

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6517429号  
(P6517429)

(45) 発行日 令和1年5月22日 (2019.5.22)

(24) 登録日 平成31年4月26日 (2019.4.26)

(51) Int. Cl.

F I

<b>A 6 1 K</b>	<b>35/741</b>	<b>(2015.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>35/741</b>	<b>Z N A</b>
<b>A 6 1 P</b>	<b>1/12</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>1/12</b>	
<b>A 6 1 P</b>	<b>1/10</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>1/10</b>	
<b>A 6 1 P</b>	<b>1/04</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>1/04</b>	
<b>A 6 1 P</b>	<b>1/06</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 P</b>	<b>1/06</b>	

請求項の数 16 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-505031 (P2018-505031)  
 (86) (22) 出願日 平成29年7月13日 (2017.7.13)  
 (65) 公表番号 特表2018-535920 (P2018-535920A)  
 (43) 公表日 平成30年12月6日 (2018.12.6)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2017/052077  
 (87) 国際公開番号 W02018/011594  
 (87) 国際公開日 平成30年1月18日 (2018.1.18)  
 審査請求日 平成30年5月1日 (2018.5.1)  
 (31) 優先権主張番号 1612190.7  
 (32) 優先日 平成28年7月13日 (2016.7.13)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)  
 (31) 優先権主張番号 1616016.0  
 (32) 優先日 平成28年9月20日 (2016.9.20)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 518031664  
 フォーディー ファーマ ビーエルシー  
 4 D P H A R M A P L C  
 イギリス国 エルエス1 2 ジェイゼット  
 リーズ ボンドコート9 サードフロア  
 (74) 代理人 100107984  
 弁理士 廣田 雅紀  
 (74) 代理人 100102255  
 弁理士 小澤 誠次  
 (74) 代理人 100096482  
 弁理士 東海 裕作  
 (74) 代理人 100188352  
 弁理士 松田 一弘  
 (74) 代理人 100131093  
 弁理士 堀内 真

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細菌株を含む組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下痢及び／または便秘を治療または予防する方法における使用のための、配列番号5と少なくとも95%同一の16s rRNA配列を有するブラウチア ヒドロゲノトロフィカ (Blautia hydrogenotrophica) 種の細菌株を含む組成物であって、前記下痢及び／または便秘が、過敏性腸症候群 (IBS) に関連する、前記組成物。

【請求項 2】

下痢を治療する方法における使用のための、請求項1に記載の組成物であって、前記対象が、便秘を伴わない下痢を有する、前記組成物。

【請求項 3】

便秘を治療する方法における使用のための、請求項1に記載の組成物であって、前記対象が、下痢を伴わない便秘を有する、前記組成物。

【請求項 4】

前記対象が、腹痛及び／または膨満をさらに有する、請求項1～3のいずれかに記載の使用のための組成物。

【請求項 5】

前記対象が、健常な対象と比較して呼気における水素レベルが増加している、請求項1～4のいずれかに記載の使用のための組成物。

【請求項 6】

前記使用が、前記対象の呼気における水素レベルを低減することをさらに含む、請求項

1 ~ 5 のいずれかに記載の使用のための組成物。

【請求項 7】

前記使用が、前記治療または予防の間及び／または後に前記対象の呼気における水素レベルをモニタリングすること、ならびにこれにより治療または予防の推定有効性を評価することをさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の使用のための組成物。

【請求項 8】

前記細菌株が、配列番号 5 と少なくとも 97%、98%、99%、99.5% もしくは 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する、または配列番号 5 の 16S rRNA 配列を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 9】

IBS と診断された対象において下痢及び／または便秘を治療または予防する方法における使用のための、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

経口投与用である、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 11】

1 又は 2 以上の薬学的に許容可能な賦形剤または担体を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 12】

前記細菌株が、凍結乾燥されている、請求項 1 ~ 11 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 13】

前記細菌株が、生存可能である、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 14】

ブラウチア ヒドロゲノトロフィカ (*Blautia hydrogenotrophica*) 種の単一株を含む、請求項 1 ~ 13 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 15】

ブラウチア ヒドロゲノトロフィカ (*Blautia hydrogenotrophica*) 種の細菌株を微生物共同体の一部として含む、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の使用のための、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の組成物を含む食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、哺乳動物の消化管から単離された細菌株を含む組成物、及び疾患の治療におけるかかる組成物の使用の分野にある。

【背景技術】

【0002】

ヒトの腸は、子宮内では無菌と考えられているが、出生直後に様々な母体及び環境微生物に曝される。その後、微生物の定着及び遷移の動的期間が生じ、これは、分娩様式、環境、食事及び宿主遺伝子型などの因子によって影響され、これらの因子の全てが、特に若年期において、腸内微生物叢の組成に影響を及ぼす。その後、微生物叢は安定して成人様になる [ 1 ]。ヒト腸内微生物叢は、2つの主要な細菌分類 ( 門 ) : *Bacteroidetes* 及び *Firmicutes* ; が存在度レベルにおいて多数派を占める 1500 を超える種々のファイレタイプを含有する [ 2 - 3 ]。ヒト腸の細菌定着から生じる成功裏の共生関係は、広範な代謝的、構造的、保護的及び他の有益な機能を生じさせてきた。定着した腸の代謝活性の向上は、さもなければ難消化性の食事成分が副生成物の放出と共に分解されて宿主に重要な栄養源及びさらなる健康効果をもたらすということを確実にする。同様に、腸内微生物叢の免疫学的重要性は、よく認識されており、共生細菌の導入後に機能的に再構成される損なわれた免疫系を有する無菌動物において実証されている [ 4 - 6 ]。

10

20

30

40

50

## 【0003】

微生物叢組成の劇的な変化は、胃腸障害、例えば、炎症性腸疾患（IBD）において記録されてきた。例えば、*Clostridium* クラスター XIVa 及び *Clostridium* クラスター XI (F. prausnitzii) 細菌のレベルは、IBD 患者において低減されているが、*E. Coli* の数は増加しており、腸内の共生生物と病原性共生生物とのバランスのシフトを示唆している [7 - 11]。

## 【0004】

ある特定の細菌株が動物の腸において有し得る潜在的なプラス効果の認識において、種々の株が、種々の疾患の治療における使用のために提案されてきた（例えば、[12 - 15] を参照されたい）。大部分の *Lactobacillus* 及び *Bifidobacterium* 株を含めた多くの株が、種々の腸障害を治療する際の使用のために提案されてきた（レビューには [16] を参照されたい）。また、*Blautia* 属の株が、IBS 患者において消化生態系の微生物バランスを調節する際の使用のために提案されてきた（WO 01 / 85187）。しかし、種々の細菌株と種々の疾患との間の関係、ならびに、特定の細菌株の、腸に対する、全身レベルでの、及びいずれか特定のタイプの疾患に対しての正確な効果は、あまり特徴付けられていない。

## 【0005】

腸細菌を使用した新規の治療を開発することができるように特徴付けられる腸細菌の潜在的効果が必要とされている。

## 【0006】

US 2010 / 0247489 は、消化系障害を治療するための無機栄養素の使用を記載している。US '789 は、多数の異なる細菌属も任意選択的に使用して広範な腹部の症状を予防することを提案しているが、いずれの細菌をもいずれの疾患または症状にも関連させていない。

## 【0007】

WO 2016 / 086206 は、*Clostridiales* 目の細菌が、種々の状態を治療または予防するのに使用され得ることを示唆しているが、いずれの細菌をもいずれの疾患または症状にも関連させていない。

## 【0008】

WO 2012 / 142605 は、微生物の組み合わせによって多くの異なる疾患を治療することが可能であり得ることを提案している。WO '605 は、用いられ得る多数の可能な細菌種を示唆しているが、WO '605 には、どのようにして、提案されている細菌種のいずれが、提案されている疾患のいずれを治療するのに使用され得るかについて教示されていない。

## 【0009】

WO 02 / 07741 は、*Clostridia* 綱からの種々の細菌を使用して胃腸障害を治療することを示唆しているが、いずれの細菌をもいずれの疾患または症状にも関連させていない。WO 2016 / 086209 は、*Clostridiales* 目における多数の可能性がある細菌を使用して、炎症性サイトカインの分泌を減少させかつ / または抗炎症性サイトカインの分泌を増加させることを示唆しているが、どのようにして、提案されている細菌種のいずれを使用して、提案されている疾患のいずれを治療するのかについての教示はない。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0010】

【特許文献 1】 [12] WO 2013 / 050792

【特許文献 2】 [13] WO 03 / 046580

【特許文献 3】 [14] WO 2013 / 008039

【特許文献 4】 [15] WO 2014 / 167338

【特許文献 5】 WO 01 / 85187

10

20

30

40

50

【特許文献6】US 2010/0247489

【特許文献7】WO 2016/086206

【特許文献8】WO 2012/142605

【特許文献9】WO 02/07741

【特許文献10】WO 2016/086209

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】[1] Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4): 279-90.

【非特許文献2】[2] Eckburg et al. (2005) Science. 10; 308(5728): 1635-8. 10

【非特許文献3】[3] Tap et al. (2009), Environ Microbiol, 11(10): 2574-84.

【非特許文献4】[4] Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12): 1021-35

【非特許文献5】[5] Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12): 2088-96.

【非特許文献6】[6] Mazmanian et al. (2005) Cell 15; 122(1): 107-18.

【非特許文献7】[7] Frank et al. (2007) PNAS 104(3 20  
4): 13780-5.

【非特許文献8】[8] Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11): 3980-8.

【非特許文献9】[9] Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12): 2034-42.

【非特許文献10】[10] Machiels et al. (2013) Gut. 63(8): 1275-83.

【非特許文献11】[11] Lopetuso et al. (2013), Gut Pathogens, 5: 23

【非特許文献12】[16] Lee and Lee (2014) World J Gastroenterol. 20(27): 8886-8897. 30

【発明の概要】

【0012】

本発明者らは、下痢及び／または便秘を治療及び予防するための新規の治療を開発した。特に、本発明者らは、*Blautia*属由来の細菌株が下痢及び／または便秘を低減させるのに有効であり得ることを確認した。実施例において記載されているように、*Blautia hydrogenotrophica*を含む組成物の経口投与は、過敏性腸症候群（IBS）を有する患者における下痢及び／または便秘を低減させ得る。そのため、第1実施形態において、本発明は、下痢及び／または便秘を治療及び予防する方法における使用のための、*Blautia*属の細菌株を含む組成物を提供する。 40

【0013】

好ましい実施形態において、本発明は、クローン病、潰瘍性結腸炎、または、より好ましくは、IBSと診断された対象において下痢及び／または便秘を治療または予防する方法における使用のための、*Blautia*属の細菌株を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、下痢及び便秘の両方を伴うIBSを有する。いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、下痢を伴うが便秘を伴わないまたは少量の便秘のみを伴うIBSを有する。いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、便秘を伴うが下痢を伴わないまたは少量の下痢のみを伴うIBSを有する。

【0014】

本発明の好ましい実施形態において、組成物における細菌株は、*Blautia hydrogenotrophica*のものである。近縁の株、例えば、*Blautia hydrogenotrophica*の細菌株の16S rRNA配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する細菌株が使用されてもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号5と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する。最も好ましくは、組成物における細菌株は、受託番号DSM 10507/14294で寄託されている*Blautia hydrogenotrophica*株である。

