | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 0.8 | 0.2 |
| 美国 | Layer Origin | SuperHMO™ Prebiotic for Kids Chews | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 0.8 | 0.2 |
| 美国 | Jarrow Formulas | Support Babys Big | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 0.2 | |
| 欧洲 | Ergomax | 2'-Fucosyllactose - Human Milk Oligosaccharide | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2019 | 0.4 | |

3. 添加了 HMOs 的成人膳食补充剂及医用食品

添加 HMOs 的成人产品以膳食补充剂为主，主要为益生菌类和膳食纤维类，此外还有部分医用食品。例如 Layer origin 在美国上市了添加 2'-FL 并含有 16 种天然来源的膳食纤维的膳食补充剂；Metagenics 在欧洲上市的 Probiational® fucose 是一种添加 2'-FL 的益生菌胶囊。Metagenics 在美国上市的 UltraGI Replenish 是一种医用食品，旨在为肠道功能受损的患者提供专门的宏观和微量营养素支持，除了添加 2'-FL，还添加了 L-谷氨酰胺（详见表 4.9）。

表 4.9 添加了 HMOs 的成人膳食补充剂及医用食品

| 国家 | 公司 | 产品名 | 分类 | 剂型 | 上市时间 | 添加量 g/份 | |
|----------|-----------------|---|-------|----|------|---------|------|
| | | | | | | 2'-FL | LNnT |
| 美国 | iHealth | IBS Complete Support | 医用食品 | 粉剂 | 2021 | 4.4 | 1.1 |
| 美国 | iHealth | IBS Restore | 医用食品 | 粉剂 | 2018 | 4.4 | 1.1 |
| 美国 | Metagenics | UltraGI Replenish | 医用食品 | 粉剂 | 2018 | 2.0 | |
| 美国 | iHealth | Maintain | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2018 | 3.3 | |
| 新加坡、马来西亚 | AP Technologies | HMO Probiotics Prebiotics | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 3.0 | |
| 美国 | Layer Origin | Prebiotic Powder | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 2.0 | |
| 美国 | Layer Origin | Women Beauty Mix with 2'-FL, Collagen Peptides, Hyaluronic Acid | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 1.9 | |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® Human Milk Oligosaccharides (HMO) Prebiotic, 2'-Fucosyllactose | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 1.3 | |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® Prebiotic + Diverse Fiber 16X | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 0.5 | |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® + Colostrum Capsules | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 0.5 | |



续表

| 国家 | 公司 | 产品名 | 分类 | 剂型 | 上市时间 | 添加量 g/份 | |
|----|------------------|---|-------|----|------|---------|------|
| | | | | | | 2'-FL | LNnT |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® with Vitamin D3 and Zinc | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 0.8 | |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® Premium Prebiotic, Advanced Nutrition to Feed Probiotics | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 1.6 | |
| 美国 | Layer Origin | PureHMO® Prebiotic + Probiotic, 10 Strains, 100 Billion CFU, 1000 mg 2'-FL | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 1.0 | |
| 欧洲 | 4GOLD | GUT SUPPORT | 膳食补充剂 | 粉剂 | 2021 | 2.00 | |
| 美国 | Standard Process | GI Stability with 2FL | 膳食补充剂 | 片剂 | 2020 | 1.7 | |
| 欧洲 | Metagenics | Probiational® fucose | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2018 | 0.3 | |
| 美国 | BiomeMD | Probiotics for Women - 62 Billion CFUs, 16 Strains with Prebiotics with HMO | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 0.3 | |
| 美国 | BiomeMD | Breakthrough Digestive Care | 膳食补充剂 | 胶囊 | 2021 | 0.3 | |

五

母乳低聚糖的法规批准情况

(一) 概述

1. 批准类型

HMOs 在各个国家上市前均需符合相应的标准。在我国 HMOs 按照营养强化剂管理，目前还未获批。欧盟将 HMOs 按照新食品原料 (novel food) 管理，美国将 HMOs 按照 GRAS 管理，见表 5.1。

表 5.1 各国 HMOs 归属的管理类别和定义

| 地区 | 管理类别 | 定义 |
|----|-------------------------------------|--|
| 中国 | 营养强化剂 | 指为增强营养成分而加入食品中的天然的或者人工合成的属于天然营养素范围的物质。营养强化剂属于食品添加剂类别，申报时应申报为食品添加剂新品种。 |
| 欧盟 | 新食品原料 (Novel Food) ^[183] | 指 1997 年 5 月 15 日前，欧盟范围内没有“大规模人类食用”历史的食物，范围大致包括了以下四大类： 由动物、植物、微生物、真菌、藻类及矿物来源组成、分离和生产的食品； 由细胞培养物和组织培养物组成、分离以及生产的食品； 新工艺和新结构的食品（包括纳米食品和进行了分子修饰、具有新的分子结构的食品，以及采用新工艺生产，改变了原有成分和结构的食品、维生素、矿物质等）； 食品补充剂作为普通食品。 注：欧盟的新食品原料也包含“来自于第三国的传统食品”，指的是新食品原料定义中除 3) 新工艺和新结构的食品以及 4) 食品补充剂作为普通食品以外的其他食品类别。 |

续 表

| 地区 | 管理类别 | 定义 |
|----|---------------------|---|
| 美国 | 一般认为安全 (GRAS) [184] | <p>GRAS 的物质强调： 该物质是安全的，或在预设条件下是安全的； 该物质的安全性得到有资质的专家们的认可； 该物质的安全性需要有评估的基础或者依据“科学程序”，或者依据具有“普遍使用历史”。</p> <p>注：科学程序：将已有的科学文献和试验结果，组织有资质的专家进行安全性评估后，向美国食品安全与应用营养学中心（Center for Food Safety and Applied Nutrition, CFSAN）提交申请材料进行判断。</p> |

2. 生产方式

目前，获准使用的 HMOs 的生产方式包括化学合成、酶合成和微生物发酵。然而，绝大多数被批准的 HMOs 是基于微生物发酵的（参见表 5.3）。采用多步化学合成并且符合欧盟 EFSA 和美国 FDA 批准上市的 HMOs 有 2'-FL 和 LNnT。采用酶法合成（一锅合成法）并且符合美国 FDA 批准上市的 HMOs 有 3'-SL。采用微生物发酵并且获得欧盟 EFSA 和美国 FDA 批准的 HMOs 有 2'-FL、LNnT、LNT、2'-FL/DFL、3'-SL、6'-SL 和 3-FL。采用微生物发酵技术生产的 2'-FL 和 LNnT 也通过了澳新食品标准局的批准。通过微生物发酵的生产的 LNFP I/2'-FL 最近已在欧盟和美国提交了申请。

3. 适用范围

目前，HMOs 广泛应用于婴幼儿食品，并被批准在奶制品、烘焙食品、饮料等多种食品中使用。针对每个 HMOs 成分而言，美国和欧盟批准的适用范围略有不同。总体而言，与美国相比，欧盟批准的适用范围还可以扩大至膳食补充剂、特殊医学用途配方食品以及仅供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品，部分代表性产品见下表 5.2。

表 5.2 HMOs 适用范围

| 适用范围 | 2'-FL | | LNnT | | LNT | | 2'-FL/DFL | | 3-FL | | 3'-SL | | 6'-SL | |
|--------------|-------|----|------|----|-----|----|-----------|----|------|----|-------|----|-------|----|
| | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 |
| 面包和烘焙食品 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 谷物棒 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 碳酸饮料 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 调味饮料 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 代餐饮料 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 运动、等渗和能量饮料 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 咖啡 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 茶 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 牛奶替代品 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 非乳制品酸奶 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 婴幼儿配方奶粉 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 其它婴幼儿食品 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 其它婴幼儿饮料 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 代餐棒 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 全脂或低脂牛奶（未调味） | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 脱脂牛奶 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |

续表

| 适用范围 | 2'-FL | | LNnT | | LNT | | 2'-FL/DFL | | 3-FL | | 3'-SL | | 6'-SL | |
|-----------------------|-------|----|------|----|-----|----|-----------|----|------|----|-------|----|-------|----|
| | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 |
| 风味牛奶 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 酸奶 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 果汁 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 蔬菜汁 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 糖替代品 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 膳食补充剂 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |
| 特殊医学用途配方食品 | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > | > |

注：“>”指HMOs可以在该食物中使用。

4. 安全限量

目前, 美国和欧盟已经批准了 2'-FL、LNnT、LNT、2'-FL/DFL、3'-SL、6'-SL 和 3-FL 这 7 个 HMOs 成分的使用, 批准的添加水平都是基于天然 HMOs 安全摄入的历史数据。澳新 2019-2020 年先后批准了 2'-FL、LNnT 这两种 HMOs 成分的使用。由于天然 HMOs 主要存在于母乳中, 因此, 母乳中单个 HMO 成分的含量和范围成为以婴儿体重和母乳摄入量为基础的安全摄入量的参考值, 于此相应, 不同的 HMO 成分批准使用量因其在母乳中含量水平不同而不同。

表 5.3 欧盟^a、美国^b和澳新婴儿配方奶粉中各 HMOs 的批准使用情况

| HMO | 批准使用情况 | 最大申请使用量 ^c | 法规文件号 |
|--|--|----------------------|--|
| 欧盟 European Union | | | |
| 2'-FL (化学合成法) | Approved in March 2016 | 1.2 g/L | Implementing Decision 2016/376 |
| LNnT (化学合成法) | Approved in March 2016 in combination with 2'-FL | 0.6 g/L | Implementing Decision 2016/375 |
| 2'-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) ^d | Approved in June 2016 | 1.2 g/L | Substantial Equivalence Opinion Issued by the FSAI |
| LNnT (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in Sept 2016 | 0.6 g/L | Substantial Equivalence Opinion Issued by the FSAI |
| 2'-FL/DFL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in November 2019 | 1.6 g/L | Commission Implementing Regulation (EU) 2019/1979 |
| LNT (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in April 2020 | 0.8 g/L | Commission Implementing Regulation (EU) 2020/484 |
| 6'-SL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in January 2021 | 0.4 g/L | Commission Implementing Regulation (EU) 2021/82 |
| 3'-SL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in January 2021 | 0.2 g/L | Commission Implementing Regulation (EU) 2021/96 |
| 3-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in November 2021 | 0.85 g/L | Commission Implementing Regulation (EU) 2021/2029 |
| 美国 United States | | | |
| 2'-FL (化学合成法) | GRAS in September 2015 | 2.4 g/L | GRN 546 |
| LNnT (化学合成法) | GRAS in October 2015 | 0.6 g/L | GRN 547 |
| 2'-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) ^e | GRAS in November 2015 | 2.0 g/L | GRN 571 |

续 表

| HMO | 批准使用情况 | 最大申请使用量 ^o | 法规文件号 |
|--|---------------------------|----------------------|---------|
| 2'-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in November 2016 | 2.4 g/L | GRN 650 |
| LNnT (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in November 2016 | 0.6 g/L | GRN 659 |
| 2'-FL/DFL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in August 2019 | 1.6 g/L | GRN 815 |
| LNT (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in October 2019 | 0.8 g/L | GRN 833 |
| 6'-SL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in February 2020 | 0.4 g/L | GRN 880 |
| 3'-SL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in February 2020 | 0.2 g/L | GRN 881 |
| 2'-FL (用于低过敏性婴幼儿配方粉) | GRAS in February 2021 | 2.0 g/L | GRN 929 |
| 3-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in February 2021 | 0.44 g/L | GRN 925 |
| 2'-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | GRAS in February 2021 | 2.4 g/L | GRN 932 |
| 澳新食品标准局 Food Standards Australia New Zealand | | | |
| 2'-FL ^f (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in December 2019 | 2.4 g/L | A1155 |
| LNnT (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in December 2019 | 0.6 g/L | A1155 |
| 2'-FL (微生物发酵法, <i>E. coli</i> 安全菌株) | Approved in October 2021 | 2.4 g/L | A1190 |

2'-FL = 2'-fucosyllactose; 3'-SL = 3'-sialyllactose; 6'-SL = 6'-sialyllactose; FSAI = the Food Safety Authority of Ireland; GRAS = Generally Recognized as Safe; GRN = GRAS Registry Number; LNnT = lacto-N-neotetraose; LNT = lacto-N-tetraose.