【0015】

10

本発明のさらなる実施形態において、組成物における細菌株は、*Blautia stercoris*のものである。近縁の株、例えば*Blautia stercoris*の細菌株の16S rRNA配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する細菌株が使用されてもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号1または3と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する。好ましくは、配列同一性は、配列番号3に対するものである。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号3によって表される16S rRNA配列を有する。

【0016】

本発明のさらなる実施形態において、組成物における細菌株は、*Blautia wexlerae*のものである。近縁の株、例えば、*Blautia wexlerae*の細菌株の16S rRNA配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する細菌株が使用されてもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号2または4と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%同一の16S rRNA配列を有する。好ましくは、配列同一性は、配列番号4に対するものである。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号4によって表される16S rRNA配列を有する。

20

【0017】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、経口投与用である。本発明の株の経口投与は、下痢及び/または便秘を治療するのに有効であり得る。また、経口投与は、患者及び施術者にとって便利であり、腸への送達及び/または腸への部分もしくは全体定着を可能にする。

30

【0018】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、1又は2以上の薬学的に許容可能な賦形剤または担体を含む。

【0019】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、凍結乾燥されている細菌株を含む。凍結乾燥は、細菌の送達を可能にする安定な組成物を調製するのに有効かつ便利な技術であり、実施例において有効な組成物を提供することが示されている。

【0020】

40

ある特定の実施形態において、本発明は、上記に記載されている組成物を含む食品を提供する。

【0021】

ある特定の実施形態において、本発明は、上記に記載されている組成物を含むワクチン組成物を提供する。

【0022】

さらに、本発明は、下痢及び/または便秘を治療または予防する方法であって、*Blautia*属の細菌株を含む組成物を投与することを含む上記方法を提供する。

【0023】

好ましい実施形態において、本発明は、*Enterobacteriaceae*感染症

50

、例えば *E. coli* 感染症に関連する疾患を治療または予防する方法における使用のための、*Blautia* 属の細菌株を含む組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎を治療または予防する際の使用のためのものである。

【0024】

さらに好ましい実施形態において、本発明の組成物は、IBS、クローン病、潰瘍性結腸炎、機能性消化不良、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎の治療または予防において、胃腸管において *Enterobacteriaceae* のレベル、好ましくは *E. coli* のレベルを低減する際の使用のためのものである。

【0025】

特定の好ましい実施形態において、本発明の組成物は、*Enterobacteriaceae* 感染症、例えば *E. coli* 感染症に関連する下痢を治療もしくは予防する方法における使用のためのものであり、または、下痢の治療もしくは予防において、胃腸管において *Enterobacteriaceae* のレベル、好ましくは *E. coli* のレベルを低減する際の使用のためのものである。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】第一相臨床試験の投与期間（1～16日目）の間の患者の症状の変化。

【図2】第一相臨床試験のウォッシュアウト期間の間の患者の症状の変化。

【図3】*Blautia* で治療した IBS 患者（図3a）及びプラセボで治療した IBS 患者（図3b）に関する1日目、2日目、15日目及び16日目の水素呼気試験の  $C_{max}$  の結果。図3cは、15及び16日目の平均と1及び2日目の平均との間で水素が低減した *Blautia* 治療患者の割合をこれらの時点の間で水素が低減したプラセボ治療患者の割合に対して比較しているグラフである。

【図4a】*Blautia* 治療 IBS 患者に関する1日目及び15日目のデータをペアにした、未補正の水素及び補正された水素呼気試験。

【図4b】*Blautia* 治療群に関する1日目及び15日目の平均の未補正の水素呼気試験結果を比較するグラフ。

【図4c】*Blautia* 治療群に関する1日目及び15日目の平均の補正された水素呼気試験結果を比較するグラフ。

【図5a】プラセボ治療 IBS 患者に関する1日目及び15日目のデータをペアにした、未補正の水素及び補正された水素呼気試験。

【図5b】プラセボ群に関する1日目及び15日目の平均の未補正の水素呼気試験結果を比較するグラフ。

【図5c】プラセボ群に関する1日目及び15日目の平均の補正された水素呼気試験結果を比較するグラフ。

【図6】*Blautia* 治療群（*Verum*）及びプラセボ群（図6a：未補正の水素；図6b：補正された水素）に関する1日目及び15日目の平均水素呼気試験結果を比較するグラフ。

【発明を実施するための形態】

【0027】

細菌株

本発明の組成物は、*Blautia* 属の細菌株を含む。実施例は、この属の細菌が、下痢及び/または便秘を治療または予防するのに有用であることを実証している。好ましい細菌株は、*Blautia hydrogenotrophica*、*Blautia stercoris* 及び *Blautia wexlerae* 種のものである。本発明で使用する他の好ましい細菌株は、*Blautia producta*、*Blautia coccoides* 及び *Blautia hansenii* である。

【0028】

本発明で使用する *Blautia* 株の例として、*Blautia hydrogen*

10

20

30

40

50

*otrophica*、*B. stercoris*、*B. faecis*、*B. coccoides*、*B. glucerasea*、*B. hansenii*、*B. luti*、*B. producta*、*B. schinkii* 及び *B. wexlerae* が挙げられる。*Blautia* 種は、球形または楕円形のいずれであってもよいグラム反応陽性の非運動性細菌であり、全てが、グルコース発酵の主な最終産物として酢酸を産生する偏性嫌気性菌である [ 17 ]。*Blautia* は、ヒト腸から単離されてよいが、*B. producta* は、敗血症サンプルから単離されたものである。

#### 【 0029 】

*Blautia hydrogenotrophica* (*Ruminococcus hydrogenotrophicus* としてこれまでに知られている) は、哺乳動物の腸から単離されており、偏性嫌気性であり、また、 $H_2 / CO_2$  を、ヒトの栄養及び健康に重要であり得る酢酸塩に代謝する。*Blautia hydrogenotrophica* のタイプの株は、S5a33 = DSM10507 = JCM14656 である。*Blautia hydrogenotrophica* 株 S5a36 の 16S rRNA 遺伝子配列の GenBank 受託番号は、X95624.1 である (配列番号 5 として本明細書に開示されている)。この例示的な *Blautia hydrogenotrophica* 株は、[ 17 ] 及び [ 18 ] に記載されている。S5a33 株及び S5a36 株は、健全な対象の糞便サンプルから単離した株の 2 つのサブクローンに相当する。これらは、同一の形態、生理機能及び代謝を示し、同一の 16S rRNA 配列を有している。そのため、いくつかの実施形態において、本発明で使用される *Blautia hydrogenotrophica* は、配列番号 5 の 16S rRNA 配列を有する。

#### 【 0030 】

受託番号 DSM10507 で、また、受託番号 DSM14294 でも寄託されている *Blautia hydrogenotrophica* 細菌を実施例において試験した。該細菌は、本明細書において株 BH とも称される。株 BH を、1996 年 1 月 26 日に受託番号 DSM10507 で「*Ruminococcus hydrogenotrophicus*」として、また、2001 年 5 月 14 日には「S5a33」として受託番号 DSM14294 でも Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [ German Microorganism Collection ] (Marscheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Germany) に寄託した。寄託者は、INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand / Theix 63122 Saint Genes Champanelle, France である。寄託物の所有者は、譲渡により 4D Pharma Plc に移った。

#### 【 0031 】

*Blautia stercoris* 株 GAM6-1<sup>T</sup> の 16S rRNA 遺伝子配列の GenBank 受託番号は HM626177 である (本明細書において配列番号 1 と開示されている)。例示的な *Blautia stercoris* 株は、[ 19 ] に記載されている。*Blautia wexlerae* のタイプの株は、WAL14507 = ATCC BAA-1564 = DSM19850 である [ 17 ]。*Blautia wexlerae* 株 WAL14507<sup>T</sup> の 16S rRNA 遺伝子配列の GenBank 受託番号は EF036467 である (本明細書において配列番号 2 と開示されている)。この例示的な *Blautia wexlerae* 株は、[ 17 ] に記載されている。

#### 【 0032 】

好ましい *Blautia stercoris* 株は、本明細書において株 830 とも称されている、受託番号 NCIMB42381 で寄託されている株である。830 株の 16S rRNA 配列は、配列番号 3 において付与されている。株 830 を、「*Blautia stercoris* 830」として 2015 年 3 月 12 日に GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) によって国際寄託当局 NC

IMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) に寄託し、受託番号 NCIMB 42381 が割り当てられた。GT Biologics Ltd. は、その後、その名称を 4D Pharma Research Limited に変更した。

#### 【0033】

好ましい *Blautia wexlerae* 株は、本明細書において株 MRX008 とも称されている、受託番号 NCIMB 42486 で寄託されている株である。MRX008 株の 16S rRNA 配列は、配列番号 4 において付与されている。株 MRX008 を、「*Blaquitia/Ruminococcus MRx0008*」として 2015 年 11 月 16 日に 4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) によって国際寄託当局 NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) に寄託し、受託番号 NCIMB 42486 が割り当てられた。

#### 【0034】

実施例において試験されている株と近縁の細菌株もまた、下痢及び/または便秘を治療または予防するのに有効であると期待される。ある特定の実施形態において、本発明において使用される細菌株は、*Blautia hydrogenotrophica* の細菌株の 16S rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号 5 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。

#### 【0035】

ある特定の実施形態において、本発明において使用される細菌株は、*Blautia stercoris* の細菌株の 16S rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号 1 または配列番号 3 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。好ましくは、配列同一性は、配列番号 3 に対するものである。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号 3 によって表される 16S rRNA 配列を有する。ある特定の実施形態において、本発明において使用される細菌株は、*Blautia wexlerae* の細菌株の 16S rRNA 配列と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号 2 または配列番号 4 と少なくとも 95%、96%、97%、98%、99%、99.5% または 99.9% 同一の 16S rRNA 配列を有する。好ましくは、配列同一性は、配列番号 4 に対するものである。好ましくは、本発明において使用される細菌株は、配列番号 4 によって表される 16S rRNA 配列を有する。

#### 【0036】

受託番号 DSM 10507 / 14294 で寄託されている細菌のバイオタイプである、または受託番号 NCIMB 42381 及び NCIMB 42486 で寄託されている細菌のバイオタイプである細菌株もまた、下痢及び/または便秘を治療または予防するのに効果的であることが期待されている。バイオタイプは、同じまたは非常に類似する生理的及び生化学的特徴を有する近縁の株である。

#### 【0037】

受託番号 DSM 10507 / 14294、NCIMB 42381 または NCIMB 42486 で寄託されている細菌のバイオタイプであり、本発明での使用に好適である株は、受託番号 DSM 10507 / 14294、NCIMB 42381 または NCIMB 42486 で寄託されている細菌の他のヌクレオチド配列をシーケンスすることによって同定されてよい。例えば、実質的に全ゲノムがシーケンスされてよく、本発明で使用するバ



イオタイプ株は、その全ゲノムの少なくとも80%にわたって（例えば、少なくとも85%、90%、95%もしくは99%にわたって、またはその全ゲノムにわたって）少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%の配列同一性を有してよい。例えば、いくつかの実施形態において、バイオタイプ株は、そのゲノムの少なくとも98%にわたって少なくとも98%の配列同一性、またはそのゲノムの99%にわたって少なくとも99%の配列同一性を有する。バイオタイプ株を同定するのに使用される他の好適な配列は、hsp60または反復配列、例えば、BOX、ERIC、(GTG)<sub>5</sub>、もしくはREPまたは[20]を含んでよい。バイオタイプ株は、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌の対応する配列と少なくとも95%、96%、97%、98%、99%、99.5%または99.9%の配列同一性を有する配列を有してよい。いくつかの実施形態において、バイオタイプ株は、DSM10507/14294として寄託されている*Blautia hydrogenotrophica*株の対応する配列と少なくとも97%、98%、99%、99.5%または99.9%の配列同一性を有する配列を有しており、配列番号5と少なくとも99%同一の（例えば、少なくとも99.5%または少なくとも99.9%同一の）16S rRNA配列を含む。いくつかの実施形態において、バイオタイプ株は、DSM10507/14294として寄託されている*Blautia hydrogenotrophica*株の対応する配列と少なくとも97%、98%、99%、99.5%または99.9%の配列同一性を有する配列を有し、配列番号5の16S rRNA配列を有する。

#### 【0038】

代替的には、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌のバイオタイプでありかつ本発明での使用に好適である株は、受託番号DSM10507/14294の寄託物、受託番号NCIMB42381の寄託物、または受託番号NCIMB42486の寄託物、ならびに制限断片分析及び/またはPCR分析を使用することによって、例えば、蛍光増幅断片長多型分析（FAFLP）及び反復DNA要素（rep）-PCR指紋検査、またはタンパク質プロファイリング、または部分16Sもしくは23S rDNAシーケンシングを使用することによって同定されてよい。好ましい実施形態において、かかる技術は、他の*Blautia hydrogenotrophica*、*Blautia stercoris*または*Blautia wexlerae*株を同定するのに使用されてよい。

#### 【0039】

ある特定の実施形態において、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌のバイオタイプでありかつ本発明での使用に好適である株は、増幅リボソームDNA制限分析（ARDRA）によって分析されるとき、例えば、Sau3AI制限酵素（例示的な方法及びガイダンスについては、例えば[21]を参照されたい）を使用するとき、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌と同じパターンを付与する株である。代替的には、バイオタイプ株は、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌と同じ炭水化物発酵パターンを有する株として同定される。

#### 【0040】

本発明の組成物及び方法において有用である他の*Blautia*株、例えば、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌のバイオタイプは、実施例において記載されているアッセイを含め、いずれの適切な方法または戦略を使用して同定されてもよい。例えば、本発明で使用される株は、細菌を培養してラットに投与し、膨張アッセイにおいて試験することによって同定されてよい。特に、受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている細菌と同様の成長パターン、代謝型及び/または表面抗原を有する細菌株は、本発明において有用であり得る。有用な株は、D

SM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486株に匹敵する微生物叢調節活性を有する。特に、バイオタイプ株は、実施例において示されている効果に匹敵する、下痢及び/または便秘に対する効果を引き出し、これは、実施例において記載されている培養及び投与プロトコルを使用することによって同定されてよい。

【0041】

本発明の特に好ましい株は、受託番号DSM10507/14294で寄託されている *Blautia hydrogenotrophica* 株である。これは、実施例において試験されて、疾患を治療するのに効果的であることが示される例示的なBH株である。そのため、本発明は、特に、本明細書に記載されている疾患の治療に使用される、受託番号DSM10507/14294で寄託されている *Blautia hydrogenotrophica* 株またはその誘導体の細胞、例えば単離細胞を提供する。

10

【0042】

受託番号DSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486で寄託されている株の誘導体は、娘株（子孫）、またはオリジナルから培養された（サブクローニングされた）株であってよい。本発明の株の誘導体は、生物活性を取り除くことなく、例えば、遺伝子レベルで修飾されてよい。特に、本発明の誘導体株は、治療的に活性である。誘導体株は、オリジナルのDSM10507/14294、NCIMB42381またはNCIMB42486株と匹敵する微生物叢調節活性を有する。特に、誘導体株は、実施例において示されている効果と匹敵する、下痢及び/または便秘に対しての効果を引き出し、これは、実施例において記載されている培養及び投与プロトコルを使用することによって同定されてよい。DSM10507/14294株の誘導体は、概して、DSM10507/14294株のバイオタイプである。NCIMB42381株の誘導体は、概して、NCIMB42381株のバイオタイプである。NCIMB42486株の誘導体は、概して、NCIMB42486株のバイオタイプである。

20

【0043】

受託番号DSM10507/14294で寄託されている *Blautia hydrogenotrophica* 株の細胞への言及は、受託番号DSM10507/14294で寄託されている株と同じ安全及び治療効能特性を有するいずれの細胞も包含し、かかる細胞は本発明によって包含される。受託番号NCIMB42381で寄託されている *Blautia stercoris* 株の細胞への言及は、受託番号NCIMB42381で寄託されている株と同じ安全及び治療効能特性を有するいずれの細胞も包含し、かかる細胞は本発明によって包含される。受託番号NCIMB42486で寄託されている *Blautia wexlerae* 株の細胞への言及は、受託番号NCIMB42486で寄託されている株と同じ安全及び治療効能特性を有するいずれの細胞も包含し、かかる細胞は本発明によって包含される。

30

【0044】

好ましい実施形態において、本発明の組成物における細菌株は生存可能であり、腸に部分的または全体的に定着することが可能である。

【0045】

治療的使用

40

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、下痢及び/または便秘を治療する際の使用のためのものである。いくつかの実施形態において、組成物は、下痢及び便秘の両方を有する患者を治療する際の使用のためのものである。いくつかの実施形態において、組成物は、便秘を伴わない下痢を有する患者を治療する際の使用のためのものである。いくつかの実施形態において、組成物は、下痢を伴わない便秘を有する患者を治療する際の使用のためのものである。患者は、下痢または便秘のいずれかを示す場合が多いが、一人の患者が異なる時間に両方の状態を示す場合がある。IBS及び/または腸の炎症性疾患を有する患者は、多くの場合、下痢及び/または便秘を示す。したがって、本発明は、IBSもしくは腸の炎症性疾患を伴うと診断されたまたはこれらを有する疑いのある患者を治療する際の使用のための本発明の組成物を提供する。例えば、IBS患者は、下痢及び便

50

秘の交互のサイクルを経験する場合があります、またはIBS患者は、下痢を伴うIBS患者としてもしくは便秘を伴うIBS患者として特徴付けられる場合がある。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、IBSを有する患者、下痢を伴うIBSを有する患者または便秘を伴うIBSを有する患者を治療するのに使用され得る。例えば、いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、下痢及び便秘の両方を伴うIBSを有する。いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、下痢を伴うが便秘を伴わないまたは少量の便秘のみを伴うIBSを有する。いくつかの実施形態において、IBSと診断された対象は、便秘を伴うが下痢を伴わないまたは少量の下痢のみを伴うIBSを有する。いくつかの実施形態において、炎症性疾患は、小腸、結腸または直腸のものである。下痢は、クローン病及び潰瘍性結腸炎の症状である。したがって、本発明の組成物は、クローン病または潰瘍性結腸炎を有する患者を治療するのに使用され得る。

10

#### 【0046】

実施例において実証されているように、本発明の細菌組成物は、下痢及び/または便秘を低減するのに有効であり得る。

#### 【0047】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、クローン病、潰瘍性結腸炎またはより好ましくはIBSに関連する下痢及び/または便秘を治療または予防する際の使用のためのものである。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、クローン病、潰瘍性結腸炎、または、より好ましくは、IBSと診断された対象において下痢及び/または便秘を治療または予防する際の使用のためのものである。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、クローン病、潰瘍性結腸炎、または、より好ましくは、IBSの治療において下痢及び/または便秘を治療または予防する際の使用のためのものである。いくつかの実施形態において、患者は、下痢及び/または便秘に加えて腹痛及び/または膨満を有する。かかる実施形態において、患者は、これらの状態のうちの2つ、3つまたは4つのいずれの組み合わせも有し得る。例えば、患者は、下痢、便秘、腹痛及び膨満；下痢、便秘及び腹痛；下痢、便秘及び膨満；便秘を伴わない下痢、腹痛及び/または膨満；下痢を伴わない便秘、腹痛及び/または膨満を有し得る。

20

#### 【0048】

ある特定の実施形態において、組成物は、細菌培養物の形態であってよい。いくつかの実施形態において、組成物は、好ましくは凍結乾燥物であってよい。

30

#### 【0049】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、健常な対象と比較して呼気において水素のレベルが増加している対象において下痢及び/または便秘を治療する際の使用のためのものである。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、下痢及び/または便秘を有する対象の呼気における水素レベルを低減する際の使用のためのものである。対象は、好ましくは、IBS及び/または腸の炎症性疾患を有すると診断された対象である。いくつかの実施形態において、炎症性疾患は、小腸、結腸または直腸のものである。いくつかの実施形態において、対象は、例えば本明細書に記載されているIBSタイプの1つである、クローン病、潰瘍性結腸炎、またはより好ましくは、IBSと診断されている。理論によって拘束されないが、水素レベルの増加は、腸における炎症の基礎となるメカニズムから生じると推測される。実施例は、本発明の組成物による治療が、水素呼気試験において検出される水素のレベルを低減することを示している。したがって、水素レベルは、水素呼気試験を使用して好ましくは評価される。水素呼気試験は、当該分野において周知であり、そのため、当業者は、かかる試験をどのように行うかを知っている。いくつかの実施形態において、患者には、該試験において基質としてラクツロースが投与される。

40

#### 【0050】

水素呼気試験はまた、発明の組成物を使用した治療または予防の有効性または推定有効性をモニタリングするための有用なツールでもある。例えば、本発明の組成物による治療または予防の後に対象の呼気において検出される水素のレベルの低減は、該治療が、治療または予防効果を有していることを示し得る。したがって、いくつかの実施形態において

50

、本発明の方法及び使用は、本発明の組成物による治療または予防の間及び／または後に対象の呼気における水素レベルをモニタリングすること、ならびにこれにより治療または予防の有効性または推定有効性を評価することをさらに含む。例えば、水素レベルは、例えば、所望により、治療前、治療の開始時、治療の間、治療の最後及び／または治療後を含めた、1又は2以上の（例えば、1、2、3、4または4を超える）回数でモニタリングされてよい。いくつかの実施形態において、投与期間（組成物が対象に投与される間）の最後及び／または後の対象の呼気における水素のレベルは、投与期間の開始時及び／または前のレベルと比較され、レベルの低減は、治療または予防の有効性または推定有効性を示している。例えば、投与期間が16日である実施形態において、1日目及び16日目に、または例えば1日目、2日目、15日目及び16日目に測定値を採取することが望ましい場合がある。いくつかの実施形態において、複数の測定値を採取し、これらの測定値の平均を得る（例えば、1日目及び2日目の平均、ならびに15日目及び16日目の平均）。いくつかの実施形態において、水素レベルCmaxにおける少なくとも40ppmの低減は、治療または予防が有効であるまたは恐らく有効であることを示している。いくつかの実施形態において、対象の呼気における水素レベルは、例えば、治療の最後または後にたった1回のみ測定され、該レベルが所望のレベルである、またはこれに近いという所見は、治療または予防が恐らく有効であったことを示している。水素呼気試験は、標準的なアッセイであり、そのため、所定のレベルは当該分野において公知である。