- a 参阅实施条例 (欧盟) 2017/2470, 以及欧盟新型食品清单和修正案。
- b 参阅美国食品和药物管理局 GRAS 通知清单。
- c 婴儿配方奶粉 (0 至 6 月龄) 中允许的最高含量。
- d 欧盟首个对 2'-FL (发酵法) 的授权。
- e 首个美国 GRAS 批准。
- f 澳新食品标准局首个对 2'-FL (发酵法) 的授权。

以 2'-FL 在美国婴儿配方奶粉中的最大使用剂量为例, 根据 2009-2010 美国健康与营养调查 (National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES) 数据估计婴儿食用婴儿配方奶粉或婴儿配方奶粉合并其它婴儿食品时 2'-FL 的剂量, 结果发现, 该剂量在母乳 2'-FL 摄入量的正常范围之内 (通过汇总多个国家不同人群的综合结果), 并经过毒理学实验的验证, 最终确定。

总体而言, Glycom A/S、Jennewein Biotechnologie GmbH、Glycosyn、LLC and Friesland Campina Domo B.V.、DuPont Nutrition & Health、BASF Corporation、GeneChem 等公司已经获得了美国或者欧盟的批准 (详见表 5.4)。截止到 2021 年 7 月, 最新的法规进展是: Kyowa Hakko Bio Co Ltd 已经在欧盟提交了 2'-FL 的申请 (EFSA-Q-2021-00407); Amyris 在欧盟提交了 2'-FL 申请 (EFSA-Q-2021-00415); Glycom A/S 在欧盟提交了 3-FL 的申请 (EFSA-Q-2021-0017); Glycom A/S 在美国提交了 3-FL 的申请 (尚未添加到 GRAS 库中); Glycom A/S 在欧盟提交了 LNFP I/2'-FL 的申请 (EFSA-Q-2021-00170); Glycom A/S 在美国提交了 LNFP I/2'-FL 申请 (尚未添加到 GRAS 库中)。

表 5.4 HMOs 的申报企业

| 申报方 | 2'-FL | | LNnT | | 2'-FL/DFL | | LNT | | 3'-SL | | 6'-SL | | 3-FL | |
|---|-------|----|------|----|-----------|----|-----|-----|-------|-----|-------|-----|------|-----|
| | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 | 美国 | 欧盟 |
| Glycom A/S | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | √ | | |
| Jennewein Biotechnologie GmbH | √ | √ | √ | √ | | | √ | 审批中 | √ | 审批中 | √ | 审批中 | √ | 审批中 |
| Glycosyn, LLC and Friesland Campina Domo B.V. | √ | √ | | | | | | | | | | | | |
| DuPont Nutrition & Health | √ | √ | | | | | | | | | | | √ | √ |
| BASF Corporation | √ | √ | | | | | | | | | | | | |
| GeneChem | | | | | | | | | √ | | | | | |
| Advanced Protein Technologies Corp | √ | | | | | | | | | | | | | |
| Amyris | 审批中 | | | | | | | | | | | | | |

注: “√” 指已获得批准。

(二) 2'-FL

1. 批准类型

1) 美国

2'-FL 被美国认定为 GRAS (表 5.3)。其中, 化学合成的 2'-FL 于 2015 年 9 月 6 日获得美国 FDA 的审查和批准 (GRN546)^[185], 微生物发酵的 2'-FL 于 2015 年 11 月 6 日首次获得批准 (GRN571)^[186]。此后, 类似工艺生产的 2'-FL 陆续获得审批 (GRN650^[187]、GRN735^[188]、GRN749^[189]、GRN852^[190]、GRN897^[191]、GRN929^[192]、GRN932^[193])。总之, GRAS 清单中总共列出了 10 个不同的 2'-FL 的 GRAS 批准 (来自 7 个不同的制造商), 其中 8 个是通过大肠杆菌来源的安全菌株微生物发酵生产的 2'-FL, 一个来自于化学合成, 一个是利用 *Corynebacterium glutamicum* 菌株微生物发酵生产获得的。

2) 欧盟

2'-FL 被欧盟认定为新食品原料。其中, 化学合成的 2'-FL 于 2016 年 3 月 16 日获得批准^[194], 来自 Glycom A/S、DuPont 和 Friesland Campina and Jennewein 的微生物发酵的 2'-FL 于 2016 年/2017 年间被首先通过当时的实质等效性过程获得了欧盟的批准^[195]。因此, 2'-FL 目前在欧盟批准的新食品配料清单上有三个来源: 化学合成的 2'-FL; 利用大肠杆菌 K-12 衍生的安全菌株微生物发酵的 2'-FL; 利用大肠杆菌 BL21 衍生安全菌株微生物发酵的 2'-FL。在欧盟的批准是“通用的”(即不是特指某申请人), 因此产生的规格可以是使用相同技术方法的单独批准提交的共同特性, 或者是“规格变更”请求的结果。不同批准来源的 2'-FL 共享允许添加的食品范围。

3) 澳新食品标准局

由微生物发酵生产的 2'-FL 首次于 2019 年 12 月被批准用于婴儿配方食品和幼儿配方补充食品中^[196, 197]。

2. 适用范围及安全限量

2'-FL 已被批准用于婴幼儿营养食品 (婴儿配方一段/二段奶粉, 以及幼儿配方奶粉, 也称为三段奶粉)、膳食补充剂、特殊医疗用途的配方食品和以牛奶为基础的饮料或仅供幼儿使用的类似产品, 同时, 也被批准用于传统食品 (诸如: 乳制品、烘焙食品、饮料、咖啡、茶和其他食品和饮料)。

美国和欧盟之间的食品应用范围和最大使用量不同, 主要是由于食品类别定义不同、用于作安全暴露评估基础的食物消费数据不同, 详见表 5.6。

表 5.6 2'-FL 适用范围和最高使用剂量

| | 允许的最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------|------------------------|--|
| | 美国 | 欧盟 |
| 面包和烘焙食品 | 24-48 | 60 |
| 谷物棒 | 12 | 12 |
| 碳酸饮料 | 1.2 | 1.2 |
| 调味饮料 | 1.2 | 1.2 |
| 代餐饮料 | 5 | 4.8 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 1.2 | 1.2 |
| 咖啡 | 5-10 | 9.6 (指即饮产品) |
| 茶 | 5-10 | 9.6 (指即饮产品) |
| 牛奶替代品 | 1.2 | 饮料为 1.2 g/L, 其它为 12 g/kg |
| 非乳制品酸奶 | 5.4-10.6 | 饮料为 1.2 g/L, 其它为 12 g/kg |
| 婴幼儿配方奶粉 | 2.4 | 1.2 g/L 2'-FL 单独使用, 或与 0.6 g/L 的 LNnT 以 2:1 的比例混合, 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 12 | 12 |
| 其它婴幼儿饮料 | 1.2 | 1.2 |
| 代餐棒 | 40 | 40 |
| 全脂或低脂牛奶 (未调味) | 1.2 | 1.2 |
| 脱脂牛奶 | 1.2 | 1.2 |
| 风味牛奶 | 1.2 | 1.2 |
| 酸奶 | 5.4-10.6 | 饮料为 1.2 g/L, 其它为 19.2 g/kg |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | | 1.2 g/L 的 2'-FL 单独使用, 或与 0.6 g/L 的 LNnT 以 2:1 的比例混合, 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 果汁 | 1.2 | 9.6 |
| 蔬菜汁 | 1.2 | 9.6 |
| 糖替代品 | 300 | 200 |
| 膳食补充剂 | | 一般人群 3.0 g/d 幼儿 1.2 g/d |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

目前有 Glycom A/S、Jennewein Biotechnologie GmbH、Glycosyn、LLC Friesland Campina Domo B.V.、DuPont Nutrition & Health、BASF Corporation 等公司提交了 2'-FL 的申请材料，并已获得美国 FDA 的批准，详见表 5.4。

(三) LNnT

1. 批准类型

1) 美国

LNnT 被美国认定为 GRAS。其中，化学合成的 LNnT 于 2015 年 10 月 2 日获得美国 FDA 的审查和批准 (GRN547)^[198]，微生物发酵的 LNnT 于 2016 年 11 月 23 日首次获得批准 (GRN659)^[199]，2020 年 10 月来自另一种制造菌株也获批准 (GRN919)^[200]。

2) 欧盟

LNnT 被欧盟认定为新食品原料。其中，化学合成的 LNnT 于 2016 年 3 月 16 日获得批准^[201]，微生物发酵的 LNnT 于 2019 年 8 月 2 日获得批准^[202]以及 2021 年 6 月来自另一只生产菌株获得批准^[203]。因此，目前在欧盟批准的新食品原料清单上有两种批准的 LNnT 来源：化学合成的 LNnT 和微生物发酵的 LNnT。微生物发酵方法允许 LNnT 的两种不同微生物来源：大肠杆菌 K-12 衍生菌株和大肠杆菌 BL21 (DE3) 的转基因菌株 PS-LNnT-JBT 和 DS-LNnT-JBT 的组合。

3) 澳新食品标准局

由微生物发酵生产的 LNnT 首次于 2019 年 12 月被批准用于婴儿配方食品和幼儿配方补充食品中^[196]。

2. 适用范围及安全限量

LNnT 已经被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料。婴幼儿配方奶粉方面，美国和欧盟的最高使用剂量均为 0.6g/L。某些食物方面，美国和欧盟的适用范围和最高使用剂量略有不同。此外，欧盟还可以将 LNnT 应用于膳食补充剂（幼儿和一般人群）、特殊医学用途配方食品以及仅供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品，具体情况见下表 5.8。

表 5.8 LNnT 的适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|-------------------|---------------------|---|
| | 美国 | 欧盟 |
| 面包和烘焙食品 | | 30 |
| 谷物棒 | | 6 |
| 调味饮料 | | 0.6 |
| 代餐饮料 | 2.5 | 2.4 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 0.58 | 0.6 |
| 咖啡 | | 4.8 |
| 茶 | | 4.8 |
| 牛奶替代品 | 0.58 | 0.6 |
| 非乳制品酸奶 | 2.67 | 饮料为 0.6 g/L，其它为 6 g/kg |
| 婴幼儿配方奶粉 | 0.6 | 0.6 g/L 的 LNnT 与 1.2 g/L 的 2'-FL 以 1:2 的比例混合，应用于最终产品，或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 3.0 | 6 |
| 其它婴幼儿饮料 | 0.58 | 0.6 |
| 代餐棒 | 20 | 20 |
| 全脂或低脂牛奶（未调味） | 0.58 | 饮料为 0.6 g/L，饮料之外的产品为 9.6 g/kg |
| 脱脂牛奶 | 0.58 | 0.6 |
| 风味牛奶 | 0.58 | 0.6 |
| 酸奶 | 2.67 | 0.6 g/l 饮料 9.6 g/kg 饮料以外的产品 |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品（幼儿） | | 0.6 g/L 的 LNnT 单独使用，或与 1.2 g/L 的 2'-FL 以 1:2 的比例混合，应用于最终产品，或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 果汁 | 0.58 | 4.8（指即饮产品） |
| 糖替代品 | | 100 |
| 膳食补充剂（不包括婴幼儿食品） | | 一般人群 1.5 g/d 幼儿 0.6 g/d |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