#### 【0051】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗生物質治療を受けているもしくは受けたまたは受けようとしている（例えば、同日の後、次の日、または2、3、4、5、6、7、10、14もしくは21日以内）、あるいは細菌性胃腸炎に罹患しているもしくは罹患していた対象において下痢及び／または便秘を予防する際の使用のためのものである。抗生物質治療及び細菌性胃腸炎は、下痢及び／または便秘より前に起こる場合がありかつ本発明の組成物によって予防される場合がある腸内微生物叢の変化に関連する。本発明の組成物は、抗生物質治療と同時に、別個に、または逐次的に投与されてよい。例えば、本発明の組成物は、抗生物質治療と同時に投与されてよい。

#### 【0052】

好ましい実施形態において、本発明の組成物による治療は、下痢及び／または便秘の低減を結果として生じさせる。

#### 【0053】

下痢及び／または便秘の治療または予防とは、例えば、症状の重篤度の軽減、または患者にとって問題である増悪の頻度もしくは誘因の範囲の低減を称してよい。

#### 【0054】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、Enterobacteriaceae感染症、例えばE.coli感染症に関連する疾患を治療または予防する際の使用のためのものである。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎を治療または予防する際の使用のためのものである。かかる実施形態において、Enterobacteriaceaeは、病原株であってよい。

#### 【0055】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、Enterobacteriaceae、例えばE.coliのレベルの増加に関連する疾患を治療または予防する際の使用のためのものである。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎を治療または予防する際の使用のためのものである。かかる実施形態において、Enterobacteriaceaeは、共生または非病原株であってよい。

#### 【0056】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、Enterobacteriaceaeのレベルの増加に関連する疾患、例えばIBS、クローン病、潰瘍性結腸炎、機能性消化不良、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎の治療または予防において、胃腸

10

20

30

40

50

管において *Enterobacteriaceae* のレベル、好ましくは *E. coli* のレベルを低減する際の使用のためのものである。*Enterobacteriaceae* 及び特に *E. coli* は、クローン病及び潰瘍性結腸炎の潜在的な誘因であることが知られており、または、これらを悪化させることが知られており [ 22 - 24 ]、そのため、本発明の組成物に関する実施例において示されている効果は、これらの状態の治療において有益であり得る。

【 0057 】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、胃腸管において *Enterobacteriaceae* のレベルを低減することによって、IBS、クローン病、潰瘍性結腸炎、機能性消化不良、下痢、胃腸炎、尿路感染症または新生児髄膜炎を治療または予防する際の使用のためのものである。

10

【 0058 】

投与の形態

好ましくは、本発明の組成物は、本発明の細菌株による腸への送達及び/または腸への部分もしくは全体定着を可能にするために胃腸管に投与されるべきである。概して、本発明の組成物は、経口で投与されるが、これらは、経直腸的に、鼻腔内に、または頬側もしくは舌下経路を介して投与されてよい。

【 0059 】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、フォームとして、スプレーまたはゲルとして投与されてよい。

20

【 0060 】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、坐薬、例えば肛門坐薬として、例えば、カカオ脂（ココアバター）、合成硬質脂肪（例えば、坐剤用基材、ウィテップゾール）、グリセロ - ゼラチン、ポリエチレングリコール、または石鹸グリセリン組成物の形態で投与されてよい。

【 0061 】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、チューブ、例えば、鼻腔栄養チューブ、経口胃チューブ、胃チューブ、経空腸チューブ（Jチューブ）、経皮的内視鏡下胃瘻造設術（PEG）、またはポート、例えば胃、空腸及び他の好適なアクセスポートへのアクセスを付与する胸壁ポートを介して胃腸管に投与される。

30

【 0062 】

本発明の組成物は、一度で投与されてよく、または治療レジメンの一部として逐次的に投与されてよい。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、連日投与されるべきである。実施例は、投与が、下痢及び/または便秘の治療において成功裏の定着及び臨床的利益を付与することを実証している。

【 0063 】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、例えば毎日、2日おきに、または週1回、長期にわたって、例えば少なくとも1週間、2週間、1ヶ月間、2ヶ月間、6ヶ月間、または1年間定期的に投与される。実施例は、BH投与が、腸への永久定着を結果として生じない場合があり、そのため、長期にわたる定期的投与が、より大きな治療的利益を付与する場合があることも実証している。

40

【 0064 】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、7日間、14日間、16日間、21日間もしくは28日間、または7日、14日、16日、21日もしくは28日以下の間投与される。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、16日間投与される。

【 0065 】

本発明のある特定の実施形態において、本発明による治療は、患者の腸内微生物叢のアセスメントによって達成される。治療は、本発明の株の送達及び/またはそれによる部分的もしくは全体的定着が達成されず、その結果、効能が観察されないことになるとき、繰

50

り返されてよく、あるいは、治療は、送達及び／または部分的もしくは全体的定着が成功裏でありかつ効能が観察されるときに中止されてよい。

【0066】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、妊娠した動物、例えば、哺乳動物、例えば、ヒトに、その子宮内の胎児及び／または生まれた後の小児において下痢及び／または便秘が発症するのを予防するために投与されてよい。

【0067】

本発明の組成物は、下痢及び／もしくは便秘または下痢及び／もしくは便秘に関連する疾患もしくは状態と診断された、あるいは下痢及び／または便秘のリスクがあると同定された患者に投与されてよい。組成物は、健常な患者における下痢及び／または便秘の発症を予防するための予防対策として投与されてもよい。

10

【0068】

本発明の組成物は、異常な腸内微生物叢を有すると同定されている患者に投与されてよい。例えば、患者は、*Blautia*、特に *Blautia hydrogenotrophica*、*Blautia stercoris* または *Blautia wexlerae* による定着が低減されているか、または該定着がないかであり得る。

【0069】

本発明の組成物は、食品、例えば栄養補助食品として投与されてよい。

【0070】

概して、本発明の組成物は、ヒトの治療のためのものであるが、単胃哺乳動物、例えば、家禽、ブタ、ネコ、イヌ、ウマまたはウサギを含めた動物を治療するのに使用されてよい。本発明の組成物は、動物の成長及びパフォーマンスを向上させるのに有用である場合がある。動物に投与されるとき、経口胃管栄養法が使用されてよい。

20

【0071】

いくつかの実施形態において、組成物が投与されるべき対象は、ヒト成人である。いくつかの実施形態において、組成物が投与されるべき対象は、ヒト乳児である。

【0072】

組成物

概して、本発明の組成物は、細菌を含む。本発明の好ましい実施形態において、組成物は、凍結乾燥形態で調合される。例えば、本発明の組成物は、本発明の細菌株を含む顆粒またはゼラチンカプセル、例えば、硬質ゼラチンカプセルを含んでいてよい。

30

【0073】

好ましくは、本発明の組成物は、凍結乾燥されている細菌を含む。細菌の凍結乾燥は、確立された手順であり、関連のガイダンスは、例えば、参考文献 [ 25 - 27 ] において入手可能である。凍結乾燥物組成物が特に有効であり得る。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、凍結乾燥されている細菌を含んでおり、IBSに関連する下痢及び／または便秘の治療のためのものである。

【0074】

代替的には、本発明の組成物は、生きている、活性な細菌培養物を含んでいてよい。実施例は、本発明の細菌の培養物が治療的に有効であることを実証している。

40

【0075】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、不活性化されていない、例えば、熱不活性化されていない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、殺傷されていない、例えば、熱殺傷されていない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、弱毒化されていない、例えば、熱弱毒化されていない。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、殺傷されていない、不活性化されていない及び／または弱毒化されていない。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、生きている。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、生存可能である。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は、腸に部分的または全

50

体的に定着することが可能である。例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物における細菌株は生存可能であり、腸に部分的または全体的に定着することが可能である。

【0076】

いくつかの実施形態において、組成物は、生きている細菌株と殺傷されている細菌株との混合物を含む。

【0077】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、腸への細菌株の送達を可能にするようにカプセル化されている。カプセル化は、目標箇所へ送達するまで、例えばpHの変化によって引き起こされる場合がある化学的または物理的刺激、例えば圧力、酵素活性または物理的崩壊による破断を通しての劣化から組成物を保護する。いずれの適切なカプセル化方法が使用されてもよい。例示的なカプセル化技術として、多孔質マトリクス内への取り込み、固体担体表面への付着または吸着、凝集によるまたは架橋剤を用いた自己会合、及び微多孔膜またはマイクロカプセルの後の機械的拘束が挙げられる。本発明の組成物を調製するのに有用であり得るカプセル化についてのガイダンスは、例えば、参考文献[28 - 29]において入手可能である。

【0078】

組成物は、経口で投与されてよく、錠剤、カプセルまたは粉末の形態であってよい。カプセル化された製品が好ましい、なぜなら、*Blautia*が嫌気性生物であるからである。他の成分（例えばビタミンCなど）が、生体内での送達及び/または部分的もしくは全体的定着ならびに生存を改善するように脱酸素剤及びプレバイオティック基質として含まれていてよい。代替的には、本発明のプロバイオティック組成物は、食品もしくは栄養製品、例えばミルクもしくはホエイペースの発酵乳製品として、または医薬製品として経口で投与されてよい。

【0079】

組成物は、プロバイオティックとして調合されてよい。

【0080】

本発明の組成物は、治療有効量の本発明の細菌株を含む。治療有効量の細菌株は、患者への有益な効果を発揮するのに十分である。治療有効量の細菌株は、患者の腸への送達及び/または部分的もしくは全体的定着を結果として生じさせるのに十分であり得る。

【0081】

例えばヒト成人への細菌の好適な1日量は、約 $1 \times 10^3$  ~ 約 $1 \times 10^{11}$ 個のコロニー形成単位(CFU)；例えば、約 $1 \times 10^7$  ~ 約 $1 \times 10^{10}$  CFU；別の例において、約 $1 \times 10^6$  ~ 約 $1 \times 10^{10}$  CFU；別の例において、約 $1 \times 10^7$  ~ 約 $1 \times 10^{11}$  CFU；別の例において、約 $1 \times 10^8$  ~ 約 $1 \times 10^{10}$  CFU；別の例において、約 $1 \times 10^8$  ~ 約 $1 \times 10^{11}$  CFUであってよい。

【0082】

ある特定の実施形態において、細菌の用量は、少なくとも $10^9$ 細胞/日、例えば少なくとも $10^{10}$ 、少なくとも $10^{11}$ 、または少なくとも $10^{12}$ 細胞/日である。

【0083】

ある特定の実施形態において、組成物は、組成物の重量に対して約 $1 \times 10^6$  ~ 約 $1 \times 10^{11}$  CFU/g；例えば約 $1 \times 10^8$  ~ 約 $1 \times 10^{10}$  CFU/gの量で細菌株を含む。用量は、例えば、1g、3g、5g及び10gであってよい。

【0084】

典型的には、プロバイオティック、例えば本発明の組成物は、少なくとも1の好適なプレバイオティック化合物と任意選択的に組み合わせられる。プレバイオティック化合物は、通常、上部消化管において分解または吸収されない、非消化性炭水化物、例えば、オリゴ-もしくは多糖、または糖アルコールである。公知のプレバイオティクスとして、市販品、例えば、インスリン及びトランスガラクト-オリゴ糖が挙げられる。

【0085】

ある特定の実施形態において、本発明のプロバイオティック組成物は、組成物の合計重量に対して約1～約30重量%（例えば、5～20重量%）の量でプレバイオティック化合物を含む。炭水化物は：フラクト-オリゴ糖（またはFOS）、短鎖フラクト-オリゴ糖、インスリン、イソマルト-オリゴ糖、ペクチン、キシロ-オリゴ糖（またはXOS）、キトサン-オリゴ糖（またはCOS）、 $\alpha$ -グルカン、アラビアガム変性及び耐性デンプン、ポリデキストロース、D-タガトース、アカシアファイバ、イナゴマメ、オート麦、ならびにシトラスファイバ；からなる群から選択されてよい。一態様において、プレバイオティクスは短鎖フラクト-オリゴ糖（簡潔のために、以下本明細書においてFOSs-c.cと示す）であり；該FOSs-c.cは、テンサイ糖の転換によって一般に得られ、3のグルコース分子が結合しているサッカロース分子を含んでいる消化性炭水化物ではない。

10

#### 【0086】

本発明の組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤または担体を含んでいてよい。かかる好適な賦形剤の例は、参照文献[30]において見出され得る。治療的使用のための許容可能な担体または希釈剤は、薬剤分野において周知されており、例えば参照文献[31]において記載されている。好適な担体の例として、ラクトース、デンプン、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、マンニトール、ソルビトールなどが挙げられる。好適な希釈剤の例として、エタノール、グリセロール及び水が挙げられる。医薬担体、賦形剤または希釈剤の選択は、意図する投与経路及び標準の薬務に関して選択され得る。医薬組成物は、上記担体、賦形剤または希釈剤として、またはこれに加えて、いずれの好適な結合剤（複数可）、潤滑剤（複数可）、懸濁剤（複数可）、コーティング剤（複数可）、可溶化剤（複数可）を含んでいてもよい。好適な結合剤の例として、デンプン、ゼラチン、天然糖、例えばグルコース、無水ラクトース、自由流動ラクトース、 $\alpha$ -ラクトース、コーンシロップ、天然及び合成ガム、例えばアカシア、トラガカントまたはアルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースならびにポリエチレングリコールが挙げられる。好適な潤滑剤の例として、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどが挙げられる。防腐剤、安定剤、染料、及びさらなる香味剤が医薬組成物において付与されていてよい。防腐剤の例として、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、システイン、及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルが挙げられ、例えば、いくつかの実施形態において、防腐剤は、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルから選択される。酸化防止剤及び懸濁剤が使用されてもよい。好適な担体のさらなる例は、サッカロースである。防腐剤のさらなる例は、システインである。

20

30

#### 【0087】

本発明の組成物は、食品として調合されてよい。例えば、食品は、例えば栄養補助食品において、本発明の治療効果に加えて、栄養的利益を付与してよい。同様に、食品は、本発明の組成物の風味を向上するように、または組成物を、医薬組成物よりもむしろ、一般食料とより類似することによって、消費するのにより魅力的であるようにするように調合されてよい。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、ミルクベースの製品として調合される。用語「ミルクベースの製品」は、変動する脂肪分を有する、いずれの液体または半固体のミルク-またはホエイベースの製品も意味する。ミルクベースの製品は、例えば、ウシのミルク、ヤギのミルク、ヒツジのミルク、スキムミルク、ホールミルク、いずれの処理もしていない粉ミルク及びホエイからの還元ミルク、または加工品、例えばヨーグルト、凝固したミルク、カード、酸乳、酸全乳、バターミルク及び他の酸乳製品であり得る。別の重要な群として、ミルク飲料、例えばホエイ飲料、発酵乳、コンデンスミルク、乳幼児ミルク；フレーバーミルク、アイスクリーム；ミルク含有食品、例えば、スイーツが挙げられる。

40

#### 【0088】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、Blautia属の1又は2以上の細菌株を含み、いずれの他の属からの細菌も含有せず、または、ほんの僅少なもしくは生

50



物学的に関連のない量の別の属からの細菌を含む。

【0089】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、単一の細菌株または種を含有し、いずれの他の細菌株または種も含有しない。かかる組成物は、ほんの僅少なまたは生物学的に関連のない量の他の細菌株または種を含んでいてよい。かかる組成物は、他の種の生物を実質的に含まない培養物であってよい。いくつかの実施形態において、かかる組成物は、他の種の生物を実質的に含まない凍結乾燥物であってよい。

【0090】

ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、*Blautia* 属の1又は2以上の細菌株、例えば、*Blautia hydrogenotrophica* を含み、かつい  
10  
ずれの他の細菌属も含有せず、またはほんの僅少なもしくは生物学的に関連のない量の別の属からの細菌を含む。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、単一の *Blautia* 種、例えば、*Blautia hydrogenotrophica* を含み、かつい  
ずれの他の細菌種も含有せず、またはほんの僅少なもしくは生物学的に関連のない量の別の種からの細菌を含む。ある特定の実施形態において、本発明の組成物は、*Blautia*、例えば、*Blautia hydrogenotrophica* の単一株を含み、かつい  
ずれの他の細菌株もしくは種も含有せず、またはほんの僅少なまたは生物学的に関連のない量の別の株または種からの細菌を含む。

【0091】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、1を超える細菌株または種を含む。  
20  
例えば、いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同種内からの1を超える株（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40または45を超える株）を含み、任意選択的に、いずれの他の種からの細菌も含有しない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同種内からの50未満の株（例えば、45、40、35、30、25、20、15、12、10、9、8、7、6、5、4または3未満の株）を含み、任意選択的に、いずれの他の種からの細菌も含有しない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同種内からの1～40、1～30、1  
～20、1～19、1～18、1～15、1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～50、2～40、2～30、2～20、2～15  
、2～10、2～5、6～30、6～15、16～25、または31～50株を含み、任  
30  
意選択的に、いずれの他の種からの細菌も含有しない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同属内からの1を超える種（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、17、20、23、25、30、35または40を超える種）を含み、任意選択的に、いずれの他の属からの細菌も含有しない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同属内からの50未満の種（例えば、50、45、40、35、30、25、20、15、12、10、8、7、6、5、4または3未満の種）を含み、任意選択的に、いずれの他の属からの細菌も含有しない。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、同属内からの1～50、1～40、1～30、1～20、1～15、1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2  
～50、2～40、2～30、2～20、2～15、2～10、2～5、6～30、6～  
40  
15、16～25、または31～50種を含み、任意選択的に、いずれの他の属からの細菌も含有しない。本発明は、上記のいずれの組み合わせも含む。

【0092】

いくつかの実施形態において、組成物は、微生物共同体を含む。例えば、いくつかの実施形態において、組成物は、微生物共同体の一部として *Blautia* 細菌株を含む。例えば、いくつかの実施形態において、*Blautia* 細菌株は、腸において生体内で共生的に生きることができる、他の属からの1又は2以上の（例えば、少なくとも2、3、4、5、10、15または20の）他の細菌株の組み合わせにおいて存在する。例えば、いくつかの実施形態において、組成物は、異なる属からの細菌株と組み合わせた *Blautia hydrogenotrophica* の細菌株を含む。いくつかの実施形態におい  
50

て、微生物共同体は、単一の生物、例えば、ヒトの糞便サンプルから得られた2以上の細菌株を含む。いくつかの実施形態において、微生物共同体は、本来は一緒には見られない。例えば、いくつかの実施形態において、微生物共同体は、少なくとも2の異なる生物の糞便サンプルから得られた細菌株を含む。いくつかの実施形態において、該2の異なる生物は、同種、例えば、2の異なるヒトからのものである。いくつかの実施形態において、該2の異なる生物は、ヒト乳児及びヒト成人である。いくつかの実施形態において、該2の異なる生物は、ヒト及び非ヒト哺乳動物である。

【0093】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、受託番号DSM10507/14294で寄託されている*Blautia hydrogenotrophica*株と同じ安全及び治療効能特性を有するが、受託番号DSM10507/14294で寄託されている*Blautia hydrogenotrophica*株ではない、または*Blautia hydrogenotrophica*でもなく*Blautia*でもない細菌株をさらに含む。

10

【0094】

本発明の組成物が1を超える細菌株、種または属を含むいくつかの実施形態において、個々の細菌株、種または属は、別々、同時または逐次投与用であってよい。例えば、組成物は、1を超える細菌株、種もしくは属の全てを含んでいてよく、または細菌株、種もしくは属は、別々に貯蔵されてよく、また、別々に、同時にもしくは逐次的に投与されてよい。いくつかの実施形態において、1を超える細菌株、種または属は、別々に貯蔵されているが、使用前に一緒に混合される。

20

【0095】

いくつかの実施形態において、本発明において使用される細菌株は、ヒト成人の糞便から得られる。本発明の組成物が1を超える細菌株を含むいくつかの実施形態において、細菌株の全てがヒト成人の糞便から得られ、または、他の細菌株が存在するとき、ほんの僅少な量で存在する。細菌は、ヒト成人の糞便から得られ本発明の組成物において使用された後に培養されてよい。

【0096】

いくつかの実施形態において、1又は2以上の*Blautia*細菌株は、本発明の組成物において唯一の治療的活性剤（複数可）である。いくつかの実施形態において、組成物における細菌株（複数可）は、本発明の組成物において唯一の治療的活性剤（複数可）である。

30

【0097】

本発明による使用のための組成物は、販売承認を必要としなくてもよい。

【0098】

ある特定の実施形態において、本発明は、上記細菌株が凍結乾燥されている、上記医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、上記細菌株が噴霧乾燥されている、上記医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、細菌株が、凍結乾燥または噴霧乾燥されており、また、生きている、上記医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、細菌株が、凍結乾燥または噴霧乾燥されており、また、生存可能である、上記医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、細菌株が、凍結乾燥または噴霧乾燥されており、また、腸に部分的または全体的に定着することが可能である、上記医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態において、本発明は、細菌株が、凍結乾燥または噴霧乾燥されており、また、生存可能でありかつ腸に部分的または全体的に定着することが可能である、上記医薬組成物を提供する。

40

【0099】

いくつかの場合において、凍結乾燥または噴霧乾燥されている細菌株は、投与前に再構成される。いくつかの場合において、再構成は、本明細書に記載されている希釈剤の使用による。

【0100】

50

本発明の組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤、希釈剤または担体を含んでいてよい。

【0101】

ある特定の実施形態において、本発明は、本発明の細菌株と；薬学的に許容可能な賦形剤、担体または希釈剤とを含む医薬組成物であって；細菌株が、障害の治療を必要とする対象に投与されるときに該治療に十分な量であり；該障害が、下痢及び／または便秘、例えば、クローン病、潰瘍性結腸炎、または、より好ましくは、IBSに関連する下痢及び／または便秘である、上記医薬組成物を提供する。

【0102】

ある特定の実施形態において、本発明は、上記医薬組成物であって、細菌株の量が、組成物の重量に対してグラム当たり約  $1 \times 10^3$  ~ 約  $1 \times 10^{11}$  個のコロニー形成単位である、上記医薬組成物を提供する。

10

【0103】

ある特定の実施形態において、本発明は、1 g、3 g、5 g または 10 g の用量で投与される、上記医薬組成物を提供する。

【0104】

ある特定の実施形態において、本発明は、経口、直腸、皮下、鼻、頬側、及び舌下からなる群から選択される方法によって投与される、上記医薬組成物を提供する。

【0105】

ある特定の実施形態において、本発明は、ラクトース、デンプン、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、マンニトール及びソルビトールからなる群から選択される担体を含む上記医薬組成物を提供する。