如表 5.4 所示，目前 Glycom A/S、Jennewein Biotechnologie GmgH 这 2 家公司的 LNNt 获得美国 GRAS，欧盟 EFSA 仅批准了 Glycom 公司的 LNNt。

(四) 2'-FL/DFL

1. 批准类型

1) 美国

2'-FL/DFL 被美国认定为 GRAS，于 2019 年 8 月 2 日获得批准 (GRN815)^[204]。

2) 欧盟

2'-FL/DFL 被欧盟认定为新食品原料，于 2019 年 11 月 26 日获得批准^[205]。目前在欧盟批准的新食品原料清单上只有一个 2'-FL/DFL 来源。

2. 适用范围及安全限量

2'-FL/DFL 被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料。美国和欧盟对于婴儿配方奶粉的最高使用剂量均为 1.6 g/L，对于幼儿配方奶粉的最高使用剂量均为 1.2 g/L。其他有些食物，美国和欧盟的适用范围和最高使用剂量略有不同。此外，欧盟还允许 2'-FL/DFL 应用于膳食补充剂、特殊医学用途配方食品以及供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品，具体情况见下表 5.9。

表 5.9 2'-FL/DFL 的适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|---------------|--------------------------|--|
| | 美国 | 欧盟 |
| 谷物棒 | 20 | 20 |
| 调味饮料 | | 2.0 |
| 代餐饮料 | 4.0 | 4.0 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 2.0 | 2.0 |
| 婴幼儿配方奶粉 | 婴儿配方粉为 1.6 幼儿配方粉为 1.2 | 2'-FL/DFL (婴儿 1.6 g/L, 幼儿 1.2 g/L) 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 10 | 10 |
| 其它婴幼儿饮料 | 1.2 | 1.2 |
| 代餐棒 | 40 | 40 |
| 全脂或低脂牛奶 (未调味) | 2.0 | 2.0 |
| 脱脂牛奶 | 2.0 | 2.0 |

续表

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------|---------------------|-------------------------------|
| | 美国 | 欧盟 |
| 风味牛奶 | 2.0 | 2.0 |
| 酸奶 | 20 | 饮料为 2.0 g/L, 饮料之外的产品为 20 g/kg |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | | 1.2 |
| 膳食补充剂 (不包括婴儿食品) | | 4.0 |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

(五) LNT

1. 批准类型

1) 美国

LNT 被美国认定为 GRAS，于 2019 年 10 月 7 日获得批准 (GRN833)^[206]。在 2021 年 2 月，来自另一只生产菌株也得到批准 (GRN923)^[207]。

2) 欧盟

LNT 被欧盟认定为新食品原料，于 2020 年 4 月 2 日获得批准^[208]。目前仍有不同生产菌株制备的 LNT 在欧盟处于审批状态。

2. 适用范围及安全限量

LNT 被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料。美国和欧盟对于婴儿配方奶粉的最高使用剂量均为 0.8 g/L，对于幼儿配方奶粉的最高使用剂量均为 0.6 g/L。某些食物方面，美国和欧盟的适用范围和最高使用剂量略有不同。此外，欧盟还可以将 LNT 应用于膳食补充剂、特殊医学用途配方食品以及仅供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品，具体情况见下表 5.10。

表 5.10 LNT 的适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|------------|---------------------|-----|
| | 美国 | 欧盟 |
| 谷物棒 | 10 | 10 |
| 调味饮料 | | 1.0 |
| 代餐饮料 | 2.0 | 2.0 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 1.0 | 1.0 |

续表

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------|--------------------------|--|
| | 美国 | 欧盟 |
| 婴幼儿配方奶粉 | 婴儿配方粉为 0.8 幼儿配方粉为 0.6 | LNT (婴儿 0.8g/L, 幼儿 0.6g/L) 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 5.0 | 5 |
| 其它婴幼儿饮料 | 0.6 | 0.6 |
| 代餐棒 | 20 | 20 |
| 全脂或低脂牛奶 (未调味) | 1.0 | 1.0 |
| 脱脂牛奶 | 1.0 | 1.0 |
| 风味牛奶 | 1.0 | 1.0 |
| 酸奶 | 10 | 饮料为 1.0g/L, 饮料之外的产品为 10g/kg |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | | 饮料为 0.6g/L, 饮料之外的产品为 5g/kg |
| 膳食补充剂 (不包括婴儿食品) | | 幼儿、儿童、青少年、成年人 2.0g/d |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

(六) 3'-SL

1. 批准类型

1) 美国

3'-SL 被美国 FDA 认定为 GRAS。其中, 酶法合成的 3'-SL 于 2019 年 5 月 7 日获得美国 FDA 的审查和批准 (GRN766)^[209], 微生物发酵生产的 3'-SL 于 2020 年 2 月 21 日获得批准 (GRN880)^[210], 以及最近于 2020 年 10 月从另一株生产菌株 (GRN921) 获得的 3'-SL 也获得批准 (GRN921)^[211]。

2) 欧盟

3'-SL 被欧盟认定为新食品原料。欧盟 EFSA 审查了微生物发酵的 3'-SL 并于 2021 年 1 月 28 日给予批准^[212]。

2. 适用范围及安全限量

3'-SL 被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料。美国和欧盟

的适用范围和最高使用剂量略有不同。欧盟还可以将 3'-SL 应用于膳食补充剂、特殊医学用途配方食品以及仅供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品, 具体情况见表 5.11。

表 5.11 3'-SL 的适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|---------------|--|---|
| | 美国 | 欧盟 |
| 面包和烘焙食品 | 婴幼儿新鲜谷物食品 1.66 婴儿包装谷物食品 0.23; 婴儿饼干和手指食品 0.83 | 用于婴幼儿的加工谷物食品和婴儿食品 0.15 g/L 饮料 1.25 g/kg 饮料以外的产品 0.15 g/L |
| 谷物棒 | 水果馅 0.62 | 2.5 |
| 碳酸饮料 | | |
| 调味饮料 | | 0.25 |
| 代餐饮料 | 0.5 | 0.5 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 0.25 | 0.25 |
| 咖啡 | 0.52 | |
| 茶 | 12.93 | |
| 牛奶替代品 | 0.12 | |
| 非乳制品酸奶 | 0.55 | |
| 婴幼儿配方奶粉 | 婴儿: 0.28 幼儿: 0.25 | 婴儿 0.2 g/L, 幼儿 0.15 g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 1.25 | 1.25 |
| 其它婴幼儿饮料 | 0.15 | 0.15 g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 代餐棒 | 25.87 | 5 |
| 全脂或低脂牛奶 (未调味) | 0.25 | 0.25 |
| 脱脂牛奶 | 0.25 | 0.25 |
| 风味牛奶 | 0.25 | 0.25 |
| 酸奶 | 2.5 | 调味酸奶: 饮料为 0.25 g/L, 非饮料产品为 0.5 g/L; 无味酸奶: 饮料为 0.25 g/L, 非饮料产品为 0.5 g/L; |

续表

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------|---------------------|--------------------------------------|
| | 美国 | 欧盟 |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | | 0.15 g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 蔬菜 | 0.23-0.41 | |
| 水果及果酱 | 0.20-0.41 | |
| 糖替代品 | 每份 10% | |
| 膳食补充剂 (不包括婴儿食品) | | 0.5 g/d |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

(七) 6'-SL

1. 批准类型

1) 美国

6'-SL 被美国认定为 GRAS, 于 2020 年 4 月 13 日获得批准 (GRN881) [213]。以及 2021 年 4 月来自另一株生产菌株 (GRN922) 也获批准 [214]。

2) 欧盟

6'-SL 被欧盟认定为新食品原料。欧盟 EFSA 审查了微生物发酵的 6'-SL 并于 2021 年 1 月 27 日给予批准 [215]。

2. 适用范围及安全限量

6'-SL 被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料。美国和欧盟的适用范围和最高使用剂量略有不同。此外, 欧盟还可以将 6'-SL 应用于膳食补充剂、特殊医学用途配方食品以及仅供幼儿食用的以牛奶为基础的饮料或相似产品, 具体情况见下表 5.12。

表 5.12 6'-SL 的适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|------|---------------------|-----|
| | 美国 | 欧盟 |
| 谷物棒 | 5.0 | 5.0 |
| 调味饮料 | | 0.5 |

续表

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------|---------------------|--|
| | 美国 | 欧盟 |
| 代餐饮料 | 1.0 | 1.0 |
| 运动、等渗和能量饮料 | 0.5 | 0.5 |
| 婴幼儿配方奶粉 | 婴儿 0.4 幼儿 0.3 | 婴儿 0.4 g/L、幼儿 0.3g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 其它婴幼儿食品 | 2.5 | 2.5 |
| 其它婴幼儿饮料 | 0.3 | 0.3 g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 代餐棒 | 10.0 | 10.0 |
| 全脂或低脂牛奶 (未调味) | 0.5 | 0.5 |
| 脱脂牛奶 | 0.5 | 0.5 |
| 风味牛奶 | 0.5 | 0.5 |
| 酸奶 | 5.0 | 调味酸奶: 饮料为 0.5 g/L, 非饮料产品为 5.0 g/L; 无味酸奶: 饮料为 0.5 g/L, 非饮料产品为 2.5 g/L; |
| 牛奶为基础的饮料或相似产品 (幼儿) | | 0.3 g/L 应用于最终产品, 或者按制造商的说明进行重新配制的产品 |
| 膳食补充剂 (不包括婴儿食品) | | 1.0 g/d |
| 特殊医学用途配方食品 | | 根据对象的特定营养要求确定 |

(八) 3-FL

1. 批准类型

1) 美国

3-FL 被美国 FDA 认定为 GRAS, 于 2021 年 2 月 8 日获得批准 (GRN925) [216], 2021 年 8 月份来自于另外一株生产菌株也获得批准 (GRN951) [217]。

2) 欧盟

3-FL 被欧盟认定为新食品原料, 于 2021 年 5 月 25 日 EFSA 开始对于 3-FL 进行安全评估 [218], 2021 年 11 月 19 日欧盟根据法规 (EU) 2015/2283 和修订法规 (EU) 2017/2470, 授权 3-FL 作为一种新食品原料上市 (EU)2021/2029。另外两种 3-FL, 采用类似的技术, 但来自不同的菌株, 也同样等待欧盟 EFSA 的审评。