20

【0106】

ある特定の実施形態において、本発明は、エタノール、グリセロール及び水からなる群から選択される希釈剤を含む上記医薬組成物を提供する。

【0107】

ある特定の実施形態において、本発明は、デンプン、ゼラチン、グルコース、無水ラクトース、自由流動ラクトース、 $\alpha$ -ラクトース、コーンシロップ、アカシア、トラガカント、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム及び塩化ナトリウムからなる群から選択される賦形剤を含む、上記医薬組成物を提供する。

30

【0108】

ある特定の実施形態において、本発明は、防腐剤、酸化防止剤及び安定剤の少なくとも1つをさらに含む、上記医薬組成物を提供する。

【0109】

ある特定の実施形態において、本発明は、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸、及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルからなる群から選択される防腐剤を含む、上記医薬組成物を提供する。

【0110】

ある特定の実施形態において、本発明の医薬組成物であって、いずれの鉱物も含まず、または、より詳細には、33を超える原子番号を有するいずれの金属も含まず、例えば、セレン、モリブデン、タンゲステン、セレン化合物、モリブデン化合物及びタンゲステン化合物からなる群からのいずれの鉱物も含まない、上記組成物を提供する。

40

【0111】

ある特定の実施形態において、本発明は、上記細菌株が凍結乾燥されている、上記医薬組成物を提供する。

【0112】

ある特定の実施形態において、本発明は、組成物が約4 または約25 で密閉容器に貯蔵されて容器が50%の相対湿度を有する雰囲気中に置かれているとき、コロニー形成単位で測定される細菌株の少なくとも80%が、少なくとも約1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1

50

年、１．５年、２年、２．５年または３年の期間の後に残存している、上記医薬組成物を提供する。

【０１１３】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、本明細書に記載されている組成物を含む密閉容器において付与される。いくつかの実施形態において、密閉容器は、サチエまたはボトルである。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、本明細書に記載されている組成物を含むシリンジにおいて付与される。

【０１１４】

本発明の組成物は、いくつかの実施形態において、医薬製剤として付与されてよい。例えば、組成物は、錠剤またはカプセルとして提供されてよい。いくつかの実施形態において、カプセルは、ゼラチンカプセル（「gel - cap」）である。

10

【０１１５】

いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、経口投与される。経口投与は、嚥下を含んでいてよく、その結果、化合物が、胃腸管に入ることになり、かつ／または頬側、舌側、もしくは舌下投与によって化合物が口から直接血流に入ることになる。

【０１１６】

経口投与に好適な医薬製剤として、固体プラグ、固体微粒子状物、半固体及び液体（多相及び分散系を含む）、例えば錠剤；多 - またはナノ - 粒子状物を含有する軟質または硬質カプセル、液体（例えば、水溶液）、エマルジョンまたは粉末；ロゼンジ（液体が充填されたものを含む）；咀嚼剤；ゲル；急速分散剤形；フィルム；膺坐剤；スプレー；ならびに頬側／粘膜接着パッチが挙げられる。

20

【０１１７】

いくつかの実施形態において、医薬製剤は、腸溶性製剤、すなわち、経口投与による腸への本発明の組成物の送達に好適である胃耐性製剤（例えば、胃のpHに耐性）である。腸溶性製剤は、組成物の細菌または別の成分が酸感受性である、例えば、胃条件下で分解しやすいとき、特に有用であり得る。

【０１１８】

いくつかの実施形態において、腸溶性製剤は、腸溶性コーティングを含む。いくつかの実施形態において、該製剤は、腸溶性コーティングされた剤形である。例えば、該製剤は、腸溶性コーティングされた錠剤または腸溶性コーティングされたカプセルなどであってよい。腸溶性コーティングは、経口送達のための従来の腸溶性コーティング、例えば、錠剤、カプセルなどのための従来のコーティングであってよい。該製剤は、フィルムコーティング、例えば、腸溶性ポリマー、例えば酸不溶性ポリマーの薄膜層を含んでいてよい。

30

【０１１９】

いくつかの実施形態において、腸溶性製剤は、本質的に腸溶性であり、例えば、腸溶性コーティングを必要とすることはない胃耐性である。そのため、いくつかの実施形態において、該製剤は、腸溶性コーティングを含まない腸溶性製剤である。いくつかの実施形態において、該製剤は、熱ゲル化材料から作製されたカプセルである。いくつかの実施形態において、熱ゲル化材料は、セルロース系材料、例えばメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロースまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）である。いくつかの実施形態において、カプセルは、いずれのフィルム形成ポリマーも含有しないシェルを含む。いくつかの実施形態において、カプセルは、シェルを含み、該シェルは、ヒドロキシプロピルメチルセルロースを含み、いずれのフィルム形成ポリマーも含まない（例えば、[32]を参照されたい）。いくつかの実施形態において、該製剤は、本質的に腸溶性のカプセル（例えば、Capsugel製Vcaps（登録商標））である。

40

【０１２０】

いくつかの実施形態において、該製剤は、軟質カプセルである。軟質カプセルは、カプセルシェルに存在する軟化剤、例えば、グリセロール、ソルビトール、マルチトール及びポリエチレングリコールなどの添加のおかげで、ある特定の弾性及び柔軟性を有し得るカプセルである。軟質カプセルは、例えば、ゼラチンまたはデンプンベースで製造され得る

50

。ゼラチンベースの軟質カプセルは、種々の供給者から市販されている。例えば経口または経直腸などの投与方法に応じて、軟質カプセルは、種々の形状を有することができ、例えば、円形、楕円形、長方形または魚雷型であり得る。軟質カプセルは、従来のプロセス、例えば、Scherrerプロセス、Accogelプロセスまたは液滴もしくは発泡プロセスなどによって製造され得る。

#### 【0121】

##### 培養方法

本発明における使用のための細菌株は、例えば、参考文献[33-35]に詳述されている標準の微生物学的技術を使用して培養され得る。

#### 【0122】

培養に使用される固体または液体培地は、例えば、YCF A寒天またはYCF A培地であってよい。YCF A培地として(100ml当たりの近似値): Casitone (1.0g)、酵母エキス(0.25g)、 $\text{NaHCO}_3$  (0.4g)、システイン(0.1g)、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.045g)、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.045g)、 $\text{NaCl}$  (0.09g)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0.09g)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.009g)、 $\text{CaCl}_2$  (0.009g)、レザズリン(0.1mg)、ヘミン(1mg)、ピオチン(1 $\mu\text{g}$ )、コバラミン(1 $\mu\text{g}$ )、p-アミノ安息香酸(3 $\mu\text{g}$ )、葉酸(5 $\mu\text{g}$ )、及びピリドキサミン(15 $\mu\text{g}$ )を挙げることができる。

#### 【0123】

##### 総則

本発明の実施は、別途示さない限り、当業者の範囲内の、化学、生化学、分子生物、免疫学及び薬理学の従来の方法を用いる。かかる技術は、文献において完全に説明されている。例えば、参考文献[36-43]などを参照されたい。

#### 【0124】

用語「comprising (含む)」は、「including (含む)」及び「consisting (からなる)」を包含し、例えば、組成物がXを「comprising (含む)」は、Xから排他的になってもよく、またはさらなる何か、例えば、X+Yを含んでいてもよい。

#### 【0125】

数値xに関係する用語「約」は、任意選択的であり、例えば、 $x \pm 10\%$ を意味する。

#### 【0126】

語「実質的に」は、「完全に」を排除せず、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含まなくてよい。必要に応じて、語「実質的に」は、本発明の定義から省略されてよい。

#### 【0127】

2つのヌクレオチド配列間の百分率の配列同一性への言及は、整列しているとき、ヌクレオチドの百分率が、2つの配列を比較したときに同じであることを意味する。このアラインメント及びパーセント相同性または配列同一性は、当該分野において公知のソフトウェアプログラム、例えば、参考文献[44]のセクション7.7.18に記載されているものを使用して決定され得る。好ましいアラインメントは、12のギャップオープンペナルティ及び2のギャップエクステンションペナルティ、62のBLSUMマトリクスによるアフィンギャップ検索を使用してSmith-Waterman相同性検索アルゴリズムによって決定される。Smith-Waterman相同性検索アルゴリズムは、参考文献[45]に開示されている。

#### 【0128】

特に記述されていない限り、多数のステップを含むプロセスまたは方法は、方法の開始及び終了時にさらなるステップを含んでいてよく、またはさらなる介在するステップを含んでいてよい。また、ステップは、適切な場合、代替の順序で、組み合わされ、省略され、または実施されてよい。

#### 【0129】

10

20

30

40

50

本発明の種々の実施形態は本明細書に記載されている。各実施形態において特定されている特徴は、他の特定されている特徴と組み合わせられて、さらなる実施形態を付与してよいことが認識される。特に、好適な、典型的なまたは好ましいとして本明細書において強調されている実施形態は、互いに組み合わせられてよい（これらが互いに排他的であるときを除く）。

#### 【実施例】

##### 【0130】

本発明を実施するための形態

実施例1 - 第一相臨床試験の際の患者の症状の変化

Blaudia hydrogenotrophica（受託番号DSM10507及び受託番号DSM14294でも寄託されている株「Blautix」）を、過敏性腸症候群（IBS）を有するヒト患者に投与する第一相臨床試験を行った。患者にBlautixを投与期間（1～16日目）に投与し、ウォッシュアウト期間が19～23日目であった。Blautixは、安全かつ耐容性良好の両方であることが分かった。4つの症状をモニタリングし、そのうちの2つが下痢及び便秘であった。研究において、患者がこれらの症状のそれぞれについて改善を経験したか、変化が無かったか、または悪化したかを記録した。Blautixが投与された患者からの結果を、プラセボが投与された患者を使用して得たものと比較した。症状を3つの時点：研究の1日目、15/16日目、及び最後；でモニタリングした。結果を図1及び2に示す。

##### 【0131】

16日目の患者の報告されている症状を、1日目からのベースラインと比較したとき、Blautixが与えられた17のIBS患者の82%において症状の改善が報告された（図1）。その2つが下痢及び便秘である症状の改善は、下痢及び/または便秘を治療または予防するためのBlautixの使用をサポートする。

##### 【0132】

プラセボが与えられた患者の50%において症状の改善が報告された（図1）。高いプラセボ応答率は、IBS臨床研究において、確立された現象である。プラセボよりもかなり小さい改善を基準にしてIBSを治療するXifaxanが最近承認された（<http://www.accessdata.fda.gov/spl/data/5ab6fcce b-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d/5ab6fcce b-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d.xml>を参照されたい）。

##### 【0133】

投薬完了時（16日目）に存在する症状と比較した研究完了時（19～23日目）の症状の悪化は、本明細書に提示されている教示を基準にして予期される。この症状の悪化は、第一相臨床試験において見られ：IBS患者の41%においてBlautix投薬の中止後に症状の悪化が報告された（図2）。Blautix投薬の中止後の、その2つが下痢及び便秘である症状の悪化もまた、そのため、下痢及び/または便秘を治療または予防する際のBlautixの使用をサポートする。

##### 【0134】

実施例2 - 水素呼気試験結果

呼気の水素レベルは、Blautix活性のバイオマーカーである - MoAは、酢酸を産生する内因性H<sub>2</sub>の代謝を含む。ヒト対象にラクツロースを投与し、水素（H<sub>2</sub>）レベル（Cmax）を4つの時点：1日目、2日目、15日目及び16日目；でサンプリングした。水素の未補正の結果を、水素の補正された結果に変換した。

##### 【0135】

いくつかの患者を分析から除外した。対象を水素呼気試験分析に含まない3つの理由があった：1）これらは、4つのサンプリング日のうち1つにおいて<20のCMAXの水素呼気試験結果をもたらし、そのため、該試験に対応していないと判断した；2）これらは、メタン産生体であった（呼気試験において水素よりもメタンをより産生するとされた

）、このことは、水素応答に影響する；かつ／または３）水素呼気試験において異常値があった（２３２ppm）。対象３．１２（Blautix）、３．２４（Blautix）、４．０７（Blautix）を非応答体として除外した。対象３．０３（Blautix）及び３．０８（プラセボ）をメタン産生体として除外した（上記で除外されると言及されている４．０７もまた、メタン産生体であった）。対象４．０９（プラセボ）を異常値に起因して除外した。

#### 【０１３６】

投与期間の最後（１５／１６日目）からの補正された水素の分析の結果をベースライン（１／２日目）からの結果と比較した。Blautixが与えられた１２患者のうち１０患者（８３％）において、この期間にわたって水素レベルが低減した（図３a及び３c）。対照的に、プラセボが与えられた６患者のうち３患者（５０％）において、水素レベルが低減した（図３b及び３c）。これらの百分率は、Blautix治療またはプラセボの投与後の症状の改善を示している患者の百分率と同様である。

#### 【０１３７】

図４は、Blautix（Verum）治療群に関する未補正及び補正された水素結果を、該結果の統計的分析と一緒に示す。未補正及び補正されたH<sub>2</sub>の両方に関する平均値は、１日目と１５日目との間で異なることが見出された。治療の１３．５日後、Cmax呼気試験においてH<sub>2</sub>の統計的に有意な（p<0.05）減少が、ラクツロース刺激の後に検出された。対照的に、プラセボ群では、平均は、１日目及び１５日目で等しいことが見出された（p>0.05）（図５）。このように、未補正の水素結果及び補正された水素結果の両方について、治療群（VERUM群とも称される）での平均は、１日目と１５日目との間で減少するが、プラセボ群での平均は、１日目と１５日目との間で等しい（図６）。

#### 【０１３８】

##### 実施例３ - 安定性試験

本明細書に記載されている少なくとも１つの細菌株を含有する本明細書に記載されている組成物を、２５ または４ の密閉容器に貯蔵し、該容器を３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、９０％または９５％の相対湿度を有する雰囲気置く。１ヶ月、２ヶ月、３ヶ月、６ヶ月、１年、１．５年、２年、２．５年または３年後、標準のプロトコルによって決定されるコロニー形成単位で測定したとき、細菌株の少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％または９０％が残存する。

#### 【０１３９】

##### 配列

配列番号１（Blautia stercoris株GAM6-1 16SリボソームRNA遺伝子、部分配列-HM626177）

```

1  tgcaagtcga gcgaagcgct tacgacagaa ccttcggggg aagatgtaag ggactgagcg
61  gcggacgggt gagtaacgag tgggtaacct gcctcataca gggggataac agttggaaac
121 ggctgctaata accgcataag cgcacgggtat cgcattgatac agtgtgaaaa actccggtgg
181 tatgagatgg acccgctctt gattagctag ttggaggggt aacggccac caaggcgacg
241 atcagtagcc ggctgagag ggtgaacggc cacattggga ctgagacacg gccagactc
301 ctacgggagg cagcagtggg gaatatgtca caatggggga aacctgatg cagcgacgcc
361 gcgtgaagga agaagtatct cggtatgtaa acttctatca gcagggaaga aaatgacggt
421 acctgactaa gaagccccgg ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatat gtagggggca
481 agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg gagcgtagac ggaagagcaa gtctgatgtg
541 aaaggctggg gcttaacccc aggactgcat tggaaactgt ttttcttgag tgccggagag
601 gtaagcggaa ttcttagtgt agcgggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc
661 gaaggcggct tactggacgg taactgacgt tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg
721 attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa cgatgaatac taggtgttgg ggagcaaagc
781 tcttcggtgc cgcagcaaac gcaataagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg
841 aaactcaaag gaattgacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag

```

901	caacgcgaag	aaccttacca	agtcttgaca	tcatcttgac	cggttcgtaa	tggaaccttt
961	ccttcgggac	agagaagaca	ggtggtgcat	ggttgtcgtc	agctcgtgtc	gtgagatgtt
1021	gggttaagtc	ccgcaacgag	cgaacccct	atcctcagta	gccagcaggt	gaagctgggc
1081	actctgtgga	gactgccagg	gataacctgg	aggaaggcgg	ggacgacgtc	aaatcatcat
1141	gccccttatg	atttgggcta	cacacgtgct	acaatggcgt	aaacaaaggg	aagcgagccc
1201	gcgaggggga	gcaaatccca	aaaataacgt	cccagttcgg	actgcagttc	gcaactcgac
1261	tgcacgaagc	tggaatcgct	agtaatcgcg	aatcagaatg	tgcgggtgaa	tacgttcccc
1321	ggtcttgtac	acaccgcccc	tcacaccatg	ggagtacgta	acgcccgaag	tc

**【 0 1 4 0 】**

配列番号2 ( *Blautia wexlerae* 株WAL14507 16SリボソームRNA遺伝子、部分配列 - EF036467 )

1	caagtcgaac	gggaattant	ttattgaaac	ttcggtcgat	ttaatttfaat	tctagtggcg
61	gacgggtgag	taacgcgtgg	gtaacctgcc	ttatacaggg	ggataacagt	cagaaatggc
121	tgctaatacc	gcataagcgc	acagagctgc	atggctcagt	gtgaaaaact	ccggtggtat
181	aagatggacc	cgcggttggat	tagcttgttg	gtggggtaac	ggcccaccaa	ggcgacgatc
241	catagccggc	ctgagaggggt	gaacggccac	attgggactg	agacacggcc	cagactccta
301	cgggaggcag	cagtggggaa	tattgcacaa	tgggggaaac	cctgatgcag	cgacgccgcg
361	tgaaggaaga	agtatctcgg	tatgtaaact	tctatcagca	gggaagatag	tgacggtacc
421	tgactaagaa	gccccggcta	actacgtgcc	agcagcccg	gtaatacgtat	ggggggcaagc
481	gttatccgga	tttactgggt	gtaaaggagg	cgtagacgggt	gtggcaagtc	tgatgtgaaa
541	ggcatgggct	caacctgtgg	actgcattgg	aaactgtcat	acttgagtgc	cggaggggta
601	agcgaattc	ctagtgtagc	ggtgaaatgc	gtagatatta	ggaggaacac	cagtggcgaa
661	ggcggcttac	tggacggtaa	ctgacgttga	ggctcgaaag	cgtggggagc	aaacaggatt
721	agataccctg	gtagtccacg	ccgtaaacga	tgaataacta	ggtgtcgggt	ggcaaagcca
781	ttcgggtccg	tcgcaaacgc	agtaagtatt	ccacctgggg	agtacgttcg	caagaatgaa
841	actcaaagga	attgacgggg	acccgcacaa	gcggtggagc	atgtggttta	attcgaagca
901	acgcgaagaa	ccttaccaag	tcttgacatc	cgcttgaccg	atccttaacc	ggatctttcc
961	ttcgggacag	gcgagacagg	tggtgcatgg	ttgtcgtcag	ctcgtgtcgt	gagatgttgg
1021	gttaagtccc	gcaacgagcg	caacccttat	cctcagtagc	cagcatttaa	ggtgggcact
1081	ctggggagac	tgccagggat	aacctggagg	aaggcgggga	tgacgtcaaa	tcatcatgcc
1141	ccttatgatt	tgggctacac	acgtgctaca	atggcgtaaa	caaagggaag	cgagattgtg
1201	agatggagca	aatcccaaaa	ataacgtccc	agttcggact	gtagtctgca	acccgactac
1261	acgaagctgg	aatcgctagt	aatcgcggat	cagaatgccg	cgggtgaatac	gttcccgggt
1321	cttgtacaca	ccgcccgtca	caccatggga	gtcagtaacg	cccgaagtca	gtgacctaac
1381	tgcaaagaag	gagctgccga	aggcggggacc	gatgactggg	gtgaagtcgt	aacaaggt

【 0 1 4 1 】

配列番号3 ( *Blautia stercoris* 株830に関するコンセンサス16S rRNA配列)

TTTGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTTACGACAGAACCTTCGG  
GGGAAGATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACTGCCTCATACAGGGGGATAACAGTTGGA  
AACGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTATCGCATGATACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCG  
TCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAACGGCCCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTG  
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGAC  
GCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCC  
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTA  
GACGGAAGAGCAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCAGGACTGCATTGGAACTGTTTTTCTTGAGTGCCCGGA  
GAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGA  
CGGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAA



TACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGCAGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGA  
 ATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCCTTAC  
 CAAGTCTTGACATCGATCTGACCGGTTTCGTAATGGAACCTTTCTTCGGGACAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG  
 TCAGCTCGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTCAGTAGCCAGCAGGTAAGCTGG  
 GCACTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGC  
 TACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGCCCGCAGGGGGAGCAAATCCCAAAAATAACGTCCCAAGTTC  
 GGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTGCGGGTGAATACGTTCC  
 CGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCCAACTTAGGGAGGGAGCT  
 GCCGAAGCGGGATTGATAACTGGGGTGAAGTCTAGGGGT

10

## 【 0 1 4 2 】

配列番号 4 ( *Blautia wexlerae* 株 M R X 0 0 8 に関するコンセンサス  
 1 6 S r R N A 配列 )

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTTAGATTCTATTTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTATACA  
 GGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGAGCTGCATGGCTCAGTGTGAAAACTCCGGTGG  
 TATAAGATGGACCCGCGTTGGATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCCATAGCCGGCCTGAGAG  
 GGTGAACGCGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGGGA  
 AACCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGATAGTGACGGT  
 ACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTG  
 GGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGTCTGATGTGAAAGGCATGGGCTCAACCTGTGGACTGCATTGGAACTGT  
 CATACTTGAGTGCCCGGAGGGGTAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGC  
 GAAGCGCGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCC  
 ACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCNNGGGAGCATGGCTCTTCGGTGCCGTCGAAACGCAGTAAGTATTCCACCTG  
 GGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAA  
 GCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCGCCTGACCGATCCTTAACCGGATCTTTCCTTCGGGACAGGCGAGAC  
 AGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTCAGT  
 AGCCAGCATTTAAGGTGGGCACTCTGGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGCGGGGATGACGTCAAATCATCAT  
 GCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCCA  
 AAAATAACGTCCCAAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATG  
 CCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCT  
 AACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

20

30

## 【 0 1 4 3 】

配列番号 5 ( *Blautia hydrogenotrophica* 株 S 5 a 3 6 1  
 6 S リボソーム R N A 遺伝子、部分配列 - X 9 5 6 2 4 . 1 )