2. 适用范围及安全限量

3-FL 被批准应用于婴幼儿配方奶粉、饮料、奶制品等多种食品和饮料，具体情况见下表 5.13。

表 5.13 3-FL 适用范围和最高使用剂量

| 适用范围 | 最高使用剂量 (g/kg 或 g/L) | |
|--------------------------|---------------------|-----------------------------|
| | 美国 | 欧盟 |
| 液态奶(牛奶,水牛奶,绵羊奶,山羊奶,白脱牛奶) | | 0.85 |
| 酸奶饮料, 益生菌牛奶样饮料 | 1.2 | 0.5 |
| 酸奶 | 1.2 | 5 |
| 牛奶替代品 | 1.2 | 0.85 |
| 豆基酸奶 | 12 | 8.5 |
| 非豆基仿酸奶 | | 8.5 |
| 谷物棒 | 30 | 30 |
| 婴幼儿配方奶粉 | 2.0 | 固体粉: 6.8 g/kg; 液态: 0.85 g/L |
| 需要再处理的简单谷物 | | 21 |
| 直接使用的简单谷物(婴儿和儿童食用) | 20 | 3 |
| 需要再处理的添加高蛋白谷物 | | 12 |
| 直接使用的添加高蛋白谷物 | | 3 |
| 儿童饼干 | 20 | 3 |
| 婴儿儿童即食餐 | 20 | 3 |
| 儿童面 | | 3 |
| 蔬果汁(婴儿和儿童食用) | | 0.85 |
| 代餐 | | 30 |
| 软饮料 | 2.0 | 1 |
| 能量饮料 | 2.0 | 1 |

我国相关产业现状和发展措施建议

HMOs 作为母乳中第三大固体成分，具有多种功能，对于婴幼儿建立特异性肠道菌群、减少微生物感染等方面发挥着积极作用。随着现代分析技术的进步以及生产工艺的发展，HMOs 不同组分的分离测定及其在食品工业中的应用，尤其是在婴儿配方食品中的应用，成为母婴健康领域里程碑式的标志性事件。

(一) HMOs 不同组分的生产现状

目前美国、欧盟批准使用的 HMOs 的生产方式包括化学合成，酶法合成和微生物发酵三种。

国内也发展了使用微生物枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 制备 HMOs 技术，但未达到工业化生产规模。枯草芽孢杆菌是一种广泛用作食品酶制剂及重要营养原料的生产细菌。运用代谢工程手段构建重组枯草芽孢杆菌是生产食品级 HMOs 的有效途径，2020 年江南大学一项研究首次采用转基因枯草芽孢杆菌成功生产 LNnT^[219-221]。

虽然我国未批准 HMOs 不同组分在食品中的使用，但添加了 HMOs 的婴儿配方奶粉已通过跨境电商平台在国内进行销售。由于 HMOs 未在我国批准使用，国内乳企无法生产含有 HMOs 的婴儿配方奶粉，含 HMOs 的奶粉均来自于国外生产的产品，通过跨境电商渠道提供。

(二) 我国 HMOs 相关使用法规管理

在我国，GB14880《食品营养强化剂使用标准》是作为国家强制性安全标准实施管理，该标准规定了可强化食品类别的选择要求以及营养强化剂的使用规定。与国外 GRAS 和欧盟 Novel Food 不同，任何标准规定内容的改变，无论是使用量增加还是使用食品类别的扩大，都必须进行单独审批。

2016 年，我国农业部对《农业转基因生物安全评价管理办法》进行了修订，明确农

业部依法受理农业转基因生物安全评价申请。农业部收到安全评价结果后按照《中华人民共和国行政许可法》和《条例》的规定作出批复。

1. HMOs 生产菌株的申请情况

如前所述，HMOs 在我国按照食品添加剂中的“营养强化剂”实施管理。微生物发酵生产的 HMOs，在向国家卫生健康委员会提交 HMOs 作为营养强化剂申请之前，先要按照《农业转基因生物安全评价管理办法》，由国家农业转基因生物安全委员会对工程菌株开展安全评估（菌种审批）。

根据帝斯曼公司官方消息，该公司生产的 2'-FL、LNnT、DFL、LNT、3'-SL 和 6'-SL 产品均已于日前获得我国农业农村部对上述 HMO 品种生产所使用的菌株的安全性批复，即将启动向国家卫生健康委员会提交营养强化剂新品种申请。同时，不排除可能已经有更多的 HMOs 生产商已经向我国相关部门提交对其生产菌株的安全性评估的申请工作，但到目前为止还没有查到上述内容提交的文件或审批情况的公开披露。

2. 2'-FL 作为食品添加剂新品种的申请情况

资料显示，2016 年，Jennewein Biotechnologie GmbH 提交了“将 2'-FL 认定为食品添加剂新品种”的申请材料，根据《食品添加剂新品种管理办法》规定，国家食品安全风险评估中心 2016 年 8 月 15 日向社会公开征求意见。申请由于相关资料不完善，未获得批准。

2021 年 10 月，国家食品安全风险评估中心对 2'-FL（合成法）作为食品营养强化剂新品种进行公开征求意见（自 2021 年 10 月 21 日至 2021 年 11 月 18 日）。本次申请将 2'-FL 用于调制乳粉（仅限儿童用乳粉）（食品类别 01.03.02），使用量为 1.2g/L（以即食状态计，粉状产品按冲调倍数增加使用量）。我国对于 2'-FL 的评估更多是基于食品安全角度。美国 FDA、欧盟委员会等分别于 2015 年和 2016 年批准允许 2'-FL 用于幼儿配方食品、幼儿乳饮品等食品类别，其质量规格要求见第四章。

（三）我国相关工作和产业发展建议

1. 审慎积极的推进 HMOs 不同组分的审批

目前微生物发酵生产的多个 HMOs 组分在国外已经获批，并且国内外均有使用信息和效果评价的不断增长的积累。基于其安全性、稳定性、功能性和潜在的产业升级推动能力，在我国，按照转基因管理部门和食品添加剂审批管理部门其生物安全性、食品使用安全和必要性等审慎积极开展审批管理工作，推进有成熟生产能力的 HMOs 组分作为营养强化剂使用，具有积极意义。

就母乳 HMOs 组分平均含量而言，含量最多的是 2'-FL，其次为 LNFP I，LNT，LNDFH I，6'-SL，3-FL，LNnT，DFL 和 3'-SL。从结构上而言，其中 2'-FL、3-FL 是岩藻糖基化 HMOs 中最为简单的，DFL 也具有简单的结构；LNT、LNnT 是中性非岩藻糖基化 HMOs 中最为简单的；6'-SL、3'-SL 是酸性非岩藻糖基化 HMOs 中最为简单的。结构简单的组分规模化生产更易实现、随后的临床实验才有得以开展的基础。当然，国外开展的 2'-FL 或 2'-FL 和 LNnT 婴儿临床试验已经表明它们对婴儿健康的积极影响，如减少感染次数，使肠道菌群更接近母乳喂养的婴儿。在首个批准 2'-FL 后，国外相继批准了 LNnT、LNT、6'-SL、3'-SL、2'-FL/DFL 和 3-FL。

对于我国而言，现有资料未显示 HMOs 与国外母乳在种类和含量趋势上的差异，为此，结合国外已有临床结果，并以“母乳中 HMOs 含量高低、及尽可能多体现母乳 HMOs 特点的代表性组分”为我国审批和产业相关发展的指导原则是科学的。除了已经提交的 2'-FL 以外，后续建议科学有序推进 LNT、6'-SL、2'-FL/DFL、3-FL、LNnT 和 3'-SL 相关申请和审批工作。

从工业和环境友好角度，建议将微生物发酵技术应该作为国内规模化生产的主流工艺。

2. 将 HMOs 作为我国母乳研究方向之一，强化源头创新和支撑

对照国内外情况可知，我国对于母亲乳汁中 HMOs 的研究与其中蛋白质、脂肪和乳糖的研究存在明显的差距。一方面是由于检测技术和成本的原因，另一方面是产业界和国家对于相关基础研究的投入非常有限。

美国和欧盟对不同 HMOs 组分批准的使用量遵循参照成熟母乳中 HMOs 中该组分平均水平原则。虽然现有研究结果显示影响我国母乳中 HMO 成分的因素以及我国母乳中 HMOs 组成与世界其他地区的母乳未见显著差异，但我国公开报道的母乳 HMOs 含量和组分特性研究不超过 1000 例样本。因此，应鼓励科学界和产业界开展深入合作，加大研发投入力度，将 HMOs 作为我国母婴健康领域重要研究内容之一，开展基于我国人群的母乳中 HMOs 含量和组分研究、健康效应相关临床研究等，从而为深入的了解母乳对母婴的健康益处、HMOs 组分添加依据和添加量审批、指导婴幼儿配方食品升级研发等都提供坚实的科学指导和支撑。

3. 加强功能评价类临床应用研究，为科学添加和使用 HMOs 提供科学依据

国外多项临床数据表明，将 HMOs 纳入婴幼儿配方食品中会给婴幼儿带来多方面的健康益处，HMOs 的功能不断被认知。综合国外已经获得批准的不同 HMOs 组分，其最



主要的添加体系是婴幼儿配方粉。这对于我国具有非常重要的借鉴意义，可见的未来，婴幼儿配方食品也应当是我国重点和主要应用领域。

母乳中 HMOs 随着泌乳期延长而减少，不同的 HMOs 组分含量也随之有相应变化。国外已经批准使用的是结构相对简单、且含量在 HMOs 总量中占优势比例的 6 种 HMOs 单体及一种复合物。美国、欧盟以及澳新已经获批的“最高使用量”基本参照母乳中各个 HMOs 成分中平均含量。随着 HMOs 不同组分在我国审批的推进，未来，不同组分在婴配食品中使用时，基于特定功能和添加目的，确定其有效添加量或最低添加量，亟待从科学上有更多营养相关人群、临床和循证研究的举证和开展，这也是我国不断完善婴配食品法规体系科学之路。

随着科学研究和科技创新的不断发展，相信会有更多的 HMOs 在婴幼儿配方粉中科学添加和应用，使其成分和功能更接近母乳，从而推动政策和产业的持久良性发展。

4. 产学研用协同，搭建适合我国需求的研究及产业化路径

生命早期营养对于人一生健康具有重要影响。依托高等院校、科研院所、国家重点实验室等平台，建立联合研究平台，开展 HMOs 基础研究，深入分析中国妈妈乳汁中 HMOs 的成分和特性，阐明 HMOs 结构与功能之间的关系，为 HMOs 实际应用提供技术支持。

同时，应共同呼吁国家和产业界加大科技研发投入，建立中国母乳 HMOs 信息源，加强母乳研究成果共享。在生产和技术方面，加强国际化交流学习，提高 HMOs 制备和生产能力和技术水平，建立国内的质量管控体系。

5. 统筹利用国内国际两个市场资源

据中国发展研究基金会的调查结果显示，婴儿 6 个月内纯母乳喂养率为 29.2%，距离《中国儿童发展纲要（2011-2020 年）》和《国民营养计划（2017-2030）》提出的 2020 年我国纯母乳喂养率达到 50% 的目标仍有一定的距离，远低于 43% 的世界平均水平和 37% 的中低收入国家平均水平^[222]。《母乳喂养促进行动计划（2021-2025）》再次明确了促进母乳喂养的重要意义和阶段目标、对于母乳代用品生产经营企业相关性禁止性规定，以引导行业自律。

对于未能母乳喂养的婴儿，配方奶粉是提供其充足的基本营养保障的喂养方式。顺应奶业国际化的大趋势，坚持“引进来”和“走出去”相结合，促进资本、资源、技术等优势互补，学习借鉴国际先进的技术和管理经验，加强与乳品发达国家在 HMOs 的研发和生产方式等方面的交流和合作，提升国内 HMOs 的研发和生产技术水平，满足国内乳品多元化消费需求。

参考文献

- [1] EFSA PANEL ON DIETETIC PRODUCTS N A A N. Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae [J]. *EFSA Journal*, 2014, 12(7): 3760.
- [2] KUNZ C, RUDLOFF S, BAIER W, et al. Oligosaccharides in human milk: Structural, functional, and metabolic aspects [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2000, 20: 699-722.
- [3] URASHIMA T, KATAYAMA T, FUKUDA K, et al. 5.24 - Human Milk Oligosaccharides and Innate Immunity [M]//BARCHI J J. *Comprehensive Glycoscience (Second Edition)*. Oxford; Elsevier, 2021: 389-439.
- [4] WILLIAMS J E, MCGUIRE M K, MEEHAN C L, et al. Key genetic variants associated with variation of milk oligosaccharides from diverse human populations [J]. *Genomics*, 2021, 113(4): 1867-75.
- [5] BODE L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama [J]. *Glycobiology*, 2012, 22(9): 1147-62.
- [6] SOYYILMAZ B, MIKS M H, ROHRIG C H, et al. The Mean of Milk: A Review of Human Milk Oligosaccharide Concentrations throughout Lactation [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8).
- [7] SPRENGER G A, BAUMGÄRTNER F, ALBERMANN C. Production of human milk oligosaccharides by enzymatic and whole-cell microbial biotransformations [J]. *J Biotechnol*, 2017, 258: 79-91.
- [8] BODE L, JANTSCHER-KRENN E. Structure-function relationships of human milk oligosaccharides [J]. *Adv Nutr*, 2012, 3(3): 383s-91s.
- [9] NEVILLE M C, ALLEN J C, ARCHER P C, et al. Studies in human lactation: milk volume and nutrient composition during weaning and lactogenesis [J]. *Am J Clin Nutr*, 1991, 54(1): 81-92.
- [10] HUNDSHAMMER C, MINGE O. In Love with Shaping You-Influential Factors on the Breast Milk Content of Human Milk Oligosaccharides and Their Decisive Roles for Neonatal Development [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3568.
- [11] GABRIELLI O, ZAMPINI L, GALEAZZI T, et al. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation [J]. *Pediatrics*, 2011, 128(6): e1520-31.
- [12] VAN LEEUWEN S S, STOUTJESDIJK E, TEN KATE G A, et al. Regional variations in human milk oligosaccharides in Vietnam suggest FucTx activity besides FucT2 and FucT3 [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8.
- [13] XU G, DAVIS J C, GOONATILLEKE E, et al. Absolute Quantitation of Human Milk Oligosaccharides Reveals Phenotypic Variations during Lactation [J]. *The Journal of nutrition*, 2017, 147(1): 117-24.
- [14] SAMUEL T M, BINIA A, DE CASTRO C A, et al. Impact of maternal characteristics on human milk oligosaccharide composition over the first 4 months of lactation in a cohort of healthy European mothers [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 11767.
- [15] MORROW A L, CHEN C, CLINE A, et al. Human Milk Oligosaccharides in Preterm and Term Milk [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016, 30(S1): 673.10-10.

- [16] KUNZ C, MEYER C, COLLADO Y C, et al. Influence of Gestational Age, Secretor, and Lewis Blood Group Status on the Oligosaccharide Content of Human Milk [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2017, 64(5): 789-98.
- [17] AUSTIN S, DE CASTRO C A, SPRENGER N, et al. Human Milk Oligosaccharides in the Milk of Mothers Delivering Term versus Preterm Infants [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6).
- [18] THURL S, MUNZERT M, BOEHM G, et al. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk [J]. *Nutr Rev*, 2017, 75(11): 920-33.
- [19] MCGUIRE M K, MEEHAN C L, MCGUIRE M A, et al. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2017, 105(5): 1086-100.
- [20] VIVERGE D, GRIMMONPREZ L, CASSANAS G, et al. VARIATIONS OF LACTOSE AND OLIGOSACCHARIDES IN MILK FROM WOMEN OF BLOOD TYPES SECRETOR-A OR SECRETOR-H, SECRETOR LEWIS, AND SECRETOR-H/NONSECRETOR LEWIS DURING THE COURSE OF LACTATION [J]. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 1985, 29(1): 1-11.
- [21] VIVERGE D, GRIMMONPREZ L, CASSANAS G, et al. VARIATIONS IN OLIGOSACCHARIDES AND LACTOSE IN HUMAN-MILK DURING THE 1ST WEEK OF LACTATION [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 1990, 11(3): 361-4.
- [22] COPPA G V, GABRIELLI O, PIERANI P, et al. CHANGES IN CARBOHYDRATE-COMPOSITION IN HUMAN-MILK OVER 4 MONTHS OF LACTATION [J]. *Pediatrics*, 1993, 91(3): 637-41.
- [23] KUNZ C, RUDLOFF S, SCHAD W, et al. Lactose-derived oligosaccharides in the milk of elephants: comparison with human milk [J]. *British Journal of Nutrition*, 1999, 82(5): 391-9.
- [24] ELWAKIEL M, HAGEMAN J A, WANG W, et al. Human Milk Oligosaccharides in Colostrum and Mature Milk of Chinese Mothers: Lewis Positive Secretor Subgroups [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(27): 7036-43.
- [25] AZAD M B, ROBERTSON B, ATAORA F, et al. Human Milk Oligosaccharide Concentrations Are Associated with Multiple Fixed and Modifiable Maternal Characteristics, Environmental Factors, and Feeding Practices [J]. *Journal of Nutrition*, 2018, 148(11): 1733-42.
- [26] ZHANG W, WANG T, CHEN X, et al. Absolute quantification of twelve oligosaccharides in human milk using a targeted mass spectrometry-based approach [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 219: 328-33.
- [27] WU J, WU S, HUO J, et al. Systematic Characterization and Longitudinal Study Reveal Distinguishing Features of Human Milk Oligosaccharides in China [J]. *Curr Dev Nutr*, 2020, 4(8): nzaa113.
- [28] AUSTIN S, DE CASTRO C A, BENET T, et al. Temporal Change of the Content of 10 Oligosaccharides in the Milk of Chinese Urban Mothers [J]. *Nutrients*, 2016, 8(6).
- [29] WANG M, ZHAO Z, ZHAO A, et al. Neutral Human Milk Oligosaccharides Are Associated with Multiple Fixed and Modifiable Maternal and Infant Characteristics [J]. *Nutrients*, 2020, 12(3).
- [30] BAI Y, TAO J, ZHOU J, et al. Fucosylated Human Milk Oligosaccharides and N-Glycans in the Milk of Chinese Mothers Regulate the Gut Microbiome of Their Breast-Fed Infants during Different Lactation Stages [J]. *Msystems*, 2018, 3(6).
- [31] THURL S, MUNZERT M, HENKER J, et al. Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods [J]. *Br J Nutr*, 2010, 104(9): 1261-71.
- [32] COPPA G, PIERANI P, ZAMPINELLI, et al. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation [J]. 1999, 88(s430): 89-94.
- [33] WEI J, WANG Z A, WANG B, et al. Characterization of porcine milk oligosaccharides over lactation between primiparous and multiparous female pigs [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8.
- [34] SUNDEKILDE U K, BARILE D, MEYRAND M, et al. Natural Variability in Bovine Milk Oligosaccharides from Danish Jersey and Holstein-Friesian Breeds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(24): 6188-96.
- [35] ROBINSON R C, POULSEN N A, COLET E, et al. Profiling of aminoxyTMT-labeled bovine milk oligosaccharides reveals substantial variation in oligosaccharide abundance between dairy cattle breeds [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9.
- [36] URASHIMA T, SAITO T, NAKAMURA T, et al. Oligosaccharides of milk and colostrum in non-human mammals [J]. *Glycoconjugate Journal*, 2001, 18(5): 357-71.
- [37] WANG B, BRAND-MILLER J. The role and potential of sialic acid in human nutrition [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57(11): 1351-69.
- [38] TAO N, DEPETERS E J, FREEMAN S, et al. Bovine milk glycome [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(10): 3768-78.
- [39] VAN LEEUWEN S S, TE POELE E M, CHATZIOANNOU A C, et al. Goat Milk Oligosaccharides: Their Diversity, Quantity, and Functional Properties in Comparison to Human Milk Oligosaccharides [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(47): 13469-85.
- [40] MARTIN-ORTIZ A, SALCEDO J, BARILE D, et al. Characterization of goat colostrum oligosaccharides by nano-liquid chromatography on chip quadrupole time-of-flight mass spectrometry and hydrophilic interaction liquid chromatography-quadrupole mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1428: 143-53.
- [41] LU J, ZHANG Y, SONG B, et al. Comparative analysis of oligosaccharides in Guanzhong and Saanen goat milk by using LC-MS/MS [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 235.
- [42] SUMIYOSHI W, URASHIMA T, NAKAMURA T, et al. Galactosyllactoses in the Milk of Japanese Women: Changes in Concentration during the Course of Lactation [J]. *Journal of Applied Glycoscience*, 2004, 51(4): 341-4.
- [43] CLAPS S, DI NAPOLI M A, CAPUTO A R, et al. Factor affecting the 3'sialyllactose, 6'sialyllactose and disialyllactose content in caprine colostrum and milk: Breed and parity [J]. *Small Ruminant Research*, 2016, 134: 8-13.
- [44] QUINN E M, JOSHI L, HICKEY R M. Symposium review: Dairy-derived oligosaccharides-Their influence on host-microbe interactions in the gastrointestinal tract of infants [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103(4): 3816-27.

- [45] NEWBURG D S, KO J S, LEONE S, et al. Human Milk Oligosaccharides and Synthetic Galactosyloligosaccharides Contain 3', 4-, and 6'-Galactosyllactose and Attenuate Inflammation in Human T84, NCM-460, and H4 Cells and Intestinal Tissue Ex Vivo [J]. *J Nutr*, 2016, 146(2): 358-67.
- [46] AUSTIN S, BÉNET T. Quantitative determination of non-lactose milk oligosaccharides [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1010: 86-96.
- [47] SALLI K, HIRVONEN J, SIITONEN J, et al. Selective Utilization of the Human Milk Oligosaccharides 2'-Fucosyllactose, 3-Fucosyllactose, and Difucosyllactose by Various Probiotic and Pathogenic Bacteria [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(1): 170-82.
- [48] BORNET F R J, BROUNS F, TASHIRO Y, et al. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications [J]. *Digestive and Liver Disease*, 2002, 34: S111-S20.
- [49] WALSH C, LANE J A, SINDEREN D V, et al. From lab bench to formulated ingredient: Characterization, production, and commercialization of human milk oligosaccharides [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 72: 104052.
- [50] MORROW A L, RUIZ-PALACIOS G M, ALTAYE M, et al. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants [J]. *Journal of Pediatrics*, 2004, 145(3): 297-303.
- [51] STEPANS M B F, WILHELM S L, HERTZOG M, et al. Early Consumption of Human Milk Oligosaccharides Is Inversely Related to Subsequent Risk of Respiratory and Enteric Disease in Infants [J]. *Breastfeeding Medicine*, 2006, 1(4): 207-15.
- [52] PUCCIO G, ALLIET P, CAJOZZO C, et al. Effects of Infant Formula With Human Milk Oligosaccharides on Growth and Morbidity: A Randomized Multicenter Trial [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2017, 64(4): 624-31.
- [53] KORPELA K, SALONEN A, HICKMAN B, et al. Fucosylated oligosaccharides in mother's milk alleviate the effects of caesarean birth on infant gut microbiota [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8.
- [54] BERGER B, PORTA N, FOATA F, et al. Linking Human Milk Oligosaccharides, Infant Fecal Community Types, and Later Risk To Require Antibiotics [J]. *mBio*, 2020, 11(2).
- [55] NOWAK-WĘGRZYN A, CZERKIES L, REYES K, et al. Confirmed Hypoallergenicity of a Novel Whey-Based Extensively Hydrolyzed Infant Formula Containing Two Human Milk Oligosaccharides [J]. *Nutrients*, 2019, 11(7).
- [56] SPRENGER N, ODENWALD H, KUKKONEN A K, et al. FUT2-dependent breast milk oligosaccharides and allergy at 2 and 5 years of age in infants with high hereditary allergy risk [J]. *Eur J Nutr*, 2017, 56(3): 1293-301.
- [57] SEKEREŁ B E, BINGOL G, CULLU COKUGRAS F, et al. An Expert Panel Statement on the Beneficial Effects of Human Milk Oligosaccharides (HMOs) in Early Life and Potential Utility of HMO-Supplemented Infant Formula in Cow's Milk Protein Allergy [J]. *Journal of asthma and allergy*, 2021, 14: 1147-64.
- [58] 中国营养学会益生菌益生元与健康分会. 《中国营养学会益生元与健康专家共识》概要 [J]. *中国食物与营养*, 2021, 27(5): 89.
- [59] WALSH C, LANE J A, VAN SINDEREN D, et al. Human milk oligosaccharides: Shaping the infant gut microbiota and supporting health [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 72.
- [60] JAKOBSSON H E, ABRAHAMSSON T R, JENMALM M C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section [J]. *Gut*, 2014, 63(4): 559-66.
- [61] JOST T, LACROIX C, BRAEGGER C P, et al. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e44595.
- [62] HIDALGO-CANTABRANA C, DELGADO S, RUIZ L, et al. Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects [J]. *Microbiol Spectr*, 2017, 5(3).
- [63] GOH Y J, KLAENHAMMER T R. Genetic Mechanisms of Prebiotic Oligosaccharide Metabolism in Probiotic Microbes [M]//DOYLE M P, KLAENHAMMER T R. *Annual Review of Food Science and Technology*, Vol 6. 2015: 137-56.
- [64] GARRIDO D, RUIZ-MOYANO S, KIRMIZ N, et al. A novel gene cluster allows preferential utilization of fucosylated milk oligosaccharides in *Bifidobacterium longum* subsp *longum* SC596 [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6.
- [65] ASAKUMA S, HATAKEYAMA E, URASHIMA T, et al. Physiology of Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Infant Gut-associated Bifidobacteria [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(40): 34583-92.
- [66] SELA D A, CHAPMAN J, ADEUYA A, et al. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* subsp *infantis* reveals adaptations for milk utilization within the infant microbiome [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(48): 18964-9.
- [67] MARCOBAL A, BARBOZA M, SONNENBURG E D, et al. Bacteroides in the Infant Gut Consume Milk Oligosaccharides via Mucus-Utilization Pathways [J]. *Cell Host & Microbe*, 2011, 10(5): 507-14.
- [68] YU Z-T, CHEN C, NEWBURG D S. Utilization of major fucosylated and sialylated human milk oligosaccharides by isolated human gut microbes [J]. *Glycobiology*, 2013, 23(11): 1281-92.
- [69] BIDART G N, RODRIGUEZ-DIAZ J, MONEDERO V, et al. A unique gene cluster for the utilization of the mucosal and human milk-associated glycans galacto-N-biose and lacto-N-biose in *Lactobacillus casei* [J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(3): 521-38.
- [70] GIBSON G R, WANG X. REGULATORY EFFECTS OF BIFIDOBACTERIA ON THE GROWTH OF OTHER COLONIC BACTERIA [J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1994, 77(4): 412-20.
- [71] SCHWAB C, RUSCHEWEYH H J, BUNESOVA V, et al. Trophic Interactions of Infant Bifidobacteria and *Eubacterium hallii* during L-Fucose and Fucosyllactose Degradation [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 95.
- [72] CAIT A, CARDENAS E, DIMITRIU P A, et al. Reduced genetic potential for butyrate fermentation in the gut microbiome of infants who develop allergic sensitization [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(6): 1638-47 e3.

- [73] MORRIN S T, HICKEY R M. New insights on the colonization of the human gut by health-promoting bacteria [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(4): 1511-5.
- [74] CHICHLOWSKI M, DE LARTIGUE G, GERMAN J B, et al. Bifidobacteria Isolated From Infants and Cultured on Human Milk Oligosaccharides Affect Intestinal Epithelial Function [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2012, 55(3): 321-7.
- [75] KAVANAUGH D W, O'CALLAGHAN J, BUTTO L F, et al. Exposure of *Bifidobacterium longum* subsp *infantis* to Milk Oligosaccharides Increases Adhesion to Epithelial Cells and Induces a Substantial Transcriptional Response [J]. *Plos One*, 2013, 8(6).
- [76] NEWBURG D S, RUIZ-PALACIOS G M, MORROW A L. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2005, 25: 37-58.
- [77] KONG C, BEUKEMA M, WANG M, et al. Human milk oligosaccharides and non-digestible carbohydrates prevent adhesion of specific pathogens via modulating glycosylation or inflammatory genes in intestinal epithelial cells [J]. *Food Funct*, 2021.
- [78] GUSTAFSSON A, HULTBERG A, SJOSTROM R, et al. Carbohydrate-dependent inhibition of *Helicobacter pylori* colonization using porcine milk [J]. *Glycobiology*, 2006, 16(1): 1-10.
- [79] PARKKINEN J, FINNE J, ACHTMAN M, et al. ESCHERICHIA-COLI STRAINS BINDING NEURAMINYL ALPHA-2-3 GALACTOSIDES [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1983, 111(2): 456-61.
- [80] FIRON N, OFEK I, SHARON N. CARBOHYDRATE SPECIFICITY OF THE SURFACE LECTINS OF ESCHERICHIA-COLI, KLEBSIELLA-PNEUMONIAE, AND SALMONELLA-TYPHIMURIUM [J]. *Carbohydrate Research*, 1983, 120(AUG): 235-49.
- [81] TATE J E, BURTON A H, BOSCHI-PINTO C, et al. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infectious Diseases*, 2012, 12(2): 136-41.
- [82] ACKERMAN D L, CRAFT K M, DOSTER R S, et al. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Human Milk Oligosaccharides against *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, and *Acinetobacter baumannii* [J]. *ACS infectious diseases*, 2018, 4(3): 315-24.
- [83] CRAFT K M, TOWNSEND S D. Mother Knows Best: Deciphering the Antibacterial Properties of Human Milk Oligosaccharides [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(3): 760-8.
- [84] GONIA S, TUEPKER M, HEISEL T, et al. Human Milk Oligosaccharides Inhibit *Candida albicans* Invasion of Human Premature Intestinal Epithelial Cells [J]. *Journal of Nutrition*, 2015, 145(9): 1992-8.
- [85] ANGELONI S, RIDET J L, KUSY N, et al. Glycoprofiling with micro-arrays of glycoconjugates and lectins [J]. *Glycobiology*, 2005, 15(1): 31-41.
- [86] MANTHEY C F, AUTRAN C A, ECKMANN L, et al. Human Milk Oligosaccharides Protect Against Enteropathogenic *Escherichia coli* Attachment In Vitro and EPEC Colonization in Suckling Mice [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2014, 58(2): 165-8.
- [87] RUIZ-PALACIOS G M, CERVANTES L E, RAMOS P, et al. *Campylobacter jejuni* binds intestinal H(O) antigen (Fuc alpha 1, 2Gal beta 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(16): 14112-20.
- [88] YU Z-T, NANTHAKUMAR N N, NEWBURG D S. The Human Milk Oligosaccharide 2'-Fucosyllactose Quenches *Campylobacter jejuni*-Induced Inflammation in Human Epithelial Cells HEp-2 and HT-29 and in Mouse Intestinal Mucosa [J]. *Journal of Nutrition*, 2016, 146(10): 1980-90.
- [89] FACINELLI B, MARINI E, MAGI G, et al. Breast milk oligosaccharides: effects of 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose on the adhesion of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* to Caco-2 cells [J]. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2019, 32(17): 2950-2.
- [90] COPPA G V, ZAMPINI L, GALEAZZI T, et al. Human milk oligosaccharides inhibit the adhesion to Caco-2 cells of diarrheal pathogens: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, and *Salmonella typhi* [J]. *Pediatric Research*, 2006, 59(3): 377-82.
- [91] EL-HAWIET A, KITOVA E N, KLASSEN J S. Recognition of human milk oligosaccharides by bacterial exotoxins [J]. *Glycobiology*, 2015, 25(8): 845-54.
- [92] WEICHERT S, JENNEWEIN S, HUEFNER E, et al. Bioengineered 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose inhibit the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and enteric pathogens to human intestinal and respiratory cell lines [J]. *Nutrition Research*, 2013, 33(10): 831-8.
- [93] SIMON P M, GOODE P L, MOBASSERI A, et al. Inhibition of *Helicobacter pylori* binding to gastrointestinal epithelial cells by sialic acid-containing oligosaccharides [J]. *Infection and Immunity*, 1997, 65(2): 750-7.
- [94] CHEN P, REITER T, HUANG B, et al. Prebiotic Oligosaccharides Potentiate Host Protective Responses against *L. Monocytogenes* Infection [J]. *Pathogens*, 2017, 6(4).
- [95] ACKERMAN D L, DOSTER R S, WEITKAMP J-H, et al. Human Milk Oligosaccharides Exhibit Antimicrobial and Antibiofilm Properties against Group B *Streptococcus* [J]. *ACS Infectious Diseases*, 2017, 3(8): 595-605.
- [96] LIN A E, AUTRAN C A, SZYSZKA A, et al. Human milk oligosaccharides inhibit growth of group B *Streptococcus* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(27): 11243-9.
- [97] ROBILOTTI E, DERESINSKI S, PINSKY B A. Norovirus [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, 28(1): 134-64.
- [98] JIANG X, HUANG P W, ZHONG W M, et al. Human milk contains elements that block binding of noroviruses to human histo-blood group antigens in saliva [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2004, 190(10): 1850-9.
- [99] SCHROTEN H, HANISCH F-G, HANSMAN G S. Human Norovirus Interactions with Histo-Blood Group Antigens and Human Milk Oligosaccharides [J]. *Journal of Virology*, 2016, 90(13): 5855-9.
- [100] SHANG J, PISKAREV V E, XIA M, et al. Identifying human milk glycans that inhibit norovirus binding using surface plasmon resonance [J]. *Glycobiology*, 2013, 23(12): 1491-8.

- [101] YOLKEN R H, PETERSON J A, VONDERFECHT S L, et al. HUMAN-MILK MUCIN INHIBITS ROTAVIRUS REPLICATION AND PREVENTS EXPERIMENTAL GASTROENTERITIS [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1992, 90(5): 1984-91.
- [102] HESTER S N, CHEN X, LI M, et al. Human milk oligosaccharides inhibit rotavirus infectivity in vitro and in acutely infected piglets [J]. *British Journal of Nutrition*, 2013, 110(7): 1233-42.
- [103] LAUCIRICA D R, TRIANTIS V, SCHOEMAKER R, et al. Milk Oligosaccharides Inhibit Human Rotavirus Infectivity in MA104 Cells [J]. *Journal of Nutrition*, 2017, 147(9): 1709-14.
- [104] ZEYGITI S, GONZALEZ ZABALA J, DARJI A, et al. Sialic acid and sialyl-lactose glyco-conjugates: design, synthesis and binding assays to lectins and swine influenza H1N1 virus [J]. *Journal of Peptide Science*, 2012, 18(1): 52-8.
- [105] XIAO L, VAN'T LAND B, ENGEN P A, et al. Human milk oligosaccharides protect against the development of autoimmune diabetes in NOD-mice [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8.
- [106] KUMARI M, KOZYRSKYJ A L. Gut microbial metabolism defines host metabolism: an emerging perspective in obesity and allergic inflammation [J]. *Obes Rev*, 2017, 18(1): 18-31.
- [107] JANTSCHER-KRENN E, LAUWAET T, BLISS L A, et al. Human milk oligosaccharides reduce *Entamoeba histolytica* attachment and cytotoxicity in vitro [J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(10): 1839-46.
- [108] MALDONADO-CONTRERAS A L, MCCORMICK B A. Intestinal epithelial cells and their role in innate mucosal immunity [J]. *Cell and Tissue Research*, 2011, 343(1): 5-12.
- [109] VANCAMELBEKE M, VERMEIRE S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease [J]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 11(9): 821-34.
- [110] HOLSCHER H D, DAVIS S R, TAPPENDEN K A. Human Milk Oligosaccharides Influence Maturation of Human Intestinal Caco-2Bbe and HT-29 Cell Lines [J]. *Journal of Nutrition*, 2014, 144(5): 586-91.
- [111] KUNTZ S, RUDLOFF S, KUNZ C. Oligosaccharides from human milk influence growth-related characteristics of intestinally transformed and non-transformed intestinal cells [J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 99(3): 462-71.
- [112] GRABINGER T, GARZON J F G, HAUSMANN M, et al. Alleviation of Intestinal Inflammation by Oral Supplementation With 2-Fucosyllactose in Mice [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10.
- [113] KONG C, ELDERMAN M, CHENG L, et al. Modulation of Intestinal Epithelial Glycocalyx Development by Human Milk Oligosaccharides and Non-Digestible Carbohydrates [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(17).
- [114] HODZIC Z, BOLOCK A M, GOOD M. The Role of Mucosal immunity in the Pathogenesis of Necrotizing enterocolitis [J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2017, 5.
- [115] BERGSTROM K S B, XIA L. Mucin-type O-glycans and their roles in intestinal homeostasis [J]. *Glycobiology*, 2013, 23(9): 1026-37.
- [116] CHENG L, KONG C, WALVOORT M T C, et al. Human Milk Oligosaccharides Differently Modulate Goblet Cells Under Homeostatic, Proinflammatory Conditions and ER Stress [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020, 64(5).
- [117] WU R Y, LI B, KOIKE Y, et al. Human Milk Oligosaccharides Increase Mucin Expression in Experimental Necrotizing Enterocolitis [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(3).
- [118] RUDLOFF S, POHLENTZ G, DIEKMANN L, et al. Urinary excretion of lactose and oligosaccharides in preterm infants fed human milk or infant formula [J]. *Acta Paediatrica*, 1996, 85(5): 598-603.
- [119] PLAZA-DIAZ J, FONTANA L, GIL A. Human Milk Oligosaccharides and Immune System Development [J]. *Nutrients*, 2018, 10(8).
- [120] TRIANTIS V, BODE L, VAN NEERVEN R J J. Immunological Effects of Human Milk Oligosaccharides [J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2018, 6.
- [121] SODHI C P, WIPF P, YAMAGUCHI Y, et al. The human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose protect against the development of necrotizing enterocolitis by inhibiting toll-like receptor 4 signaling [J]. *Pediatr Res*, 2021, 89(1): 91-101.
- [122] HE Y, LIU S, LEONE S, et al. Human colostrum oligosaccharides modulate major immunologic pathways of immature human intestine [J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(6): 1326-39.
- [123] OLIVEROS E, RAMIREZ M, VAZQUEZ E, et al. Oral supplementation of 2'-fucosyllactose during lactation improves memory and learning in rats [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016, 31: 20-7.
- [124] VAZQUEZ E, BARRANCO A, RAMIREZ M, et al. Dietary 2'-Fucosyllactose Enhances Operant Conditioning and Long-Term Potentiation via Gut-Brain Communication through the Vagus Nerve in Rodents [J]. *Plos One*, 2016, 11(11).
- [125] FLEMING S A, MUDD A T, HAUSER J, et al. Human and Bovine Milk Oligosaccharides Elicit Improved Recognition Memory Concurrent With Alterations in Regional Brain Volumes and Hippocampal mRNA Expression [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 770.
- [126] FLEMING S A, MUDD A T, HAUSER J, et al. Dietary Oligofructose Alone or in Combination with 2'-Fucosyllactose Differentially Improves Recognition Memory and Hippocampal mRNA Expression [J]. *Nutrients*, 2020, 12(7).
- [127] GEORGI G, BARTKE N, WIENS F, et al. Functional glycans and glycoconjugates in human milk [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2013, 98(2): 578S-85S.
- [128] MARTIN-SOSA S, MARTIN M J, GARCIA-PARDO L A, et al. Distribution of sialic acids in the milk of Spanish mothers of full term infants during lactation [J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2004, 39(5): 499-503.
- [129] WANG B, MCVEAGH P, PETOCZ P, et al. Brain ganglioside and glycoprotein sialic acid in breastfed compared with formula-fed infants [J]. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78(5): 1024-9.

- [130] WANG B. Sialic Acid Is an Essential Nutrient for Brain Development and Cognition [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2009, 29: 177-222.
- [131] SVENNERHOLM L, BOSTROM K, FREDMAN P, et al. HUMAN-BRAIN GANGLIOSIDES - DEVELOPMENTAL-CHANGES FROM EARLY FETAL STAGE TO ADVANCED AGE [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1989, 1005(2): 109-17.
- [132] MORGAN B L, OPPENHEIMER J, WINICK M. Effects of essential fatty acid deficiency during late gestation on brain N-acetylneuraminic acid metabolism and behaviour in the progeny [J]. *Br J Nutr*, 1981, 46(2): 223-30.
- [133] WANG B, YU B, KARIM M, et al. Dietary sialic acid supplementation improves learning and memory in piglets [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2007, 85(2): 561-9.
- [134] OLIVEROS E, Vázquez E, BARRANCO A, et al. Sialic Acid and Sialylated Oligosaccharide Supplementation during Lactation Improves Learning and Memory in Rats [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10).
- [135] OBELITZ-RYOM K, BERING S B, OVERGAARD S H, et al. Bovine Milk Oligosaccharides with Sialyllactose Improves Cognition in Preterm Pigs [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6).
- [136] DOCQ S, SPOELDER M, WANG W, et al. The Protective and Long-Lasting Effects of Human Milk Oligosaccharides on Cognition in Mammals [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11).
- [137] FLEMING S A, CHICHLOWSKI M, BERG B M, et al. Dietary Sialyllactose Does Not Influence Measures of Recognition Memory or Diurnal Activity in the Young Pig [J]. *Nutrients*, 2018, 10(4).
- [138] GOEHRING K C, MARRIAGE B J, OLIVER J S, et al. Similar to Those Who Are Breastfed, Infants Fed a Formula Containing 2'-Fucosyllactose Have Lower Inflammatory Cytokines in a Randomized Controlled Trial [J]. *J Nutr*, 2016, 146(12): 2559-66.
- [139] MARRIAGE B J, BUCK R H, GOEHRING K C, et al. Infants Fed a Lower Calorie Formula With 2'FL Show Growth and 2'FL Uptake Like Breast-Fed Infants [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2015, 61(6): 649-58.
- [140] REVERRI E J, DEVITT A A, KAJZER J A, et al. Review of the Clinical Experiences of Feeding Infants Formula Containing the Human Milk Oligosaccharide 2'-Fucosyllactose [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10).
- [141] NEWBURG D S, RUIZ-PALACIOS G M, ALTAYE M, et al. Innate protection conferred by fucosylated oligosaccharides of human milk against diarrhea in breastfed infants [J]. *Glycobiology*, 2004, 14(3): 253-63.
- [142] AUTRAN C A, KELLMAN B P, KIM J H, et al. Human milk oligosaccharide composition predicts risk of necrotising enterocolitis in preterm infants [J]. *Gut*, 2018, 67(6): 1064-70.
- [143] HASSINGER D, CLAUSEN D M, NITKA S, et al. Analysis of Disialyllacto-N-Tetraose (DSLNT) Content in Milk From Mothers of Preterm Infants [J]. *J Hum Lact*, 2020, 36(2): 291-8.
- [144] MASI A C, EMBLETON N D, LAMB C A, et al. Human milk oligosaccharide DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotising enterocolitis [J]. *Gut*, 2020.
- [145] WEJRYD E, MARTI M, MARCHINI G, et al. Low Diversity of Human Milk Oligosaccharides is Associated with Necrotising Enterocolitis in Extremely Low Birth Weight Infants [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10).
- [146] VAN NIEKERK E, AUTRAN C A, NEL D G, et al. Human milk oligosaccharides differ between HIV-infected and HIV-uninfected mothers and are related to necrotizing enterocolitis incidence in their preterm very-low-birth-weight infants [J]. *J Nutr*, 2014, 144(8): 1227-33.
- [147] DAVIS J C, LEWIS Z T, KRISHNAN S, et al. Growth and Morbidity of Gambian Infants are Influenced by Maternal Milk Oligosaccharides and Infant Gut Microbiota [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40466.
- [148] BODE L, KUHN L, KIM H Y, et al. Human milk oligosaccharide concentration and risk of postnatal transmission of HIV through breastfeeding [J]. *Am J Clin Nutr*, 2012, 96(4): 831-9.
- [149] KUHN L, KIM H Y, HSIAO L, et al. Oligosaccharide composition of breast milk influences survival of uninfected children born to HIV-infected mothers in Lusaka, Zambia [J]. *J Nutr*, 2015, 145(1): 66-72.
- [150] LEWIS Z T, TOTTEN S M, SMILOWITZ J T, et al. Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants [J]. *Microbiome*, 2015, 3.
- [151] SPRENGER N, LEE L Y, DE CASTRO C A, et al. Longitudinal change of selected human milk oligosaccharides and association to infants' growth, an observatory, single center, longitudinal cohort study [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0171814.
- [152] BERGER P K, PLOWS J F, JONES R B, et al. Human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose links feedings at 1 month to cognitive development at 24 months in infants of normal and overweight mothers [J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0228323.
- [153] OLIVEROS E, MARTIN M, TORRES-ESPINOLA F, et al. Human milk levels of 2-fucosyllactose and 6-sialyllactose are positively associated with infant neurodevelopment and are not impacted by maternal BMI or diabetic status [J]. 2021, 4: 100024.
- [154] SEPPO A E, AUTRAN C A, BODE L, et al. Human milk oligosaccharides and development of cow's milk allergy in infants [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, 139(2): 708-+.
- [155] MILIKU K, ROBERTSON B, SHARMA A K, et al. Human milk oligosaccharide profiles and food sensitization among infants in the CHILD Study [J]. *Allergy*, 2018, 73(10): 2070-3.
- [156] LODGE C J, LOWE A J, MILANZI E, et al. Human milk oligosaccharide profiles and allergic disease up to 18 years [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147(3): 1041-8.
- [157] KAJZER J, OLIVER J, MARRIAGE B. Gastrointestinal Tolerance of Formula Supplemented with Oligosaccharides [J]. *Faseb Journal*, 2016, 30.
- [158] RAMIREZ-FARIAS C, BAGGS G E, MARRIAGE B J. Growth, Tolerance, and Compliance of Infants Fed an Extensively Hydrolyzed Infant Formula with Added 2'-FL Fucosyllactose (2'-FL) Human Milk Oligosaccharide [J]. *Nutrients*, 2021, 13(1).

- [159] VANDENPLAS Y, DE HALLEUX V, ARCISZEWSKA M, et al. A Partly Fermented Infant Formula with Postbiotics Including 3'-GL, Specific Oligosaccharides, 2'-FL, and Milk Fat Supports Adequate Growth, Is Safe and Well-Tolerated in Healthy Term Infants: A Double-Blind, Randomised, Controlled, Multi-Country Trial [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11).
- [160] PARSCHAT K, MELSAETHER C, JAPALT K R, et al. Clinical Evaluation of 16-Week Supplementation with 5HMO-Mix in Healthy-Term Human Infants to Determine Tolerability, Safety, and Effect on Growth [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8).
- [161] MORROW A L, MEINZEN-DERR J, HUANG P, et al. Fucosyltransferase 2 Non-Secretor and Low Secretor Status Predicts Severe Outcomes in Premature Infants [J]. *Journal of Pediatrics*, 2011, 158(5): 745-51.
- [162] NEWBURG D S, RUIZ-PALACIOS G M, ALTAYE M, et al. Human milk alpha,2-linked fucosylated oligosaccharides decrease risk of diarrhea due to stable toxin of *E. coli* in breastfed infants [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2004, 554: 457-61.
- [163] PATEL A L, KIM J H. Human milk and necrotizing enterocolitis [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2018, 27(1): 34-8.
- [164] RYAN J J, MONTEAGUDO-MERA A, CONTRACTOR N, et al. Impact of 2'-Fucosyllactose on Gut Microbiota Composition in Adults with Chronic Gastrointestinal Conditions: Batch Culture Fermentation Model and Pilot Clinical Trial Findings [J]. *Nutrients*, 2021, 13(3).
- [165] IRIBARREN C, TÖRNBLÖM H, AZIZ I, et al. Human milk oligosaccharide supplementation in irritable bowel syndrome patients: A parallel, randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2020, 32(10): e13920.
- [166] PALSSON O S, PEERY A, SEITZBERG D, et al. Human Milk Oligosaccharides Support Normal Bowel Function and Improve Symptoms of Irritable Bowel Syndrome: A Multi-center, Open-Label Trial [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2020, 11(12): e00276.
- [167] BARILE D, TAO N, LEBRILLA C B, et al. Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides [J]. *International Dairy Journal*, 2009, 19(9): 524-30.
- [168] ZHU Y, WAN L, LI W, et al. Recent advances on 2'-fucosyllactose: physiological properties, applications, and production approaches [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020: 1-10.
- [169] PLANTE O J, PALMACCI E R, SEEBERGER P H. Automated solid-phase synthesis of oligosaccharides [J]. *Science*, 2001, 291(5508): 1523-7.
- [170] 陈坚, 邓洁莹, 李江华, et al. 母乳寡糖的生物合成研究进展 [J]. *中国食品学报*, 2016, 16(011): 1-8.
- [171] BODE L, CONTRACTOR N, BARILE D, et al. Overcoming the limited availability of human milk oligosaccharides: challenges and opportunities for research and application [J]. *Nutr Rev*, 2016, 74(10): 635-44.
- [172] AGOSTON K, HEDEROS M J, BAJZA I, et al. Kilogram scale chemical synthesis of 2'-fucosyllactose [J]. *Carbohydr Res*, 2019, 476: 71-7.
- [173] FAIJES M, CASTEJÓN-VILATERSANA M, VAL-CID C, et al. Enzymatic and cell factory approaches to the production of human milk oligosaccharides [J]. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(5): 667-97.
- [174] ZEUNER B, TEZE D, MUSCHIOL J, et al. Synthesis of Human Milk Oligosaccharides: Protein Engineering Strategies for Improved Enzymatic Transglycosylation [J]. *Molecules*, 2019, 24(11): 2033.
- [175] SAUMONNEAU A, CHAMPION E, PELTIER-PAIN P, et al. Design of an α -L-transfucosidase for the synthesis of fucosylated HMOs [J]. *Glycobiology*, 2016, 26(3): 261-9.
- [176] YAO W, YAN J, CHEN X, et al. Chemoenzymatic synthesis of lacto-N-tetrasaccharide and sialyl lacto-N-tetrasaccharides [J]. *Carbohydr Res*, 2015, 401: 5-10.
- [177] CHIN Y, SEO N, KIM J, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce 2'-fucosyllactose via salvage pathway of guanosine 5'-diphosphate (GDP)-l-fucose [J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2016, 113(11): 2443-52.
- [178] BYCH K, MIKŠ M H, JOHANSON T, et al. Production of HMOs using microbial hosts - from cell engineering to large scale production [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, 56: 130-7.
- [179] YU S, LIU J J, YUN E J, et al. Production of a human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose by metabolically engineered *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17.
- [180] GAJ T, GERSBACH C A, BARBAS C F, 3RD. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering [J]. *Trends Biotechnol*, 2013, 31(7): 397-405.
- [181] ZHANG X, LIU Y, LIU L, et al. Microbial production of sialic acid and sialylated human milk oligosaccharides: Advances and perspectives [J]. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(5): 787-800.
- [182] IRELAND FSAI. SUBSTANTIAL EQUIVALENCE OPINION [A/OL]. 2016. https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Science_and_Health/Novel_Foods/Notifications/2016%20Glycom%20Fermented%202'FL.pdf
- [183] COMMISSION EU. Novel Food [A/OL]. https://ec.europa.eu/food/safety/novel-food_en.
- [184] FDA. Generally Recognized as Safe (GRAS) [A/OL]. <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>.
- [185] FDA. GRAS Notices GRN No. 546 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=546&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=546.
- [186] FDA. GRAS Notices GRN No. 571 [A/OL]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=571>.
- [187] FDA. GRAS Notices GRN No. 650 [A/OL]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=650>.
- [188] FDA. GRAS Notices GRN No. 735 [A/OL]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=735>.
- [189] FDA. GRAS Notices GRN No. 749 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=749&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=749.
- [190] FDA. GRAS Notices GRN No. 852 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=852&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=852.
- [191] FDA. GRAS Notices GRN No. 897 [A/OL]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=897>.

- [192] FDA. GRN No. 929 GRN No. 929 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=929&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=929.
- [193] FDA. GRAS Notices GRN No. 932 [A/OL]. <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=932>.
- [194] COMMISSION EU. Commission Implementing Decision (EU) 2016/376 [A/OL]. https://eur-lex.europa.eu/eli/dec_impl/2016/376/oj.
- [195] COMMISSION E. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2017/2201 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2017/2201/oj.
- [196] NEW ZEALAND FSAN. A1155 – 2'-FL and LNnT in infant formula and other products [A/OL]. <https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Pages/A1155.aspx>.
- [197] NEW ZEALAND FSAN. A1190 – 2'-FL in infant formula and other products [A/OL]. <https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Pages/A1190.aspx>.
- [198] FDA. GRAS Notices GRN No. 547 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=547&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=547.
- [199] FDA. GRAS Notices GRN No. 659 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=659&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=659.
- [200] FDA. GRAS Notices GRN No. 919 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=919&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=919.
- [201] COMMISSION EU. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2016/375 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2016/375/oj.
- [202] COMMISSION EU. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2019/1314 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2019/1314/oj.
- [203] COMMISSION EU. Commission Implementing Regulation (EU) 2021/912 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/912/oj.
- [204] FDA. GRAS Notices GRN No. 815 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=815&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=815.
- [205] COMMISSION EU. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2019/1979 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2019/1979/oj.
- [206] FDA. GRAS Notices GRN No. 833 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=833&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=833.
- [207] FDA. GRAS Notices GRN No. 923 [M]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=923&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=923.
- [208] COMMISSION EU. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2020/484 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2020/484/oj.
- [209] FDA. GRAS Notices GRN No. 766 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=766&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=766.
- [210] FDA. GRAS Notices GRN No. 880 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=880&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=880.
- [211] FDA. GRAS Notices GRN No. 921 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=921&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=921.
- [212] COMMISSION EU. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2021/96 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/96/oj.
- [213] FDA. GRAS Notices GRN No. 881 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=881&sort=Date_of_closure&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=sialyllactose.
- [214] FDA. GRAS Notices GRN No. 922 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=922&sort=Date_of_closure&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=922.
- [215] REGULATION EU. Commission Implementing Regulation (EU) 2021/82 [A/OL]. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/82/oj.
- [216] FDA. GRAS Notices GRN No. 925 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=925&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=925.
- [217] FDA. GRAS Notices GRN No. 951 [A/OL]. https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=951&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=951.
- [218] EFSA PANEL ON NUTRITION N F, FOOD A, TURCK D, et al. Safety of 3-FL (3-Fucosyllactose) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 [EB/OL]. EFSA J, 2021, 19(6): e06662.
- [219] DONG X, LI N, LIU Z, et al. Modular pathway engineering of key precursor supply pathways for lacto-N-neotetraose production in *Bacillus subtilis* [J]. Biotechnology for Biofuels, 2019, 12(1).
- [220] JIEYING, DENG, LIUYAN, et al. Engineering the Substrate Transport and Cofactor Regeneration Systems for Enhancing 2'-Fucosyllactose Synthesis in *Bacillus subtilis* [J]. ACS synthetic biology, 2019, 8(10): 2418-27.
- [221] LI Z, GAO Y, NAKANISHI H, et al. Biosynthesis of rare hexoses using microorganisms and related enzymes [J]. Beilstein J Org Chem, 2013, 9: 2434-45.
- [222] 中国发展研究基金会. 《中国母乳喂养影响因素调查报告》 [A/OL]. 2019. <https://www.cdrf.org.cn/jjh/pdf/mu.pdf>.
- [223] Zhou, Y.; Sun, H.; Li, K, et al. Dynamic Changes in Human Milk Oligosaccharides in Chinese Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. Nutrients 2021, 13, 2912. <https://doi.org/10.3390/nu13092912>

... ∞ 致 谢 ∞ ...

(感谢编者组)



王瑛瑶
研究员 / 博士
CNS 营养健康研究院执行副院长



朱 婧
研究员 / 博士
北京市科学技术研究院
生物技术与健康研究所



王 颜
MPH / 科学家
CNS 营养健康研究院



Jim Richards
博士 / 科学家
荷兰皇家帝斯曼集团



潘 玉
博士 / 科学家
荷兰皇家帝斯曼集团



于 雪
MPH
北京大学公共卫生学院



周 锦
助理科学家
CNS 营养健康研究院



梁培文
博士 / APJCN 编辑
CNS 营养健康研究院



郭洪萍
硕士研究生
北京大学公共卫生学院



Christoph Roehrig
博士 / 科学家
荷兰皇家帝斯曼集团



Buket Soyilmaz
副科学家
荷兰皇家帝斯曼集团



Annette Lau
资深法规经理
荷兰皇家帝斯曼集团

CNSCI 功能、法规管理及应用前景

母乳低聚糖：功能、法规管理及应用前景



关注公众号阅读