1 gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtccaac gaagcgatag agaacggaga  
 61 ttctcggttga agttttctat tgactgagt gcgagcgggt gaggtaacg tgggtaacct  
 121 gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag cgcacagctt  
 181 cgcatagaagc ggtgtgaaaa actgaggttg tataggatgg acccgcttg gattagctag  
 241 ttggtgaggt aacggccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag ggtgaacggc  
 301 cacattggga ctgagacacg gcccacactc ctacgggagg cagcagtgga gaataattgca  
 361 caatggggga aacctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct cggtagttaa  
 421 acttctatca gcagggaaga aagtacgggt acctgactaa gaagccccg ctaattacgt  
 481 gccagcagcc gcggtataac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg ggtgtaaagg  
 541 gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg tggactgcat  
 601 tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcgga ttcctagtgt agcggtgaaa  
 661 tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggacgg taactgacgt  
 721 tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgctgtaaa  
 781 cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaacg catcgggtgc cgcagcaaac gcaataagta  
 841 ttccacactg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg gggacccgca

40

50

901 caagcgggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aaatcttgac  
 961 atccctctga ccggaagta atgttccctt ttcttcgga cagaggagac aggtggtgca  
 1021 tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct  
 1081 tattcttagt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgccag ggataacctg  
 1141 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgcccttat gatttgggct acacacgtgc  
 1201 tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc aaaaataacg  
 1261 tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc  
 1321 gaatcagaat gtcgcggiga atacgttccc gggctcttga cacaccgccc gtcacaccat  
 1381 gggagtcagt aacgcccga gtcagtgacc caaccnaaag gagggagctg ccgaagggtg  
 1441 gactgataac tggggtga

10

## 【 0 1 4 4 】

## 参照文献

- [ 1 ] Spor et al . ( 2 0 1 1 ) Nat Rev Microbiol . 9  
 ( 4 ) : 2 7 9 - 9 0 .  
 [ 2 ] Eckburg et al . ( 2 0 0 5 ) Science . 1 0 ; 3 0 8 ( 5  
 7 2 8 ) : 1 6 3 5 - 8 .  
 [ 3 ] Tap et al . ( 2 0 0 9 ) , Environ Microbiol , 1 1  
 ( 1 0 ) : 2 5 7 4 - 8 4 .  
 [ 4 ] Macpherson et al . ( 2 0 0 1 ) Microbes Infect 20  
 ct . 3 ( 1 2 ) : 1 0 2 1 - 3 5  
 [ 5 ] Macpherson et al . ( 2 0 0 2 ) Cell Mol Life  
 Sci . 5 9 ( 1 2 ) : 2 0 8 8 - 9 6 .  
 [ 6 ] Mazmanian et al . ( 2 0 0 5 ) Cell 1 5 ; 1 2 2 ( 1 )  
 : 1 0 7 - 1 8 .  
 [ 7 ] Frank et al . ( 2 0 0 7 ) PNAS 1 0 4 ( 3 4 ) : 1 3 7 8 0  
 - 5 .  
 [ 8 ] Scanlan et al . ( 2 0 0 6 ) J Clin Microbiol  
 . 4 4 ( 1 1 ) : 3 9 8 0 - 8 .  
 [ 9 ] Kang et al . ( 2 0 1 0 ) Inflamm Bowel Dis . 1 30  
 6 ( 1 2 ) : 2 0 3 4 - 4 2 .  
 [ 1 0 ] Machiels et al . ( 2 0 1 3 ) Gut . 6 3 ( 8 ) : 1 2 7 5  
 - 8 3 .  
 [ 1 1 ] Lopetuso et al . ( 2 0 1 3 ) , Gut Pathogens ,  
 5 : 2 3  
 [ 1 2 ] WO 2 0 1 3 / 0 5 0 7 9 2  
 [ 1 3 ] WO 0 3 / 0 4 6 5 8 0  
 [ 1 4 ] WO 2 0 1 3 / 0 0 8 0 3 9  
 [ 1 5 ] WO 2 0 1 4 / 1 6 7 3 3 8  
 [ 1 6 ] Lee and Lee ( 2 0 1 4 ) World J Gastroente 40  
 rol . 2 0 ( 2 7 ) : 8 8 8 6 - 8 8 9 7 .  
 [ 1 7 ] Liu et al . ( 2 0 0 8 ) Int J Syst Evol Mic  
 robiol 5 8 , 1 8 9 6 - 1 9 0 2 .  
 [ 1 8 ] Bernalier et al . ( 1 9 9 6 ) Arch . Microbio  
 l . 1 6 6 ( 3 ) , 1 7 6 - 1 8 3 .  
 [ 1 9 ] Park et al . ( 2 0 1 2 ) Int J Syst Evol Mi  
 crobiol . 6 2 ( Pt 4 ) : 7 7 6 - 9 .  
 [ 2 0 ] Masco et al . ( 2 0 0 3 ) Systematic and Ap  
 plied Microbiology , 2 6 : 5 5 7 - 5 6 3 .  
 [ 2 1 ] Srutkova et al . ( 2 0 1 1 ) J . Microbiol . Me 50

- thods, 87(1):10-6.
- [22] Darfeuille-Michaud et al. (2004) Gastroenterology 127(2):412-21.
- [23] Strus et al. (2015) Cent Eur J Immunol. 40(4):420-30.
- [24] Petersen et al. (2015) Scand J Gastroenterol.; 50(10):1199-207.
- [25] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9-24.
- [26] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day and McLellan, Humana Press. 10
- [27] Leslie et al. (1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3592-3597.
- [28] Mitropoulou et al. (2013) J Nutr Metab. (2013) 716861.
- [29] Kailasapathy et al. (2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48.
- [30] Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Weller 20
- [31] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro edit. 1985)
- [32] US 2016/0067188
- [33] Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
- [34] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C. Hunter-Cervera, Academic Press 30
- [35] Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61.
- [36] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [37] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press).
- [38] Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.) 40
- [39] Handbook of Experimental Immunology, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds., 1986, Blackwell Scientific Publications)
- [40] Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [41] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- [42] Ausubel et al. (eds) (2002) Short prot 50

ocols in molecular biology, 5th edition (Current Protocols).

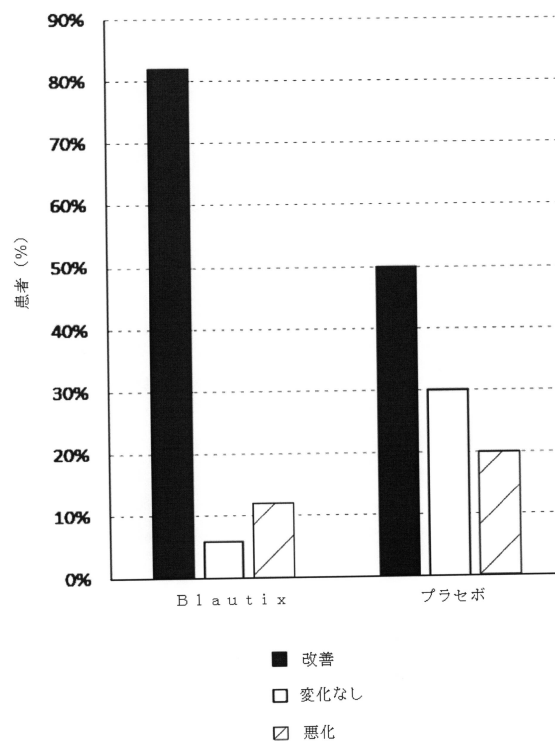
[43] PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)

[44] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30

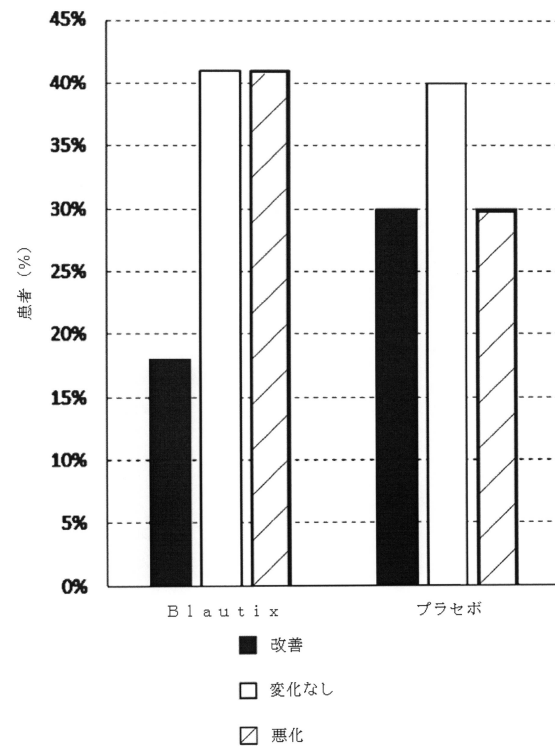
[45] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482 - 489.

10

【図 1】



【図 2】

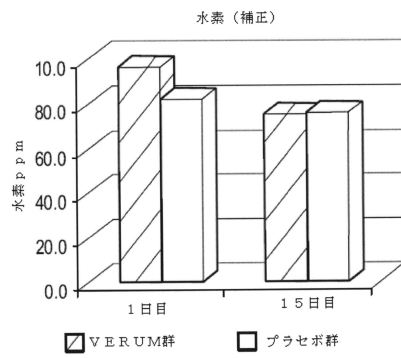






【図 6 b】

	1 日 目	1 5 日 目	N
VERUM群	96.4	75	14
プラセボ群	82	75.9	7



【配列表】

0006517429000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P 1/14
A 2 3 L	33/135	(2016.01)	A 2 3 L 33/135
C 1 2 N	1/20	(2006.01)	C 1 2 N 1/20 E

(31)優先権主張番号 1616018.6  
 (32)優先日 平成28年9月20日(2016.9.20)  
 (33)優先権主張国 英国(GB)  
 (31)優先権主張番号 1703552.8  
 (32)優先日 平成29年3月6日(2017.3.6)  
 (33)優先権主張国 英国(GB)  
 (31)優先権主張番号 1703548.6  
 (32)優先日 平成29年3月6日(2017.3.6)  
 (33)優先権主張国 英国(GB)

## 早期審査対象出願

(74)代理人 100150902  
 弁理士 山内 正子  
 (74)代理人 100141391  
 弁理士 園元 修一  
 (74)代理人 100198074  
 弁理士 山村 昭裕  
 (74)代理人 100145920  
 弁理士 森川 聡  
 (74)代理人 100096013  
 弁理士 富田 博行  
 (72)発明者 ベルナリエ・ドナディレ アニク  
 フランス国 6 3 6 7 0 ラ・ロシュ・ブラン インパッセ・レ・ゾルム 1 6  
 (72)発明者 クロウゼット ロウリーン  
 フランス国 6 3 1 1 0 ボーモン レジデンス “レ・パノラミック” ルー・アルバートノ  
 エル 8  
 (72)発明者 ハボウジット クロエ  
 フランス国 6 3 4 0 0 シャマリエール ルー・ベルトレ 3

審査官 馬場 亮人

(56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 1 8 4 3 7 0 ( U S , A 1 )  
 国際公開第 0 2 / 0 0 7 7 4 1 ( W O , A 1 )  
 国際公開第 2 0 1 6 / 0 5 7 6 7 1 ( W O , A 1 )

## (58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 5 / 7 4 1  
 A 2 3 L 3 3 / 1 3 5  
 A 6 1 P 1 / 0 4  
 A 6 1 P 1 / 0 6  
 A 6 1 P 1 / 1 0  
 A 6 1 P 1 / 1 2



A 6 1 P      1 / 1 4

C 1 2 N      1 / 2 0

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )