(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7368433号
(P7368433)

(45)発行日　令和5年10月24日(2023.10.24)

(24)登録日　令和5年10月16日(2023.10.16)

(51)国際特許分類		FI		
A61K 35/741 (2015.01)		A61K	35/741	ZNA
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	43/00	111
A61P 11/06 (2006.01)		A61P	11/06	
A61P 37/08 (2006.01)		A61P	37/08	
A61K 9/19 (2006.01)		A61K	9/19	

請求項の数　15　（全100頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-164803(P2021-164803)
(22)出願日　令和3年10月6日(2021.10.6)
(62)分割の表示　特願2019-89328(P2019-89328)の分割
原出願日　平成28年6月15日(2016.6.15)
(65)公開番号　特開2022-3086(P2022-3086A)
(43)公開日　令和4年1月11日(2022.1.11)
審査請求日　令和3年11月4日(2021.11.4)
(31)優先権主張番号　1510467.2
(32)優先日　平成27年6月15日(2015.6.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)
(31)優先権主張番号　1520501.6
(32)優先日　平成27年11月20日(2015.11.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
最終頁に続く

(73)特許権者　521440334
シージェイ バイオサイエンス，インク．
大韓民国 ０４５２７ ソウル，チュンーク，セジョン−デロ １４，ビー，７階
(74)代理人　100112874
弁理士　渡邊 薫
(72)発明者　グラント ジョージ
イギリス国 エイビー２５ ２ゼットエス アバディーンシャー アバディーン コーンヒルロード ライフサイエンシーズイノベーションビルディング
(72)発明者　パターソン アンジェラ マーガレット
イギリス国 エヌアール４ ７ジェイティー ノーフォーク ノリッチ ユニバーシ
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】

アレルギー性喘息、好酸球性喘息若しくは気道過敏を治療又は予防する方法における使用のための、配列番号２と配列同一性を有するゲノムを有し、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託されている細菌株を含む、組成物。

【請求項２】

細菌株が、以下の炭水化物源：アミドン、アミグダリン、アルブチン、セロビオース、エスクリン、ガラクトース、ゲンチオビオース、グルコース、グリコーゲン、フルクトース、フコース、ラクトース、マルトース、マンノース、マンニトール、メリビオース、メレジトース、メチルα－Ｄ－グルコピラノシド、Ｎ－アセチルグルコサミン、リボース、サッカロース、サリシン、ソルビトール、トレハロース、ツラノース、及びキシリトールを利用する、請求項１に記載の使用のための組成物。

【請求項３】

細菌株が、Ｓａｕ３ＡＩ制限酵素を使用した場合、増幅リボソームＤＮＡ制限分析によって分析した場合に、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌と同じパターンを提供する、請求項１又は２に記載の使用のための組成物。

【請求項４】

細菌株が、ビフィドバクテリウム　ブレーベ（Bifidobacterium breve）と比較してＹＣＦＡ中でＣａｃｏ－２細胞に対して低い接着性を有する、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】
細菌株が、ビフィドバクテリウム　ブレーベと比較してより多くの結合した表面菌体外多糖を産生する、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】
細菌株が、配列番号１と少なくとも９９％、９９．５％若しくは９９．９％同一である１６ｓ　ｒＮＡ配列を有する、又は細菌株が、配列番号１によって表される１６ｓ　ｒＮＡ配列を有する、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】
細菌株が、表１に記載の遺伝子の少なくとも５、１０、２０、５０個、又は全てを含む、請求項１～６のいずれかに記載の使用のための組成物。

【表１】

【表１】

表1

4DBb_0021c	多重糖ABCトランスポーター、基質結合タンパク質
4DBb_0023	蓋然的LacI型転写調節因子
4DBb_0024	スクロース-6-リン酸ヒドロラーゼ(EC 3.2.1.B3)
4DBb_0026c	マルトデキストリングルコシダーゼ(EC 3.2.1.20)
4DBb_0036c	仮想タンパク質
4DBb_0038c	MSM(多重糖代謝)オペロン調節タンパク質
4DBb_0119c	仮想タンパク質
4DBb_0120c	仮想タンパク質
4DBb_0187	*仮想タンパク質*
4DBb_0188	*仮想タンパク質*
4DBb_0203c	細胞分裂タンパク質FtsL
4DBb_0204c	仮想タンパク質
4DBb_0205c	仮想タンパク質
4DBb_0206c	転写調節因子、HxlRファミリー
4DBb_0207	Rnf2-連結NADH-フラビンレダクターゼ
4DBb_0208	ATP依存性DNAヘリカーゼRecG関連タンパク質
4DBb_0209c	仮想タンパク質
4DBb_0210	*推定トランスポーター*
4DBb_0211	*オメガ-3多価不飽和脂肪酸シンターゼサブユニット、PfaA*
4DBb_0212	*I型ポリケチドシンターゼ*
4DBb_0213c	*仮想タンパク質*
4DBb_0214c	仮想タンパク質
4DBb_0215	仮想タンパク質
4DBb_0216c	保存された仮想タンパク質
4DBb_0218c	仮想タンパク質
4DBb_0219c	DNA-シトシンメチルトランスフェラーゼ
4DBb_0220c	仮想タンパク質
4DBb_0221c	仮想タンパク質
4DBb_0222c	仮想タンパク質
4DBb_0223c	*インテグラーゼ*
4DBb_0256	*仮想タンパク質*
4DBb_0257c	LacI型転写調節因子
4DBb_0258	*機能不明の推定グリコシルヒドロラーゼ(DUF1680)*
4DBb_0284	転写調節因子、AraCファミリー
4DBb_0285	N-アセチル-D-グルコサミンABC輸送系、糖結合タンパク質
4DBb_0286	糖ABCトランスポーターパーミアーゼ
4DBb_0287	N-アセチル-D-グルコサミンABC輸送系、パーミアーゼタンパク質2
4DBb_0288	アルファ-ガラクトシダーゼ(EC 3.2.1.22)

4DBb_0329c	*ビオチンECFトランスポーターの賦活モジュールのATPase成分BioM*
4DBb_0330	メジャーファシリテータースーパーファミリーMFS_1
4DBb_0368	GMPシンターゼ[グルタミン加水分解](EC 6.3.5.2)
4DBb_0369c	Mu様プロファージタンパク質gp29
4DBb_0410	推定ガラクトシダーゼ
4DBb_0419	仮想タンパク質
4DBb_0421	グリコシルトランスフェラーゼSypP
4DBb_0422	莢膜多糖生合成タンパク質
4DBb_0423	仮想タンパク質
4DBb_0424	グリコシルトランスフェラーゼ
4DBb_0425	O-抗原、タイコ酸、リポタイコ酸の輸送に関係する膜タンパク質
4DBb_0426	グリコシルトランスフェラーゼ(EC 2.4.1.-)
4DBb_0427	2-リクシニル-5-エノールピルビル-6-ヒドロキシ-3-シクロヘキセン-1-カルボン酸シンターゼ(EC 2.2.1.9)
4DBb_0428	仮想タンパク質
4DBb_0429	可動性因子タンパク質
4DBb_0430	仮想タンパク質
4DBb_0431c	仮想タンパク質
4DBb_0432c	可動性因子タンパク質
4DBb_0433c	仮想タンパク質
4DBb_0434c	仮想タンパク質
4DBb_0435	仮想タンパク質
4DBb_0436	仮想タンパク質
4DBb_0437c	仮想タンパク質
4DBb_0438c	可動性因子タンパク質
4DBb_0439c	仮想タンパク質
4DBb_0440c	*可動性因子タンパク質*
4DBb_0518c	*PINドメインタンパク質*
4DBb_0519c	*仮想タンパク質*
4DBb_0555c	仮想タンパク質
4DBb_0556c	仮想タンパク質
4DBb_0557c	LSUリボソームタンパク質L31p@LSUリボソームタンパク質L31p、亜鉛非依存性
4DBb_0558c	SSUリボソームタンパク質S14p(S29e)@SSUリボソームタンパク質S14p(S29e)、亜鉛非依存性
4DBb_0559c	LSUリボソームタンパク質L33p@LSUリボソームタンパク質L33p、亜鉛非依存性
4DBb_0560c	仮想タンパク質
4DBb_0561	仮想タンパク質
4DBb_0613c	セルロースシンターゼ(UDP形成)(EC 2.4.1.12)
4DBb_0614	キチナーゼ(EC 3.2.1.14)
4DBb_0615	感覚ボックス/GGDEFファミリータンパク質

4DBb_0660	可動性因子タンパク質
4DBb_0662	可動性因子タンパク質
4DBb_0663c	ノイラミニダーゼNanP
4DBb_0664	仮想タンパク質
4DBb_0665	仮想タンパク質
4DBb_0666	可動性因子タンパク質
4DBb_0667	可動性因子タンパク質
4DBb_0668	可動性因子タンパク質
4DBb_0718	予測ビオチン調節タンパク質BioR(GntRファミリー)
4DBb_0719	仮想タンパク質
4DBb_0720	仮想タンパク質
4DBb_0778	仮想タンパク質
4DBb_0789c	可動性因子タンパク質
4DBb_0790c	可動性因子タンパク質
4DBb_0837c	可能な保存された内在性膜タンパク質
4DBb_0840	マクロライド流出タンパク質
4DBb_0866	カチオン輸送ATPase、E1-E2ファミリー
4DBb_0867	仮想タンパク質
4DBb_0872	仮想タンパク質
4DBb_0879c	転写調節因子、Cro/CIファミリー
4DBb_0880c	内在性膜タンパク質
4DBb_0946	MFS一般的基質トランスポーター
4DBb_0947c	推定膜タンパク質
4DBb_0948c	可動性因子タンパク質
4DBb_0952c	仮想タンパク質
4DBb_0953	仮想タンパク質
4DBb_0954c	仮想タンパク質
4DBb_0955c	仮想タンパク質
4DBb_0956c	予測パーミアーゼ
4DBb_0957	狭義の保存された仮想タンパク質
4DBb_0958c	保存された仮想タンパク質
4DBb_0986c	仮想タンパク質
4DBb_0987c	予測ECFトランスポーターの賦活モジュールの重複ATPase成分BL0693
4DBb_0988c	予測ECFトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分BL0694
4DBb_1009c	ファージホリン
4DBb_1010c	膜結合溶解ムレイントランスグリコシラーゼD前駆体(EC 3.2.1.-)
4DBb_1011c	仮想タンパク質
4DBb_1012	仮想タンパク質
4DBb_1013c	仮想タンパク質
4DBb_1014c	仮想タンパク質
4DBb_1015c	仮想タンパク質

4DBb_1016c	仮想タンパク質
4DBb_1017c	ファージテールタンパク質
4DBb_1018c	ファージテール長尾尺タンパク質
4DBb_1019c	仮想タンパク質
4DBb_1020c	仮想タンパク質
4DBb_1021c	仮想タンパク質
4DBb_1022c	仮想タンパク質
4DBb_1023c	仮想タンパク質
4DBb_1024c	仮想タンパク質
4DBb_1025c	仮想タンパク質
4DBb_1026c	仮想タンパク質
4DBb_1027c	仮想タンパク質
4DBb_1028c	仮想タンパク質
4DBb_1029c	仮想タンパク質
4DBb_1030c	ファージタンパク質
4DBb_1031c	ファージターミナーゼ、大サブユニット# Pham2
4DBb_1032c	ファージターミナーゼ、大サブユニット
4DBb_1033c	仮想タンパク質
4DBb_1034	仮想タンパク質
4DBb_1035	仮想タンパク質
4DBb_1036c	FIG00424913:仮想タンパク質
4DBb_1037c	仮想タンパク質
4DBb_1038c	仮想タンパク質
4DBb_1039c	仮想タンパク質
4DBb_1040c	仮想タンパク質
4DBb_1041c	仮想タンパク質
4DBb_1042c	仮想タンパク質
4DBb_1043c	仮想タンパク質
4DBb_1044c	仮想タンパク質
4DBb_1045c	仮想タンパク質
4DBb_1046c	仮想タンパク質
4DBb_1047c	染色体(プラスミド)分配タンパク質ParB
4DBb_1048c	仮想タンパク質
4DBb_1049c	仮想タンパク質
4DBb_1050c	一本鎖DNA結合タンパク質
4DBb_1051c	仮想タンパク質
4DBb_1052c	仮想タンパク質
4DBb_1053c	仮想タンパク質
4DBb_1054c	仮想タンパク質
4DBb_1055c	仮想タンパク質
4DBb_1056	仮想タンパク質
4DBb_1057c	仮想タンパク質
4DBb_1058c	仮想タンパク質
4DBb_1059	仮想タンパク質

4DBb_1060	仮想タンパク質
4DBb_1061	仮想タンパク質
4DBb_1062c	仮想タンパク質
4DBb_1063c	仮想タンパク質
4DBb_1064	推定ファージインテグラーゼ
4DBb_1113	メジャーファシリテータースーパーファミリーのパーミアーゼ
4DBb_1142	仮想タンパク質
4DBb_1143c	仮想タンパク質
4DBb_1172	インテグラーゼ
4DBb_1173c	仮想タンパク質
4DBb_1174c	狭義の保存された仮想タンパク質
4DBb_1175	仮想タンパク質
4DBb_1176c	仮想タンパク質
4DBb_1177	ABCトランスポーター、ATP結合タンパク質
4DBb_1178	仮想タンパク質
4DBb_1179	仮想タンパク質
4DBb_1180	仮想タンパク質
4DBb_1181	仮想タンパク質
4DBb_1182	2成分系センサーキナーゼ
4DBb_1183	仮想タンパク質
4DBb_1203c	調節タンパク質、LacI
4DBb_1204c	FIG01131316:仮想タンパク質
4DBb_1205c	輸送系パーミアーゼ
4DBb_1206c	予測ラムノース含有糖ABC輸送系、パーミアーゼ成分2
4DBb_1207c	細胞外溶質結合タンパク質、ファミリー1
4DBb_1212c	仮想タンパク質
4DBb_1213c	*仮想タンパク質*
4DBb_1214	*可動性因子タンパク質*
4DBb_1215	*可動性因子タンパク質*
4DBb_1219	仮想タンパク質
4DBb_1220c	仮想タンパク質
4DBb_1221c	機能不明のタンパク質DUF262ファミリー
4DBb_1222c	仮想タンパク質
4DBb_1223	仮想タンパク質
4DBb_1224	可動性因子タンパク質
4DBb_1234c	ABC型糖輸送系、周辺質成分
4DBb_1235	仮想タンパク質
4DBb_1328c	推定ファージインテグラーゼ
4DBb_1329	仮想タンパク質
4DBb_1330	仮想タンパク質
4DBb_1331c	仮想タンパク質
4DBb_1332	仮想タンパク質
4DBb_1333	仮想タンパク質

4DBb_1334	仮想タンパク質
4DBb_1335c	仮想タンパク質
4DBb_1336c	ベータ-ラクタマーゼ発現の負の調節因子
4DBb_1337c	仮想タンパク質
4DBb_1338c	仮想タンパク質
4DBb_1339c	仮想タンパク質
4DBb_1340c	仮想タンパク質
4DBb_1341c	仮想タンパク質
4DBb_1342c	仮想タンパク質
4DBb_1343c	仮想タンパク質
4DBb_1344	仮想タンパク質
4DBb_1345c	ファージテール繊維タンパク質
4DBb_1346c	仮想タンパク質
4DBb_1347c	ファージマイナーテールタンパク質
4DBb_1348c	仮想タンパク質
4DBb_1349c	仮想タンパク質
4DBb_1350c	ファージタンパク質
4DBb_1351c	ファージタンパク質
4DBb_1352c	ファージタンパク質
4DBb_1353c	ファージタンパク質
4DBb_1354c	仮想タンパク質
4DBb_1355c	仮想タンパク質
4DBb_1356c	ファージメジャーカプシドタンパク質#Fam0025#Pham164
4DBb_1357c	推定ファージプロヘッドプロテアーゼ
4DBb_1358c	ファージポータルタンパク質
4DBb_1359c	gp2、ターミナーゼ
4DBb_1360c	仮想タンパク質
4DBb_1361c	仮想タンパク質
4DBb_1362c	仮想タンパク質
4DBb_1363c	仮想タンパク質
4DBb_1364c	仮想タンパク質
4DBb_1365c	仮想タンパク質
4DBb_1366c	仮想タンパク質
4DBb_1367c	仮想タンパク質
4DBb_1368c	仮想タンパク質
4DBb_1369c	仮想タンパク質
4DBb_1370c	仮想タンパク質
4DBb_1371c	仮想タンパク質
4DBb_1372c	一本鎖DNA結合タンパク質
4DBb_1373c	仮想タンパク質
4DBb_1374c	組換え型DNA修復タンパク質RecT(プロファージ関連)
4DBb_1375c	ファージ関連タンパク質
4DBb_1376c	仮想タンパク質
4DBb_1377c	仮想タンパク質

4DBb_1378c	仮想タンパク質
4DBb_1379c	仮想タンパク質
4DBb_1380c	メチルトランスフェラーゼ(EC 2.1.1.-)
4DBb_1381c	仮想タンパク質
4DBb_1382c	仮想タンパク質
4DBb_1383c	仮想タンパク質
4DBb_1384	仮想タンパク質
4DBb_1385	仮想タンパク質
4DBb_1386	仮想タンパク質
4DBb_1387	仮想タンパク質
4DBb_1388	仮想タンパク質
4DBb_1456	スクロースパーミアーゼ、メジャーファシリテ・タースーパーファミリー
4DBb_1486c	エステラーゼ/リパーゼ
4DBb_1487c	グルコース/マンノースH+シンポーターGlcP
4DBb_1488c	二成分応答調節因子yesN
4DBb_1533c	仮想タンパク質
4DBb_1534c	仮想タンパク質
4DBb_1535c	I型制限修飾系、制限サブユニットR(EC 3.1.21.3)
4DBb_1536c	ATP依存性DNAヘリカーゼrecG(EC 3.6.1.-)
4DBb_1537c	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1538c	I型制限修飾系、DNAメチルトランスフェラーゼサブユニットM(EC 2.1.1.72)
4DBb_1539c	仮想タンパク質
4DBb_1540	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1541	インテグラーゼ
4DBb_1542c	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1545c	リボースABC輸送系、高親和性パーミアーゼRbsD (TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1546c	リボースABC輸送系、周辺質リボース結合タンパク質RbsB (TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1547c	リボースABC輸送系、パーミアーゼタンパク質RbsC(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1548c	リボースABC輸送系、ATP結合タンパク質RbsA(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1550c	仮想タンパク質
4DBb_1551	仮想タンパク質
4DBb_1552c	LacI型転写調節因子
4DBb_1553c	テトラサイクリン耐性遺伝子と類似
4DBb_1554c	リボキナーゼ(EC 2.7.1.15)
4DBb_1555c	NADH依存性フタノールデヒドロゲナーゼA(EC 1.1.1.-)
4DBb_1556c	ホスホグリコール酸ホスファターゼ(EC 3.1.3.18)
4DBb_1557c	イノシン-クリジン選好スクレオシドヒドロラーゼ(EC 3.2.2.1)
4DBb_1558c	フルクトキナーゼ(EC 2.7.1.4)
4DBb_1559c	ホスホリボシルアントラニル酸イソメラーゼ(EC 5.3.1.24)
4DBb_1560c	キューオシン調節ECFトランスポーターの膜活モジュールの

	ATPase成分STY3233
4DBb_1561c	ECFトランスポーターの一般的賦活モジュールのATPase成分
4DBb_1562c	キューオシン調節ECFトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分STY3231
4DBb_1563c	キューオシン調節ECFトランスポーターの賦活モジュールの基質特異的成分STY3230
4DBb_1564	インジゴイジンシンターゼindAを有するクラスター中の仮想糖キナーゼ、PfkBファミリーキナーゼ
4DBb_1569	転写調節因子、TetRファミリー
4DBb_1570c	エステラーゼ/リパーゼ
4DBb_1571c	仮想タンパク質
4DBb_1572c	仮想タンパク質
4DBb_1573	COG1309:転写調節因子
4DBb_1574c	仮想タンパク質
4DBb_1578c	メリビオース担体タンパク質
4DBb_1579c	仮想タンパク質
4DBb_1580c	転写調節因子、TetRファミリー
4DBb_1581	仮想タンパク質
4DBb_1582	HrtABトランスポーターと共局在する2成分応答調節因子
4DBb_1583	仮想タンパク質
4DBb_1584c	仮想タンパク質
4DBb_1585	センサーヒスチジンキナーゼ
4DBb_1586	Mg(2+)輸送ATPaseプロテインC
4DBb_1587	転写調節因子、AbrBファミリー
4DBb_1588	仮想タンパク質
4DBb_1620c	*3'→5'オリゴリボヌクレアーゼ(orn)*
4DBb_1769c	転写活性化因子MltR
4DBb_1770c	キシリトールデヒドロゲナーゼ(EC 1.1.1.9)
4DBb_1771c	リビトール/キシリトール/アラビトールトランスポーター、MFSスーパーファミリー
4DBb_1773c	グリオキサラーゼファミリータンパク質
4DBb_1774c	リビトール/キシリトール/アラビトールトランスポーター、MFSスーパーファミリー
4DBb_1775c	ソルビトールデヒドロゲナーゼ(EC 1.1.1.14)
4DBb_1926c	*アクチノバクテリアタンパク質に関連する膜タンパク質(1944168)*
4DBb_1928c	グリコシルトランスフェラーゼ、群2ファミリータンパク質
4DBb_1929c	タイコ酸輸送ATP結合タンパク質TagH(EC 3.6.3.40)
4DBb_1930c	ラムノース含有多糖転位パーミアーゼ
4DBb_1934c	*仮想タンパク質*
4DBb_1935	*可能性があるグリコシルトランスフェラーゼ*
4DBb_1936c	細胞壁表面アンカーファミリータンパク質
4DBb_1937c	D-アラニル-D-アラニンカルボキシペプチダーゼ(EC 3.4.16.4)
4DBb_1965	仮想タンパク質
4DBb_2010c	可動性因子タンパク質

4DBb_2011	転写調節因子、LacIファミリー
4DBb_2012	キシロースABCトランスポーター、周辺質キシロース結合タンパク質XylF
4DBb_2013	リボースABC輸送系、ATP結合タンパク質RbsA(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_2014	リボースABC輸送系、パーミアーゼタンパク質RbsC(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_2015	仮想タンパク質
4DBb_2016	可動性因子タンパク質
4DBb_2028c	ベータ-グルコシダーゼ(EC 3.2.1.21)

【請求項８】
喘息の治療又は予防における好酸球性炎症応答を低減する方法における使用のための、請求項１～７のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項９】
アレルギー性喘息の治療における気管支周囲浸潤の低減における使用のための、請求項１～８のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１０】
採血又は喀痰分析を通して、好酸球のレベル上昇を有すると同定されている患者における使用のための、請求項１～９のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１１】
喘息の治療又は予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる、若しくはＴｈ１７細胞の分化を低減させる方法における使用のための、及び／或いは、ＩＬ－１７レベル又はＴｈ１７細胞が上昇している患者における使用のための、請求項１～１０のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１２】
プロバイオティックとして製剤化されており、かつ、プレバイオティック化合物と組み合わせられていない、請求項１～１１のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１３】
経口投与用であり、及び／又は、１若しくは２以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含み、及び／又は、細菌株が凍結乾燥されている、請求項１～１２のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１４】
食品である、請求項１～１３のいずれかに記載の使用のための組成物。
【請求項１５】
ワクチン組成物である、請求項１～１４のいずれかに記載の使用のための組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、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そのような組成物の使用の分野にある。
【背景技術】
【０００２】
ヒトの腸管は、子宮内では無菌的であると考えられるが、出生直後に母体及び環境のかなり多様な微生物に曝露される。その後、微生物の定着及び継承という活動的な期間が存在するが、これは出産の様式、環境、食物、及び宿主の遺伝子型などの要因によって影響を受け、その全てが特に人生の初期における腸内微生物叢の組成に影響を及ぼす。その後、微生物叢は安定化して、成人様となる（Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90）。ヒト腸内微生物叢は、本質的に２つの主要な細菌門、すなわちバクテロイデス門（Bacteroidetes）とフィルミクテス門（Firmicutes）に属する５００～１０００超

の異なるファイロタイプを含有する（Eckburg et al. (2005)Science.10;308(5728):1635-8）。ヒトの腸に細菌が定着することにより生じる共生関係の成功により、広く多様な
代謝、構造、保護、及び他の有益な機能がもたらされた。細菌が定着した腸の代謝活性の増強により、そうでなければ消化されない食事成分が確実に分解されて、宿主にとって重要な栄養源を提供する副産物が放出される。同様に、腸内微生物叢の免疫学的重要性は、十分に認識されており、免疫系が損なわれているが片利共生細菌の導入後に機能的に再構成される無菌動物において例証されている（Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35、Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96、Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18）。

【０００３】

消化管の障害、例えば炎症性腸疾患（ＩＢＤ，inflammatory bowel disease）では、微生物叢の組成の劇的な変化が報告されている。例えば、クロストリジウム（Clostridium
）クラスターXIVａ細菌のレベルは、ＩＢＤ患者において低減されているが、大腸菌（E.coli）の数は増加しており、腸内での共生生物と病原性生物のバランスがシフトしていることを示唆している（Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5、Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8、Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42、Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83）。興味深いことに、この微生物共生バランス失調は、エフェクターＴ細胞集団の不均衡にも関連している。

【０００４】

特定の細菌株が動物の腸に及ぼす潜在的なプラスの効果が認められて、多様な株を、多様な疾患の治療に使用することが提唱されている（例えば、国際公開第２０１３／０５０７９２号パンフレット、国際公開第０３／０４６５８０号パンフレット、国際公開第２０１３／００８０３９号パンフレット、国際公開第２０１４／１６７３３８号パンフレットを参照されたい）。同様に、主にラクトバチルス（Lactobacillus）及びビフィドバクテリウム（Bifidobacterium）株を含む特定の株を、腸管に直接関連していない多様な炎症性疾患及び自己免疫疾患の治療に使用することが提唱されている（総説に関してはGoldin and Gorbach(2008) Clin Infect Dis. 46 Suppl 2:S96-100及びAzad et al.(2013) BMJ. 347:f6471を参照されたい）。しかし、種々の疾患と種々の細菌株との関係、並びに特
定の細菌株が腸、全身レベル、及びいずれかの特定の型の疾患に及ぼす明確な効果は、あまり特徴付けられていない。

【０００５】

炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療する新規方法が当技術分野で必要である。同様に、腸内細菌を使用する新規治療を開発することができるように、腸内細菌の潜在的な効果を特徴付けることも必要である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【文献】国際公開第２０１３／０５０７９２号パンフレット
国際公開第０３／０４６５８０号パンフレット
国際公開第２０１３／００８０３９号パンフレット
国際公開第２０１４／１６７３３８号パンフレット

【非特許文献】

【０００７】

【文献】Spor et al. (2011) Nat RevMicrobiol.9(4):279-90
Eckburg et al. (2005)Science.10;308(5728):1635-8
Macpherson et al. (2001) MicrobesInfect.3(12):1021-35
Macpherson et al. (2002) Cell Mol LifeSci.59(12):2088-96

Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18
Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5
Scanlan et al. (2006) J ClinMicrobiol.44(11):3980-8
Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis.16(12):2034-42
Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83
Goldin and Gorbach (2008) Clin Infect Dis.46Suppl 2:S96-100
Azad et al. (2013) BMJ. 347:f6471

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００８】
本発明者らは、炎症性疾患及び自己免疫疾患を治療及び予防するための新規治療を開発した。特に、本発明者らは、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療及び予防するための新規治療を開発した。特に、本発明者らは、Ｔｈ１７炎症応答を低減させるために有効である新規細菌株を同定した。実施例に記述されるように、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を含む組成物の経口投与は、喘息、関節リウマチ、及び多発性硬化症のマウスモデルにおいてＴｈ１７炎症応答を含む炎症応答の重症度を低減させうる。同様に実施例に記述されるように、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を含む組成物の経口投与は、Ｔｈ１７炎症応答に関連しうるがんのマウスモデルにおいて腫瘍サイズを低減させうる。
【課題を解決するための手段】
【０００９】
したがって、第１の実施形態において、本発明は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明者らは、このような細菌株による治療によって、ＩＬ－１７を含むＴｈ１７経路の一部であるサイトカインのレベルを低減させることができ、Ｔｈ１７炎症応答を軽減でき、ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路によって媒介される炎症性疾患及び自己免疫疾患のマウスモデルにおいて臨床上の利益を提供できることを特定した。
【００１０】
特定の実施形態において、本発明は、多発性硬化症；関節炎、例えば関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性特発性関節炎；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；炎症性腸疾患、例えばクローン病又は潰瘍性大腸炎；セリアック病；喘息、例えばアレルギー性喘息又は好中球性喘息；慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ，chronic obstructive pulmonary disease）；がん、例えば乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌に関して示されたＴｈ１７炎症応答に及ぼす効果は、ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態、例えば上記の疾患及び状態に対して治療上の利益を提供しうる。
【００１１】
好ましい実施形態において、本発明は、喘息、例えば好中球性喘息又はアレルギー性喘息を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明者らは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌による治療が好中球及び好酸球の肺への動員を低減させることができ、喘息を治療又は予防するために役立ちうることを特定した。さらに、本発明者らは、喘息のマウスモデルにおいて、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を試験してその有効性を証明した。特定の実施形態において、組成物

は、好中球性喘息又は好酸球性喘息を治療又は予防する方法に使用するためのものである。本発明の組成物に関して示された好中球及び好酸球に対する効果は、本発明の組成物が好中球性喘息及び好酸球性喘息を治療又は予防するために特に有効でありうることを意味する。実際に、特定の実施形態において、組成物は、喘息の治療若しくは予防において好中球性炎症応答を低減させる方法に使用するためのものであるか、又は組成物は、喘息の治療若しくは予防において好酸球性炎症応答を低減する方法に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明は、喘息の治療に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。特に好ましい実施形態において、本発明は、喘息、特に好中球性喘息の治療に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を含む組成物を提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌は、喘息モデルにおいて好中球に対して特に顕著な効果を有することが示されており、この細菌による治療は、好中球性喘息を治療するために特に有効でありうる。

【００１２】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明者らは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌による治療が、関節リウマチのマウスモデルにおいて臨床上の利益を提供することができ、関節の腫脹を低減させることができることを特定している。好ましい実施形態において、本発明は、関節リウマチの治療に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を使用する組成物は、関節リウマチを治療するために特に有効でありうる。

【００１３】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明者らは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌による治療が、多発性硬化症のマウスモデルにおいて疾患の発生率及び疾患の重症度を低減させることができることを特定した。好ましい実施形態において、本発明は、多発性硬化症の治療に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を使用する組成物は、多発性硬化症を治療するために特に有用でありうる。

【００１４】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、がん、例えば乳がん、肺がん、又は肝臓がんを治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明者らは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌による処置が、乳がん、肺がん、及び肝臓がんのマウスモデルにおいて腫瘍増殖を低減させることができることを特定した。特定の実施形態において、組成物は、がんの治療において腫瘍サイズを低減させる又は腫瘍の増殖を予防する方法に使用するためのものである。

【００１５】

さらに好ましい実施形態において、本発明は、ブドウ膜炎、例えば後部ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物は、ブドウ膜炎を治療するために特に有効でありうる。

【００１６】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる、又はＴ

ｈ１７細胞の分化を低減させる方法に使用するためのものである。特に、本発明の組成物は、喘息、関節リウマチ、若しくは多発性硬化症の治療若しくは予防において、又は喘息、関節リウマチ、多発性硬化症、がん若しくはブドウ膜炎の治療若しくは予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させるため又はＴｈ１７細胞の分化を低減させるために使用されうる。好ましくは、本発明は、喘息、関節リウマチ、若しくは多発性硬化症の治療若しくは予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる又はＴｈ１７細胞の分化を低減させるために使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を提供する。本発明は、がんの治療又は予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる又はＴｈ１７細胞の分化を低減させるために使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物も提供する。

【００１７】

特定の実施形態において、組成物は、ＩＬ－１７レベル又はＴｈ１７細胞が上昇している患者に使用するためのものである。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌に関して示されるＴｈ１７炎症応答に及ぼす効果は、そのような患者にとって特に有益でありうる。

【００１８】

本発明の好ましい実施形態において、組成物中の細菌株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌である。バイオタイプ細菌株、例えば受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の１６ｓ　ｒＲＮＡ配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する細菌株もまた使用してもよい。好ましくは、細菌株は、配列番号１と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する。好ましくは、本発明に使用するための細菌株は、配列番号１によって表される１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する。

【００１９】

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、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療するために有効でありうる。同様に、経口投与は、患者及び医師にとっても都合がよく、腸管への送達及び／又は腸管での部分的又は完全な定着（colonisation）を可能にする。

【００２０】

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される賦形剤又は担体を含む。

【００２１】

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ために有効で都合のよい技術である。

【００２２】

特定の実施形態において、本発明は、上記の組成物を含む食品を提供する。

【００２３】

特定の実施形態において、本発明は、上記の組成物を含むワクチン組成物を提供する。

【００２４】

さらに、本発明は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法であって、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を投与することを含む方法を提供する。

【００２５】

上記の本発明の開発にあたって、本発明者らは、治療にとって特に有用である細菌株を同定し特徴付けた。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌は、本明細書において記述される疾患、例えば関節炎、喘息、及び多発性硬化症を治療するために有効であることが示されている。したがって、別の態様において、本発明は、受託番号ＮＣＩ

ＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物（derivative）の細胞を提供する。本発明はまた、そのような細胞又はそのような細胞の生物学的に純粋な培養物を含む組成物も提供する。本発明はまた、特に本明細書において記述される疾患の治療に使用するための受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞も提供する。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌はまた、がんを治療するために有効であることが示されている。

すなわち本発明は以下に関する。

（１）ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物。

（２）アレルギー性喘息又は好中球性喘息などの喘息；関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性特発性関節炎などの関節炎；多発性硬化症；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；クローン病又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患；セリアック病；慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）；乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がんなどのがん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される疾患又は状態を治療又は予防する方法に使用するための、上記（１）に記載の組成物。

（３）好中球性喘息又はアレルギー性喘息などの喘息を治療又は予防する方法に使用するための、上記（２）に記載の組成物。

（４）喘息の治療において好中球増加又は好酸球増加を低減させる方法に使用するための、上記（３）に記載の組成物。

（５）関節リウマチを治療又は予防する方法に使用するための、上記（２）に記載の組成物。

（６）関節リウマチにおける関節の腫脹を低減させる方法に使用するための、上記（５）に記載の組成物。

（７）多発性硬化症を治療又は予防する方法に使用するための、上記（２）に記載の組成物。

（８）疾患の発生率又は疾患の重症度を低減させる方法に使用するための、上記（７）に記載の組成物。

（９）肺がん、乳がん、又は肝臓がんなどのがんを治療又は予防する方法に使用するための、上記（２）に記載の組成物。

（１０）腫瘍のサイズを低減させる、腫瘍の増殖を低減させる、転移を予防する、又は血管新生を予防する方法に使用するための、上記（９）に記載の組成物。

（１１）ブドウ膜炎を治療又は予防する方法に使用するための、上記（２）に記載の組成物。

（１２）ブドウ膜炎における網膜損傷を低減又は予防する方法に使用するための、上記（１１）に記載の組成物。

（１３）ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる、又はＴｈ１７細胞の分化を低減させる方法に使用するための、上記（１）～（１２）のいずれかに記載の組成物。

（１４）ＩＬ－１７レベル又はＴｈ１７細胞が上昇している患者に使用するための、上記（１）～（１３）のいずれかに記載の組成物。

（１５）バイオタイプが、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の１６ｓ　ｒＲＮＡ配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する、上記（１）～（１４）のいずれかに記載の組成物。

（１６）バイオタイプが、配列番号１と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する、上記（１）～（１４）のいずれかに記載の組成物。

（１７）経口投与用である、上記（１）～（１６）のいずれかに記載の組成物。
（１８）１又は２以上の薬学的に許容される賦形剤又は担体を含む、上記（１）～（１７）のいずれかに記載の組成物。
（１９）細菌株が凍結乾燥されている、上記（１）～（１８）のいずれかに記載の組成物。
（２０）上記（１）～（１４）のいずれかに記載の使用のための、上記（１）～（１９）のいずれかに記載の組成物を含む食品。
（２１）上記（１）～（１４）のいずれかに記載の使用のための、上記（１）～（１９）のいずれかに記載の組成物を含むワクチン組成物。
（２２）ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防する方法であって、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む組成物を投与することを含む、前記方法。
（２３）受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞。
（２４）上記（２３）に記載の細胞を含む組成物。
（２５）薬学的に許容される担体又は賦形剤を含む、上記（２４）に記載の組成物。
（２６）受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の生物学的に純粋な培養物。
（２７）治療に使用するための、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞。
（２８）上記（１）～（１４）のいずれかに規定の方法に使用するための、上記（２７）に記載の細胞。

【図面の簡単な説明】

【００２６】

【図１】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬ液中の総細胞数を示す。
【図２】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総好酸球数を示す。
【図３】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の好酸球の割合を示す。
【図４】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総マクロファージ数を示す。
【図５】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のマクロファージの割合を示す。
【図６】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総好中球数を示す。
【図７】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の好中球の割合を示す。
【図８】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総リンパ球数を示す。
【図９】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のリンパ球の割合を示す。
【図１０】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬ液中の総細胞数を示す。
【図１１】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総好酸球数を示す。
【図１２】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の好酸球の割合を示す。
【図１３】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総マクロファージ数を示す。
【図１４】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のマクロファージの割合を示す。
【図１５】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総好中球数を示す。
【図１６】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の好中球の割合を示す。
【図１７】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総リンパ球数を示す。
【図１８】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のリンパ球の割合を示す。
【図１９】関節リウマチのマウスモデル－－１４日～０日目の体重を示す。データは初回（－１４日）の体重の平均値±ＳＥＭパーセントとして表す。統計学的有意性：媒体処置群と比較して、▲　ｐは０．０５未満、及び▲▲▲▲　ｐは０．０００１未満である。
【図２０】関節リウマチのマウスモデル－０日～４２日目の体重を示す。データは初回（０日）の体重の平均値±ＳＥＭパーセントとして表す。媒体処置群と比較して、▲　ｐは０．０５未満、◆　ｐは０．０５未満、及び▲▲▲　ｐは０．００１未満、●●●●　ｐは０．０００１未満である。
【図２１】関節リウマチのマウスモデル－臨床スコアを示す。データは平均値±ＳＥＭとして表す。媒体処置群の２１日目と比較して、＊＊＊＊　ｐは０．０００１未満である。

所定の日の媒体処置群と比較して、◆、○　ｐは０．０５未満である。
【図２２】関節リウマチのマウスモデル－II型コラーゲンに対する脾細胞の増殖応答を示す。^{3}Ｈ－ＴｄＲ取り込みに基づく、培地のバックグラウンドを差し引いた[ＣII刺激－培地バックグラウンド]１分間のカウント数。データは全て、平均値±ＳＥＭとして表す。媒体群と比較して、＊＊ｐは０．０１未満である。
【図２３】関節リウマチのマウスモデル－組織培養上清中のＩＦＮγのレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
【図２４】関節リウマチのマウスモデル－組織培養上清中のＩＬ－１７Ａのレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
【図２５】関節リウマチのマウスモデル－組織培養上清中のＩＬ－１０のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
【図２６】関節リウマチのマウスモデル－組織培養上清中のＩＬ－６のレベルを示す。線は、群の中央値を表す。
【図２７】組織病理学スコア化システムを示す。
【図２８】チリダニによる喘息のマウスモデル－血清中の総ＩｇＥを示す。
【図２９】チリダニによる喘息のマウスモデル－血清中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ１を示す。
【図３０】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中の総ＩｇＥを示す。
【図３１】チリダニによる喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ１を示す。
【図３２】チリダニによる喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均気管支周囲浸潤スコアを示す。
【図３３】チリダニによる喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均血管周囲浸潤スコアを示す。
【図３４】チリダニによる喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均炎症スコア（気管支周囲浸潤スコアと血管周囲浸潤スコアの両方の平均値）を示す。
【図３５】チリダニによる喘息のマウスモデル－組織学的分析－粘液スコアを示す。
【図３６】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－９レベルを示す。
【図３７】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１ａレベルを示す。
【図３８】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＦＮｇレベルを示す。
【図３９】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１７Ａレベルを示す。
【図４０】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－４レベルを示す。
【図４１】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－５レベルを示す。
【図４２】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１ｂレベルを示す。
【図４３】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＲＡＮＴＥＳレベルを示す。
【図４４】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＭＩＰ－１ａレベルを示す。
【図４５】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＫＣレベルを示す。
【図４６】チリダニによる喘息のマウスモデル－肺組織中のＭＩＰ－２レベルを示す。
【図４７】重度の好中球性喘息のマウスモデル－血清中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ１を示す。
【図４８】重度の好中球性喘息のマウスモデル－血清中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ２ａを示す。
【図４９】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ１を示す。
【図５０】重度の好中球性喘息のマウスモデル－ＢＡＬＦ中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ２ａを示す。
【図５１】重度の好中球性喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均気管支周囲浸潤スコアを示す。
【図５２】重度の好中球性喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均血管周囲浸潤スコアを示す。
【図５３】重度の好中球性喘息のマウスモデル－組織学的分析－平均炎症スコア（気管支周囲浸潤スコアと血管周囲浸潤スコアの両方の平均値）を示す。
【図５４】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＴＮＦａレベルを示す。

【図５５】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１ａレベルを示す。
【図５６】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＦＮｇレベルを示す。
【図５７】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１７Ｆレベルを示す。
【図５８】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１ｂレベルを示す。
【図５９】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＲＡＮＴＥＳレベルを示す。
【図６０】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＭＩＰ－２レベルを示す。
【図６１】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＫＣレベルを示す。
【図６２】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－１７Ａレベルを示す。
【図６３】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＭＩＰ－１ａレベルを示す。
【図６４】重度の好中球性喘息のマウスモデル－肺組織中のＩＬ－３３レベルを示す。
【図６５－１】～
【図６５－３】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学スコアのための目視用テンプレートを示す。コラーゲン誘発関節炎試験におけるマウス足根関節からの複合スコアを示す代表的な画像を示す。
【図６６】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学：炎症スコアを示す。データは平均値±ＳＥＭとして表す。媒体処置群と比較して＊＊　ｐは０．０１未満である。
【図６７】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学：軟骨スコアを示す。データは平均値±ＳＥＭとして表す。媒体処置群と比較して、＊＊＊ｐは０．００１未満である。
【図６８】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学：骨スコアを示す。データは平均値±ＳＥＭとして表す。媒体処置群と比較して、＊＊＊ｐは０．００１未満である。
【図６９】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学：総スコアを示す。データは平均値±ＳＥＭとして表す。媒体処置群と比較して、＊ｐは０．０５未満、＊＊＊ｐは０．００１未満である。
【図７０】関節リウマチのマウスモデル－組織病理学：代表的な写真を示す。動物ＩＤ（＃ｎ．ｎ）及び四肢（Ｒは右、Ｌは左）を括弧の中に示す。左上の画像（媒体）：炎症及び線維症が関節周囲軟組織に及ぶ広範囲の関節及び骨の破壊。
【図７１】多発性硬化症のマウスモデル－臨床スコアを示す。
【図７２】多発性硬化症のマウスモデル－疾患の発生率を示す。
【図７３】乳がんのマウスモデル－腫瘍の体積を示す。
【図７４】肺がんのマウスモデル－腫瘍の体積を示す。
【図７５】肝臓がんのマウスモデル－肝臓重量を示す。
【図７６－１】～
【図７６－２】ヒト細胞に対するＭＲＸ００４及びＢ．ブレーベ基準株の結合を示す。
【図７７－１】～
【図７７－２】菌体外多糖の産生アッセイを示す。
【図７８】ＭＲＸ００４による、結合した及び放出された菌体外多糖の産生を示す。
【図７９】Ｃａｃｏ－２細胞に対するＭＲＸ００４の結合を示す。
【図８０】ＭＲＸ００４のみ（Ａ）及びＢ．ブレーベ基準株と比較した（Ｂ）ラピッドＩＤ３２Ａプロファイルを示す。白色＝陰性反応（色の変化なし）。下向きの斜線＝中等度陽性反応（弱い色の変化）、及び黒色＝陽性反応（強い適切な色の変化）。
【図８１】ＭＲＸ００４のＡＰＩ（登録商標）５０ＣＨ分析を示す。上向きの斜線＝陰性反応（色の変化なし）、下向きの斜線＝中等度陽性反応（弱い色の変化）、黒色＝陽性反応（強い適切な色の変化）、及び白色＝疑わしい反応（予想外の色の変化）。
【発明を実施するための形態】
【００２７】
細菌株
　本発明の組成物は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプを含む。実施例により、そのような細菌が、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有用であることが実証されている。また実施例により、そのような細菌ががんを治療又は予防するために有用であることも

実証されている。好ましい細菌株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌である。

【００２８】

本明細書において株７５１又はＭＲＸ００４とも称される、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌を実施例において試験した。試験した７５１株の１６Ｓ　ｒＲＮＡ部分配列を配列番号１に提供する。株７５１は、２０１５年３月１２日に、GT Biologics Ltd社（Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB252ZS, Scotland）
によって国際寄託当局NCIMB, Ltd.（Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland）に寄託され、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０を与えられた。GT Biologics Ltd社は、後に社名を4D Pharma Research Limited社に変更した。

【００２９】

株７５１のゲノム配列を配列番号２に提供する。

【００３０】

受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプである細菌株もまた、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有効であると予想される。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプである細菌株はまた、がんを治療又は予防するために有効であると予想される。バイオタイプは、同じ又は非常に類似の生理学的及び生化学的特徴を有する近縁の株である。

【００３１】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の１６ｓ　ｒＲＮＡ配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する。好ましくは、本発明に使用するための細菌株は、配列番号１と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％同一である１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する。好ましくは、本発明に使用される細菌株は、配列番号１によって表される１６ｓ　ｒＲＮＡ配列を有する。

【００３２】

あるいは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明に使用するために好適な株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の他のヌクレオチド配列をシークエンシングすることによって同定してもよい。例えば、実質的に全ゲノムをシークエンシングしてもよく、本発明に使用するためのバイオタイプの株は、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％又は９９％又はその全ゲノムにわたって）少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％の配列同一性を有しうる。バイオタイプの株の同定に使用するための他の好適な配列としては、ｈｓｐ６０、又は反復配列、例えばＢＯＸ、ＥＲＩＣ、（ＧＴＧ）$_5$、若しくはＲＥＰ、又はMasco et al. (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26:557-563が挙げられうる。バイオタイプの株
は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の対応する配列に対して少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は９９．９％の配列同一性を有する配列を有しうる。

【００３３】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、配列番号２に対して配列同一性を有するゲノムを有する。好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、配列番号２の少なくとも６０％（例えば、少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％）にわたって配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性（例えば、少なくとも９２％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の配列同一性）を有するゲノムを

有する。例えば、本発明に使用するための細菌株は、配列番号２の７０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性、又は配列番号２の８０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性、又は配列番号２の９０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性、又は配列番号２の１００％にわたって配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性、又は配列番号２の７０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９５％の配列同一性、又は配列番号２の８０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９５％の配列同一性、又は配列番号２の９０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９５％の配列同一性、又は配列番号２の１００％にわたって配列番号２に対して少なくとも９５％の配列同一性、又は配列番号２の７０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９８％の配列同一性、又は配列番号２の８０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９８％の配列同一性、又は配列番号２の９０％にわたって配列番号２に対して少なくとも９８％の配列同一性、又は配列番号２の１００％にわたって配列番号２に対して少なくとも９８％の配列同一性を有するゲノムを有しうる。

【００３４】

あるいは、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明における使用に好適な株を、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０の寄託物、並びに制限酵素断片分析及び／又は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（ＦＡＦＬＰ，fluorescent amplified fragment length polymorphism）及び反復ＤＮＡエレメント（ｒｅｐ）－ＰＣＲフィンガープリンティング又はタンパク質プロファ
イリング、又は部分的１６Ｓ若しくは２３ｓ　ｒＤＮＡシークエンシングを使用することによって同定してもよい。好ましい実施形態において、そのような技術は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌と同じ種の株を同定するために使用されうる。

【００３５】

特定の実施形態において、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明における使用に好適な株は、増幅リボソームＤＮＡ制限分析（ＡＲＤＲＡ，amplified ribosomal DNA restriction analysis）によって分析した場合に、例えばＳａｕ３ＡＩ制限酵素（例示的な方法及び指針に関しては、例えばSrutkova et al. (2011) J. Microbiol. Methods, 87(1):10-6を参照されたい）を使用した場合に、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌と同じパターンを提供する株である。あるいは、バイオタイプの株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された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。

【００３６】

受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌のバイオタイプであり、本発明の組成物及び方法において有用である細菌株は、実施例に記載のアッセイを含むいかなる適切な方法又は方策を使用して同定してもよい。例えば、本発明に使用するためのバイオタイプは、嫌気性のＹＣＦＡ中で培養すること、及び／又は細菌をII型コラーゲン関節炎マウスモデルに投与すること、次いでサイトカインレベルを評価することによって同定してもよい。特に、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌と類似の増殖パターン、代謝型、及び／又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うる。バイオタイプ株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０株に対して同等の免疫調節活性を有するであろう。特に、バイオタイプの株は、実施例に示される効果と、喘息、関節炎、多発性硬化症、及びがんの疾患モデルに対して同等の効果、並びにサイトカインレベルに対して同等の効果を誘発し、このことは、実施例に記述される培養及び投与プロトコールを使用することによって同定されうる。

【００３７】

本発明の特に好ましい株は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌である。これは、実施例で試験した例示的な７５１株であり、疾患を治療するために有効であることが示されている。したがって、本発明は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞、例えば単離細胞を提供する。本発明はまた、受

託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞を含む組成物も提供する。本発明はまた、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の生物学的に純粋な培養物も提供する。本発明はまた、特に本明細書に記述される疾患の治療に使用するための受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はその派生物の細胞も提供する。

【００３８】

受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の派生物は、オリジナル株の娘株（後代）、又はオリジナル株から培養された（サブクローニングされた）株であってもよい。本発明の派生株は、例えば生物活性を損ねることなく、遺伝子レベルで改変されていてもよい。特に、本発明の派生株は、治療上活性である。派生株は、ＮＣＩＭＢ　４２３８０株と同等の免疫調節活性を有するであろう。特に、派生株は、実施例に示される効果と、喘息、関節炎、多発性硬化症、及びがんの疾患モデルに対して同等の効果、並びにサイトカインレベルに対して同様の同等の効果を誘発し、このことは、実施例に記述される培養及び投与プロトコールを使用することによって同定されうる。ＮＣＩＭＢ　４２３８０株の派生物は、一般的にはＮＣＩＭＢ　４２３８０株のバイオタイプであろう。

【００３９】

受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の細胞という言及は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された株と同じ安全性及び治療有効性の特徴を有するいかなる細胞も包含し、そのような細胞は、本発明に包含される。

【００４０】

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、生存しており、腸管に部分的又は完全に定着することができる。

【００４１】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、ヒト腸管上皮細胞、特にＣａｃｏ－２細胞に対して低い接着性を有する。好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、ビフィドバクテリア、特にＢ．ブレーベと比較してＹＣＦＡ中でヒト腸管上皮細胞、特にＣａｃｏ－２細胞に対して低い接着性を有する。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、実施例１２に記載される条件で試験した場合に、総培養物の１％未満、例えば好ましくは０．５％未満、又は０．３％未満の接着性を示す。

【００４２】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、菌体外多糖、例えば細菌株の細胞外表面に結合している菌体外多糖を産生する。特定の実施形態において、結合した菌体外多糖の産生は、本発明に使用するための細菌株の、粘液又は上皮細胞表面、例えばヒト腸管上皮細胞表面に対する接着を増加させる。好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、ビフィドバクテリア、特にＢ．ブレーベと比較してより多くの結合した表面菌体外多糖を産生する。

【００４３】

好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株はいずれも、ビフィドバクテリア、特にＢ．ブレーベと比較してＹＣＦＡ中でヒト腸管上皮細胞、特にＣａｃｏ－２細胞に対して低い接着性（実施例１２に記載される条件で試験した場合に、総培養物の１％未満、例えば好ましくは０．５％未満、又は０．３％未満の接着性）を示し、ビフィドバクテリア、特にＢ．ブレーベと比較してより多くの結合した表面菌体外多糖を産生する。

【００４４】

特定の好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、例えば適切な懸濁培地（例えばＡＰＩ懸濁培地）中、３７℃で４時間培養した場合に多糖であるラフィノースを発酵させることができる。

【００４５】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、例えば適切な懸濁培地（例えばＡＰＩ懸濁培地）中、３７℃で４時間培養した場合に、ビフィドバクテリア、特に

Ｂ．ブレーベと比較してα－グルコシダーゼ及び／又はβ－グルコシダーゼの発酵能が低減している。

【００４６】

特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、表１に記載の遺伝子の１又は２以上、例えば表１の遺伝子の５、１０、２０、５０個、又は全てを含む。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、表１に記載の一重下線で強調した遺伝子の１又は２以上、例えば予測ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分ＢＬ０６９４及び／又は予測ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールの重複ＡＴＰａｓｅ成分ＢＬ０６９３を含む。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、表１に記載の二重下線と太字で強調した遺伝子の１又は２以上、例えばマルトデキストリングルコシダーゼ（ＥＣ　３．２．１．２０）、推定ガラクトシダーゼ、セルロースシンターゼ（ＵＤＰ形成）（ＥＣ　２．４．１．１２）、キチナーゼ（ＥＣ　３．２．１．１４）及び感覚ボックス／ＧＧＤＥＦファミリータンパク質から選択される１、２、３、４又は５個の遺伝子を含む。特定の実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、表１に記載のイタリック体で強調した遺伝子の１又は２以上、例えばオメガ－３多価不飽和脂肪酸シンターゼサブユニットＰｆａＡ、Ｉ型ポリケチドシンターゼ、機能不明の推定グリコシルヒドロラーゼ（ＤＵＦ１６８０）、ビオチンＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールのＡＴＰａｓｅ成分ＢｉｏＭ、カチオン輸送ＡＴＰａｓｅ　Ｅ１～Ｅ２ファミリー、リボースＡＢＣ輸送系パーミアーゼタンパク質ＲｂｓＣ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）、リボースＡＢＣ輸送系ＡＴＰ結合タンパク質ＲｂｓＡ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）、３’－～－５’オリゴリボヌクレアーゼ（ｏｒｎ）、アクチノバチルスタンパク質に関連する膜タンパク質（１９４４１６８）から選択される１、２、３、４、５、６、７、８、又は９個の遺伝子を含む。

【００４７】

好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、２－サクシニル－５－エノールピルビル－６－ヒドロキシ－３－シクロヘキセン－１－カルボン酸シンターゼ（ＥＣ　２．２．１．９）；３’－～－５’オリゴリボヌクレアーゼ（ｏｒｎ）；アルファ－ガラクトシダーゼ（ＥＣ　３．２．１．２２）；ＥＣＦトランスポーターの一般的賦活モジュールのＡＴＰａｓｅ成分；キューオシン調節ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールのＡＴＰａｓｅ成分ＳＴＹ３２３３；ＡＴＰ依存性ＤＮＡヘリカーゼｒｅｃＧ（ＥＣ　３．６．１．－）；ベータ－グルコシダーゼ（ＥＣ　３．２．１．２１）；セルロースシンターゼ（ＵＤＰ形成）（ＥＣ　２．４．１．１２）；キチナーゼ（ＥＣ　３．２．１．１４）；ＣＯＧ１３０９；転写調節因子；Ｄ－アラニル－Ｄ－アラニンカルボキシペプチダーゼ（ＥＣ　３．４．１６．４）；予測ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールの重複ＡＴＰａｓｅ成分ＢＬ０６９３；フルクトキナーゼ（ＥＣ　２．７．１．４）；グルコース／マンノース：Ｈ＋シンポーターＧｌｃＰ；グリコシルトランスフェラーゼ（ＥＣ　２．４．１．－）；ＧＭＰシンターゼ［グルタミン加水分解］（ＥＣ　６．３．５．２）；インジゴイジンシンターゼｉｎｄＡを有するクラスター中の仮想糖キナーゼ、ＰｆｋＢファミリーキナーゼ；イノシン－ウリジン選好ヌクレオシドヒドロラーゼ（ＥＣ　３．２．２．１）；ＬＳＵリボソームタンパク質Ｌ３１ｐ@ＬＳＵリボソームタンパク質Ｌ３１ｐ、亜鉛非依存性；ＬＳＵ　リボソームタンパク質　Ｌ３３ｐ　@　ＬＳＵ　リボソームタンパク質　Ｌ３３ｐ、亜鉛非依存性；マルトデキストリングルコシダーゼ（ＥＣ　３．２．１．２０）；アクチノバチルスタンパク質に関連する膜タンパク質（１９４４１６８）；膜結合溶解ムテイントランスグリコシラーゼＤ前駆体（ＥＣ　３．２．１．－）；メチルトランスフェラーゼ（ＥＣ　２．１．１．－）；ＮＡＤＨ依存性ブタノールデヒドロゲナーゼＡ（ＥＣ　１．１．１．－）；ホスホグリコール酸ホスファターゼ（ＥＣ　３．１．３．１８）；ホスホリボシルアントラニル酸イソメラーゼ（ＥＣ　５．３．１．２４）；機能不明の推定グリコシルヒドロラーゼ（ＤＵＦ１６８０）；ラムノース含有多糖転位パーミアーゼ；リボキナーゼ（ＥＣ　２．７．１．１５）；リボースＡＢＣ輸送系、ＡＴＰ結合タンパク質ＲｂｓＡ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；リボースＡＢＣ輸送系、ＡＴＰ結

合タンパク質ＲｂｓＡ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；リボースＡＢＣ輸送系、高親和性パーミアーゼＲｂｓＤ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；リボースＡＢＣ輸送系、周辺質リボース結合タンパク質ＲｂｓＢ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；リボースＡＢＣ輸送系、パーミアーゼタンパク質ＲｂｓＣ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；リボースＡＢＣ輸送系、パーミアーゼタンパク質ＲｂｓＣ（ＴＣ　３．Ａ．１．２．１）；ソルビトールデヒドロゲナーゼ　（ＥＣ　１．１．１．１４）；ＳＳＵリボソームタンパク質Ｓ１４ｐ（Ｓ２９ｅ）＠ＳＳＵリボソームタンパク質Ｓ１４ｐ（Ｓ２９ｅ）、亜鉛非依存性；キューオシン調節ＥＣＦトランスポーターの基質特異的成分ＳＴＹ３２３０；スクロース－６－リン酸ヒドロラーゼ（ＥＣ　３．２．１．Ｂ３）；タイコ酸輸送ＡＴＰ結合タンパク質ＴａｇＨ（ＥＣ　３．６．３．４０）；予測ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分ＢＬ０６９４；キューオシン調節ＥＣＦトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分ＳＴＹ３２３１；ＨｒｔＡＢトランスポーターと共局在する２成分応答調節因子；Ｉ型制限修飾系、ＤＮＡ－メチルトランスフェラーゼ　サブユニット　Ｍ（ＥＣ　２．１．１．７２）；Ｉ型制限修飾系、制限サブユニットＲ（ＥＣ　３．１．２１．３）；Ｉ型制限修飾系、特異性サブユニットＳ（ＥＣ　３．１．２１．３）；Ｉ型制限修飾系、特異性サブユニットＳ（ＥＣ　３．１．２１．３）；Ｉ型制限修飾系、特異性サブユニットＳ（ＥＣ　３．１．２１．３）；キシリトールデヒドロゲナーゼ　（ＥＣ　１．１．１．９）；及びキシロースＡＢＣトランスポーター、周辺質キシロース結合タンパク質ＸｙｌＦから選択される１又は２以上（例えば、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、４５、５０個、又は全て）の遺伝子を含む。好ましい実施形態において、本発明に使用するための細菌株は、上記の文に記載され、表１で強調されていない１又は２以上（例えば、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５個、又は全て）の遺伝子を含む。

【００４８】

治療での用途

実施例において実証されるように、本発明の細菌組成物は、Ｔｈ１７炎症応答を低減させるために有効である。特に、本発明の組成物による治療によって、ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路によって媒介される状態の動物モデルにおいて、ＩＬ－１７Ａレベル及び他のＴｈ１７経路のサイトカインの低減、並びに臨床上の改善がもたらされる。したがって、本発明の組成物は、炎症性疾患及び自己免疫疾患、特にＩＬ－１７によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために有用でありうる。特に、本発明の組成物は、ＩＬ－１７炎症応答の上昇を低減又は予防するために有用でありうる。

【００４９】

Ｔｈ１７細胞は、ヘルパーＴ細胞のサブセットであり、例えば、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７Ｆ、ＩＬ－２１、及びＩＬ－２２を産生する。Ｔｈ１７細胞の分化及びＩＬ－１７の発現は、ＩＬ－２３によって駆動されうる。これらのサイトカイン及び他のサイトカインは、Ｔｈ１７経路の重要な部分を形成し、Ｔｈ１７経路は、いくつかの炎症性疾患及び自己免疫疾患に寄与してそれらの基礎となる、十分に確立された炎症シグナリング経路である（例えばYe et al. (2015) PLoS One. 10(1):e0117704、Fabroetal. (2015) Immunobiology. 220(1):124-35 、Yin etal.(2014) Immunogenetics. 66(3):215-8、Cheluvappa etal.(2014) Clin Exp Immunol. 175(2):316-22、Schieck etal.(2014) J Allergy
Clin Immunol. 133(3):888-91、Balato et al. (2014) JEurAcad Dermatol Venereol. 28(8):1016-24に記述される）。Ｔｈ１７経路が活性化されている疾患は、Ｔｈ１７経路媒介疾患である。Ｔｈ１７経路媒介疾患は、Ｔｈ１７経路を抑えることによって改善又は軽減することができ、これはＴｈ１７細胞の分化の低減、又はその活性の低減、又はＴｈ１７経路サイトカインのレベルの低減を通して行われうる。Ｔｈ１７経路によって媒介される疾患は、Ｔｈ１７細胞によって産生されるサイトカイン、例えばＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７Ｆ、ＩＬ－２１、ＩＬ－２２、ＩＬ－２６、ＩＬ－９のレベルの増加によって特徴付けられうる（Monteleone et al. (2011) BMC Medicine. 2011, 9:122に論評）。Ｔｈ１７経路によって媒介される疾患は、Ｔｈ－１７関連遺伝子、例えばＳｔａｔ３又は

ＩＬ－２３Ｒの発現の増加によって特徴付けられうる。Ｔｈ１７経路によって媒介される疾患は、Ｔｈ１７細胞のレベルの増加に関連しうる。

【００５０】

ＩＬ－１７は、いくつかの炎症性及び自己免疫性の疾患並びに状態の病原性に寄与する炎症促進性サイトカインである。本明細書に使用されるＩＬ－１７は、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７Ｂ、ＩＬ－１７Ｃ、ＩＬ－１７Ｄ、ＩＬ－１７Ｅ、及びＩＬ－１７Ｆを含むＩＬ－１７ファミリーのいかなるメンバーも指しうる。ＩＬ－１７媒介の疾患及び状態は、疾患又は状態に罹患した組織におけるＩＬ－１７の高い発現及び／又はＩＬ－１７陽性細胞の蓄積若しくは存在によって特徴付けられる。同様に、ＩＬ－１７媒介疾患及び状態は、高いＩＬ－１７レベル又はＩＬ－１７レベルの増加によって悪化し、低いＩＬ－１７レベル又はＩＬ－１７レベルの低減によって軽減される疾患及び状態である。ＩＬ－１７炎症応答は局所又は全身性でありうる。

【００５１】

ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介されうる疾患及び状態の例には、多発性硬化症；関節炎、例えば関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、又は若年性関節炎；視神経脊髄炎（デビック病）；強直性脊椎炎；脊椎関節炎；乾癬；全身性紅斑性狼瘡；炎症性腸疾患、例えばクローン病又は潰瘍性大腸炎；セリアック病；喘息、例えばアレルギー性喘息又は好中球性喘息；慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）；がん、例えば乳がん、結腸がん、肺がん、又は卵巣がん；ブドウ膜炎；強膜炎；血管炎；ベーチェット病；アテローム性動脈硬化症；アトピー性皮膚炎；肺気腫；歯周炎；アレルギー性鼻炎；及び同種異系移植片拒絶が挙げられる。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、これらの状態又は疾患の１又は２以上を治療又は予防するために使用される。さらに好ましい実施形態において、これらの状態又は疾患は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される。

【００５２】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態の治療又は予防において、ＩＬ－１７の産生を低減させる、又はＴｈ１７細胞の分化を低減させる方法に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、治療又は予防がＴｈ１７炎症応答の上昇を低減又は予防することによってもたらされる、炎症性疾患又は自己免疫疾患の治療又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＩＬ－１７レベル若しくはＴｈ１７細胞が上昇している又はＴｈ１７炎症応答を示している、炎症性疾患又は自己免疫疾患を有する患者の治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、患者は、慢性炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態を有すると診断されていてもよく、又は本発明の組成物は、慢性炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態へと発展する炎症性又は自己免疫性の疾患若しくは状態の予防に使用するためのものであってもよい。特定の実施形態において、疾患又は状態は、ＴＮＦ－α阻害剤による治療に応答性でなくてもよい。本発明のこれらの使用は、先の段落に記載した特異的疾患又は状態のいかなるものにも適用されうる。

【００５３】

ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路はしばしば、慢性炎症性疾患及び自己免疫疾患に関連しており、そのため、本発明の組成物は、上記の慢性疾患又は状態を治療又は予防するために特に有用でありうる。特定の実施形態において、組成物は、慢性疾患を有する患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、慢性疾患の発症の予防に使用するためのものである。

【００５４】

本発明の組成物は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療するために、並びにＴｈ１７炎症応答に対処するために有用でありうることから、本発明の組成物は、慢性疾患を治療若しくは予防するために、他の治療（ＴＮＦ－α阻害剤による治療など）に応答しなかった患者の疾患を治療若しくは予防するために、及び／又はＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞に関連する組織損傷及び症状を治療又は予防するために特に

有用でありうる。例えば、ＩＬ－１７は、軟骨及び骨組織におけるマトリクスの破壊を活性化することが知られており、ＩＬ－１７は、軟骨細胞及び骨芽細胞におけるマトリクス産生に対して阻害効果を有することから、本発明の組成物は、骨びらん又は軟骨損傷を治療又は予防するために有用でありうる。

【００５５】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、ＩＬ－１７レベル、特にＩＬ－１７Ａレベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１β、ＲＡＮＴＥＳ、ＭＩＰ－１α、ＩＬ－８又はＩＬ－６レベルの低減をもたらすか、又は上昇を予防する。これらのサイトカインのレベル上昇のそのような低減又は予防は、炎症性及び自己免疫性の疾患並びに状態、特にＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患及び状態を治療又は予防するために有用でありうる。

【００５６】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、病原性細胞、例えば大腸菌（E. coli）及び／又は腸炎菌（S. enteritidis）によるヒト細胞、例えばヒト上皮細胞への結合又は侵入の遮断を提供する。

【００５７】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、病原性細胞、例えば大腸菌及び／又は腸炎菌の、ヒト上皮細胞、例えばヒト腸管上皮細胞に対する結合を低減又は予防する。

【００５８】

特定の実施形態において、本発明の組成物の細菌株による菌体外多糖の産生及び放出は、病原性の種、例えば大腸菌及び／又は腸炎菌に対して保護効果を有しうる。特定の実施形態において、本発明の組成物の細菌株による菌体外多糖の産生及び放出は、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路に及ぼす細菌の効果を媒介し、宿主免疫応答に影響を及ぼしうる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症性疾患及び自己免疫疾患、特にＩＬ－１７によって媒介される疾患又は状態の治療における菌体外多糖の産生に使用するためのものである。

【００５９】

特定の実施形態において、本発明の組成物の細菌株の、ヒト腸管上皮細胞、特にＣａｃｏ－２細胞に対する接着性が低いことは、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路、及びＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患に及ぼす本発明の組成物の有益な効果を増加させうる。

【００６０】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、腸管におけるラフィノースの発酵の増加をもたらす。実施例により、本発明の組成物の細菌株が多糖であるラフィノースを発酵させること、並びにラフィノースの発酵が、盲腸の酪酸塩の増加及び消化管での増殖の増加などの効果を宿主に与えうることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症性疾患及び自己免疫疾患、特にＩＬ－１７によって媒介される疾患又は状態の治療において腸管でのラフィノースの発酵の増加に使用するためのものである。

【００６１】

喘息

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療又は予防に使用するためのものである。実施例は、本発明の組成物が、チリダニ抽出物による感作及びチャレンジ後の気道への好中球及び／又は好酸球の動員の低減をもたらすことを実証しており、そのため本発明の組成物が喘息の治療又は予防において有用でありうる。喘息は、気道の炎症及び制限によって特徴付けられる慢性疾患である。喘息における炎症は、ＩＬ－１７及び／又はＴｈ１７細胞によって媒介されうることから、本発明の組成物は、喘息の予防又は治療にとって特に有効でありうる。喘息の炎症は、好酸球及び／又は好中球によって媒介さ

れうる。

【００６２】

特定の実施形態において、喘息は好酸球性又はアレルギー性喘息である。好酸球性及びアレルギー性喘息は、末梢血及び気道分泌液中の好酸球数の増加によって特徴付けられ、基底膜部の肥厚に病理学的に関連し、コルチコステロイド応答性に薬理学的に関連する（Fahy (2009) Proc Am Thorac Soc 6.256-259）。好酸球の動員又は活性化を低減又は阻害する組成物は、好酸球性及びアレルギー性喘息を治療又は予防するために有用でありうる。

【００６３】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、好中球性喘息（又は非好酸球性喘息）の治療又は予防に使用するためのものである。多数の好中球は、コルチコステロイド治療に対して非感受性でありうる重度の喘息に関連する。好中球の動員又は活性化を低減又は阻害する組成物は、好中球性喘息の治療又は予防にとって有用でありうる。

【００６４】

好酸球性及び好中球性喘息は、相互に排他的な状態ではなく、好酸球及び好中球の応答のいずれかの対処に役立つ治療は、喘息全般の治療にとって有用でありうる。

【００６５】

ＩＬ－１７レベルの増加及びＴｈ１７経路の活性化は、重度の喘息に関連していることから、本発明の組成物は、重度の喘息の発症を予防するために、又は重度の喘息を治療するために有用でありうる。

【００６６】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療又は予防において好酸球性炎症応答を低減させる方法に使用するため、又は喘息の治療又は予防において好中球性炎症応答を低減させる方法に使用するためのものである。先に述べたように、喘息における高レベルの好酸球は、基底膜部の肥厚に病理学的に関連することから、喘息の治療又は予防における好酸球性炎症応答の低減は、疾患のこの特徴に特異的に対処することができる可能性がある。同様に、好中球の上昇は、好酸球の上昇を伴って又は伴わなくとも、重度の喘息及び慢性的な気道の狭窄に関連する。したがって、好中球性炎症応答の減少は、重度の喘息に対処するために特に有用でありうる。

【００６７】

特定の実施形態において、組成物は、アレルギー性喘息における気管支周囲浸潤を低減させるか、又はアレルギー性喘息の治療において気管支周囲浸潤の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、好中球性喘息における気管支周囲及び／若しくは血管周囲浸潤を低減させるか、又はアレルギー性好中球性喘息の治療において、気管支周囲及び／又は血管周囲浸潤の低減に使用するためのものである。

【００６８】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、ＩＬ－１β、ＩＦＮγ、ＲＡＮＴＥＳ、ＭＩＰ－１α、又はＩＬ－８レベルの低減をもたらす、又はレベルの上昇を予防する。

【００６９】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息を治療する方法に使用するためのものであり、それによって好酸球及び／又は好中球性炎症応答の低減が起こる。特定の実施形態において、治療される患者は、採血又は喀痰分析を通して特定されるように、好中球又は好酸球のレベル上昇を有すると特定されている、又は過去に特定されたことがある。

【００７０】

本発明の組成物は、新生児又は妊娠女性に投与した場合に、新生児における喘息の発症を予防するために有用でありうる。組成物は、小児における喘息の発症を予防するために有用でありうる。本発明の組成物は、成人発症喘息を治療又は予防するために有用でありうる。本発明の組成物は、喘息をマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、アレルゲン、例えばチリダニによって悪化する喘息に関連する症状を低減させ

るために特に有用でありうる。
【００７１】
喘息の治療又は予防は、患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。
【００７２】
特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、例えば腸管又は血漿中のフェニルアラニン及び／又はヒスチジンの濃度の低減をもたらす。実施例により、本発明の組成物の細菌株が、フェニルアラニン及びヒスチジンを含むアミノ酸の発酵に関して試験陽性であったことが実証されており、フェニルアラニン及びヒスチジンの血漿中濃度の増加が喘息における有害効果に関連すると報告されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療におけるフェニルアラニン及び／又はヒスチジンの血漿中濃度の低減に使用するため、特に喘息に関連するヒスタミン産生又は気道過敏の治療に使用するためのものである。
【００７３】
特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、例えば腸管におけるガラクトース及び／又はフルクトース濃度の低減をもたらす。実施例により、本発明の組成物の細菌株が、ガラクトース及びフルクトースを含む炭水化物基質を発酵させることが実証されており、食肉源に由来するガラクトースα－１，３－ガラクトースは公知のアレルゲン及びアナフィラキシーの原因物質であり、食事性フルクトースの摂取レベルは喘息の重症度の増加と相関する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、喘息の治療、特に重度の喘息の治療においてガラクトース及び／又はフルクトース濃度の低減に使用するためのものである。
【００７４】
関節炎
好ましい実施形態において、本発明の組成物は、関節リウマチ（ＲＡ，rheumatoid arthritis）の治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、マウスモデルにおけるＲＡの臨床兆候の低減をもたらすこと、軟骨及び骨損傷を低減させること、並びにＩＬ－１７炎症応答を低減させることが実証されており、そのため本発明の組成物は、ＲＡの治療又は予防において有用でありうる。ＲＡは、関節に主に罹患する全身性の炎症障害である。ＲＡは、関節の腫脹、滑膜過形成、並びに軟骨及び骨の破壊が起こる炎症応答に関連している。例えば、ＩＬ－１７は軟骨細胞及び骨芽細胞においてマトリクス産生を阻害して、マトリクスメタロプロテナーゼの産生及び機能を活性化することにより、並びにＲＡ疾患の活動度がＩＬ－１７レベル及びＴｈ１７細胞数と相関することによりMiossec and Kolls (2012) Nat Rev Drug Discov. 11(10):763-76、Yang et al. (2014) Trends Pharmacol Sci. 35(10):493-500、ＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞は、ＲＡにおいて重要な役割を有し、それにより本発明の組成物は、ＲＡの予防又は治療にとって特に有効でありうる。
【００７５】
特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＲＡの治療又は予防におけるＩＬ－１７レベルの低下又はＩＬ－１７レベルの上昇の予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、ＩＬ－１７レベル、特にＩＬ－１７Ａレベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、ＩＦＮ－γ又はＩＬ－６レベルの低減をもたらすか又は上昇を予防する。
【００７６】
特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって関節の腫脹の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、関節が腫脹した患者又は関節が腫脹するリスクがあると特定された患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＲＡにおける関節の腫脹を低減させる方法に使用するためのものである。
【００７７】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、軟骨損傷又は骨損傷の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＲＡの治療において軟骨又は骨損傷の低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、軟骨又は骨損傷のリスクがある重度のＲＡを有する患者の治療に使用するためのものである。

【００７８】

増加したＩＬ－１７レベル及び多数のＴｈ１７細胞数は、ＲＡにおける軟骨及び骨の破壊に関連している（Miossec and Kolls (2012) Nat Rev Drug Discov. 11(10):763-76、Yangetal. (2014) Trends Pharmacol Sci. 35(10):493-500）。ＩＬ－１７は、軟骨及び骨組織におけるマトリクスの破壊を活性化させることが知られており、ＩＬ－１７は軟骨細胞及び骨芽細胞におけるマトリクス産生に対して阻害効果を有する。したがって、特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＲＡの治療において骨びらん又は軟骨損傷の予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、骨びらん若しくは軟骨損傷を示す患者、又は骨びらん若しくは軟骨損傷のリスクがあると特定された患者の治療に使用するためのものである。

【００７９】

ＴＮＦ－αもまたＲＡに関連するが、ＴＮＦ－αは疾患の後期の病原性には関係していない。これに対し、ＩＬ－１７は、慢性疾患の全ての進行期を通して役割を有する（Koenders et al. (2006) J. Immunol. 176:6262-6269）。したがって、特定の実施形態において、本発明の組成物は、慢性ＲＡ又は後期ＲＡ、例えば関節の破壊及び軟骨の喪失を含む
疾患の治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、抗ＴＮＦ－α治療を以前に受けたことがある患者を治療するためである。特定の実施形態において、治療を受ける患者は、抗ＴＮＦ－α治療に応答しない、又はもはや応答しない。

【００８０】

本発明の組成物は、患者の免疫系を調節するために有用でありうることから、特定の実施形態において、本発明の組成物は、ＲＡのリスクがあると特定されている患者又は初期ＲＡを有すると診断されている患者におけるＲＡの予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、ＲＡの発症を予防するために有用でありうる。

【００８１】

本発明の組成物は、ＲＡをマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、関節の腫脹又は骨の破壊に関連する症状を低減させるために特に有用でありうる。ＲＡの治療又は予防は、例えば患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。

【００８２】

多発性硬化症

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、多発性硬化症のマウスモデル（ＥＡＥモデル）における疾患の発生率及び疾患の重症度の低減をもたらすことが実証されており、そのため、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療又は予防において有用でありうる。多発性硬化症は、特に脳及び脊柱のニューロンの髄鞘に対する損傷に関連する炎症障害である。多発性硬化症は、次第に無能力となり、エピソードが進行する慢性疾患である。例えばＩＬ－１７レベルは多発性硬化症の病変と相関しうる、ＩＬ－１７は血液脳関門の内皮細胞の堅固な接合を破壊しうる、及びＴｈ１７細胞が中枢神経系に遊走してニューロンの喪失を引き起こしうることから（Amedei et al. (2012) Int J Mol Sci. 13(10):13438-60、Shabgah et al. (2014) Postepy. Dermatol. Alergol. 31(4):256-61）、Ｉ
Ｌ－１７及びＴｈ１７細胞は、多発性硬化症において重要な役割を有しうる。したがって、本発明の組成物は、多発性硬化症を予防又は治療するために特に有用でありうる。

【００８３】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、疾患の発生率又は疾患の重症度の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、疾患の発生率又は疾患の重症度の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、運動機能の低下を予防するか、又は運動機能の改善が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、運動機能の低下の予防に使用するためのものであるか、又は運動機能の改善に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療は、麻痺の発生を予防する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症の治療における麻痺の予防に使用するためのものである。

【００８４】

本発明の組成物は、患者の免疫系を調節するために有用でありうることから、特定の実施形態において、本発明の組成物は、多発性硬化症のリスクがあると特定されている患者、又は初期多発性硬化症である若しくは「再発－寛解性の」多発性硬化症であると診断されている患者における多発性硬化症の予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、硬化症の発生を予防するために有用でありうる。実際に、実施例により、本発明の組成物の投与が、多くのマウスにおける疾患の発症を予防したことが示されている。

【００８５】

本発明の組成物は、多発性硬化症をマネージ又は軽減するために有用でありうる。本発明の組成物は、多発性硬化症に関連する症状を低減するために特に有用でありうる。多発性硬化症の治療又は予防は、例えば患者にとって問題である、症状の重症度の軽減、又は悪化の頻度の低減若しくは誘因の範囲の低減を指しうる。

【００８６】

ブドウ膜炎

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の治療又は予防に使用するためのものである。本発明の組成物は、ブドウ膜炎の動物モデルにおいて疾患の発生率及び疾患の重症度の低減をもたらし、そのためブドウ膜炎の治療又は予防において有用でありうる。ブドウ膜炎は、ブドウ膜の炎症であり、それによって網膜組織の破壊が起こりうる。ブドウ膜炎は、異なる解剖学的形態（前部、中間部、後部、又はびまん性）で存在する場合があり、全身性の自己免疫障害を含む、異なるが関連する原因により起こりうる。ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路は、ブドウ膜炎に中心的に関係していることから、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の予防又は治療にとって特に有効でありうる。参考文献Zhang (2015) Inflammation. Aug 23、Sun etal.(2015) Cytokine. 74(1):76-80、Mucientes et al. (2015)BrJ Ophthalmol. 99(4):566-70、Jawad et al. (2013)OculImmunol Inflamm. 21(6):434-9、Maya et al. (2014) J.Ophthalmology.310329、Chi et al. (2007) J. Allergy and Clinical Immunology. 119(5):1218-1224、Chi et al.(2008)Investigative Ophthalmology &Visual Science. 49(7): 3058-3064、Luger and Caspi (2008) Semin. Immunopathol. 30(2): 134-143は、ブドウ膜炎の患者においてインターロイキン－１７Ａの血清レベルが上昇していること、ＩＬ－１７Ａ遺伝子バリアントと全ブドウ膜炎との特異的関連、実験的自己免疫性ブドウ膜炎の病原性におけるＴｈ１７関連サイトカインの役割、単相性実験的自己免疫性ブドウ膜炎におけるＴｈ１７細胞と調節性Ｔ細胞との不均衡、ブドウ膜炎及び活動性アダマンチアデス－ベーチェット病及びフォークト－小柳－原田（ＶＫＨ，Vogt-Koyanagi-Harada）病の患者におけるＩＬ－１７Ａの上方調節、ブドウ膜炎の眼におけるセクキヌマブ（抗ＩＬ－１７Ａ抗体）及びＴｈ１７による非感染性ブドウ膜炎の治療について記述している。

【００８７】

特定の実施形態において、ブドウ膜炎は後部ブドウ膜炎である。後部ブドウ膜炎は主に網膜及び脈絡膜の炎症として出現し、本発明の組成物は、網膜の炎症及び損傷を低減させるために有効でありうる。

【００８８】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、網膜損傷の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ブドウ膜炎の治療において網膜損傷の

低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、組成物は、網膜損傷のリスクがある重度のブドウ膜炎の患者の治療に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって視神経乳頭の炎症の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、視神経乳頭の炎症の低減又は予防に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、炎症細胞による網膜組織浸潤の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症細胞による網膜組織浸潤の低減に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、視力が維持されるか又は改善される。特定の実施形態において、本発明の組成物は、視力の維持又は改善に使用するためのものである。

【００８９】

特定の実施形態において、組成物は、非感染疾患又は自己免疫疾患、例えばベーチェット病、クローン病、フックス虹彩毛様体炎、多発血管炎性肉芽腫症、ＨＬＡ－Ｂ２７関連ブドウ膜炎、若年性特発性関節炎、サルコイドーシス、脊椎関節炎、交感性眼炎、尿細管間質性腎炎、及びブドウ膜炎症候群、又はフォークト－小柳－原田症候群に関連するブドウ膜炎の治療又は予防に使用するためのものである。ＩＬ－１７Ａは、例えばベーチェット病及びフォークト－小柳－原田病に関係していることが示されている。

【００９０】

ブドウ膜炎の治療又は予防は、例えば症状の重症度の軽減又は再発の予防を指してもよい。

【００９１】

がんの治療

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物の投与によって、いくつかの腫瘍モデルにおける腫瘍増殖の低減が起こりうることが実証されている。

【００９２】

特定の実施形態において、本発明の組成物による治療によって、腫瘍サイズの低減又は腫瘍増殖の低減が起こる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、腫瘍サイズの低減又は腫瘍増殖の低減に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、腫瘍サイズ又は腫瘍増殖を低減するために有効でありうることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、固形腫瘍を有する患者に使用するためのものである。特定の実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療において血管新生の低減又は予防に使用するためのものである。ＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞は、血管新生において中心的な役割を有する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、転移の予防に使用するためのものである。

【００９３】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、乳がんの治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、乳がんを治療するために有効でありうることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、乳がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんは乳腺癌である。好ましい実施形態において、がんはステージＩＶの乳がんである。

【００９４】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、肺がんの治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、肺がんを治療するために有効でありうることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、肺がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんは肺癌である。

【００９５】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、肝臓がんの治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、肝臓がんを治療するために有効であり

うることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、肝臓がんの治療において、腫瘍サイズの低減、腫瘍増殖の低減、又は血管新生の低減に使用するためのものである。好ましい実施形態において、がんはヘパトーマ（肝細胞がん）である。

【００９６】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、がん腫の治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、多数の種類のがん腫の治療にとって有効でありうることが実証されている。特定の実施形態において、本発明の組成物は、非免疫原性がんの治療又は予防に使用するためのものである。実施例により、本発明の組成物が、非免疫原性がんを治療するために有効でありうることが実証されている。

【００９７】

ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路は、がんの発生及び進行において中心的な役割を有し、がんにおけるＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞の役割は完全には理解されていないが、ＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞の様々な腫瘍促進性の効果が知られている。例えば、Ｔｈ１７細胞及びＩＬ－１７は、血管新生を促進し、腫瘍細胞の増殖及び生存を増加させ、腫瘍促進性の転写因子を活性化することができる（Numasaki et al. (2003) Blood. 101:2620-2627、Zhangetal. (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun. 374: 533-537、Karin(2006) Nature. 441: 431-436）。したがって、本発明の組成物は、がんを治療又は予防するために
有用でありうる。さらに、実施例により、本発明の組成物が、乳がん、肺がん、及び肝臓がんの腫瘍体積を低減させるために有効であること、並びにＩＬ－１７及びＴｈ１７細胞がこれらの特異的な型のがんにおいて重要な役割を有することが実証されている（Faghih et al. (2013). Iranian Journal of Immunology. 10(4):193-204、Numasaki et al. (2005) J. Immunol. 175: 6177-6189、Hammerich and Tacke (2014) Clin Exp Gastroenterol. 7:297-306）。

【００９８】

がんに及ぼす本発明の組成物の治療効果は、炎症促進性のメカニズムによって媒介されうる。炎症は、がん抑制効果（Haabethetal. (2012) OncoImmunology 1(1):1146-1152
）を有しうることから、炎症促進性サイトカイン、例えばＴＮＦαががんの治療薬として研究されている（Lejeuneetal. (2006) Cancer Immun. 6:6）。本発明の組成物は、類似のメカニズムを通してがんを治療するために有用でありうる。例えば、本発明の組成物は、ＩＦＮ－γ型の応答を誘発しうる。ＩＦＮ－γは、殺腫瘍活性を刺激することができる強力なマクロファージ活性化因子であり（Pace et al. (1983) PNAS. 80:8782-6）、例えばＣＸＣＬ９及びＣＸＣＬ１０も同様に抗がん作用を有する（Sgadari et al. (1996) PNAS. 93:13791-6、Arenbergetal. (1996) J. Exp. Med. 184:981-92、Sgadari et al. (1997) Blood. 89:2635-43）。したがって、特定の実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療における炎症の促進に使用するためのものである。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、がんの治療におけるＴｈ１炎症の促進に使用するためのものである。Ｔｈ１細胞はＩＦＮ－γを産生し、強力な抗がん作用を有する（Haabeth et al. (2012) OncoImmunology 1(1):1146-1152）。特定の実施形態において、本発明の組成物は
、初期ステージのがん、例えば転移していない、又はステージ０若しくはステージ１のがんの治療に使用するためのものである。炎症の促進は、初期ステージのがんに対してより有効でありうる（Haabeth et al. (2012) OncoImmunology 1(1):1146-1152）。特定の実
施形態において、本発明の組成物は、第２の抗がん剤の効果を増強するために炎症の促進に使用するためのものである。

【００９９】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ，acutelymphoblasticleukemia）、急性骨髄性白血病、副腎皮質がん、基底細胞がん、胆管が

ん、膀胱がん、骨腫瘍、骨肉腫／悪性線維性組織球腫、脳幹部神経膠腫、脳腫瘍、小脳星細胞腫、大脳星細胞腫／悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉腫瘍、乳がん、気管支腺腫／カルチノイド、バーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、頸がん、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄増殖障害、結腸がん、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、ユーイング肉腫、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ，gastrointestinal stromal tumor）、胚細胞腫瘍、小児視床下部性視路神経膠腫、ホジキンリンパ腫、黒色腫、膵島細胞がん、カポジ肉腫、腎細胞がん、喉頭がん、白血病、リンパ腫、中皮腫、神経芽腫、非ホジキンリンパ腫、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、副甲状腺がん、咽頭がん、下垂体腺腫、形質細胞新生物、前立腺がん、腎細胞がん、網膜芽腫、肉腫、精巣がん、甲状腺がん、又は子宮がんの治療又は予防に使用するためのものである。

【０１００】

本発明の組成物は、さらなる治療剤と併用して使用した場合に特に有効でありうる。本発明の組成物の免疫調節効果は、より直接的な抗がん剤と併用すると有効でありうる。したがって、特定の実施形態において、本発明は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌又はそのバイオタイプと抗がん剤とを含む組成物を提供する。好ましい実施形態において、抗がん剤は、免疫チェックポイント阻害剤、標的化抗体免疫療法、ＣＡＲ－Ｔ細胞療法、腫瘍溶解性ウイルス、又は細胞分裂阻害薬である。好ましい実施形態において、組成物は、Yervoy（イピリムマブ、BMS社製）；Keytruda（ペムブロリズマブ、Merck社製）；Opdivo（ニボルマブ、BMS社製）；MEDI4736（AZ/MedImmune社製）；MPDL3280A（Roche/Genentech社製）；トレメリムマブ（AZ/MedImmune社製）；CT-011（ピディリズマブ、CureTech社製）；BMS-986015（リリルマブ、BMS社製）；MEDI0680（AZ/MedImmune社製）；MSB-0010718C（Merck社製）；PF-05082566（Pfizer社製）；MEDI6469（AZ/MedImmune社製）；BMS-986016（BMS社製）；BMS-663513（ウレルマブ、BMS社製）；IMP321（PrimaBiomed社製）；LAG525（Novartis社製）；ARGX-110（arGEN-X社製）；PF-05082466（Pfizer社製）；CDX-1127（バルリルマブ；CellDex Therapeutics社製）；TRX-518（GITR Inc.社製）；MK-4166（Merck社製）；JTX-2011（JounceTherapeutics社製）；ARGX-115（arGEN-X社製）；NLG-9189（インドキシモド、NewLink Genetics社製）；INCB024360（Incyte社製）；IPH2201（InnateImmotherapeutics/AZ社製）；NLG-919（NewLinkGenetics社製）；抗VISTA（JnJ社製）；エパカドスタット（Epacadostat）（INCB24360、Incyte社製）；F001287（Flexus/BMS社製）；CP 870893（University of Pennsylvania社製）；MGA271（Macrogenix社製）；エマクツズマブ（Emactuzumab）（Roche/Genentech社製）；ガルニセルチブ（Eli Lilly社製）；ウロクプルマブ（BMS社製）；BKT140/BL8040（Biokine Therapeutics社製）；バビツキシマブ（Peregrine Pharmaceuticals社製）；CC 90002（Celgene社製）；852A（Pfizer社製）；VTX-2337（VentiRx Pharmaceuticals社製）；IMO-2055（Hybridon、IderaPharmaceuticals社製）；LY2157299（EliLilly社製）；EW-7197（Ewha Women'sUniversity社製、Korea）；ベムラフェニブ（Plexxikon社製）；ダブラフェニブ（Genentech/GSK社製）；BMS-777607（BMS社製）；BLZ945（MemorialSloan-Kettering Cancer Centre社製）；Unituxin（ジヌツキシマブ、United Therapeutics Corporation社製）；Blincyto（ブリナツモマブ、Amgen社製）；Cyramza（ラムシルマブ、EliLilly社製）；Gazyva（オビヌツズマブ、Roche/Biogen社製）；Kadcyla（アドトラスツズマブエムタンシン、Roche/Genentech社製）；Perjeta（ペルツズマブ、Roche/Gen

entech社製）；Adcetris（ブレンツキシマブベドチン、Takeda/Millennium社製）；Arzerra（
オファツムマブ、GSK社製）；Vectibix（パニツムマブ、Amgen社製）；Avastin（ベバシ
ズマブ、Roche/Genentech社製）；Erbitux（セツキシマブ、BMS/Merck社製）；Bexxar（
トシツモマブ－Ｉ１３１、GSK社製）；Zevalin（イブリツモマブチウキセタン、Biogen社製）；Campath（アレムツズマブ、Bayer社製）；Mylotarg（ゲムツズマブオゾガマイシン、Pfizer社製）；Herceptin（トラスツズマブ、Roche/Genentech社製）；Rituxan（リツ
キシマブ、Genentech/Biogen社製）；ボロシキシマブ（Abbvie社製）；エナバツズマブ（Abbvie社製）；ABT-414（Abbvie社製）；エロツズマブ（Abbvie/BMS社製）；ALX-0141（Ablynx社製）；オザラリズマブ（Ozaralizumab）（Ablynx社製）；アクチマブ－Ｃ（Actinium社製）；アクチマブ－Ｐ（Actinium社製）；ミラツズマブ－ドクス（Actinium社製）
；Emab-SN-38（Actinium社製）；ナプツモマブエスタフェナトクス（Active Biotech社製）；AFM13（Affimed社製）；AFM11（Affimed社製）；AGS-16C3F（Agensys社製）；AGS-16M8F（Agensys社製）；AGS-22ME（Agensys社製）；AGS-15ME（Agensys社製）；GS-67E（Agensys社製）；ALXN6000（サマリズマブ、Alexion社製）；ALT-836（Altor Bioscience社
製）；ALT-801（Altor Bioscience社製）；ALT-803（Altor Bioscience社製）；AMG780（Amgen社製）；AMG228（Amgen社製）；AMG820（Amgen社製）；AMG172（Amgen社製）；AMG595（Amgen社製）；AMG110（Amgen社製）；AMG232（アデカツムマブ、Amgen社製）；AMG211（Amgen/MedImmune社製）；BAY20-10112（Amgen/Bayer社製）；リロツムマブ（Amgen社
製）；デノスマブ（Amgen社製）；AMP-514（Amgen社製）；MEDI575（AZ/MedImmune社製）；MEDI3617（AZ/MedImmune社製）；MEDI6383（AZ/MedImmune社製）；MEDI551（AZ/MedImmune社製）；モキセツモマブパスドトクス（AZ/MedImmune社製）；MEDI565（AZ/MedImmune社製）；MEDI0639（AZ/MedImmune社製）；MEDI0680（AZ/MedImmune社製）；MEDI562（AZ/MedImmune社製）；AV-380（AVEO社製）；AV203（AVEO社製）；AV299（AVEO社製）；BAY79-4620（Bayer社製）；アネツマブラブタンシン（Bayer社製）；バンチクツマブ（Bayer社製）
；BAY94-9343（Bayer社製）；シブロツズマブ（Boehringer Ingleheim社製）；BI-836845（Boehringer Ingleheim社製）；B-701（BioClin社製）；BIIB015（Biogen社製）；
オビヌツズマブ（Biogen/Genentech社製）；BI-505（Bioinvent社製）；BI-1206（Bioinvent社製）；TB-403（Bioinvent社製）；BT-062（Biotest社製）BIL-010t（Biosceptre社
製）；MDX-1203（BMS社製）；MDX-1204（BMS社製）；ネシツムマブ（BMS社製）；CAN-4（CantargiaAB社製）；CDX-011（Celldex社製）；CDX1401（Celldex社製）；CDX301（Celldex社製）；U3-1565（DaiichiSankyo社製）；パトリツマブ（Daiichi Sankyo社製）；チガ
ツズマブ（Daiichi Sankyo社製）；ニモツズマブ（DaiichiSankyo社製）；DS-8895（DaiichiSankyo社製）；DS-8873（DaiichiSankyo社製）；DS-5573（DaiichiSankyo社製
）；MORab-004（Eisai社製）；MORab-009（Eisai社製）；MORab-003（Eisai社製）；MORab-066（Eisai社製）；LY3012207（Eli Lilly社製）；LY2875358（Eli Lilly社製）；LY2812176（Eli Lilly社製）；LY3012217（Eli Lilly社製）；LY2495655（Eli Lilly社製）；LY3012212（Eli Lilly社製）；LY3012211（Eli Lilly社製）
；LY3009806（Eli Lilly社製）；シクスツムマブ（Eli Lilly社製）；フランボツマブ（

Eli Lilly社製）；IMC-TR1（Eli Lilly社製）；ラムシルマブ（Eli Lilly社製）；タバルマブ（Eli Lilly社製）；ザノリムマブ（Emergent Biosolution社製）；FG-3019（FibroGen社製）；FPA008（FivePrime
Therapeutics社製）；FP-1039（FivePrimeTherapeutics社製）；FPA144（FivePrime
Therapeutics社製）；カツマキソマブ（Fresenius Biotech社製）；IMAB362（Ganymed社
製）；IMAB027（Ganymed社製）；HuMax-CD74（Genmab社製）；HuMax-TFADC（Genmab社製
）；GS-5745（Gilead社製）；GS-6624（Gilead社製）；OMP-21M18（デムシズマブ、GSK社製）；マパツムマブ（GSK社製）；IMGN289（ImmunoGen社製）；IMGN901（ImmunoGen社製
）；IMGN853（ImmunoGen社製）；IMGN529（ImmunoGen社製）；IMMU-130（Immunomedics社製）；ミラツズマブ－ドクス（Immunomedics社製）；IMMU-115（Immunomedics社製）；IMMU-132（Immunomedics社製）；IMMU-106（Immunomedics社製）；IMMU-102（Immunomedics社製）；エプラツズマブ（Immunomedics社製）；クリバツズマブ（Immunomedics社製）；IPH41（Innate Immunotherapeutics社製）；ダラツムマブ（Janssen/Genmab社製）；CNTO-95（インテツムマブ、Janssen社製）；CNTO-328（シルツキシマブ、Janssen社製）；KB004（KaloBios社製）；モガムリズマブ（Kyowa Hakko Kirrin社製）；KW-2871（エクロメ
キシマブ、Life Science社製）；ソネプシズマブ（Lpath社製）；マルゲツキシマブ（Margetuximab）（Macrogenics社製）；エノブリツズマブ（Macrogenics社製）；MGD006（Macrogenics社製）；MGF007（Macrogenics社製）；MK-0646（ダロツズマブ、Merck社製）；MK-3475（Merck社製）；Sym004（Symphogen/Merck Serono社製）；DI17E6（Merck Serono
社製）；MOR208（Morphosys社製）；MOR202（Morphosys社製）；Xmab5574（Morphosys社
製）；BPC-1C（エンシツキシマブ、PrecisionBiologics社製）；TAS266（Novartis社製
）；LFA102（Novartis社製）；BHQ880（Novartis/Morphosys社製）；QGE031（Novartis社製）；HCD122（ルカツムマブ、Novartis社製）；LJM716（Novartis社製）；AT355（Novartis社製）；OMP-21M18（デムシズマブ、OncoMed社製）；OMP52M51（Oncomed/GSK社製）；OMP-59R5（Oncomed/GSK社製）；バンチクツマブ（Oncomed/Bayer社製）；CMC-544（イノ
ツズマブオゾガマイシン、Pfizer社製）；PF-03446962（Pfizer社製）；PF-04856884（Pfizer社製）；PSMA-ADC（Progenics社製）；REGN1400（Regeneron社製）；REGN910（ネス
バクマブ、Regeneron/Sanofi社製）；REGN421（エノチクマブ、Regeneron/Sanofi社製）
；RG7221、RG7356、RG7155、RG7444、RG7116、RG7458、RG7598、RG7599、RG7600、RG7636、RG7450、RG7593、RG7596、DCDS3410A、RG7414（パルサツズマブ）、RG7160（イムガツ
ズマブ）、RG7159（オビヌツズマブ）、RG7686、RG3638（オナルツズマブ）、RG7597（Roche/Genentech社製）；SAR307746（Sanofi社製）；SAR566658（Sanofi社製）；SAR650984（Sanofi社製）；SAR153192（Sanofi社製）；SAR3419（Sanofi社製）；SAR256212（Sanofi社製）、SGN-LIV1A（リンツズマブ、Seattle Genetics社製）；SGN-CD33A（Seattle Genetics社製）；SGN-75（ボルセツズマブマホドチン、Seattle Genetics社製）；SGN-19A（Seattle Genetics社製） SGN-CD70A（Seattle Genetics社製）；SEA-CD40（Seattle Genetics社製）；イブリツモマブチウキセタン（Spectrum社製）；MLN0264（Takeda社製）；

ガニツマブ（Takeda/Amgen社製）；CEP-37250（Teva社製）；TB-403（Thrombogenic社製
）；VB4-845（Viventia社製）；Xmab2512（Xencor社製）；Xmab5574（Xencor社製）；ニ
モツズマブ（YM Biosciences社製）；カルルマブ（Janssen社製）；NY-ESO TCR（Adaptimmune社製）；MAGE-A-10 TCR（Adaptimmune社製）；CTL019（Novartis社製）；JCAR015（Juno Therapeutics社製）；KTE-C19 CAR（Kite Pharma社製）；UCART19（Cellectis社製）；BPX-401（Bellicum Pharmaceuticals社製）；BPX-601（Bellicum Pharmaceuticals社製）；ATTCK20（Unum Therapeutics社製）；CAR-NKG2D（Celyad社製）；Onyx-015（OnyxPharmaceuticals社製）；H101（ShanghaiSunwaybio社製）；DNX-2401（DNAtrix社製）；VCN-01（VCN Biosciences社製）；Colo-Ad1（PsiOxus Therapeutics社製）；ProstAtak（Advantagene社製）；Oncos-102（Oncos Therapeutics社製）；CG0070（Cold Genesys社製）；Pexa-vac（JX-594、JennerexBiotherapeutics社製）；GL-ONC1（Genelux社製）；T-VEC（Amgen社製）；G207（Medigene社製）；HF10（TakaraBio社製）；SEPREHVIR（HSV1716,VirttuBiologics社製）；OrienX010（OrienGeneBiotechnology社製）；Reolysin（OncolyticsBiotech社製）；SVV-001（Neotropix社製）；Cacatak（CVA21、Viralytics社製
）；Alimta（Eli Lilly社製）、シスプラチン、オキサリプラチン、イリノテカン、フォリン酸、メトトレキサート、シクロホスファミド、５－フルオロウラシル、Zykadia（Novartis社製）、Tafinlar（GSK社製）、Xalkori（Pfizer社製）、Iressa（AZ社製）、Gilotrif（Boehringer Ingelheim社製）、Tarceva（Astellas Pharma社製）、Halaven（Eisai Pharma社製）、ベリパリブ（Abbvie社製）、AZD9291（AZ社製）、アレクチニブ（Chugai
社製）、LDK378（Novartis社製）、ガネテスピブ（Synta Pharma社製）、テルジェンプマツセル－Ｌ（NewLinkGenetics社製）、GV1001（Kael-GemVax社製）、チバンチニブ（ArQule社製）；サイトキサン（BMS社製）；オンコビン（Eli Lilly社製）；アドリアマイシ
ン（Pfizer社製）；ゲムザール（Eli Lilly社製）；Xeloda（Roche社製）；Ixempra（BMS社製）；Abraxane（Celgene社製）；Trelstar（Debiopharm社製）；Taxotere（Sanofi社
製）；Nexavar（Bayer社製）；IMMU-132（Immunomedics社製）；E7449（Eisai社製）；Thermodox（Celsion社製）；Cometriq（Exellxis社製）；Lonsurf（Taiho Pharmaceuticals社製）；Camptosar（Pfizer社製）
；UFT（Taiho Pharmaceuticals社製）；及びTS-1（Taiho Pharmaceuticals社製）からな
る群から選択される抗がん剤を含む。

【０１０１】

投与様式

好ましくは、本発明の組成物は、本発明の細菌株の腸管への送達及び／又は腸管での部分的若しくは完全な定着を可能にするために、消化管に投与される。一般的に、本発明の組成物は経口投与されるが、それらは直腸、鼻腔内、又は口腔内若しくは舌下経路によって投与されてもよい。

【０１０２】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、フォーム（foam）、スプレー、又はゲルとして投与されてもよい。

【０１０３】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、直腸内坐剤などの坐剤として、例えばカカオ脂（ココアバター）、合成ハードファット（例えば、ｓｕｐｐｏｃｉｒｅ、ウイテプゾール）、グリセロゼラチン、ポリエチレングリコール、又はソープグリセリン組成物の

形態で投与されてもよい。
【０１０４】
特定の実施形態において、本発明の組成物は、チューブ、例えば経鼻胃チューブ、経口胃チューブ、胃チューブ、空腸瘻チューブ（Ｊチューブ）、経皮内視鏡胃瘻（ＰＥＧ，percutaneous endoscopic gastrostomy）を介して、又はポート、例えば胃、十二指腸へのアクセスを提供する胸壁ポート、及び他の好適なアクセスポートを介して消化管に投与される。
【０１０５】
本発明の組成物は、１回投与されてもよく、又は治療レジメンの一部として連続的に投与されてもよい。特定の実施形態において、本発明の組成物は、毎日投与される。
【０１０６】
本発明の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評価を伴う。本発明の株の送達及び／若しくは部分的若しくは完全な定着が達成されず、有効性が観察されなければ治療を繰り返してもよく、又は送達及び／若しくは部分的若しくは完全な定着が成功して有効性が観察されれば治療を中止してもよい。
【０１０７】
特定の実施形態において、本発明の組成物は、炎症又は自己免疫疾患がその子宮内の子供及び／又は出産後の子供に発症するのを予防するために妊娠中の動物、例えばヒトなどの哺乳動物に投与されてもよい。
【０１０８】
本発明の組成物は、ＩＬ－１７若しくはＴｈ１７経路によって媒介される疾患若しくは状態を有すると診断されている患者、又はＩＬ－１７若しくはＴｈ１７経路によって媒介される疾患若しくは状態のリスクがあると特定されている患者に投与されてもよい。組成物はまた、健康な患者におけるＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態の発症を予防するための予防的手段として投与されてもよい。
【０１０９】
本発明の組成物は、異常な腸内微生物叢を有すると特定されている患者に投与されてもよい。例えば、患者は、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌の定着が低減していてもよく、又は定着していなくてもよい。
【０１１０】
本発明の組成物は、食品、例えば栄養サプリメントとして投与されてもよい。
【０１１１】
一般的に本発明の組成物は、ヒトの治療のためであるが、本発明の組成物を、単胃哺乳動物、例えば家禽、ブタ、ネコ、イヌ、ウマ、又はウサギを含む動物を治療するために使用してもよい。本発明の組成物は、動物の成長及び能力を増強するために有用でありうる。動物に投与する場合、強制経口投与を使用してもよい。
【０１１２】
組成物
一般的に、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製剤化される。例えば、本発明の組成物は、本発明の細菌株を含む顆粒剤又はゼラチンカプセル、例えば硬ゼラチンカプセルを含みうる。
【０１１３】
好ましくは、本発明の組成物は、凍結乾燥細菌を含む。細菌の凍結乾燥は十分に確立された手順であり、関連する指針を、例えば参考文献Miyamoto-Shinohara et al. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9-24、Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols,ed. by Day andMcLellan, Humana Press、Leslie et al.(1995) Appl.Environ. Microbiol. 61, 3592-3597で入手することができる。
【０１１４】
あるいは、本発明の組成物は、生きた活性な細菌培養物を含んでもよい。

【０１１５】
好ましい実施形態において、本発明の組成物は、腸管に細菌株を送達することができるようにカプセル化されている。カプセル化は、ｐＨの変化によって誘発されてもよい化学的又は物理的刺激、例えば圧力、酵素活性、又は物理的崩壊によって破裂させることによって、目標とする位置に送達するまで組成物を分解から保護する。任意の適切なカプセル化法が用いられうる。例示的なカプセル化技術としては、多孔質マトリクス内の捕捉、固体担体表面への接着若しくは吸着、フロキュレーション又は架橋剤による自己凝集、及び微孔性の膜若しくはマイクロカプセルへの機械的封じ込めが挙げられる。本発明の組成物を調製するために有用でありうるカプセル化の指針は、例えば参考文献Mitropoulou et al. (2013) J Nutr Metab. (2013) 716861及びKailasapathy et al. (2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48で入手することができる。

【０１１６】
組成物は、経口投与されてもよく、錠剤、カプセル剤、又は散剤の形態であってもよい。受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌は嫌気性でありうることから、カプセル封入された産物が好ましい。インビボでの送達並びに／又は部分的若しくは完全な定着及び生存を改善するために、他の成分（例えばビタミンＣ）を、酸素スキャベンジャー及びプレバイオティック基質として含ませてもよい。あるいは、本発明のプロバイオティック組成物は、食品若しくは栄養製品、例えばミルク若しくは乳清ベースの発酵乳製品、又は医薬品として経口投与されてもよい。

【０１１７】
組成物はプロバイオティックとして製剤化されてもよい。

【０１１８】
本発明の組成物は、本発明の細菌株の治療有効量を含む。細菌株の治療有効量は、患者に対して有益な効果を発揮するために十分である。細菌株の治療有効量は、患者の腸管への送達及び／又は部分的若しくは完全な定着が起こるために十分でありうる。

【０１１９】
例えば成人に関する細菌の好適な１日量は、約1×10^{3}～約1×10^{11}コロニー形成単位（ＣＦＵ，colony forming unit）、例えば約1×10^{7}～約1×10^{10}ＣＦＵであってもよく、別の例では約1×10^{6}～約1×10^{10}ＣＦＵであってもよい。

【０１２０】
特定の実施形態において、組成物は、組成物の重量１ｇあたり約1×10^{6}～約1×10^{11}ＣＦＵの量の細菌株を含有し、例えば約1×10^{8}～約1×10^{10}ＣＦＵ／ｇの量の細菌株を含む。用量は、例えば、１ｇ、３ｇ、５ｇ、及び１０ｇであってもよい。

【０１２１】
典型的には、プロバイオティック、例えば本発明の組成物を、少なくとも１つの好適なプレバイオティック化合物と組み合わせてもよい。プレバイオティック化合物は通常、オリゴ糖若しくは多糖などの消化できない炭水化物、又は上部消化管で分解若しくは吸収されない糖アルコールである。公知のプレバイオティクスとしては、市販の製品、例えばイヌリン及びトランスガラクトオリゴ糖が挙げられる。

【０１２２】
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、プレバイオティック化合物を、組成物の全重量に対して約１～約３０重量％（例えば、５～２０重量％）の量で含む。炭水化物は、フラクトオリゴ糖（又はＦＯＳ、fructo-oligosaccharides）、短鎖フラクトオリゴ糖、イヌリン、イソマルトオリゴ糖、ペクチン、キシロオリゴ糖（又はＸＯＳ、xylo-oligosaccharides）、キトサンオリゴ糖（又はＣＯＳ、chitosan-oligosaccharides）、ベータグルカン、アレイブル（arable）ゴム改変レジスタントスターチ、ポリデキストロース、Ｄ－タガトース、アカシアファイバー、キャロブ、オート麦、及びシトラスファイバーからなる群から選択されうる。１つの態様において、プレバイオティクスは、短鎖フラクトオリゴ糖（本明細書において単純にするために、以降ＦＯＳｓ－ｃ．ｃ（short-chain fructo-oligosaccharide）として示す）であり、前記ＦＯＳｓ－

ｃ．ｃは、消化されない炭水化物であり、一般的にはビートシュガーの変換によって得られ、３つ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む。

【０１２３】

本発明の組成物は、薬学的に許容される賦形剤又は担体を含んでもよい。そのような好適な賦形剤の例は、参考文献Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJWellerに見出されうる。治療での使用のために許容可能な担体又は希釈剤は、薬学分野において周知であり、例えば、参考文献Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R.Gennaro edit. 1985)に記載されて
いる。好適な担体の例としては、ラクトース、スターチ、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。好適な希釈剤の例には、エタノール、グリセロール、及び水が挙げられる。薬学的担体、賦形剤、又は希釈剤の選択は、意図される投与経路及び標準的な薬学の実践に関して選択することができる。医薬組成物は、担体、賦形剤、若しくは希釈剤として、又は担体、賦形剤、若しくは希釈剤に加えて、いかなる好適な結合剤、潤滑剤、懸濁剤、コーティング剤、可溶化剤を含んでもよい。好適な結合剤の例としては、スターチ、ゼラチン、天然の糖、例えばグルコース、無水乳糖、流動性乳糖、ベータ乳糖、コーンシロップなど、天然及び合成ゴム、例えばアカシア、トラガカントなど、又はアルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース及び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は、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。保存剤、安定剤、色素、及び香味料も医薬組成物中に提供されてもよい。保存剤の例としては、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が挙げられる。抗酸化剤及び懸濁剤も同様に使用してもよい。

【０１２４】

本発明の組成物は、食品として処方されてもよい。例えば、食品は、例えば栄養サプリメントのように、本発明の治療効果に加えて、栄養上の利益をもたらしうる。同様に、本発明の組成物の味を向上させるように、又は医薬組成物よりむしろ一般的な食品により類似することによって消費者に組成物をより魅力的にするように、食品を処方してもよい。特定の実施形態において、本発明の組成物は乳製品として処方される。用語「乳製品」は、多様な脂肪含有量を有するいかなる液体又は半固体のミルク又は乳清ベースの製品も意味する。乳製品は、例えば牛乳、ヤギ乳、ヒツジ乳、スキムミルク、全乳、粉乳から還元したミルク、及び加工していない乳清、又は加工製品、例えばヨーグルト、凝固乳、カード、サワーミルク、サワー全乳、バターミルク、及び他のサワーミルク製品でありうる。別の重要な群としては、乳飲料、例えば乳清飲料、発酵乳、コンデンスミルク、幼児用又はベビーミルク；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。

【０１２５】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、１つの細菌株又は種を含有し、他のいかなる細菌株又は種も含有しない。そのような組成物は、ごく微量の又は生物学的に無関係な量の他の細菌株又は種を含んでもよい。そのような組成物は、他の生物体の種を実質的に含まない培養物であってもよい。

【０１２６】

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てもよく、必要としなくてもよい。

【０１２７】

いくつかの例において、凍結乾燥細菌株は、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、本明細書において記述される希釈剤の使用によって行われる。

【０１２８】

本発明の組成物は、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体を含みうる。

【０１２９】
特定の実施形態において、本発明は、本発明の細菌株と、薬学的に許容される賦形剤、担体、又は希釈剤とを含む医薬組成物であって、細菌株が、それを必要とする対象に投与した場合に障害を治療するために十分な量で存在し、障害が、喘息、アレルギー性喘息、好中球性喘息、変形性関節症、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、視神経脊髄炎（デビック病）、強直性脊椎炎、脊椎関節炎、全身性紅斑性狼瘡、セリアック病、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、がん、乳がん、結腸がん、肺がん、卵巣がん、ブドウ膜炎、強膜炎、血管炎、ベーチェット病、アテローム性動脈硬化症、アトピー性皮膚炎、肺気腫、歯周炎、アレルギー性鼻炎、及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される、医薬組成物を提供する。

【０１３０】
特定の実施形態において、本発明は、本発明の細菌株と、薬学的に許容される賦形剤、担体、又は希釈剤とを含む医薬組成物であって、細菌株が、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために十分な量で存在する、医薬組成物を提供する。好ましい実施形態において、前記疾患又は状態は、関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、喘息、アレルギー性喘息、好中球性喘息、変形性関節症、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、視神経脊髄炎（デビック病）、強直性脊椎炎、脊椎関節炎、全身性紅斑性狼瘡、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、がん、乳がん、結腸がん、肺がん、卵巣がん、ブドウ膜炎、強膜炎、血管炎、ベーチェット病、アテローム性動脈硬化症、アトピー性皮膚炎、肺気腫、歯周炎、アレルギー性鼻炎、及び同種異系移植片拒絶からなる群から選択される。

【０１３１】
特定の実施形態において、本発明は、細菌株の量が、組成物の重量１グラムあたり約１×１０^{3}～約１×１０^{11}コロニー形成単位である、上記医薬組成物を提供する。

【０１３２】
特定の実施形態において、本発明は、１ｇ、３ｇ、５ｇ、又は１０ｇの用量で投与される、上記医薬組成物を提供する。

【０１３３】
特定の実施形態において、本発明は、経口、直腸内、皮下、鼻腔内、口腔内、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。

【０１３４】
特定の実施形態において、本発明は、乳糖、スターチ、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。

【０１３５】
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。

【０１３６】
特定の実施形態において、本発明は、スターチ、ゼラチン、グルコース、無水乳糖、流動性乳糖、ベータ乳糖、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。

【０１３７】
特定の実施形態において、本発明は、保存剤、抗酸化剤、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。

【０１３８】
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保存剤を含む、上記医薬組成物を提

供する。
【０１３９】
特定の実施形態において、本発明は、前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。
【０１４０】
特定の実施形態において、本発明は、組成物を密封容器中で約４℃又は約２５℃で保存して、容器を相対湿度５０％の雰囲気中に置いた場合に、コロニー形成単位として測定した細菌株の少なくとも８０％が少なくとも約１か月、３か月、６か月、１年、１．５年、２年、２．５年、又は３年の期間残っている、上記医薬組成物を提供する。
【０１４１】
培養方法
本発明に使用するための細菌株は、例えば参考文献Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press、Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C.Hunter-Cevera,Academic Press、Strobel (2009) Methods MolBiol.581:247-61に詳述されている標準的な微生物学の技術を使用して培養することができる。
【０１４２】
培養に使用する固体又は液体培地は、ＹＣＦＡ寒天又はＹＣＦＡ培地であってもよい。ＹＣＦＡ培地は、（１００ｍｌあたり、概算値）カシトン（１．０ｇ）、酵母抽出物（０．２５ｇ）、$NaHCO_3$（０．４ｇ）、システイン（０．１ｇ）、K_2HPO_4（０．０４５ｇ）、KH_2PO_4（０．０４５ｇ）、ＮａＣｌ（０．０９ｇ）、$(NH_4)_2SO_4$（０．０９ｇ）、$MgSO_4・7H_2O$（０．００９ｇ）、$CaCl_2$（０．００９ｇ）、レサズリン（０．１ｍｇ）、ヘミン（１ｍｇ）、ビオチン（１μｇ）、コバラミン（１μｇ）、ｐ－アミノ安息香酸（３μｇ）、フォリン酸（５μｇ）、及びピリドキサミン（１５μｇ）を含みうる。
【０１４３】
ワクチン組成物に使用するための細菌株
本発明者らは、本発明の細菌株がＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を治療又は予防するために有用であることを特定した。これは、おそらく、本発明の細菌株が宿主免疫系に効果を及ぼした結果である。したがって、本発明の組成物は、また、ワクチン組成物として投与した場合に、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患又は状態を予防するためにも有用でありうる。特定のそのような実施形態において、本発明の細菌株を、殺滅、不活化、又は弱毒化させてもよい。特定のそのような実施形態において、組成物は、ワクチンアジュバントを含んでもよい。特定の実施形態において、組成物は、注射による投与、例えば皮下注射による投与用である。
【０１４４】
全般
本発明の実践は、特に示されていなければ、当業者の能力範囲内である化学、生化学、分子生物学、免疫学、及び薬理学の通常の方法を使用する。そのような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、参考文献Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20thedition, ISBN: 0683306472及びMolecular BiologyTechniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream et al., eds., 1998, AcademicPress)、Methods In Enzymology (S. Colowick and N.Kaplan,eds., Academic Press, Inc.)、Handbook of ExperimentalImmunology, Vols. I IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds,
1986,Blackwell Scientific Publications)、Sambrook etal.(2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (Cold SpringHarbor Laboratory Press)、Handbook of Surface andColloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)、Ausubeletal. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, 5th edition (Current

Protocols)、PCR (Introduction to BiotechniquesSeries),2nd ed. (Newton & Graham
eds., 1997, Springer Verlag)等を参照されたい。
【０１４５】
用語「含む（comprising）」は、「含む（including）」並びに「からなる」を包含し、例えばＸ「を含む」組成物は、Ｘのみからなってもよく、又は追加のもの、例えばＸ＋Ｙを含んでもよい。
【０１４６】
数値ｘに関連する用語「約」は、任意であり、例えばｘ±１０％を意味する。
【０１４７】
用語「実質的に」は、「完全に」を除外せず、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もよい。必要に応じて、用語「実質的に」を、本発明の定義から省略してもよい。
【０１４８】
２つのヌクレオチド配列間のパーセント配列同一性に対する言及は、整列させた場合に、２つの配列の比較においてヌクレオチドのパーセントが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又は配列同一性は、当技術分野で公知のソフトウェアプログラム、例えば参考文献Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al.,eds.,1987) Supplement 30の７．７．１８章に記載のプログラムを使用して決定することができる。好ましいアラインメントは、ギャップオープンペナルティ１２及びギャップ伸長ペナルティ２、ＢＬＯＳＵＭ行列６２と共にアフィンギャップ検索を使用するSmith-Watermanの相同性検索アルゴリズムによって決定される。Smith-Watermanの相同性検索アルゴリズムは、参考文献Smith &Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489に開示される。
【０１４９】
具体的に示していなければ、多数のステップを含む工程又は方法は、方法の開始若しくは終了時に追加のステップを含んでもよく、又は追加の介在ステップを含んでもよい。同様に、必要に応じて、ステップを結合、省略、又は別の順序で行ってもよい。
【０１５０】
本発明の多様な実施形態を本明細書において記述する。それぞれの実施形態において明記された特徴を他の明記された特徴と結びつけて、さらなる実施形態を提供してもよいと認識される。特に、本明細書において好適である、典型である、又は好ましいと強調された実施形態を互いに組み合わせてもよい（相互に排他的である場合を除く）。
【実施例１】
【０１５１】
チリダニによる喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性
概要
マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでチリダニ（ＨＤＭ，house dust mite）抽出物をチャレンジして、アレルギー性炎症応答を誘発した。ＨＤＭに対する炎症応答は、好酸球及び好中球成分を含み、ＩＬ－１７及びＴｈ１７経路によって媒介され、喘息のモデルである。本発明の組成物によって処置したマウスが示した炎症応答の程度及び特徴を対照群と比較した。本発明の組成物は、炎症応答を軽減させて、好酸球及び好中球の動員を低減させることが見出され、このことは、本発明の組成物が、ＩＬ－１７媒介疾患、例えば好酸球増加、好中球増加、及び喘息を処置するために有用でありうることを示している。
【０１５２】
株
７５１：受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌
【０１５３】
試験計画

群：
１．陰性対照群、媒体対照による処置（経口投与）
４．治療用細菌接種株７５１による処置（経口投与）
７．陽性対照群。デキサメタゾンによる処置（腹腔内投与）
８．無処置対照群
１群当たりのマウスの数＝５
－１４～１３日目：媒体対照を毎日経口投与（群１）
－１４～１３日目：治療用細菌接種物を毎日経口投与（群２～６）
０、２、４、７、９、１１日目：容量３０μｌのＰＢＳ中のＨＤＭ（チリダニ抽出物－カタログ番号：ＸＰＢ７０Ｄ３Ａ２５、ロット番号：２３１８９７、Greer Laboratories社製、Lenoir, NC, USA）１５μｇを鼻腔内投与（群１～８）
０、２、４、７、９、１１日目：デキサメタゾンの投与（腹腔内投与、３ｍｇ／ｋｇ、Sigma-Aldrich社製、カタログ番号Ｄ１１５９）（群７）
１４日目：分析のため全ての動物の　　殺。
マウスの総数＝４０
【０１５４】
エンドポイント及び分析
　１４日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：１１７０１３９Ａ）の腹腔内注射により　　殺した直後に気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ，bronchoalveolarlavage）を行った。
【０１５５】
　細胞をＢＡＬ（気管支肺胞洗浄）液から単離して、白血球百分率を決定した（細胞数２００個／試料）。
【０１５６】
材料及び方法
　マウス。雌性７週齢ＢＡＬＢ／ｃマウスをCharles River Laboratoriesから購入して、１ケージあたり全５匹ずつ無作為にケージ（換気ケージ、Indulab AG社製、Gams, Switzerland、ケージタイプ：“Ｔｈｅ　Ｓｅａｌｓａｆｅ（商標）－ＩＶＣケージ。製品番号１２４８Ｌ）に割付した。ケージには、試験番号、群番号、及び実験開始日のラベルを貼った。マウスを毎週モニターして、試験開始（試験日－１４日）前７日間、施設に馴化させた。試験日－１４日目で、動物は８週齢であった。飲料水及び食事を自由に与えた。ケージエンリッチメントが存在した。動物の毎日の世話は、地域当局の承認番号２２８３．１（Service de la consommation et des affaires veterinaires du CantondeVaudによる発行及び承認）に従って実施した。飲料水及び食事を自由に与え、１日１回交換した。ケージエンリッチメントが存在した。実験動物の飼育、遺伝子改変動物の作製、及び動物実験法に関するＦＶＯ（スイス連邦獣医局（Federal Veterinary Office））の法令４５５．１６３の下で、スイスの当局によって示された動物福祉規則を遵守した。
【０１５７】
　細菌接種物の培養。無菌的ワークステーション内で、細菌の凍結バイアルを、手袋をはめた手で加温することによって融解して、内容物約０．７ｍｌを、嫌気性ＹＣＦＡ８ｍｌを含有するHungateチューブ（カタログ番号、１０２０４７１、GlasgeratebauOchs社製
、Bovenden-Lenglern, Germany）に注入した。通常、株あたり２本のチューブを調製した。次いで、Hungateチューブを３７℃で１６時間（株７５１）インキュベート（静置）し
た。
【０１５８】
　媒体対照の培養。嫌気性ＹＣＦＡ８ｍｌを含有するHungateチューブを３７℃で１６時間インキュベート（静置）した。
【０１５９】

細菌接種物又は媒体対照の投与。培養した細菌接種物又は媒体対照４００μｌを強制経口投与によって毎日投与した。

【０１６０】

鼻腔内感作。マウスを、９．７５ｍｇ／ｋｇのキシラソール及び４８．７５ｍｇ／ｋｇのケタソール（Dr.E.Graeub AG社製、Bern, Switzerland）の腹腔内注射によって麻酔し、鼻腔当たり容量３０μｌのＰＢＳ中のＨＤＭ（カタログ番号：ＸＰＢ７０Ｄ３Ａ２５、ロット番号：２３１８９７、Greer Laboratories社製、Lenoir, NC, USA）１５μｇを投与した。

【０１６１】

陽性対照化合物であるデキサメタゾンの調製及び投与。デキサメタゾン－２１－リン酸二ナトリウム塩（Sigma-Aldrich社製、カタログ番号Ｄ１１５９、ロット番号ＳＬＢＤ．１０３０Ｖ）をH_2Oに溶解して、上記の試験プロトコールに記載した日に３ｍｇ／ｋｇの用量を２００μｌの容量で動物に経口投与した。

【０１６２】

終了手順。１４日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：１１７０１３９Ａ）の腹腔内注射により　殺した直後に食塩水５００μｌによって気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）を行った。

【０１６３】

ＢＡＬへの細胞浸潤の測定。ＢＡＬ液から細胞を単離して、標準的な形態学及び細胞化学の基準に基づいて、白血球百分率を決定した。

【０１６４】

グラフ及び統計分析。グラフは全てGraphpad Prismバージョン６によって作製し、一元
配置ＡＮＯＶＡを適用した。統計分析の結果を個々のデータ表と共に提供した。エラーバーは、平均値の標準誤差（ＳＥＭ，Standard Error of the Mean）を表す。

【０１６５】

結果及び分析

実験結果を図１～９に示す。

【０１６６】

細菌又は媒体で処置したマウスにおいて病的状態又は死亡は認められなかった。２つの対照、すなわち媒体処置（陰性対照）及びデキサメタゾン処置（陽性対照）は、予想通りの結果を示し、デキサメタゾン処置後に好酸球増加及び好中球増加の減少が認められた。

【０１６７】

この実験の最も重要な結果を図６及び７に示し、これらはＨＤＭによるチャレンジ後の気管支肺胞洗浄液において検出された好中球の総数及びパーセントを報告する。株７５１は、媒体のみの対照と比較してＢＡＬ中の好中球の総数及び好中球の割合を低減させた。

【実施例２】

【０１６８】

重度の好中球性喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性

概要

マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでチリダニ（ＨＤＭ）抽出物の皮下投与によって感作し、鼻腔内投与によりＨＤＭをチャレンジして、重度の好中球性喘息の炎症応答のモデルとした。本発明の組成物で処置したマウスが示した炎症応答の程度及び特徴を対照群と比較した。本発明の組成物は、抗ＩＬ－１７抗体の投与を含む陽性対照と同等に炎症応答を軽減させて、特に好中球の動員を低減させることが見出された。したがって、データは、本発明の組成物がＩＬ－１７及びＴｈ１７媒介状態、例えば好中球増加及び喘息を処置するために有用でありうることを示している。

【０１６９】

株

７５１：受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌

【０１７０】
試験計画
群：
１．陰性対照群、媒体対照による処置（経口投与）
４．治療用細菌接種株７５１による処置（経口投与）
７．陽性対照群。抗ＩＬ－１７による処置（腹腔内投与）
８．無処置対照群
９．健康なマウス（ベースライン）
１群当たりのマウスの数（群１～８）＝５
－１４～１７日目：媒体対照を毎日経口投与（群１）
－１４～１７日目：治療用細菌接種物を毎日経口投与（群２～６）
０日目：ＣＦＡと混合したＨＤＭによる感作（皮下投与）（群１～８）
７日目：ＣＦＡと混合したＨＤＭによる感作（皮下投与）（群１～８）
１３、１５、１７日目：抗ＩＬ－１７中和抗体の腹腔内投与（群７）
１４、１５、１６、１７日目：鼻腔当たり３０μｌのＰＢＳ中のＨＤＭをチャレンジ（群１～８）
１８日目：分析のため全ての動物の　　殺。
【０１７１】
エンドポイント及び分析
　１４日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：１１７０１３９Ａ）の腹腔内注射により　　殺した直後に気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）を行った。細胞をＢＡＬ液から単離して、白血球百分率を決定した（細胞数２００個／試料）。
【０１７２】
材料及び方法
　マウス。雌性７週齢Ｃ５７ＢＬ／６マウスをCharles River Laboratoriesから購入して、１ケージあたり全５匹ずつ無作為にケージ（換気ケージ、Indulab AG社製、Gams, Switzerland、ケージタイプ：“Ｔｈｅ　Ｓｅａｌｓａｆｅ（商標）－ＩＶＣケージ。製品番号１２４８Ｌ）に割付した。ケージには、試験番号、群番号、及び実験開始日のラベルを貼った。マウスを毎週モニターして、試験開始（試験日－１４日）前７日間、施設に馴化させた。試験日－１４日目で、動物は８週齢であった。飲料水及び食事を自由に与えた。ケージエンリッチメントが存在した。動物の毎日の世話は、地域当局の承認番号２２８３．１（Service de la consommation et des affaires veterinaires du CantondeVaudによる発行及び承認）に従って実施した。飲料水及び食事を自由に与え、１日１回交換した。ケージエンリッチメントが存在した。実験動物の飼育、遺伝子改変動物の作製、及び動物実験法に関するＦＶＯ（スイス連邦獣医局）の法令４５５．１６３の下で、スイスの当局によって示された動物福祉規則を遵守した。
【０１７３】
　細菌接種物の培養。無菌的ワークステーション内で、細菌の凍結バイアルを、手袋をはめた手で加温することによって融解して、内容物約０．７ｍｌを、嫌気性ＹＣＦＡ８ｍｌを含有するHungateチューブ（カタログ番号、１０２０４７１、GlasgeratebauOchs社製
、Bovenden-Lenglern, Germany）に注入した。通常、株あたり２本のチューブを調製した。次いで、Hungateチューブを３７℃で１６時間（株７５１）インキュベート（静置）した。
【０１７４】
　媒体対照の培養。嫌気性ＹＣＦＡ８ｍｌを含有するHungateチューブを３７℃で１６時間インキュベート（静置）した。
【０１７５】

細菌接種物又は媒体対照の投与。培養した細菌接種物又は媒体対照４００μｌを強制経口投与によって毎日投与した。

【０１７６】

ＨＤＭの感作。ＰＢＳ中のＨＤＭ（カタログ番号：ＸＰＢ７０Ｄ３Ａ２５、ロット番号：２３１８９７、GreerLaboratories社製、Lenoir, NC, USA）５０μｇを、フロイント完全アジュバント（ＣＦＡ（complete Freund’sadjuvant）、Chondrex Inc社製、Washington,USA）の等量と共に乳化させて、２００μｌの容量を反対側の脇腹に２週間の間に２回皮下投与した。２回目の免疫の１週間後に、マウスを、９．７５ｍｇ／ｋｇのキシラソール及び４８．７５ｍｇ／ｋｇのケタソール（Dr. E. Graeub AG社製、Bern, Switzerland）の腹腔内注射によって麻酔して、容量３０μｌのＰＢＳ中のＨＤＭ１５μｇを４日
連続して鼻腔内にチャレンジした。最終チャレンジの１日後に分析を行った。

【０１７７】

陽性対照化合物である抗マウスＩＬ－１７抗体の調製及び投与。抗ＩＬ－１７中和抗体をBio X Cell社から購入して、４℃で保存し（クローン１７Ｆ３、カタログ番号ＢＥ０１７３、Bio X Cell社製）、上記の試験プロトコールに記載した日に１２．５ｍｇ／ｋｇの用量を動物に腹腔内投与した。

【０１７８】

終了手順。１８日目に、動物を致死量のペントバルビタール（Streuli Pharma AG社製、Uznach、カタログ番号：１１７０１３９Ａ）の腹腔内注射により　殺した直後に食塩水５００μｌによって気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）を行った。

【０１７９】

ＢＡＬへの細胞浸潤の測定。ＢＡＬ液から細胞を単離して、標準的な形態学及び細胞化学の基準に基づいて、白血球百分率を決定した。

【０１８０】

グラフ及び統計分析。グラフは全てGraphpad Prismバージョン６によって作製し、一元
配置ＡＮＯＶＡを適用した。統計分析の結果を個々のデータ表と共に提供した。エラーバーは、平均値の標準誤差（ＳＥＭ）を表す。

【０１８１】

結果及び分析

実験結果を図１０～１８に示す。

【０１８２】

細菌又は媒体で処置したマウスにおいて病的状態又は死亡は認められなかった。図１５及び１６に示すように、株７５１は、好中球性炎症応答の程度の軽減に非常に有効であった、実際に、株７５１による処置は、抗ＩＬ－１７抗体による処置と同等の結果を示した。さらに、株７５１は、図１１及び１２に示すように、対照と比較して好酸球数を低減させた。

【実施例３】

【０１８３】

II型コラーゲン誘発関節炎マウスモデルにおける関節炎を処置するための細菌接種物の有効性

材料及び方法

株

７５１：受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌

【０１８４】

細菌培養

細菌培養物を、嫌気性のワークステーション（Don Whitley Scientific社製）の中で投与のために増殖させた。

【０１８５】

細菌株＃７５１を、グリセロール保存株から増殖させた。グリセロール保存株を－８０℃で保存した。１週間に３回、グリセロール保存株を室温で融解して、ＹＣＦＡプレートで画線培養した。新しいグリセロールアリコートをそれぞれの場合に使用した。細菌を所定のプレートにおいて最大７２時間増殖させた。

【０１８６】

動物に投与する溶液を１日２回、８時間間隔で午前（ＡＭ）と午後（ＰＭ）の処置のために調製した。画線培養したプレートから細菌コロニーを取り上げて、ＹＣＦＡ培地を含有するチューブに移した。細菌株＃７５１を１６時間増殖させた後、午前の投与を行った。午後の投与のために、細菌をＹＣＦＡ培地に１％で継代培養した。午前及び午後の処置の調製後に、それぞれの株に関してＯＤ値を記録した。

【０１８７】

II型コラーゲン誘発関節炎マウスモデル

成体雄性ＤＢＡ／１マウスを実験群に無作為に割付して、２週間馴化させた。０日目に、動物に、４ｍｇ／ｍｌヒト型結核菌（Mycobacterium tuberculosis）Ｈ３７Ｒａを補充したフロイント不完全アジュバント中にII型コラーゲン（ＣII，typeIIcollagen）１００マイクログラムを含有する乳剤１００マイクロリットルを皮下注射によって投与した。２１日目に、動物に、フロイント不完全アジュバント中にII型コラーゲン１００μを含有する追加免疫用の乳剤を皮下注射によって投与した。

【０１８８】

以下の投与スケジュールに従って処置を行った。－１４日から４５日目の実験終了時まで、動物の体重を１週間に３回測定した。２１日目から実験終了まで、動物を、後肢及び前肢の腫脹、橈骨手根（手首）関節の腫脹、及び脛骨足根骨（足首）関節の腫脹を含む関節炎の臨床兆候に関して週に３回スコア化した。

【０１８９】

４５日目に、マウスを間引いて、最終血液試料をサイトカイン分析のために採取した。

【０１９０】

－１４日目、０日目、及び４５日目に、便試料を微生物学的分析のために収集して、直ちに急速凍結して、－８０℃で保存した。

【０１９１】

コラーゲン誘発関節炎（ＣＩＡ，collagen-induced arthritis）マウスモデルは、関節リウマチの十分に確立されたマウスモデルである（Brand et al. (2007) Nature Protocols. 2(5):1269-1275）。CIIによる免疫は、滑膜過形成、単核球浸潤、及び軟骨破壊を含む、関節リウマチのいくつかの重要な病理学的特徴を含む病原性を引き起こす。重要なことに、ＣＩＡの発症は、ＩＬ－１７Ａの分泌を通してＴｈ１７細胞によって媒介される（Jiao et al. (2014) Immunopathology and InfectiousDiseases.184(4):1085-93）。関
節炎モデルの基礎となる免疫応答は、ヒト型結核菌を補充したフロイントアジュバントを使用することによって増強される。

【０１９２】

２１日目に、各群の３匹のサテライト動物から脾臓を収集した。細胞をII型コラーゲンの存在下又は非存在下で７２時間培養した。培養上清及び最終血清中の、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及びＩＬ－１７を含むサイトカインを、Luminexによって定量した。細胞の増殖は、トリチウム化チミジン取り込み法を使用して定量した。

【０１９３】

処置群及び用量

全ての群はｎ＝１５（主な試験群に関してｎ＝１２、サテライト群に関してｎ＝３）であった。

【０１９４】

生物治療薬のために使用される媒体は、酵母抽出物－カシトン－脂肪酸（ＹＣＦＡ、Ye

astextract-Casitone-FattyAcid）培地であった。

【０１９５】

【表１】

	群	用量	投与		疾患の誘導
			経路	レジメン	
1	媒体	5 ml/kg	PO	BID: -14 日目から実験終了まで	0 日目:コラーゲン/CFA を 1 回、SC 21 日目:コラーゲン/IFA を 1 回、SC
2	生物治療薬#751	5 ml/kg	PO	BID: -14 日目から実験終了まで	

PO:強制経口投与、SC:皮下注射、BID:1日2回、CFA:フロイント完全アジュバント。

【０１９６】

体重

－１４日目から実験終了まで、動物の体重を週に３回測定した。データをグラフにした（平均値±ＳＥＭ）。

【０１９７】

非特異的臨床所見

－１４日目から実験終了まで、動物を、異常な姿勢（丸くなる）、異常な被毛の状態（立毛）、及び異常な活動レベル（活動の低減又は増加）を含む、非特異的臨床兆候に関して毎日チェックした。

【０１９８】

臨床所見

２１日目から４５日目の実験終了まで、動物を、後肢及び前肢の腫脹、橈骨手根（手首）関節の腫脹、及び脛骨足根骨（足首）関節の腫脹を含む関節炎の臨床兆候に関して週に３回スコア化した。各脚を以下の尺度を使用してスコア化した：（０）正常、（１）わずかに腫脹、（２）軽度の腫脹、（３）中等度の腫脹、及び（４）重度の腫脹。それぞれの脚スコアを加算することにより臨床スコアを計算した。１匹の動物に関して可能性がある最大臨床スコアは（１６）であった。２回連続して（１２）に等しいスコアを有する動物、及びいずれか１回の折に（１２）より大きいスコアを有する動物を間引いた。データをグラフにした（平均値±ＳＥＭ）。

【０１９９】

細胞増殖の分析

２１日目に、１群あたり３匹のサテライト動物を間引いて脾臓を摘出した。脾細胞をII型コラーゲンの存在下又は非存在下で７２時間培養した。７２時間後、細胞をトリチウム化チミジンの存在下で一晩パルスした。チミジンの取り込みを測定することによって、細胞の増殖を定量した。データをグラフにした（平均値±ＳＥＭ）。上清を採取して、重要なサイトカインの存在に関して試験した。

【０２００】

サイトカインの分析

脾細胞培養物からの最終上清を、LuminexによってＴＮＦ－α、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、及びＩＬ－１７を定量するために試験した。データをグラフにした（平均値±ＳＥＭ）。

【０２０１】

微生物学的分析

－１４日目、０日目、及び４５日目に、便試料を各動物から収集して、直後に急速凍結して、－８０℃で保存した。盲腸（内容物を含む）を直ちに急速凍結して、－８０℃で保存した。細菌を播くことによって、細菌同定試験を毎日実施した。

【０２０２】

組織病理学

実験の終了時に、後肢を組織固定液で保存した。試料を脱灰液に移した。組織試料を処理して切片にして、ヘマトキシリン・エオシンで染色した。試験計画に対して盲検の適任の組織病理学者が、炎症、関節軟骨損傷、及び下層の骨幹端骨損傷を含む、関節炎の兆候に関して切片をスコア化した。詳細なスコア化システムを使用した（以下を参照されたい）。データをグラフにした（平均値±ＳＥＭ）。生データ及び分析したデータも同様に代表的な写真と共に提供した。

【０２０３】

【表２】

表1.組織病理学スコア化システム

グレード	説明
炎症	
0	正常な関節
1	好中球が多数を占める炎症を有する軽度の滑膜過形成。関節腔に少数の好中球及びマクロファージが認められる。
2	好中球及びマクロファージの両方を伴う中等度から顕著な炎症を有する滑膜過形成。関節腔に好中球及びマクロファージが認められる。いくつかの壊死組織片が存在してもよい。
3	好中球及びマクロファージの両方を伴う顕著な炎症を有する滑膜過形成。滑膜細胞内層の喪失。炎症は、滑膜から筋肉を含む周辺組織まで及んでもよい。多数の好中球及びマクロファージが、有意な壊死組織片と共に関節腔に認められる。
関節軟骨損傷	
0	正常な関節
1	関節軟骨はごく軽度の変性変化を示す。初期パンヌス形成が辺縁に存在してもよい。
2	関節軟骨は中等度の変性変化及び局所的喪失を示す。パンヌス形成が局所に存在する。
3	広範囲のパンヌス形成を伴う関節軟骨の有意な破壊及び喪失
下層の骨幹端骨に対する損傷	
0	正常な関節
1	下層の骨幹端骨に変化はない
2	骨幹端骨の局所的壊死又は線維症であってもよい
3	骨幹端骨の破壊又は崩壊。骨幹端の骨髄腔に及ぶ広範囲の炎症、壊死、又は線維症。

【０２０４】

結果及び分析

生存及び非特異的臨床所見

一部の動物は、関節炎の臨床兆候の重症度により、又は非特異的臨床所見の重症度により、試験の予定終了前に間引いた。

【０２０５】

処置前期間（－１４～０日目）に動物３匹が間引かれたか、又は死亡しているのが発見された：群１（媒体処置、動物は供給元から到着時に脚が骨折しており、間引かれた）の動物１匹及び群２（生物治療薬＃７５１による処置、第１の処置前の日におそらく肺に投与し、第２の処置前の日に投与後臨床兆候を認めたため）の動物２匹。

【０２０６】

動物８匹を、関節炎の臨床兆候の重症度により間引いた：群１（媒体処置）の動物５匹及び群２（生物治療薬＃７５１による処置）の動物３匹。

【０２０７】

動物４匹を、異常な姿勢（丸くなる）、異常な被毛の状態（立毛）、異常な活動レベル（活動の低減）を含む、非特異的臨床兆候の重症度により間引いた：群１（媒体処置）の動物３匹及び群２（生物治療薬＃７５１による処置）の動物１匹。

【０２０８】

体重

体重データを－１４日目から０日目まで記録して、初回（－１４日）の体重のパーセントとして表記して、二元配置ＡＮＯＶＡの後に、－１４日目との多重比較、次いで媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図１９に示す。実験の予定終了日以前に間引いた動物からのデータを分析から除外した。

【０２０９】

－１４日目と比較すると、１日２回の強制経口投与は、－９日目及び－７日目で媒体処置群において有意な体重減少を誘導した。

【０２１０】

生物治療薬処置群において－１４日目～－１日目の間で測定された体重は、いかなる所定の日においても媒体処置群において測定された体重と差がなかった。

【０２１１】

体重データを０日目から２８日目まで記録して、初回（０日目）の体重のパーセントとして表記して、二元配置ＡＮＯＶＡの後に、媒体群の０日目との多重比較、次いで媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図２０に示す。実験の予定終了日以前に間引いた動物及びサテライト動物からのデータを分析から除外した。２８日目、３５日目、及び４２日目のデータを、一元配置ＡＮＯＶＡの後に媒体処置群との多重比較のためにダネット事後検定によってさらに分析した。

【０２１２】

関節炎の臨床兆候の発生は、媒体処置群の０日目と比較して２６日目及び２８日目（ｐは０．０００１未満）で有意に体重が減少したことに関連した。

【０２１３】

３５日目又は４２日目では実験群の間に有意差はなかった。

【０２１４】

臨床所見

臨床スコアデータを二元配置ＡＮＯＶＡの後、媒体処置群における日毎の多重比較のために、次いでそれぞれの日の実験群と媒体処置群の間の多重比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図２１に示す。実験終了前に間引いた動物から記録されたデータを分析から除外した。関節炎の臨床兆候の重症度により動物を間引いた場合、最後に記録されたスコアを、翌日に報告して、統計分析に使用した。

【０２１５】

臨床スコアの有意な増加は、媒体処置群において、２１日目と比較して２８日目～４５日目（ｐは０．０００１未満）まで観察された。

【０２１６】

生物治療薬＃７５１は、３１日目から４５日目まで媒体処置群と比較して臨床スコアの低減を誘導したが、その差は有意ではなかった。

【０２１７】

細胞増殖の分析

アッセイを検証するために、脾細胞を、陽性対照刺激として可溶性抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８（抗ＣＤ３／ＣＤ２８）の存在下で培養して、細胞の増殖能を確認した。

【０２１８】

抗ＣＤ３／ＣＤ２８に対する強い増殖応答が、全ての実験群で観察され、細胞が健康で生存しており、活性化シグナルに応答可能であることを示した。

【０２１９】

II型コラーゲン（CII）の存在下での増殖応答を試験するために、脾細胞を、５０μｇ／ｍｌのCIIの存在下で培養した。CIIに対する脾細胞の増殖応答を、二元配置ＡＮＯＶＡの後、非刺激脾細胞とCII刺激脾細胞の間の多重比較のためにサイダック事後検定によって、及び一元配置ＡＮＯＶＡの後に、異なる実験群と媒体処置群とのCII刺激応答の比較のためにダネット事後検定によって分析した。データを図２２に示す。

【０２２０】

CIIは、媒体処置群における非刺激脾細胞と比較すると^{3}Ｈ－チミジン取り込み（ｃｐｍ）の非常に有意な増加を誘導した（ｐは０．０００１未満）。

【０２２１】

生物治療薬＃７５１で処置した群は、CII誘発脾細胞増殖が媒体処置群より有意に低いレベルであることを実証した。

【０２２２】

組織培養上清中のサイトカインレベル

抗ＣＤ３／ＣＤ２８刺激培養に由来する組織培養上清中のそれぞれのサイトカインのレベルを、luminex分析によって測定した。これらは、測定した全てのサイトカインに関して強い応答を示した（媒体群における平均レベルは以下の通りであった：ＩＬ－４＝６，４０６ｐｇ／ｍｌ；ＩＬ－６＝３０６ｐｇ／ｍｌ；ＩＬ－１０＝１０，９８７ｐｇ／ｍｌ；ＩＬ－１７Ａ＝１１，４４７ｐｇ／ｍｌ；ＩＦＮ－γ＝１５，５８１ｐｇ／ｍｌ；ＴＮＦ－α＝７６ｐｇ／ｍｌ）。

【０２２３】

以下の章は、II型コラーゲン刺激培養物から得られたデータを要約する。該当する場合、非刺激脾細胞及びCII刺激脾細胞の上清中のサイトカインレベルの差の統計分析を、二元配置ＡＮＯＶＡの後に多重比較のためにサイダック事後検定を使用して行ったが、生物治療薬処置群と媒体処置群におけるCII刺激応答の比較のためには、一元配置ＡＮＯＶＡの後のダネット事後検定を使用した。いずれの場合にも群の間でサイトカインレベルに有意差はなかった。これはおそらく使用した母集団のサイズ（ｎ＝３）が小さいためである。

【０２２４】

データの実質的な拡散を有するサイトカインに関するデータの分布をより正確に提示するために、これらを散布図として表す。

【０２２５】

CIIによる刺激後の組織培養上清中のＩＬ－４の群平均値は５ｐｇ／ｍｌ未満であった。これらは生物学的に有意ではないと考えられ、本明細書に含まなかった。コラーゲンによる刺激後の組織培養上清中のＴＮＦ－αの群平均値は、定量限界未満であった。

【０２２６】

ＩＦＮ－γの上清中レベル（図２３）

ＩＬ－１７と共に、ＩＦＮ－γは、ＣＩＡモデルにおいて疾患を駆動する主要なサイトカインである。図２３における散布図は、CII刺激後のＩＦＮ－γレベルを実証しており、群の中央値は、生物治療薬と比較して媒体処置群ではより高かった。同じ群２の対象からの外れ値の結果は、この群ではＩＦＮ－γ及びＩＬ－１０の中央値がより高いことが原因である。

【０２２７】

ＩＬ－１７Ａの上清中レベル（図２４）

ＩＬ－１７Ａのレベルは、媒体処置群に関してCII刺激培養において５０ｐｇ／ｍｌであった。このサイトカインのレベルは、媒体処置と比較して生物治療薬群ではより低いよ

うに思われた。
【０２２８】
ＩＬ－１０の上清中レベル（図２５）
媒体処置群におけるＩＬ－１０のレベルはCII刺激及び培地対照培養に関してそれぞれ、１３ｐｇ／ｍｌ及び２．１ｐｇ／ｍｌであった。炎症及び炎症促進性サイトカインの誘導は抗炎症フィードバック機構を伴いうることから、媒体処置群ではより高レベルのＩＬ－１０（抗炎症性サイトカインである）が予想されうる。
【０２２９】
ＩＬ－６の上清中レベル（図２６）
炎症性サイトカイン、例えばＩＬ－６及びＴＮＦ－αは、典型的には、抗CII培養において高レベルで産生されない。しかし、それらのレベルは、免疫調節の結果として変化しうる。CII刺激培養におけるＩＬ－６のレベルは控えめであり、１０ｐｇ／ｍｌに達した。培地対照培養より高いものの、これらの差は、小さすぎて統計分析を行うための論理的根拠を提供できなかった。
【０２３０】
微生物学的分析
細菌の増殖は、分光光度計を使用して６００ｎｍでの光学密度を測定することによって、確認した。細菌の同一性は、画線培養したプレートの写真を参照写真と比較することによって確認した。
【０２３１】
細菌調製法を改善した後、測定された高いＯＤ値によって示されるように、一貫して高用量の細菌株を－２日目及び－３日目に投与した。
【０２３２】
便試料を収集して、－１４日目、０日目及び終了時に急速凍結した。
【０２３３】
組織病理学
組織病理学の結果を図６６～７０に示す。このモデルに関して予想されるように、関節炎の有無又は存在する変化の重症度に関して個体内及び個体間変動が観察された。
【０２３４】
病態の性質はこのモデルに関して予想された通りであり、関節周囲軟組織（筋肉、脂肪組織、皮膚コラーゲン）を巻き込むように広がる滑膜及び滑液包の広範な混合型の慢性活動型炎症が認められた。最も重度の罹患関節では、関節内壊死組織片を伴う関節軟骨の変性及び喪失、並びに線維症及び炎症による関節及び骨構造の炎症及び破壊が認められた。
【０２３５】
組織病理学的変化の発生率は、媒体－８０％（１６／２０）；生物治療薬＃７５１－４５％（９／２０）であった。生物治療薬＃７５１による処置は、媒体処置群と比較してマウス後肢の組織病理学スコアの発生率を低減させた（図６６～６９を参照されたい）。組織病理学スコアは、ノンパラメトリックデータに関する一元配置ＡＮＯＶＡ（Kruskal-Wallis検定）の後に、媒体処置群との多重比較に関するDunnの事後検定によって分析した。生物治療薬＃７５１は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された関節炎症スコアの有意な低減を誘導した（ｐは０．０１未満）。生物治療薬＃７５１は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された軟骨損傷スコアの有意な低減を誘導した（ｐは０．００１未満）。生物治療薬＃７５１は、媒体処置群と比較して組織病理学で観察された骨損傷スコアの有意な低減を誘導した（ｐは０．００１未満）。生物治療薬＃７５１は、媒体処置群と比較して総組織病理学スコアの有意な低減を誘導した（ｐは０．０１未満）。
【０２３６】
要約
臨床スコアの増加は、ＤＢＡ／１マウスのこの関節炎のモデルについて予想されるように、II型コラーゲンの最初の投与後２８日目から観察された。生物治療薬＃７５１は、このモデルの関節炎を処置するために有効であることが示され、生物治療薬＃７５１は、臨

床スコアの重症度を低減させるために有効であった。生物治療薬＃７５１はまた、組織病理学的分析において実証されたように関節における病理学的疾患を低減させるためにも有効であった。

【０２３７】

II型コラーゲンに対する増殖性の記憶応答が、全ての実験群の脾細胞培養物において認められた。生物治療薬＃７５１による処置（群２）後では、コラーゲン特異的応答が有意に低減された。

【０２３８】

試験したＴ細胞サイトカインの多くが、媒体処置群においてII型コラーゲン刺激と培地対照との間で検出可能な増加を示した。これらの増加は、生物治療薬処置群では明白ではなかった。このことは、上記のII型コラーゲンに対する増殖性の記憶応答を広く支持している。

【０２３９】

このモデル及びヒトＲＡにおける病原性の応答であるＴｈ１／Ｔｈ１７軸が抑制されている証拠が認められた。サイトカインレベルの低減と増殖の低減との相関は、免疫の調節を示唆している。この調節がＴｈ２関連ＩＬ－４のレベルの増加に起因するのか、又は免疫調節性サイトカインであるＩＬ－１０の増加に起因するのかは証拠がない。

【実施例４】

【０２４０】

チリダニによる喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の効果に関するさらなる分析

実施例１で試験したマウスにさらなる分析を行って、アレルギー性喘息の炎症応答に及ぼす本発明の組成物の効果をさらに特徴付けた。

【０２４１】

材料及び方法

１４日目での血液抜き取り及び血清調製。動物の血液試料を心穿刺によって収集した。１４０００ｇで５分間遠心分離することによって、血液試料から血清を単離して、－２０℃で保存した。

【０２４２】

１４日目での臓器の摘出。後続の組織学的分析のために左の肺葉のコレクションをホルマリンに入れた。右肺葉（残りの全ての肺葉）のコレクション及び血清を採取して急速凍結して後続の分析を行った。残りのＢＡＬ液を後続の分析のために急速凍結した。

【０２４３】

血清及びＢＡＬ液中の抗体レベルの測定

ＢＡＬ液及び血清中の総ＩｇＥ及びチリダニ（ＨＤＭ）特異的ＩｇＧ１抗体産生を、ＥＬＩＳＡアッセイによって測定した。

【０２４４】

肺の単離及び組織学的分析

左の肺葉をホルマリンで固定した後、パラフィンに包埋して、切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン及びＰＡＳで染色した。その後の組織学スコア化は以下のように盲検的に行った：試料あたり無作為な５つの視野を炎症（気管支周囲浸潤及び血管周囲浸潤）及び粘液産生に関してスコア化した。炎症性浸潤を以下のグレード化システムによってスコア化した：

０－正常
１－軽度の炎症性浸潤
２－中等度の炎症性浸潤
３－顕著な炎症性浸潤
４－重度の炎症性浸潤
５－非常に重度の炎症性浸潤

それぞれの視野において、気道のサイズを測定して、粘液細胞数／ｕｍを定量した。

【０２４５】

肺組織における炎症メディエータの測定
炎症メディエータの定量のために単離した右肺葉（残りの全ての肺葉）を急速凍結した後、ＣＣＬ１１、ＩＦＮ－ガンマ、ＩＬ－１アルファ、ＩＬ－１ベータ、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－９、ＩＬ－１７Ａ、ＣＸＣＬ１、ＣＣＬ３、ＣＸＣＬ２、及びＣＣＬ５を、市販の多重アッセイ（Merck-Millipore社）によって測定した。分析は、製造業者の説明書に従って実施した。
【０２４６】
結果及び分析
実験の結果を図２８～４６に示す。
【０２４７】
実施例１に記述される知見を支持して、株７５１によって処置したマウスの肺組織における細胞浸潤の分析は、平均炎症スコアの顕著で統計学的に有意な低減を示した（図３２及び３４を参照されたい）。
【０２４８】
ＢＡＬ液及び血清中の抗体レベルを分析した（図２８～３１を参照されたい）。血清抗体レベルに及ぼす細菌処置の明確な効果は観察されなかった。このことは、各処置のデータの拡散及びエラーバーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われたことから、実験の失敗を反映する可能性がある。同様にベースラインの血清抗体レベルが何らかの変化を隠すこともありえた。
【０２４９】
同様に、肺組織におけるサイトカインレベルに及ぼす細菌処置の明確な効果は観察されなかった（図３６～４６を参照されたい）。この場合も、各処置のデータの広がり及びエラーバーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われたことから、実験の失敗を反映する可能性がある。同様に、関係する作用機序が影響を及ぼしたのがより早期のサイトカイン応答であり、そのため最後のＨＤＭ気道チャレンジの４日後でもはや検出不能であった可能性もある。現在の試験においてサイトカインデータを解釈する際には、検出されるレベルのばらつきにより、何らかの注意を払うべきである。このばらつきは一部には、異なる分析のために肺組織を分離し、そのため一つの肺葉が、まだら状の炎症分布により他のマウスの同じ肺葉を完全には表していなかった又は同等ではなかったという事実によって説明できる。
【実施例５】
【０２５０】
重度の好中球性喘息のマウスモデルにおける細菌接種物の効果のさらなる分析
実施例２で試験したマウスにさらなる分析を行って、重度の喘息に関連する好中球の応答に及ぼす本発明の組成物の効果をさらに特徴付けた。
【０２５１】
材料及び方法
１８日目での臓器の摘出。後続の組織学的分析のために左の肺葉のコレクションをホルマリンに入れた。右肺葉（残りの全ての肺葉）のコレクション及び血清を採取して急速凍結して後続の分析を行った。残りのＢＡＬ液を後続の分析のために急速凍結した。
【０２５２】
肺組織における炎症メディエータの測定（後続の分析）。炎症メディエータの定量のために単離した右肺葉（残りの全ての肺葉）を急速凍結した後、ＩＦＮ－ガンマ、ＩＬ－１アルファ、ＩＬ－１ベータ、ＣＸＣＬ１、ＣＣＬ３、ＣＸＣＬ２、ＣＣＬ５、ＩＬ－１７Ａ、ＴＮＦ－アルファ、ＩＬ－１７Ｆ、ＩＬ－２３、及びＩＬ－３３を、市販の多重アッセイ（Merck-Millipore社製）によって測定した。分析は、製造業者の説明書に従って実施した。
【０２５３】
血清及びＢＡＬ液中の抗体レベルの測定（後続の分析）。ＢＡＬ及び血清中のチリダニ（ＨＤＭ）特異的ＩｇＧ１及びＩｇＧ２ａ抗体産生を、ＥＬＩＳＡアッセイによって測定

した。
【０２５４】
肺の単離及び組織学的分析（後続の分析）。左の肺葉をホルマリンで固定した後、パラフィンに包埋して、切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン及びＰＡＳで染色した。その後の組織学スコア化は以下のように盲検的に行った：試料あたり無作為な５つの視野を、炎症（気管支周囲浸潤及び血管周囲浸潤）及び粘液産生に関してスコア化した。炎症性浸潤を以下のグレード化システムによってスコア化した：
０－正常
１－軽度の炎症性浸潤
２－中等度の炎症性浸潤
３－顕著な炎症性浸潤
４－重度の炎症性浸潤
５－非常に重度の炎症性浸潤
【０２５５】
結果及び分析
実験結果を図４７～６４に示す。
【０２５６】
抗体レベルのさらなる分析により、ＢＡＬ液及び血清中のＨＤＭ特異的ＩｇＧ１レベルの低減においても細菌株７５１の有効性が反映されたことが判明した（図４７及び４９を参照されたい）。ＩｇＧ２ａレベルに及ぼす効果に関しては堅固な結論を引き出すことはできない。全体として、抗体分析のデータは、抗体のアイソタイプスイッチに及ぼす選択的効果とは対照的に、炎症応答の全体的な低減に関連する低減を示唆している。
【０２５７】
組織学的分析は、ＢＡＬ液からの白血球百分率を支持し、株７５１で処置したマウスにおいて細胞浸潤の低減を示した（図５１～５３を参照されたい）。
【０２５８】
実施例４と同様にサイトカインレベルに関連して、各処置のデータの拡散及びエラーバーが大きく、陽性対照及び陰性対照が予想通りの反応を示さないように思われる。同様に、作用機序がより早期のサイトカイン応答に影響を及ぼすことに関係し、そのため最後のＨＤＭ気道チャレンジの４日後でもはや検出不能であった可能性もある。現在の試験においてサイトカインデータを解釈する際には、検出されるレベルのばらつきにより、何らかの注意を払うべきである。このばらつきは一部には、異なる分析のために肺組織を分離し、そのため一つの肺葉が、まだら状の炎症分布により他のマウスの同じ肺葉を完全には表していなかった又は同等ではなかった可能性があるという事実によって説明できる。このばらつきにもかかわらず、陽性対照の抗ＩＬ－１７抗体が一般的に予想通りの反応を示した中で、株７５１に関してサイトカインレベルに及ぼす明確な抗炎症効果が示された。
【０２５９】
上記の注意を考慮すると、図５６、５８、５９、６１、及び６３のデータは、本発明の細菌株、特に株７５１による処置が、ＩＬ－１ｂ、ＩＦＮｇ、ＲＡＮＴＥＳ、ＭＩＰ－１ａ、及びＫＣ（ヒトＩＬ－８のマウスオルトログ）レベルの低減をもたらしうることを示唆しており、このことは間質細胞又は自然免疫細胞によるケモカイン放出（及びしたがって細胞の動員）に及ぼす影響に関連する作用機序を示しうる。これらのサイトカインはＴｈ１７経路の一部である。このデータセットと併せて考慮すると、株７５１は重度の好中球性喘息のこのマウスモデルにおいて炎症からマウスを保護するために非常に有効であるという明確な結論を引き出すことができる。
【実施例６】
【０２６０】
多発性硬化症のマウスモデルにおける細菌接種物の有効性
概要
マウスに、本発明による細菌株を含む組成物を投与して、次いでマウスをミエリン乏突

起膠細胞糖タンパク質によって免疫して、実験的自己免疫性脳脊髄炎（ＥＡＥ，experimental autoimmune encephalomyelitis）を誘発した。ＥＡＥは、ヒト多発性硬化症の最も
一般的に使用される実験モデルである。本発明の組成物は、疾患の発生率及び疾患の重症度に対して顕著な効果を有することが見出された。

【０２６１】

株

７５１：受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌

【０２６２】

試験計画

群：

１．陰性対照群。媒体対照による処置（経口投与）

４．治療用細菌接種株７５１による処置（経口投与）

９．陽性対照群。デキサメタゾンによる処置（腹腔内投与）

１０．無処置対照群。

１群当たりのマウスの数＝１０

－１４～２７日目：媒体対照の毎日経口投与（群１）

－１４～２７日目：治療用細菌接種物の毎日経口投与（群４）

０～２８日目：デキサメタゾンの週に３回腹腔内投与（群９）

０日目：ＭＯＧ３５－５５（ミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質－２ｍｇ／ｍｌ）及びＣＦＡ（２ｍｇ／ｍｌ　ＭＴＢ）を１：１で混合して、１ｍｇ／ｍｌ溶液を得た。ペプチド－ＣＦＡ混合物１００μｌを、各後肢に皮下注射した。百日咳毒素（３００ｎｇ）を腹腔内投与した。

１日目：百日咳毒素の腹腔内投与（３００ｎｇ）。

７日目以降：疾患の発生率及び体重を週に３回測定。

【０２６３】

エンドポイント及び分析

マウスを疾患の発生率及び疾患の重症度に関して週に３回分析した。スコア化は盲検で行った。疾患の重症度は、０～５までの範囲の臨床スコアを使用して評価し、５はマウスの死亡を示した（以下の臨床スコアスコア化システムを参照されたい）。

【０２６４】

モニタリング

表記の日にマウスの体重を測定して、疾患活動度スコア及び疾患の発生率を観察した。

【０２６５】

疾患活動度スコア観察：

０－非免疫マウスと比較して運動機能に明白な変化はない。

０．５－尾の先端を引きずる。

１．０－尾を引きずる。

１．５－尾を引きずり、後肢が阻害される。

２．０－尾を引きずり、後肢の虚弱。

又は－歩行を観察すると頭部の傾きの明白な兆候がある。平衡が不良である。

２．５－尾を引きずり、後肢を引きずる。

又は－マウスが時に倒れるほど強い頭部の傾きが見られる。

３．０－尾を引きずり、後肢の完全な麻痺。

３．５－尾を引きずり、後肢の完全な麻痺。

これに加えて、マウスはケージの中を移動するが、横向きに寝かせると、立つことができない。

後肢は完全に体の片面に寄っている。

４．０－尾を引きずり、後肢の完全な麻痺及び前肢の部分麻痺。

マウスはケージの中の移動が最小限であるが、覚醒して餌を食べる

４．５－完全な後肢の麻痺及び前肢の部分麻痺。ケージの中を移動しない。
マウスを直ちに安楽死させてケージから出す。
５．０－マウスを重度の麻痺により安楽死させる。
動物が、１に等しい又は１より大きい疾患活動度スコアを有する場合、プラスの疾患発生率スコアを有すると考えられる。
【０２６６】
結果
試験結果を図７１及び７２に示す。
【０２６７】
陰性対照群における疾患の誘導は、媒体対照及び無処置対照によって示された高いスコアにより、成功であった。株７５１による処置の効果は顕著であり、株７５１で処置したマウスは、疾患の発生率及び疾患の重症度の顕著な低減を示した。実際に、疾患の発生率及び疾患の重症度の低減は、陽性対照群と同等であった。これらのデータは、株７５１が、多発性硬化症の治療又は予防にとって有用でありうることを示している。
【実施例７】
【０２６８】
がんのマウスモデルにおける細菌接種物の有効性
概要
本試験は、４つの腫瘍モデルにおいて本発明による細菌株を含む組成物の有効性を試験した。
【０２６９】
材料
試験物質－細菌株：＃ＭＲＸ００４（株７５１）
【０２７０】
参照物質－抗ＣＴＬＡ－４抗体（クローン：９Ｈ１０、カタログ番号：ＢＥ０１３１、アイソタイプ：シリアンハムスターＩｇＧ１、Bioxcell）
【０２７１】
試験及び参照物質の媒体－細菌培養培地（酵母抽出物、カシトン、脂肪酸培地（ＹＣＦＡ））。毎日のマウスへの注射時に、抗体をＰＢＳで希釈した（参照：ＢＥ１４－５１６Ｆ、Lonza，France）。
【０２７２】
処置用量－細菌：２００μＬ中に2×10^{8}個。ａ－ＣＴＬＡ－４を１０ｍｇ／ｋｇ／注射で注射した。マウスの直近の体重に従って、抗ＣＴＬＡ－４を１０ｍＬ／ｋｇ／投与の投与量で投与した（すなわち、体重２０ｇのマウス１匹の場合、試験物質２００μＬを投与する）。
【０２７３】
投与経路－細菌接種物を、カニューレによる強制経口投与（経口、ＰＯ）によって投与した。カニューレを毎日消毒した。抗ＣＴＬＡ－４をマウスの腹腔内に注射した（腹腔内、ＩＰ）。
【０２７４】
細菌株の培養条件－細菌株の培養条件は以下のとおりであった：
・ＹＣＦＡ（調製した１０ｍＬ　Ｅ＆Ｏラボボトルから）１０ｍＬをピペットで取りHungateチューブに入れる
・チューブを密封して、シリンジによる投入を使用してCO_2を流して系を排気する
・Hungateチューブをオートクレーブする
・冷却後、Hungateチューブにグリセロール保存株１ｍＬを接種する
・チューブを３７℃のインキュベーター内で約１６時間静置する
・翌日、この副次培養物１ｍＬを採取して、ＹＣＦＡ（予め加温して排気したHungateチューブ、全て１試料あたり２本ずつの反復実験）１０ｍＬに接種する
・チューブを３７℃のインキュベーター内で５～６時間静置する

【０２７５】
がん細胞株及び培養条件
使用した細胞株を以下の表に詳述する：
【０２７６】
【表３】

細胞株	型	マウス系統	起源
EMT-6	乳癌	BALB/c	ATCC
LL/2 (LLC1)	肺癌	C57BL/6	ATCC CRL1642
Hepa1-6	肝細胞癌	C57BL/6	IPSEN INNOVATION

【０２７７】
ＥＭＴ－６細胞株は、過形成乳腺腺房結節の植え込み後ＢＡＬＢ／ｃＣＲＧＬマウスに生じた移植可能なマウス乳癌から確立された（Rockwell et al., (1972) J Natl Cancer Inst. 49:735-49）。
【０２７８】
ＬＬ／２（ＬＬＣ１）細胞株は、原発性Lewis肺癌の植え込みにより生じた腫瘍を有するＣ５７ＢＬマウスの肺から確立された（Bertram and Janik (1980) CancerLett. 11:63-73）。
【０２７９】
Ｈｅｐａ１－６細胞株は、Ｃ５７／Ｌマウスに生じたＢＷ７７５６マウス肝腫の派生物である（Darlington(1987)Meth Enzymol. 151:19-38）。
【０２８０】
細胞培養条件－細胞株は全て湿潤雰囲気（５％CO_2、９５％空気）中、３７℃で単層として増殖した。培養培地及びサプリメントを以下の表に示す。
【０２８１】
【表４】

細胞株	培養培地	サプリメント
EMT6	2mM L-グルタミンを含有するRPMI1640(参照:BE12-702F、Lonza)	10%ウシ胎児血清(参照:#3302、Lonza)
LL/2 (LLC1)	2mM L-グルタミンを含有するRPMI1640(参照:BE12-702F、Lonza)	10%ウシ胎児血清(参照:#3302、Lonza)
Hepa1-6	DMEM(参照:11960-044、Gibco)	10%ウシ胎児血清(参照:#3302、Lonza) 2mM L-グルタミン ペニシリン-ストレプトマイシン(SigmaG-6784)

【０２８２】
実験で使用するために、カルシウム又はマグネシウムを含まないHanks培地（参照：Ｂ

Ｅ１０－５４３Ｆ、Lonza）中でトリプシン－バーゼン（参照：ＢＥ１７－１６１Ｅ、Lonza）による５分間の処置によって、接着した腫瘍細胞を培養フラスコから剥離させ、完全な培養培地を添加することにより中和した。細胞を血球計算盤で計数して、その生存率を０．２５％トリパンブルー排除アッセイによって評価する。

【０２８３】

動物の使用

体重及び週齢をマッチさせた健康な雌性Ｂａｌｂ／ｃ（ＢＡＬＢ／ｃＢｙＪ）マウスを、ＥＭＴ６モデル実験のために、CHARLESRIVER（L'Arbresles）から得た。

【０２８４】

体重及び週齢をマッチさせた健康な雌性Ｃ５７ＢＬ／６（Ｃ５７ＢＬｌ６Ｊ）マウスを、ＬＬ／２（ＬＬＣ１）及びＨｅｐａ１－６モデル実験のために、CHARLES RIVER （L'Arbresles）から得た。

【０２８５】

動物を、ＦＥＬＡＳＡのガイドラインに従ってＳＰＦ健康状態で維持し、並びにフランス及び欧州の規則並びにNRCGuidefor the Care and Use of Laboratory Animalsに従う動物収容及び実験手順を順守した（Principe d'ethique de l'experimentationanimale,Directive n° 2010/63 CEE 22nd September 2010,Decret n° 2013-118 1st February 2013、Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition.The National Academies Press; 2011）。動物を制御された環境条件下の飼育室で維持した：温度

：２２±２℃。湿度５５±１０％、照明時間（１２時間照明／１２時間消灯）、ＨＥＰＡフィルターろ過空気、再循環なしの１時間に１５回の換気。動物飼育室には、以下に記述される床敷き材料、飼料及び水を備えた無菌的で適切な空間、環境及び社会的エンリッチメント（群での飼育）：換気ラックに置いた９００ｃｍ^{2}ケージ（参照：緑色、Tecniplast）、Epicea床敷き（SAFE）、１０ｋＧｙ照射飼料（Ａ０４－１０、SAFE）、免疫コンピテントげっ歯類用完全飼料－Ｒ／Ｍ－Ｈ押出品、水ボトルからの水を備えた。

【０２８６】

実験計画及び処置

抗腫瘍活性、ＥＭＴ６モデル

処置スケジュール－最初の投与の開始を０日目とした。０日目に、非移植マウスを、Vivo manager（登録商標）ソフトウェア（Biosystemes，Couternon，France）を使用して個々の体重に従って９／８匹の群に無作為化した。０日目に、マウスに媒体（培養培地）又は細菌株を投与した。１４日目に、以下に記述するように全てのマウスにＥＭＴ－６腫瘍細胞を移植した。２４日目に陽性対照群のマウスに抗ＣＴＬＡ－４抗体処置を行った。

【０２８７】

処置スケジュールを以下の表に要約する。

【０２８８】

【表５】

群	動物数	処置	用量	経路	処置スケジュール
1	8	無処置	-	-	-
2	8	媒体(培地)	-	PO	Q1Dx42
3	9	細菌株#1 (MRX004)	細菌 2×10^8 個	PO	Q1Dx42
4	8	抗 CTLA4	10 mg/kg	IP	TWx2

【０２８９】
動物のモニタリングを以下に記述されるように実施した。
【０２９０】
動物におけるＥＭＴ６腫瘍の誘導－１４日目に、ＲＰＭＩ１６４０　２００μＬ中にＥＭＴ－６細胞１×１０^{6}個をマウスの右脇腹に皮下注射することによって腫瘍を誘導した。
【０２９１】
安楽死－以下に記述される人道的エンドポイントに達した場合、又は投与開始後最大６週間後に、各マウスを安楽死させた。
【０２９２】
抗腫瘍活性、ＬＬ／２（ＬＬＣ１）モデル
処置スケジュール－最初の投与の開始を０日目とする。０日目に、非移植マウスを、Vivo manager（登録商標）ソフトウェア（Biosystemes，Couternon，France）を使用して個々の体重に従って９／８匹の７群に無作為化した。０日目に、マウスに媒体（培養培地）又は細菌株を投与する。１４日目に、以下に記述するように全てのマウスにＬＬ／２腫瘍細胞を移植した。２７日目に陽性対照群のマウスに抗ＣＴＬＡ－４抗体処置を行った。
【０２９３】
処置スケジュールを以下の表に要約する。
【０２９４】
【表６】

群	動物数	処置	用量	経路	処置スケジュール
1	8	無処置	-	-	-
2	9	媒体(培地)	-	PO	Q1Dx42
3	9	細菌株#1 (MRX004)	細菌 2×10^{8} 個	PO	Q1Dx42
4	8	抗 CTLA4	10 mg/kg	IP	TWx2

【０２９５】
動物のモニタリングを以下に記述されるように実施した。
【０２９６】
動物におけるＬＬ／２（ＬＬＣ１）腫瘍の誘導－１４日目に、ＲＰＭＩ１６４０　２００μＬ中にＬＬ／２（ＬＬＣ１）細胞１×１０^{6}個をマウスの右脇腹に皮下注射することによって腫瘍を誘導した。
【０２９７】
安楽死－以下に記述される人道的エンドポイントに達した場合、又は投与開始後最大６週間後に、各マウスを安楽死させた。
【０２９８】
抗腫瘍活性、Ｈｅｐａ１－６モデル
処置スケジュール－最初の投与の開始を０日目とした。０日目に、非移植マウスを、Vivo manager（登録商標）ソフトウェア（Biosystemes，Couternon，France）を使用して個々の体重に従って９匹の７群に無作為化した。０日目に、マウスに媒体（培養培地）又は細菌株を投与した。１４日目に、以下に記述されるように全てのマウスにＨｅｐａ１－６
腫瘍細胞を移植した。１６日目に陽性対照群のマウスに抗ＣＴＬＡ－４抗体処置を行った。
【０２９９】

処置スケジュールを以下の表に要約する。

【０３００】

【表７】

群	動物数	処置	用量	経路	処置スケジュール
1	9	無処置	-	-	-
2	9	媒体(培地)	-	PO	Q1Dx42
4	9	細菌株#2 (MRX004)	細菌 2×10^8 個	PO	Q1Dx42
7	9	抗 CTLA4	10 mg/kg	IP	TWx2

【０３０１】

動物のモニタリングを以下に記述されるように実施した。

【０３０２】

動物におけるＨｅｐａ１－６腫瘍細胞の脾臓内注射による正所誘導－１４日目に、ＲＰＭＩ１６４０培地５０μＬ中のＨｅｐａ１－６腫瘍細胞１００万個（１×１０^{6}個）を、脾臓内注射によってマウスに移植した。簡単に説明すると、左肋骨下脇腹に小さい切開部を作製して、脾臓を外に露出した。脾臓を滅菌ガーゼパッド上に露出して２７ゲージ針によって細胞浮遊液を目視下で注射した。細胞の接種後、脾臓を摘出した。

【０３０３】

安楽死－以下の章に記述される人道的エンドポイントに達した場合、又は投与開始後最大６週間後に、各マウスを安楽死させた。

【０３０４】

安楽死時の腫瘍負荷の評価－終了時、肝臓を収集して重量を測定した。

【０３０５】

動物のモニタリング

臨床モニタリング－腫瘍の長さ及び幅をキャリパーで週に２回測定して、腫瘍の体積をこの式によって推定した（Simpson-HerrenandLloyd (1970) Cancer Chemother Rep. 54:143-74）：

【０３０６】

【数１】

$$\text{腫瘍の体積} = \frac{\text{幅}^2 \times \text{長さ}}{2}$$

【０３０７】

人道的エンドポイント（Workman et al. (2010) Br. J.Cancer.102:1555-77）：疼痛、苦しみ、苦痛の兆候；疼痛の姿勢、疼痛の表情、行動；通常の体重の１０％を超えるが２０００mm^{3}を超えない腫瘍；歩行又は栄養を妨害する腫瘍；潰瘍化した腫瘍又は組織のびらん；３日連続して持続する２０％の体重減少；不良な身体状態、衰弱、カヘキシア、脱水；外部刺激に対する随意反応の持続的な欠如；頻繁な努力呼吸、貧血、著しい出血；神経学的兆候；回転運動、痙攣、麻痺；体温の持続的な低下；腹部膨満。

【０３０８】

麻酔－イソフルランガス麻酔を全ての手順、すなわち手術又は腫瘍の接種、静脈内注射、採血に使用した。ケタミン及びキシラジン麻酔を定位手術手順に使用した。

【０３０９】

鎮痛－カルプロフェン又はマルチモーダルカルプロフェン／ブプレノルフィン鎮痛プロ

トコールを、手術手順の重症度に合わせて変更した。痛みを伴う全ての手順に非薬物ケアを提供した。さらに、試験を妨害しない薬物ケア（局所治療）を担当の獣医師の推奨により提供した。

【０３１０】

安楽死－動物の安楽死は、ガス麻酔薬（イソフルラン）過量投与の後に断頭又は瀉血によって行った。

【０３１１】

結果

抗腫瘍活性、ＥＭＴ６モデル

結果を図７３に示す。本発明の細菌株による処置によって、両方の陰性対照と比較して腫瘍の体積の明確な低減が起こった。また陽性対照によって、予想されたように腫瘍の体積の低減が起こった。

【０３１２】

抗腫瘍活性、ＬＬ／２（ＬＬＣ１）モデル

結果を図７４に示す。腫瘍の体積は陰性対照群より陽性対照で処置したマウスにおいてより大きかったことから、陰性及び陽性対照は、予想通りではないと思われる。それにもかかわらず、本発明の細菌株によって処置したマウスの腫瘍の体積は、陽性対照群と同等であったことから、有用な治療効果と一貫する。

【０３１３】

抗腫瘍活性、Ｈｅｐａ１－６モデル

結果を図７５に示す。肝臓重量は、他の群より無処置陰性対照群で低かったことから、無処置陰性対照は予想通りではないと思われる。しかし、媒体のみで処置したマウスは、抗ＣＴＬＡ４抗体によって処置したマウスより大きい肝臓を有したことから、媒体陰性対照及び陽性対照群はいずれも予想通りであるように思われ、媒体の陰性対照群におけるより大きい腫瘍の負荷を反映する。本発明の細菌株による処置によって、媒体の陰性対照群のマウスと比較して肝臓重量（したがって腫瘍の負荷）の明確な低減が起こった。

【０３１４】

これらのデータは、株７５１／ＭＲＸ００４が、がんを治療又は予防するために、特に乳がん、肺がん、及び肝臓がんの腫瘍の体積を低減させるために有用でありうることを示す。

【実施例８】

【０３１５】

ＹＣＦＡ培地中のヒト細胞に対する結合

概要

株７５１及びいくつかのビフィドバクテリウム・ブレーベ株のヒト細胞に対する結合レベルを、ＹＣＦＡ培地において３回の異なる時点で決定した。ヒト細胞に結合した細菌を培地に再浮遊させて、培地の光学密度を次に分析した－光学密度がより高ければ、細菌細胞数はより多くなり、このように、ヒト細胞に対する細菌細胞の結合レベルはより高くなった。７５１株は、ビフィドバクテリウム・ブレーベ参照株と比較してヒト細胞に対する結合の低減を示すことが見出された。

【０３１６】

結果及び分析

実験の結果を図７６に示す。

【０３１７】

図７６に示すように、ビフィドバクテリウム・ブレーベ株は、全ての時点でヒト細胞に対して高レベルの結合を示す。他方、７５１株では、ヒト細胞に対する結合が大幅に低減されている。したがって、株７５１のヒト細胞に対する接着性が低いことは、ＩＬ－１７又はＴｈ１７経路、及びＩＬ－１７又はＴｈ１７経路によって媒介される疾患に及ぼす本発明の組成物の有益な効果を増加させうる。

【実施例９】

【０３１８】
菌体外多糖の産生を検出するアッセイ
概要
本発明の細菌株（７５１）による菌体外多糖（ＥＰＳ，exopolysaccharide）の産生レベル及びいくつかのビフィドバクテリウム・ブレーベ株を３７℃で４８時間、及び３０℃で７２時間分析した。ＥＰＳは、特定の細菌によって産生され、細菌細胞の外部表面に結合する多糖である。細菌表面上のＥＰＳレベルは、多糖に結合するコンゴーレッドアッセイを使用して決定することができる。コンゴーレッド吸光度の強度がより高ければ、細菌表面上のＥＰＳの濃度がより高いことを示している。本発明の細菌株は、ビフィドバクテリウム・ブレーベ株より多くのＥＰＳを産生して結合することが見出された。
【０３１９】
結果及び分析
この実験の結果を図７７に示す。
【０３２０】
図７７に示すように、本発明の細菌株は、いずれの温度及び時点でもビフィドバクテリウム・ブレーベ株より高いコンゴーレッド吸光度を示した。したがって、本発明の株は、より多くのＥＰＳ産生及びより高レベルの細胞外結合ＥＰＳを示す。ＥＰＳは、細菌を粘液及び上皮細胞に結合させることができることから、本発明の細菌株は、上皮細胞上及び粘膜内の結合部位に関して病原性の細胞と競合するために有用でありうる。このように、本発明の細菌株は、ミクロバイオームを調節するために、及びミクロバイオームに関連するいくつかの疾患を治療するために有用でありうる。
【実施例１０】
【０３２１】
安定性試験
本明細書に記述される少なくとも１つの細菌株を含有する本明細書において記述される組成物を、２５℃又は４℃で密封容器の中で保存して、容器を３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、９０％又は９５％の相対湿度を有する雰囲気中に置く。１か月、２か月、３か月、６か月、１年、１．５年、２年、２．５年、又は３年後に、細菌株の少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％又は９０％が、標準的なプロトコールによって決定したコロニー形成単位で測定した場合に残っている。
【実施例１１】
【０３２２】
ＭＲＸ００４による結合した及び放出された菌体外多糖の産生アッセイ
ＥＰＳ抽出のために、ＭＲＸ００４を、指数増殖期後期に達するまでＹＣＦＡ１０ｍＬ中で培養し、細菌細胞と上清とを遠心分離により分離した。細胞をＰＢＳで１回洗浄して、いかなる残留培養培地も除去した。分泌又は放出されたＥＰＳ（ＥＰＳ－Ｒ，released EPS）を、氷冷１００％エタノールによる処置（４℃で軽く撹拌しながら一晩）によって培養上清から沈殿させた。莢膜又は結合したＥＰＳ（ＥＰＳ－Ｂ，bound EPS）を抽出するために、細胞を０．０５Ｍ　ＥＤＴＡと共にインキュベートして（４℃で軽く撹拌しながら一晩）、この処置からの上清を収集して次に１００％氷冷エタノールによって処置して（４℃で軽く撹拌しながら一晩）ＥＰＳ－Ｂを沈殿させた。沈殿したＥＰＳ－Ｂ及びＥＰＳ－Ｒを遠心分離によって沈降させ、層流フード内で短時間乾燥させた後、十分に滅菌した超純水に再浮遊させて、均一な溶液を得た。試料をさらに精製するために、試料を、１：１００の比率で滅菌超純水に対して、緩衝液を３回交換して４８時間透析した。グルコースを標準物質として使用して、フェノール－硫酸法を使用してＥＰＳ－Ｂ及びＥＰＳ－Ｒを定量した。このアッセイを使用して、ＭＲＸ００４は、ＥＰＳ－Ｂ（１７μｇ）よりＥＰＳ－Ｒ（１１５μｇ）を大量に産生することが見出された（図７８）。
【実施例１２】
【０３２３】
ＭＲＸ００４のＣａｃｏ－２細胞に対する結合アッセイ

宿主細胞に対するＭＲＸ００４の結合を、Ｃａｃｏ－２腸管上皮細胞によるインビトロ同時培養アッセイを使用して分析した。Ｃａｃｏ－２細胞を細菌１×１０個の密度で播種して、ＹＣＦＡ１０ｍＬ中で指数増殖期後期に達するまで培養させた後、沈降させてＰＢＳで２回洗浄し、抗生物質を含まない細胞培養培地に再浮遊させた。感染多重度（ＭＯＩ，multiplicity of infection）およそ１０：１（ＷＡＳＰ標準プロトコールを使用してＹＣＦＡアガー上に播くことによって確認した）が得られるように、細菌密度を調整し、ＭＲＸ００４を、Ｃａｃｏ－２細胞と共に３７℃の嫌気性条件で２時間同時インキュベートした。次に培地を除去して、Ｃａｃｏ－２細胞をＰＢＳで３回洗浄することによって、結合した細菌を除去した。細菌が結合したＣａｃｏ－２細胞を溶解して、０．１％Triton X-100で処理することにより、容器から取り出し、希釈した溶解物の５０μＬの量を、ＷＡＳＰを使用してＹＣＦＡアガーに播いた。溶解物から回収した細菌数を計数して、細菌総数の百分率としてこれを表記することによって結合を計算した。ＭＲＸ００４は、Ｃａｃｏ－２細胞に対して低レベルの接着性（総培養物の０．３％）を示すことが見出された（図７９）。

【実施例１３】

【０３２４】

酵素活性の特徴付け

Analytical Profile Index（ＡＰＩ（登録商標））試験系は、細菌種の酵素活性に関してアッセイする縮小版の生化学検査を含有するストリップからなる。ＭＲＸ００４（株７５１、受託番号ＮＣＩＭＢ　４２３８０として寄託された細菌）を、２つのＡＰＩ試験系を使用して特徴付けた：ラピッドＩＤ３２Ａ－この系は、特に嫌気性種のために設計されており、炭水化物、アミノ酸、及び硝酸塩代謝物並びにアルカリホスファターゼ活性に関する試験を包含し、並びにＡＰＩ（登録商標）５０ＣＨ－この系は、４９種の炭水化物源の発酵に関して試験し、嫌気性種の分析に関してＡＰＩ（登録商標）ＣＨＬ培地と共に利用することができる。

【０３２５】

ラピッドＩＤ３２Ａ試験を、製造業者の説明書に従って細菌コロニーについて実施した。簡単に説明すると、細菌を、嫌気性ワークステーション内でＹＣＦＡアガー上で３７℃で２４時間培養した。MacFarlandの標準液番号４の密度とほぼ同等の密度が得られるまで、滅菌５μｌ接種用ループを使用してプレートからコロニーを除去して、ＡＰＩ（登録商標）浮遊培地の２ｍｌアンプルに再浮遊させた。細菌浮遊液５５マイクロリットルを、ラピッドＩＤ３２Ａのストリップの各試験穴に加えて、鉱油を２滴重層してウレアーゼ試験を行った。ストリップをプラスチック製の蓋で覆い、３７℃で嫌気的に４時間インキュベートした後、底の列の試験穴を以下の試薬を使用して顕色させた：ＮＩＴ：ＮＩＴ１及びＮＩＴ２のそれぞれに関して各１滴；ＩＮＤ：James試薬１滴；残りの全ての試験穴：FastBlue試薬１滴。ストリップを室温で５分間インキュベートした後、各試験穴の色を記録
して、陰性、中等度陽性、又は陽性の値に割付した。

【０３２６】

ラピッドＩＤ３２Ａ分析の結果を図８０に示す。ＭＲＸ００４は、いくつかの炭水化物源、すなわちα－ガラクトシダーゼ及びβ－ガラクトシダーゼ、α－グルコシダーゼ及びβ－グルコシダーゼ、α－アラビノース、マンノース及びラフィノース、並びにアミノ酸のアルギニン、プロリン、フェニルアラニン、ロイシン、チロシン、グリシン及びヒスチジンの発酵に関して試験陽性であった。興味深いことに、喘息においてこれらのアミノ酸のいくつかが役割を有することが報告されている。例として、フェニルアラニン及びヒスチジンの血漿中濃度の増加は、炎症の増加、ヒスタミン産生の増加、及び気道過敏の増加を含む、喘息における有害効果に関連すると報告されている。さらに、アルギニン代謝物であるＬ－オルニチンレベルの増加が小児患者において報告されており、アルギニンを投与すると、インビボ喘息モデルにおいて炎症を減弱させたことから、アルギニン代謝は喘息の病原性に関係している。これらの報告に基づき、ＭＲＸ００４によるアミノ酸代謝は

、この株の抗喘息効果に関与する可能性がある。
【０３２７】
ＭＲＸ００４と、図８０ＢにおいてＢｉｆ Ｒｅｆ１（ＤＳＭ ２００９１）、Ｂｉｆ Ｒｅｆ２（ＤＳＭ ２０２１３）、Ｂｉｆ Ｒｅｆ６（ＪＣＭ ７０１７）、及びＢｉｆ Ｒｅｆ７（ＵＣＣ２００３）と称される４つのＢ．ブレーベ基準株の間で比較によるラピッドＩＤ３２Ａ分析を行った。この分析により、ＭＲＸ００４が試験した株の中で多糖であるラフィノースを発酵させる唯一の株であることが実証されたが、このことは、ラフィノースが細菌成分、例えば菌体外多糖の産生に関係していること、及びまた、ラフィノース発酵が盲腸の酪酸塩の増加、消化管での増殖の増加、及び体重減少などの効果を宿主細胞に与えることができると報告されていることから重要でありうる。
【０３２８】
ＭＲＸ００４における炭水化物代謝をさらに調べるために、ＡＰＩ（登録商標）５０ＣＨ試験を行った。製造業者の説明書に従って、細菌を、嫌気性ワークステーションにおいてＹＣＦＡブロス１０ｍＬ中、３７℃で１６～１８時間培養した。この培養物を、McFarland標準液番号２にほぼ等しい密度が得られるようにＡＰＩ（登録商標）ＣＨＬ培地１０ｍｌ中で希釈し、この混合物１１０μｌを使用してＡＰＩ（登録商標）５０ＣＨ試験ストリップのセットのそれぞれの試験穴に接種した。試験ストリップを、嫌気性ワークステーションの湿潤インキュベーションボックス内で３７℃で４８時間インキュベートした後、それぞれの試験穴の色を記録して、陰性、中等度陽性、陽性、又は疑わしいという値に割付した。
【０３２９】
ＡＰＩ（登録商標）５０を使用して、ＭＲＸ００４は、以下の炭水化物源の利用に関して試験陽性であった：アミドン（デンプン）、アミグダリン、アルブチン、セロビオース、エスクリン、ガラクトース、ゲンチオビオース、グルコース、グリコーゲン、フルクトース、フコース、ラクトース、マルトース、マンノース、マンニトール、メリビオース、メレジトース、メチルα－Ｄ－グルコピラノシド、Ｎ－アセチルグルコサミン、リボース、サッカロース（スクロース）、サリシン、ソルビトール、トレハロース、ツラノース、及びキシリトール。これらの結果は、ＭＲＸ００４が、両方の試験系においてガラクトース、グルコース、マンノース及びラフィノースの発酵を実証したという点において、ラピッドＩＤ３２Ａ試験について得られた結果と相関した。興味深いことに、いくつかのＭＲＸ００４炭水化物基質、すなわちガラクトース及びフルクトースは、文献で報告されたその効果に基づくと、この株の作用機序に関係しうる。食肉源に由来するガラクトースα－１，３－ガラクトースは公知のアレルゲン及びアナフィラキシーの原因物質であり、食事性フルクトースの摂取レベルは喘息の重症度の増加と相関する。併せて考慮すると、ＭＲＸ００４に関するＡＰＩ（登録商標）データの両方のセットが、この株の代謝がその抗喘息効果において役割を果たしうることを示唆している。
【実施例１４】
【０３３０】
ゲノム分析
プログラムのＢＬＡＳＴ＋２．３．０スイートの一部としてblastnを使用して、株ＭＲＸ００４並びにＢ．ブレーベの参照株１、２、６、及び７のゲノム含有量の比較を行った。最大Ｅ値カットオフスコア１０Ｅ－５を、分析を通して使用した。
【０３３１】
株ＭＲＸ００４のゲノムに存在するが、Ｂ．ブレーベ参照株１（ＤＳＭ ２００９１）、２（ＤＳＭ ２０２１３）、６（ＪＣＭ ７０１７）、及び７（ＵＣＣ ２００３）には存在しない遺伝子３３３個を同定した（表１）。表１に記載される遺伝子の多くは、Ｂ．ブレーベ株では高度可変性であることがしばしば観察される（Bottacini et al (2014) BMC Genomics. 15:170, DOI: 10.1186/1471-2164-15-170, PMID: 24581150）。予想されるように、可変性の領域は、炭水化物代謝及び輸送、ファージ関連遺伝子、可動遺伝因子

に関係するタンパク質をコードする遺伝子、並びに未知機能のタンパク質又は遺伝子をコードすると予想される１７３個の遺伝子を含む。

【０３３２】

ＭＲＸ００４に存在するが、Ｂ．ブレーベ参照株１、２、６、及び７には存在しない遺伝子を表１に記載する。強調していない遺伝子は４つの参照株の１つのみに存在する。ＭＲＸ００４に存在するが、多数のＢ．ブレーベ参照株に存在しない遺伝子が多数あることは、ＭＲＸ００４がこれらの公知のＢ．ブレーベ株とは異なるか、及び／又は区別可能であることを示唆している。一重下線で強調した遺伝子はＭＲＸ００４に存在するが、Ｂ．ブレーベ参照株１には存在しない。二重下線と太字で強調した遺伝子は、ＭＲＸ００４に存在するが、Ｂ．ブレーベ参照株２には存在しない。イタリック体で強調した遺伝子は、ＭＲＸ００４に存在するが、Ｂ．ブレーベ参照株６には存在しない。blastn分析に関して最大Ｅ値カットオフ１０Ｅ－５を使用した。

【０３３３】

【表８】

表1

4DBb_0021c	多重糖ABCトランスポーター、基質結合タンパク質
4DBb_0023	蓋然的LacI型転写調節因子
4DBb_0024	スクロース-6-リン酸ヒドロラーゼ(EC 3.2.1.B3)
4DBb_0026c	**マルトデキストリングルコシダーゼ(EC 3.2.1.20)**
4DBb_0036c	仮想タンパク質
4DBb_0038c	MSM(多重糖代謝)オペロン調節タンパク質
4DBb_0119c	仮想タンパク質
4DBb_0120c	仮想タンパク質
4DBb_0187	*仮想タンパク質*
4DBb_0188	*仮想タンパク質*
4DBb_0203c	細胞分裂タンパク質FtsL
4DBb_0204c	仮想タンパク質
4DBb_0205c	仮想タンパク質
4DBb_0206c	転写調節因子、HxlRファミリー
4DBb_0207	Rrf2-連結NADH-フラビンレダクターゼ
4DBb_0208	ATP依存性DNAヘリカーゼRecG関連タンパク質
4DBb_0209c	仮想タンパク質
4DBb_0210	*推定トランスポーター*
4DBb_0211	*オメガ-3多価不飽和脂肪酸シンターゼサブユニット、PfaA*
4DBb_0212	*I型ポリケチドシンターゼ*
4DBb_0213c	*仮想タンパク質*
4DBb_0214c	仮想タンパク質
4DBb_0215	仮想タンパク質
4DBb_0216c	保存された仮想タンパク質
4DBb_0218c	仮想タンパク質
4DBb_0219c	DNA-シトシンメチルトランスフェラーゼ
4DBb_0220c	仮想タンパク質
4DBb_0221c	仮想タンパク質
4DBb_0222c	仮想タンパク質
4DBb_0223c	*インテグラーゼ*
4DBb_0256	*仮想タンパク質*
4DBb_0257c	LacI型転写調節因子
4DBb_0258	*機能不明の推定グリコシルヒドロラーゼ(DUF1680)*
4DBb_0284	転写調節因子、AraCファミリー
4DBb_0285	N-アセチル-D-グルコサミンABC輸送系、糖結合タンパク質
4DBb_0286	糖ABCトランスポーターパーミアーゼ
4DBb_0287	N-アセチル-D-グルコサミンABC輸送系、パーミアーゼタンパク質2
4DBb_0288	アルファ-ガラクトシダーゼ(EC 3.2.1.22)

4DBb_0329c	*ビオチンECFトランスポーターの賦活モジュールのATPase成分BioM*
4DBb_0330	メジャーファシリテータースーパーファミリーMFS_1
4DBb_0368	GMPシンターゼ[グルタミン加水分解] (EC 6.3.5.2)
4DBb_0369c	Mu様プロファージタンパク質gp29
4DBb_0410	**推定ガラクトシダーゼ**
4DBb_0419	仮想タンパク質
4DBb_0421	グリコシルトランスフェラーゼSypP
4DBb_0422	莢膜多糖生合成タンパク質
4DBb_0423	仮想タンパク質
4DBb_0424	グリコシルトランスフェラーゼ
4DBb_0425	O-抗原、タイコ酸、リポタイコ酸の輸送に関係する膜タンパク質
4DBb_0426	グリコシルトランスフェラーゼ(EC 2.4.1.-)
4DBb_0427	2-サクシニル-5-エノールピルビル-6-ヒドロキシ-3-シクロヘキセン-1-カルボン酸シンターゼ(EC 2.2.1.9)
4DBb_0428	仮想タンパク質
4DBb_0429	可動性因子タンパク質
4DBb_0430	仮想タンパク質
4DBb_0431c	仮想タンパク質
4DBb_0432c	可動性因子タンパク質
4DBb_0433c	仮想タンパク質
4DBb_0434c	仮想タンパク質
4DBb_0435	仮想タンパク質
4DBb_0436	仮想タンパク質
4DBb_0437c	仮想タンパク質
4DBb_0438c	可動性因子タンパク質
4DBb_0439c	仮想タンパク質
4DBb_0440c	*可動性因子タンパク質*
4DBb_0518c	*PINドメインタンパク質*
4DBb_0519c	*仮想タンパク質*
4DBb_0555c	仮想タンパク質
4DBb_0556c	仮想タンパク質
4DBb_0557c	LSUリボソームタンパク質L31p@LSUリボソームタンパク質L31p、亜鉛非依存性
4DBb_0558c	SSUリボソームタンパク質S14p(S29e)@SSUリボソームタンパク質S14p(S29e)、亜鉛非依存性
4DBb_0559c	LSUリボソームタンパク質L33p@LSUリボソームタンパク質L33p、亜鉛非依存性
4DBb_0560c	仮想タンパク質
4DBb_0561	仮想タンパク質
4DBb_0613c	**セルロースシンターゼ(UDP形成)(EC 2.4.1.12)**
4DBb_0614	**キチナーゼ(EC 3.2.1.14)**
4DBb_0615	**感覚ボックス/GGDEFファミリータンパク質**

4DBb_0660	可動性因子タンパク質
4DBb_0662	可動性因子タンパク質
4DBb_0663c	ノイラミニダーゼNanP
4DBb_0664	仮想タンパク質
4DBb_0665	仮想タンパク質
4DBb_0666	*可動性因子タンパク質*
4DBb_0667	*可動性因子タンパク質*
4DBb_0668	可動性因子タンパク質
4DBb_0718	予測ビオチン調節タンパク質BioR(GntRファミリー)
4DBb_0719	仮想タンパク質
4DBb_0720	仮想タンパク質
4DBb_0778	*仮想タンパク質*
4DBb_0789c	可動性因子タンパク質
4DBb_0790c	可動性因子タンパク質
4DBb_0837c	*可能な保存された内在性膜タンパク質*
4DBb_0840	マクロライド流出タンパク質
4DBb_0866	*カチオン輸送ATPase、E1-E2ファミリー*
4DBb_0867	仮想タンパク質
4DBb_0872	*仮想タンパク質*
4DBb_0879c	転写調節因子、Cro/CIファミリー
4DBb_0880c	内在性膜タンパク質
4DBb_0946	MFS一般的基質トランスポーター
4DBb_0947c	推定膜タンパク質
4DBb_0948c	可動性因子タンパク質
4DBb_0952c	仮想タンパク質
4DBb_0953	仮想タンパク質
4DBb_0954c	仮想タンパク質
4DBb_0955c	仮想タンパク質
4DBb_0956c	予測パーミアーゼ
4DBb_0957	狭義の保存された仮想タンパク質
4DBb_0958c	保存された仮想タンパク質
4DBb_0986c	仮想タンパク質
4DBb_0987c	予測ECFトランスポーターの賦活モジュールの重複ATPase成分BL0693
4DBb_0988c	予測ECFトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分BL0694
4DBb_1009c	ファージホリン
4DBb_1010c	膜結合溶解ムレイントランスグリコシラーゼD前駆体(EC 3.2.1.-)
4DBb_1011c	仮想タンパク質
4DBb_1012	仮想タンパク質
4DBb_1013c	仮想タンパク質
4DBb_1014c	仮想タンパク質
4DBb_1015c	仮想タンパク質

4DBb_1016c	仮想タンパク質
4DBb_1017c	ファージテールタンパク質
4DBb_1018c	ファージテール長巻尺タンパク質
4DBb_1019c	仮想タンパク質
4DBb_1020c	仮想タンパク質
4DBb_1021c	仮想タンパク質
4DBb_1022c	仮想タンパク質
4DBb_1023c	仮想タンパク質
4DBb_1024c	仮想タンパク質
4DBb_1025c	仮想タンパク質
4DBb_1026c	仮想タンパク質
4DBb_1027c	仮想タンパク質
4DBb_1028c	仮想タンパク質
4DBb_1029c	仮想タンパク質
4DBb_1030c	ファージタンパク質
4DBb_1031c	ファージターミナーゼ、大サブユニット# Pham2
4DBb_1032c	ファージターミナーゼ、大サブユニット
4DBb_1033c	仮想タンパク質
4DBb_1034	仮想タンパク質
4DBb_1035	仮想タンパク質
4DBb_1036c	FIG00424913:仮想タンパク質
4DBb_1037c	仮想タンパク質
4DBb_1038c	仮想タンパク質
4DBb_1039c	仮想タンパク質
4DBb_1040c	仮想タンパク質
4DBb_1041c	仮想タンパク質
4DBb_1042c	仮想タンパク質
4DBb_1043c	仮想タンパク質
4DBb_1044c	仮想タンパク質
4DBb_1045c	仮想タンパク質
4DBb_1046c	仮想タンパク質
4DBb_1047c	染色体(プラスミド)分配タンパク質ParB
4DBb_1048c	仮想タンパク質
4DBb_1049c	仮想タンパク質
4DBb_1050c	一本鎖DNA結合タンパク質
4DBb_1051c	仮想タンパク質
4DBb_1052c	仮想タンパク質
4DBb_1053c	仮想タンパク質
4DBb_1054c	仮想タンパク質
4DBb_1055c	仮想タンパク質
4DBb_1056	仮想タンパク質
4DBb_1057c	仮想タンパク質
4DBb_1058c	仮想タンパク質
4DBb_1059	仮想タンパク質

4DBb_1060	仮想タンパク質
4DBb_1061	仮想タンパク質
4DBb_1062c	仮想タンパク質
4DBb_1063c	仮想タンパク質
4DBb_1064	推定ファージインテグラーゼ
4DBb_1113	メジャーファシリテータースーパーファミリーのパーミアーゼ
4DBb_1142	仮想タンパク質
4DBb_1143c	仮想タンパク質
4DBb_1172	インテグラーゼ
4DBb_1173c	仮想タンパク質
4DBb_1174c	狭義の保存された仮想タンパク質
4DBb_1175	仮想タンパク質
4DBb_1176c	仮想タンパク質
4DBb_1177	ABCトランスポーター、ATP結合タンパク質
4DBb_1178	仮想タンパク質
4DBb_1179	仮想タンパク質
4DBb_1180	仮想タンパク質
4DBb_1181	仮想タンパク質
4DBb_1182	2成分系センサーキナーゼ
4DBb_1183	仮想タンパク質
4DBb_1203c	調節タンパク質、LacI
4DBb_1204c	FIG01131316:仮想タンパク質
4DBb_1205c	輸送系パーミアーゼ
4DBb_1206c	予測ラムノースオリゴ糖ABC輸送系、パーミアーゼ成分2
4DBb_1207c	細胞外溶質結合タンパク質、ファミリー1
4DBb_1212c	仮想タンパク質
4DBb_1213c	*仮想タンパク質*
4DBb_1214	*可動性因子タンパク質*
4DBb_1215	*可動性因子タンパク質*
4DBb_1219	仮想タンパク質
4DBb_1220c	仮想タンパク質
4DBb_1221c	機能不明のタンパク質DUF262ファミリー
4DBb_1222c	仮想タンパク質
4DBb_1223	仮想タンパク質
4DBb_1224	可動性因子タンパク質
4DBb_1234c	ABC型糖輸送系、周辺質成分
4DBb_1235	仮想タンパク質
4DBb_1328c	推定ファージインテグラーゼ
4DBb_1329	仮想タンパク質
4DBb_1330	仮想タンパク質
4DBb_1331c	仮想タンパク質
4DBb_1332	仮想タンパク質
4DBb_1333	仮想タンパク質

4DBb_1334	仮想タンパク質
4DBb_1335c	仮想タンパク質
4DBb_1336c	ベータ-ラクタマーゼ発現の負の調節因子
4DBb_1337c	仮想タンパク質
4DBb_1338c	仮想タンパク質
4DBb_1339c	仮想タンパク質
4DBb_1340c	仮想タンパク質
4DBb_1341c	仮想タンパク質
4DBb_1342c	仮想タンパク質
4DBb_1343c	仮想タンパク質
4DBb_1344	仮想タンパク質
4DBb_1345c	ファージテール線維タンパク質
4DBb_1346c	仮想タンパク質
4DBb_1347c	ファージマイナーテールタンパク質
4DBb_1348c	仮想タンパク質
4DBb_1349c	仮想タンパク質
4DBb_1350c	ファージタンパク質
4DBb_1351c	ファージタンパク質
4DBb_1352c	ファージタンパク質
4DBb_1353c	ファージタンパク質
4DBb_1354c	仮想タンパク質
4DBb_1355c	仮想タンパク質
4DBb_1356c	ファージメジャーカプシドタンパク質#Fam0025#Pham164
4DBb_1357c	推定ファージプロヘッドプロテアーゼ
4DBb_1358c	ファージポータルタンパク質
4DBb_1359c	gp2、ターミナーゼ
4DBb_1360c	仮想タンパク質
4DBb_1361c	仮想タンパク質
4DBb_1362c	仮想タンパク質
4DBb_1363c	仮想タンパク質
4DBb_1364c	仮想タンパク質
4DBb_1365c	仮想タンパク質
4DBb_1366c	仮想タンパク質
4DBb_1367c	仮想タンパク質
4DBb_1368c	仮想タンパク質
4DBb_1369c	仮想タンパク質
4DBb_1370c	仮想タンパク質
4DBb_1371c	仮想タンパク質
4DBb_1372c	一本鎖DNA結合タンパク質
4DBb_1373c	仮想タンパク質
4DBb_1374c	組換え型DNA修復タンパク質RecT(プロファージ関連)
4DBb_1375c	ファージ関連タンパク質
4DBb_1376c	仮想タンパク質
4DBb_1377c	仮想タンパク質

4DBb_1378c	仮想タンパク質
4DBb_1379c	仮想タンパク質
4DBb_1380c	メチルトランスフェラーゼ(EC 2.1.1.-)
4DBb_1381c	仮想タンパク質
4DBb_1382c	仮想タンパク質
4DBb_1383c	仮想タンパク質
4DBb_1384	仮想タンパク質
4DBb_1385	仮想タンパク質
4DBb_1386	仮想タンパク質
4DBb_1387	仮想タンパク質
4DBb_1388	仮想タンパク質
4DBb_1456	スクロースパーミアーゼ、メジャーファシリテータースーパーファミリー
4DBb_1486c	エステラーゼ/リパーゼ
4DBb_1487c	グルコース/マンノースH+シンポーターGlcP
4DBb_1488c	二成分応答調節因子*yesN*
4DBb_1533c	仮想タンパク質
4DBb_1534c	仮想タンパク質
4DBb_1535c	I型制限修飾系、制限サブユニットR(EC 3.1.21.3)
4DBb_1536c	ATP依存性DNAヘリカーゼ*recG*(EC 3.6.1.-)
4DBb_1537c	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1538c	I型制限修飾系、DNAメチルトランスフェラーゼサブユニットM(EC 2.1.1.72)
4DBb_1539c	仮想タンパク質
4DBb_1540	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1541	インテグラーゼ
4DBb_1542c	I型制限修飾系、特異性サブユニットS(EC 3.1.21.3)
4DBb_1545c	リボースABC輸送系、高親和性パーミアーゼRbsD (TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1546c	リボースABC輸送系、周辺質リボース結合タンパク質RbsB (TC 3.A.1.2.1)
4DBb_1547c	*リボースABC輸送系、パーミアーゼタンパク質RbsC(TC 3.A.1.2.1)*
4DBb_1548c	*リボースABC輸送系、ATP結合タンパク質RbsA(TC 3.A.1.2.1)*
4DBb_1550c	*仮想タンパク質*
4DBb_1551	*仮想タンパク質*
4DBb_1552c	*LacI型転写調節因子*
4DBb_1553c	テトラサイクリン耐性遺伝子と類似
4DBb_1554c	リボキナーゼ(EC 2.7.1.15)
4DBb_1555c	NADH依存性ブタノールデヒドロゲナーゼA(EC 1.1.1.-)
4DBb_1556c	ホスホグリコール酸ホスファターゼ(EC 3.1.3.18)
4DBb_1557c	イノシン-ウリジン選好ヌクレオシドヒドロラーゼ(EC 3.2.2.1)
4DBb_1558c	フルクトキナーゼ(EC 2.7.1.4)
4DBb_1559c	ホスホリボシルアントラニル酸イソメラーゼ(EC 5.3.1.24)
4DBb_1560c	キューオシン調節ECFトランスポーターの賦活モジュールの

	ATPase成分STY3233
4DBb_1561c	ECFトランスポーターの一般的賦活モジュールのATPase成分
4DBb_1562c	キューオシン調節ECFトランスポーターの賦活モジュールの膜貫通成分STY3231
4DBb_1563c	キューオシン調節ECFトランスポーターの賦活モジュールの基質特異的成分STY3230
4DBb_1564	インジゴイジンシンターゼindAを有するクラスター中の仮想糖キナーゼ、PfkBファミリーキナーゼ
4DBb_1569	転写調節因子、TetRファミリー
4DBb_1570c	エステラーゼ/リパーゼ
4DBb_1571c	仮想タンパク質
4DBb_1572c	仮想タンパク質
4DBb_1573	COG1309:転写調節因子
4DBb_1574c	仮想タンパク質
4DBb_1578c	メリビオース担体タンパク質
4DBb_1579c	仮想タンパク質
4DBb_1580c	転写調節因子、TetRファミリー
4DBb_1581	仮想タンパク質
4DBb_1582	HrtABトランスポーターと共局在する2成分応答調節因子
4DBb_1583	仮想タンパク質
4DBb_1584c	仮想タンパク質
4DBb_1585	センサーヒスチジンキナーゼ
4DBb_1586	Mg(2+)輸送ATPaseプロテインC
4DBb_1587	転写調節因子、AbrBファミリー
4DBb_1588	仮想タンパク質
4DBb_1620c	*3'-～5'オリゴリボヌクレアーゼ(orn)*
4DBb_1769c	転写活性化因子MltR
4DBb_1770c	キシリトーデヒドロゲナーゼ(EC 1.1.1.9)
4DBb_1771c	リビトール/キシリトール/アラビトールトランスポーター、MFSスーパーファミリー
4DBb_1773c	グリオキサラーゼファミリータンパク質
4DBb_1774c	リビトール/キシリトール/アラビトールトランスポーター、MFSスーパーファミリー
4DBb_1775c	ソルビトールデヒドロゲナーゼ(EC 1.1.1.14)
4DBb_1926c	*アクチノバチルスタンパク質に関連する膜タンパク質(1944168)*
4DBb_1928c	グリコシルトランスフェラーゼ、群2ファミリータンパク質
4DBb_1929c	タイコ酸輸送ATP結合タンパク質TagH(EC 3.6.3.40)
4DBb_1930c	ラムノース含有多糖転位パーミアーゼ
4DBb_1934c	*仮想タンパク質*
4DBb_1935	*可能性があるグリコシルトランスフェラーゼ*
4DBb_1936c	細胞壁表面アンカーファミリータンパク質
4DBb_1937c	D-アラニル-D-アラニンカルボキシペプチダーゼ(EC 3.4.16.4)
4DBb_1965	仮想タンパク質
4DBb_2010c	可動性因子タンパク質

4DBb_2011	転写調節因子、LacIファミリー
4DBb_2012	キシロースABCトランスポーター、周辺質キシロース結合タンパク質XylF
4DBb_2013	リボースABC輸送系、ATP結合タンパク質RbsA(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_2014	リボースABC輸送系、パーミアーゼタンパク質RbsC(TC 3.A.1.2.1)
4DBb_2015	仮想タンパク質
4DBb_2016	可動性因子タンパク質
4DBb_2028c	ベータ-グルコシダーゼ(EC 3.2.1.21)

【０３３４】

配列

配列番号１（株７５１のコンセンサス１６Ｓ　ｒＲＮＡ配列）

GGGACAGGCTCAGGATGAACGCCGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGATC
CATCGGGCTTTGCCTGGTGGTGAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATGCGTGACCGACCTG
CCCCATGCACCGGAATAGCTCCTGGAAACGGGTGGTAATGCCGGATGCTCCATCACACC
GCATGGTGTGTTGGGAAAGCCTTTGCGGCATGGGATGGGGTCGCGTCCTATCAGCTTGA
TGGCGGGGTAACGGCCCACCATGGCTTCGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGC
CACATTGGGACTGAGATACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC
ACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGGAGGCCTTCGGGTTGT
AAACCTCTTTTGTTAGGGAGCAAGGCACTTTGTGTTGAGTGTACCTTTCGAATAAGCAC
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTATCCGGAATT
ATTGGGCGTAAAGGGCTCGTAGGCGGTTCGTCGCGTCCGGTGTGAAAGTCCATCGCTTA
ACGGTGGATCCGCGCCGGGTACGGGCGGGCTTGAGTGCGGTAGGGGAGACTGGAATTCC
CGGTGTAACGGTGGAATGTGTAGATATCGGGAAGAACACCAATGGCGAAGGCAGGTCTC
TGGGCCGTTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGATGCTGGATGTGGGGCCCGTTCCACGGGTTCCGTG
TCGGAGCTAACGCGTTAAGCATCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
AGAAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGCG
AAGAACCTTACCTGGGCTTGACATGTTCCCGACGATCCCAGAGATGGGGTTTCCCTTCG
GGGCGGGTTCACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCCGTGTTGCCAGCGGATTGTGCCGGGAACTCA
CGGGGGACCGCCGGGGTTAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGATCATCATGCCC
CTTACGTCCAGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGGTACAACGGGATGCGACAGCGCG
AGCTGGAGCGGATCCCTGAAAACCGGTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTG
CGTGAAGGCGGAGTCGCTAGTAATCGCGAATCAGCAACGTCGCGGTGAATGCGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGTCATGAAAGTGGGCAGCACCCGAAGCCGGTGGCC
TAACCCCTGCGGGAGGGAGCCKC

配列番号２（株７５１ゲノム配列）－電子版の配列表を参照されたい。

【０３３５】

（参考文献）

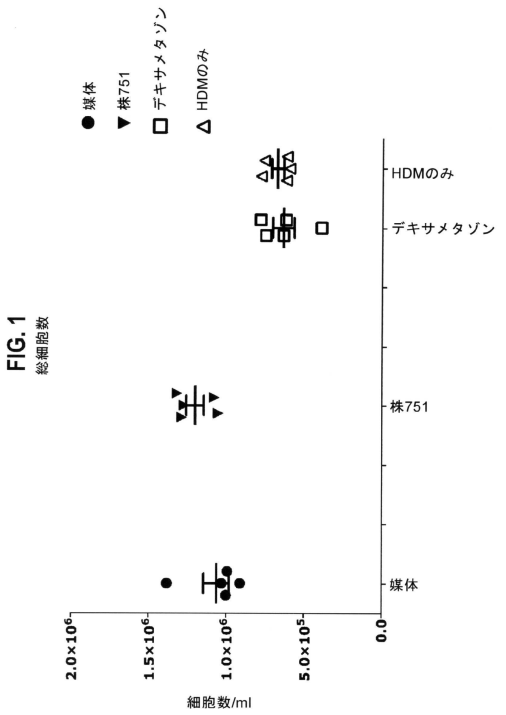
[1] Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90
[2] Eckburg et al. (2005) Science. 10;308(5728):1635-8
[3] Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35
[4] Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96
[5] Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18
[6] Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5
[7] Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8

[8] Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42
[9] Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83
[10] WO 2013/050792
[11] WO 03/046580
[12] WO 2013/008039
[13] WO 2014/167338
[14] Goldin and Gorbach (2008) Clin Infect Dis. 46 Suppl 2:S96-100
[15] Azad et al. (2013) BMJ. 347:f6471
[16] Masco et al. (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26:557-563
[17] Srutkova et al. (2011) J. Microbiol. Methods, 87(1):10-6
[18] Ye et al. (2015) PLoS One. 10(1):e0117704
[19] Fabro et al. (2015) Immunobiology. 220(1):124-35
[20] Yin et al. (2014) Immunogenetics. 66(3):215-8
[21] Cheluvappa et al. (2014) Clin Exp Immunol. 175(2):316-22
[22] Schieck et al. (2014) J Allergy Clin Immunol. 133(3):888-91
[23] Balato et al. (2014) J Eur Acad Dermatol Venereol. 28(8):1016-24
[24] Monteleone et al. (2011) BMC Medicine. 2011, 9:122
[25] Fahy (2009) Proc Am Thorac Soc 6.256-259
[26] Miossec and Kolls (2012) Nat Rev Drug Discov. 11(10):763-76
[27] Yang et al. (2014) Trends Pharmacol Sci. 35(10):493-500
[28] Koenders et al. (2006) J. Immunol. 176:6262-6269
[29] Amedei et al. (2012) Int J Mol Sci. 13(10):13438-60
[30] Shabgah et al. (2014) Postepy. Dermatol. Alergol. 31(4):256-61
[31] Zhang (2015) Inflammation. Aug 23
[32] Sun et al. (2015) Cytokine. 74(1):76-80
[33] Mucientes et al. (2015) Br J Ophthalmol. 99(4):566-70
[34] Jawad et al. (2013) Ocul Immunol Inflamm. 21(6):434-9
[35] Maya et al. (2014) J. Ophthalmology. 310329
[36] Chi et al. (2007) J. Allergy and Clinical Immunology. 119(5):1218-1224
[37] Chi et al. (2008) Investigative Ophthalmology & Visual Science.49(7):3058-3064
[38] Luger and Caspi (2008) Semin. Immunopathol. 30(2): 134-143
[39] Numasaki et al. (2003) Blood. 101:2620-2627
[40] Zhang et al. (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun. 374: 533-537
[41] Karin (2006) Nature. 441: 431-436
[42] Faghih et al. (2013). Iranian Journal of Immunology. 10(4):193-204
[43] Numasaki et al. (2005) J. Immunol. 175: 6177-6189
[44] Hammerich and Tacke (2014) Clin Exp Gastroenterol. 7:297-306
[45] Haabeth et al. (2012) OncoImmunology 1(1):1146-1152
[46] Lejeune et al. (2006) Cancer Immun. 6:6
[47] Pace et al. (1983) PNAS. 80:8782-6
[48] Sgadari et al. (1996) PNAS. 93:13791-6
[49] Arenberg et al. (1996) J. Exp. Med. 184:981-92
[50] Sgadari et al. (1997) Blood. 89:2635-43
[51] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9-24
[52] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day andMcLellan, Humana Press
[53] Leslie et al. (1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3592-3597
[54] Mitropoulou et al. (2013) J Nutr Metab. (2013) 716861
[55] Kailasapathy et al. (2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48

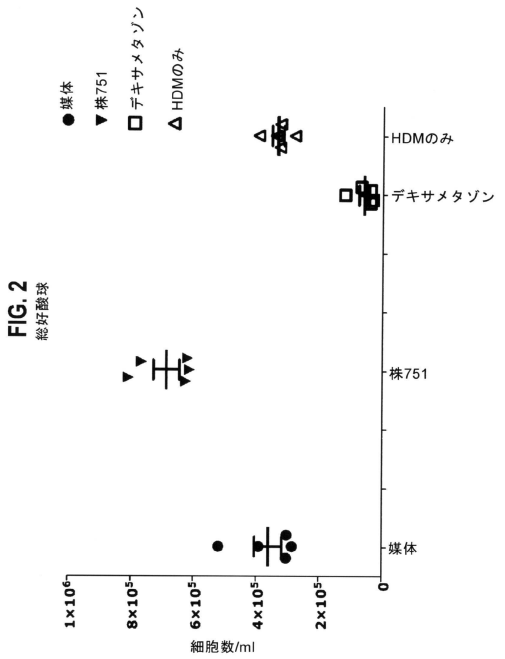
[56] Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited byA Wade
and PJ Weller
[57] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R.Gennar oedit. 1985)
[58] Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRCPress
[59] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C.Hunter -Cevera, Academic Press
[60] Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61
[61] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy.20the dition, ISBN: 0683306472
[62] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream etal., eds., 1998, Academic Press)
[63] Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., AcademicPress,Inc.)
[64] Handbook of Experimental Immunology, Vols. I IV (D.M. Weir andC.C.Bla ckwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
[65] Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rdedit ion(Cold Spring Harbor Laboratory Press)
[66] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRCPress,1 997)
[67] Ausubel et al. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, 5thedit ion (Current Protocols)
[68] PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton &Grahamed s., 1997, Springer Verlag)
[69] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987)S upplement 30
[70] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489
[71] Brand et al. (2007) Nature Protocols. 2(5):1269-1275
[72] Jiao et al. (2014) Immunopathology and Infectious Diseases. 184(4):108 5-93
[73] Rockwell et al., (1972) J Natl Cancer Inst. 49:735-49
[74] Bertram and Janik (1980) Cancer Lett. 11:63-73
[75] Darlington (1987) Meth Enzymol. 151:19-38
[76] Principe d'ethique de l'experimentation animale, Directive n ° 2010/63 C EE 22nd September 2010, Decret n ° 2013-1181stFebruary 2013
[77] Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. TheNa tional Academies Press; 2011
[78] Simpson-Herren and Lloyd (1970) Cancer Chemother Rep. 54:143-74
[79] Workman et al. (2010) Br. J. Cancer. 102:1555-77
[80] Bottacini et al (2014) BMC Genomics. 15:170, DOI:10.1186/1471-2164-15-170,
PMID: 24581150

【図面】

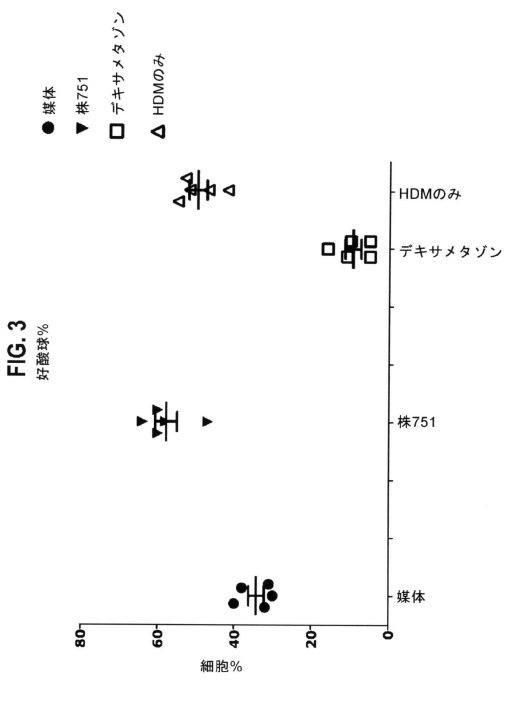
【図１】


FIG. 1
総細胞数
媒体
株751
デキサメタゾン
HDMのみ
細胞数/ml
2.0×10⁶
1.5×10⁶
1.0×10⁶
5.0×10⁵
0.0

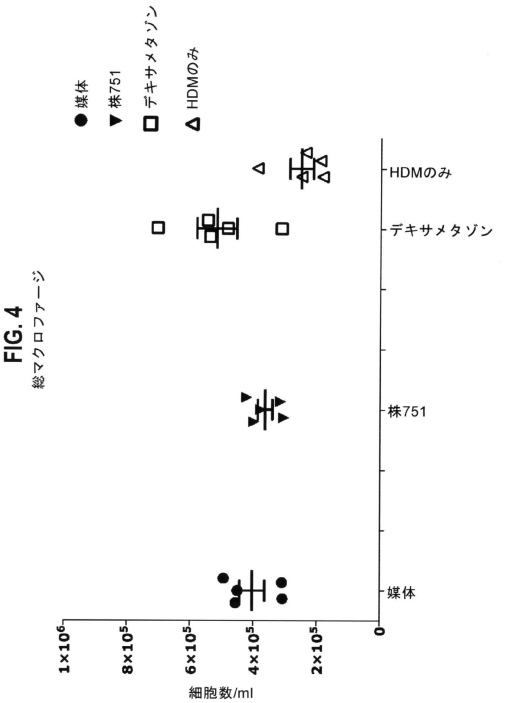
【図２】


FIG. 2
総好酸球
媒体
株751
デキサメタゾン
HDMのみ
細胞数/ml
1×10⁶
8×10⁵
6×10⁵
4×10⁵
2×10⁵
0

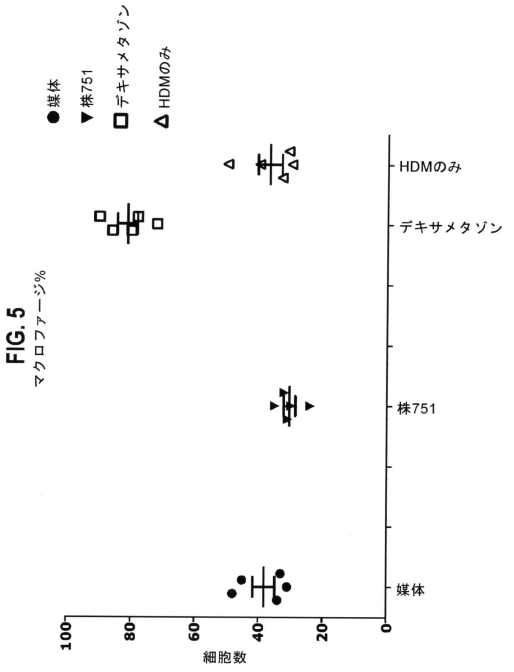
【図３】


FIG. 3
好酸球%
媒体
株751
デキサメタゾン
HDMのみ
細胞%
80
60
40
20
0

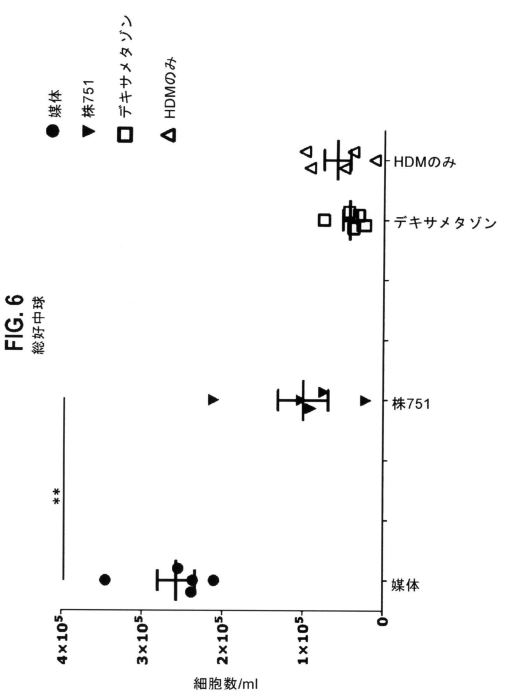
【図４】


FIG. 4
総マクロファージ
媒体
株751
デキサメタゾン
HDMのみ
細胞数/ml
1×10⁶
8×10⁵
6×10⁵
4×10⁵
2×10⁵
0

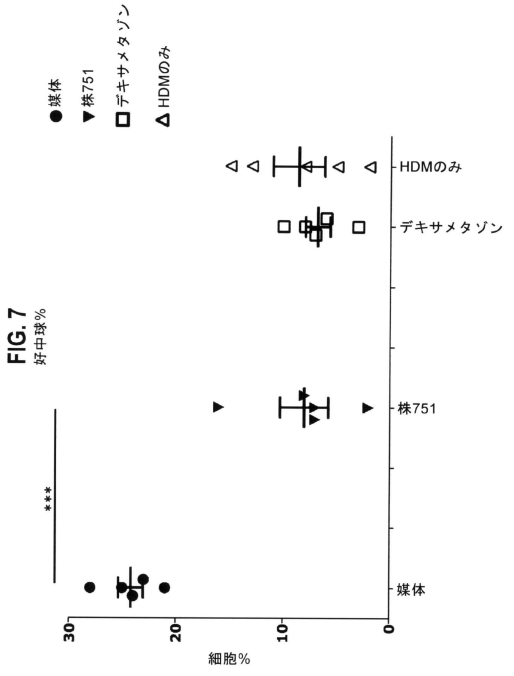
【図５】


FIG. 5
マクロファージ%
● 媒体
▼ 株751
□ デキサメタゾン
△ HDMのみ
HDMのみ
デキサメタゾン
株751
媒体
100
80
60
40
20
0
細胞数

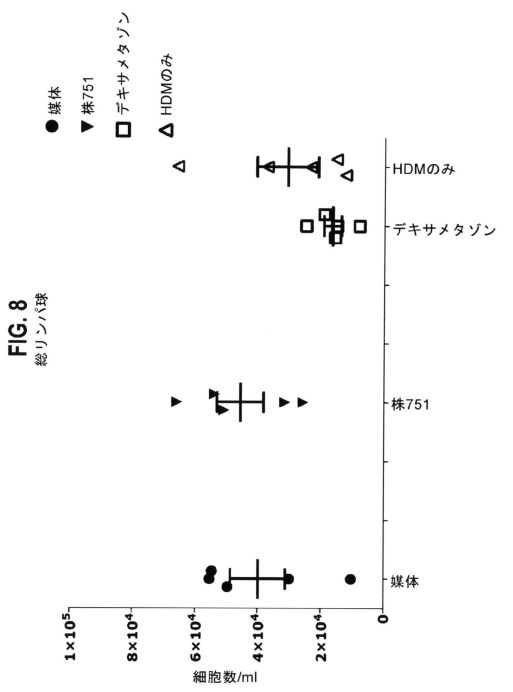
【図６】


FIG. 6
総好中球
● 媒体
▼ 株751
□ デキサメタゾン
△ HDMのみ
HDMのみ
デキサメタゾン
株751
媒体
**
4×10^5
3×10^5
2×10^5
1×10^5
0
細胞数/ml

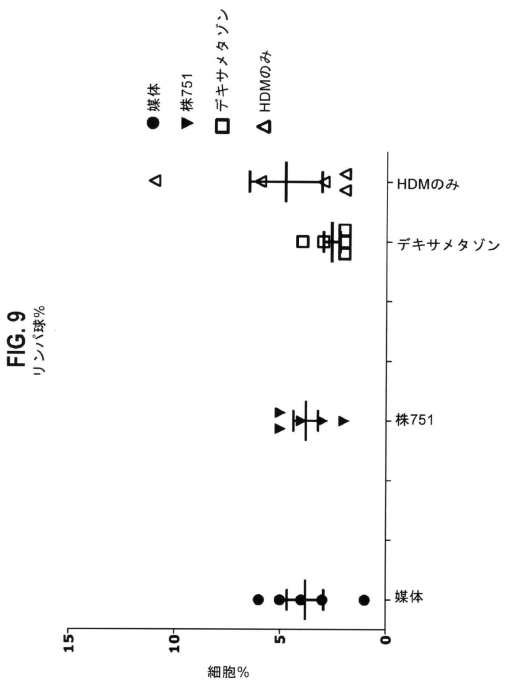
【図７】


FIG. 7
好中球%
● 媒体
▼ 株751
□ デキサメタゾン
△ HDMのみ
HDMのみ
デキサメタゾン
株751
媒体
***
30
20
10
0
細胞%

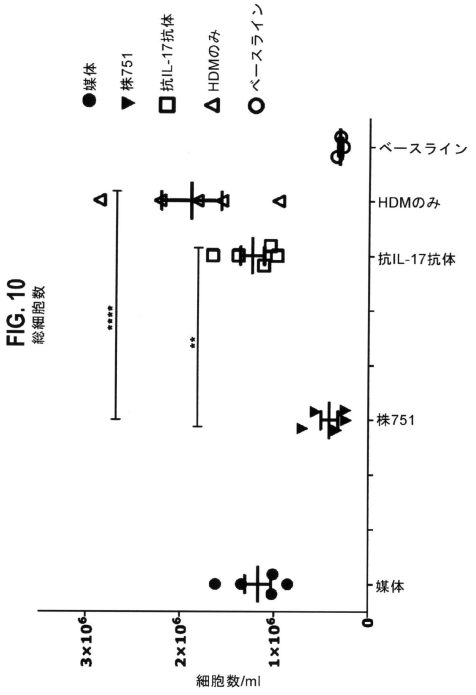
【図８】


FIG. 8
総リンパ球
● 媒体
▼ 株751
□ デキサメタゾン
△ HDMのみ
HDMのみ
デキサメタゾン
株751
媒体
1×10^5
8×10^4
6×10^4
4×10^4
2×10^4
0
細胞数/ml

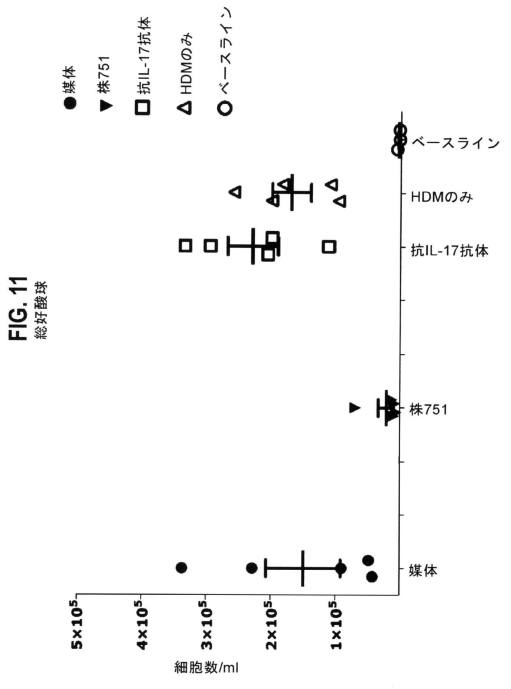
【図９】



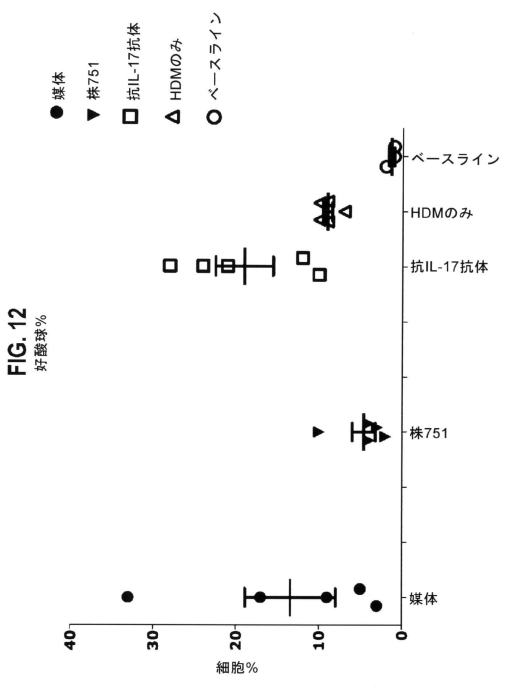
【図１０】



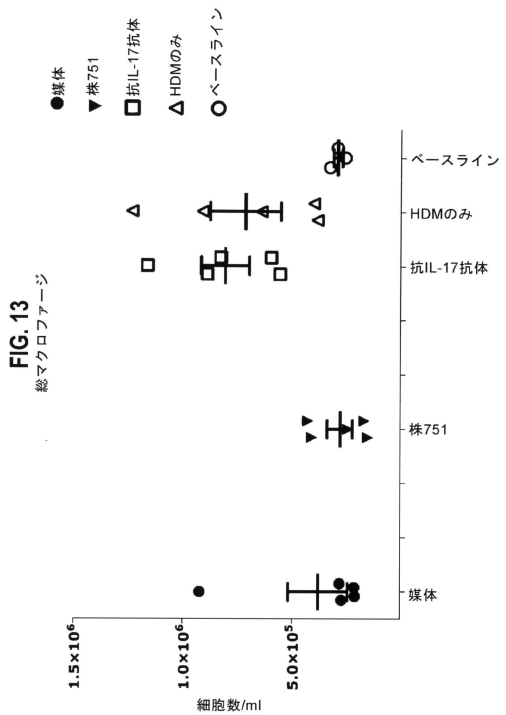
【図１１】



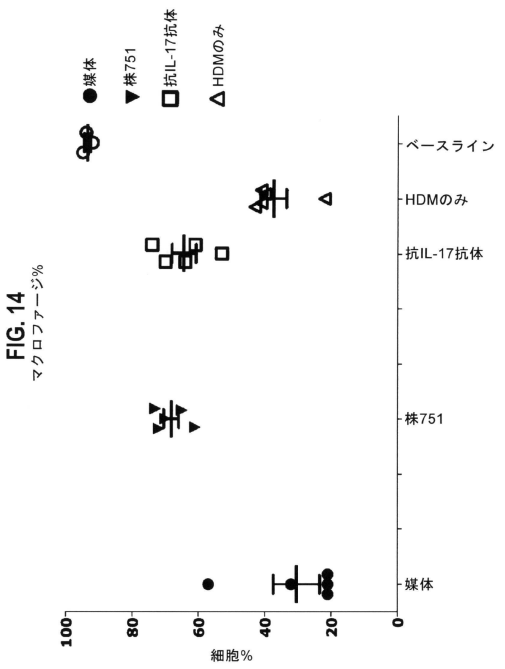
【図１２】



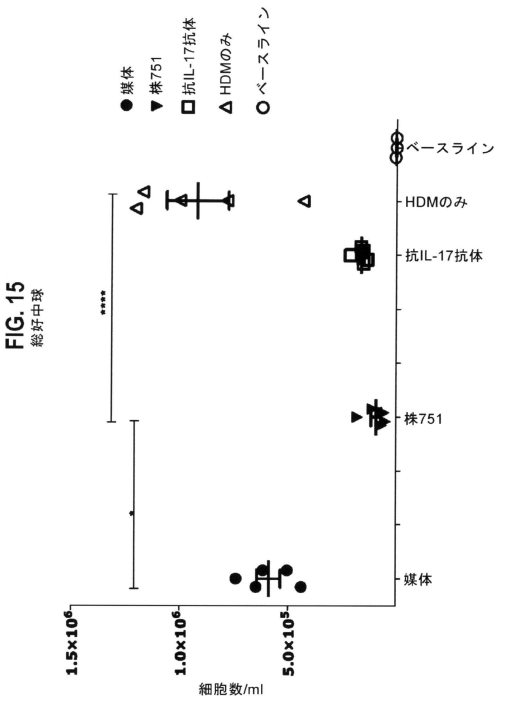
【図１３】



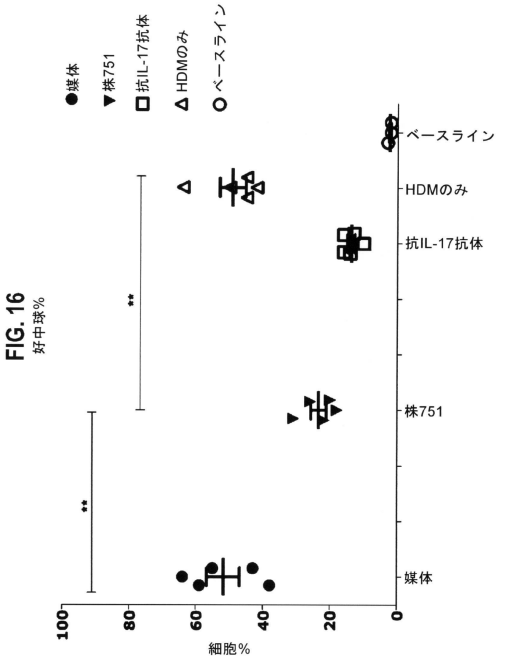
【図１４】



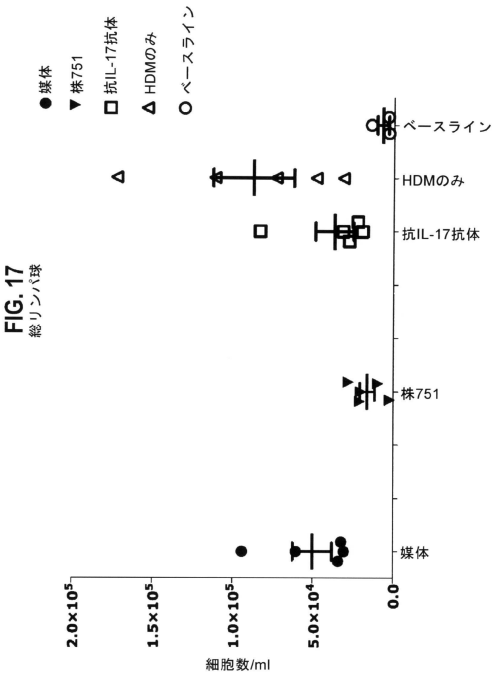
【図１５】



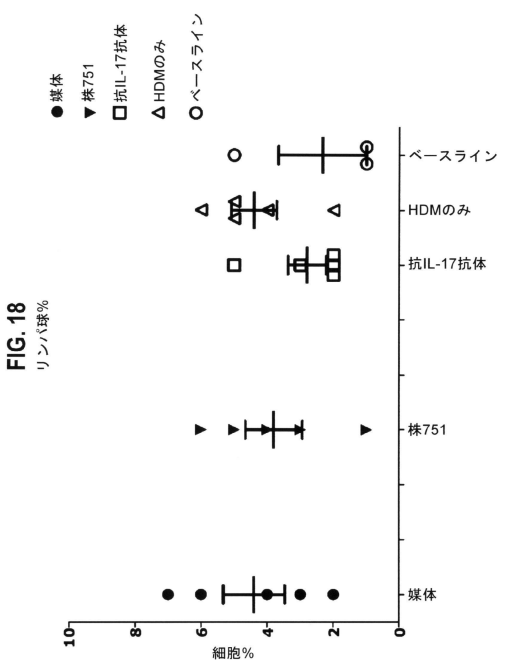
【図１６】



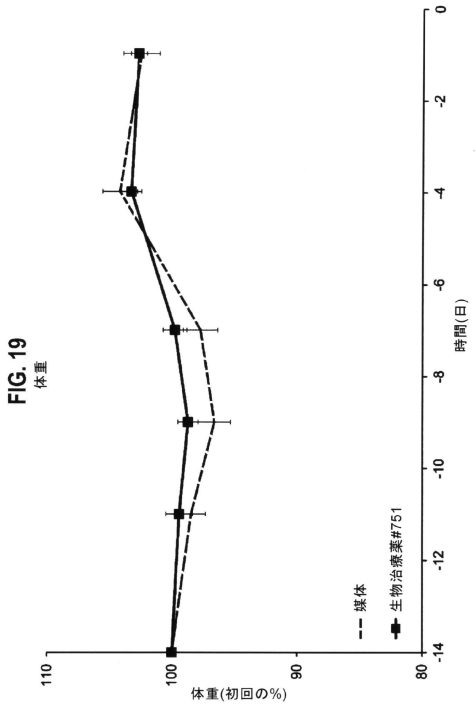
【図１７】



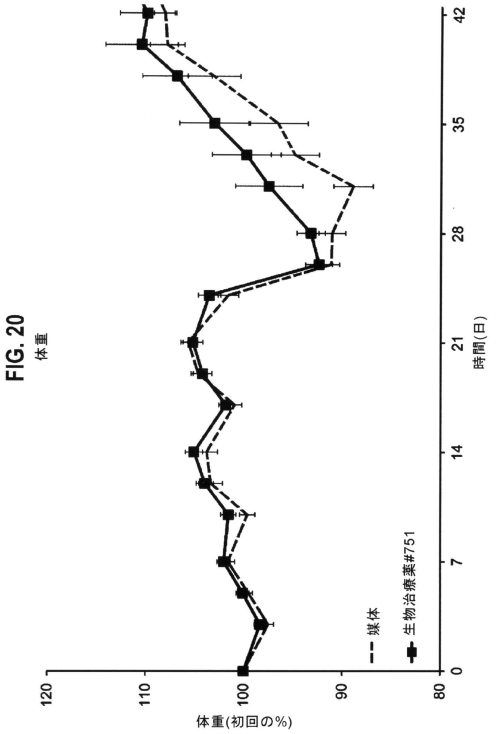
【図１８】



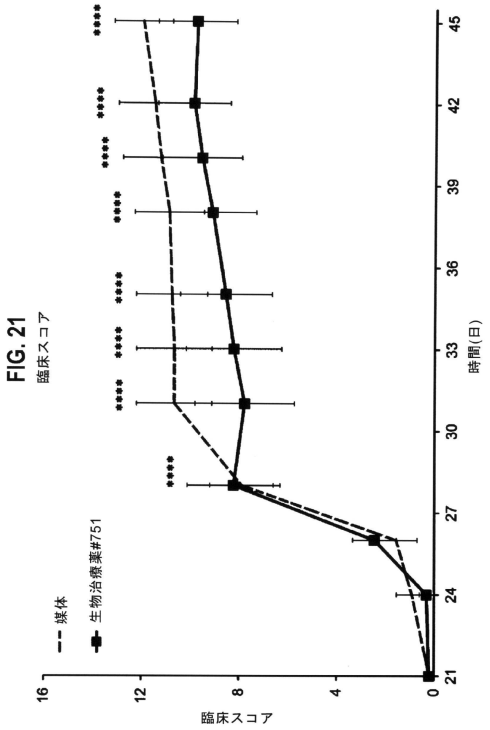
【図１９】



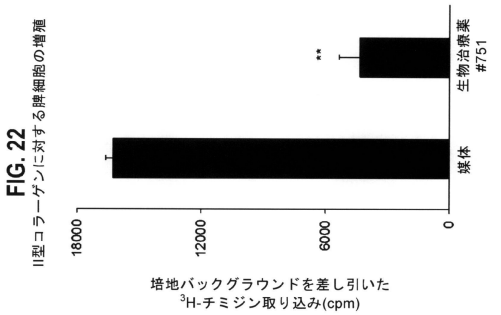
【図２０】



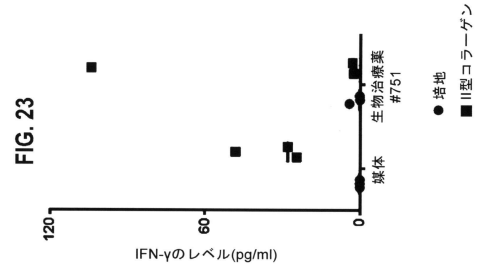
【図２１】



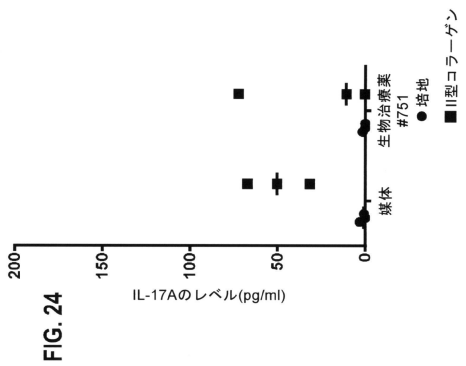
【図２２】



【図２３】



【図２４】



【図２５】

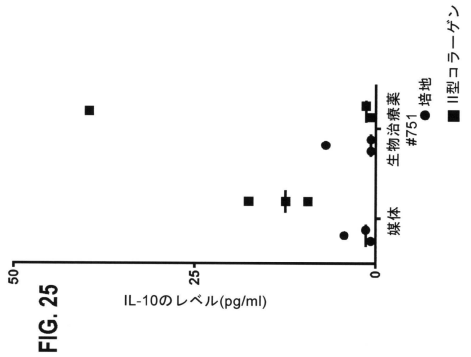
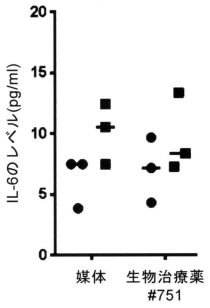


FIG. 25

【図２６】

FIG. 26



● 培地
■ II型コラーゲン

【図２７】

FIG. 27

組織病理学スコア化システム	
グレード	説明
炎症	
0	正常な関節
1	好中球が優勢である炎症を有する軽度の滑膜過形成。関節腔に少数の好中球及びマクロファージ。
2	好中球及びマクロファージの両方を伴う中等度から顕著な炎症を有する滑膜過形成。関節腔に好中球及びマクロファージ;いくつかの壊死組織片が存在しうる。
3	好中球及びマクロファージの両方を伴う顕著な炎症を有する滑膜過形成。滑膜細胞内層の喪失。炎症は、滑膜から筋肉を含む周辺組織まで及んでもよい。有意な壊死組織片と共に関節腔に多数の好中球及びマクロファージ。
関節軟骨の損傷	
0	正常な関節
1	関節軟骨はごく軽度の変性変化を示す。初期パンヌス形成が辺縁部に存在してもよい。
2	関節軟骨は中等度の変性変化及び局所的喪失を示す。パンヌス形成が局所に存在する。
3	広範囲のパンヌス形成を伴う関節軟骨の有意な破壊及び喪失
下層の骨幹端骨に対する損傷	
0	正常な関節
1	下層の骨幹端骨に変化はない。
2	骨幹端骨の局所的壊死又は線維症であってもよい。
3	骨幹端骨の破壊又は崩壊。骨幹端の骨髄腔に及ぶ広範囲の炎症、壊死、又は線維症

【図２８】

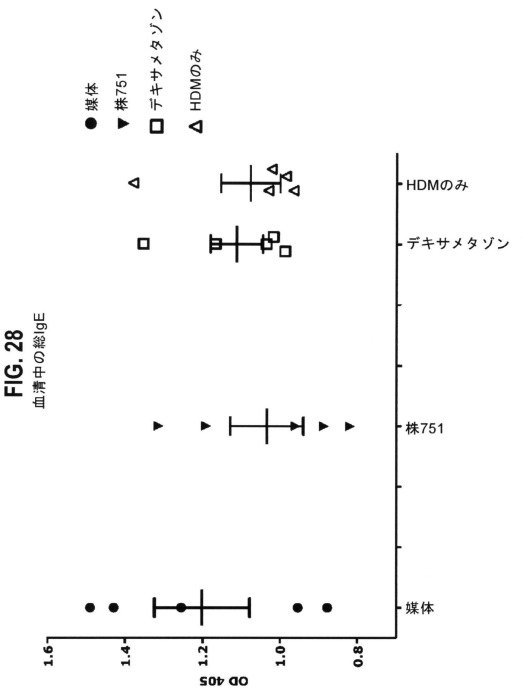
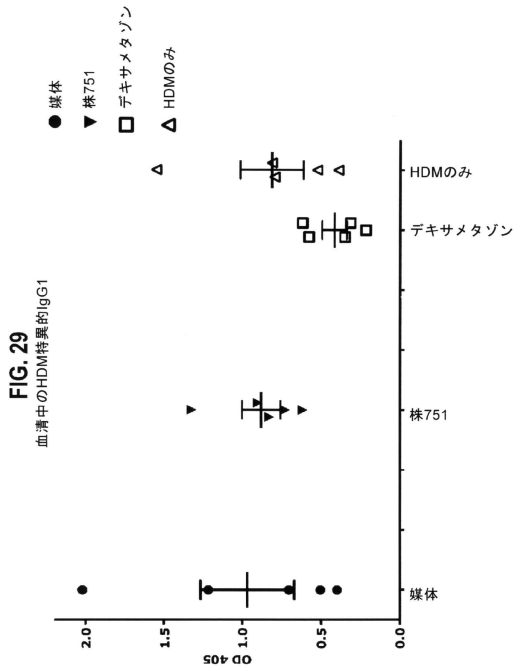
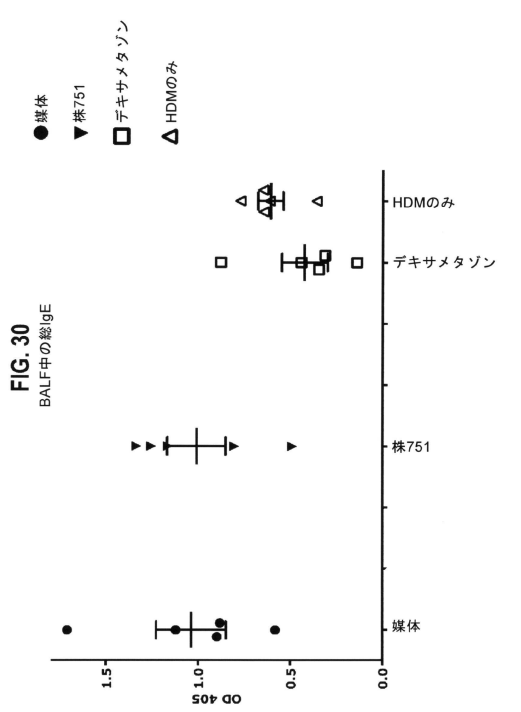


FIG. 28

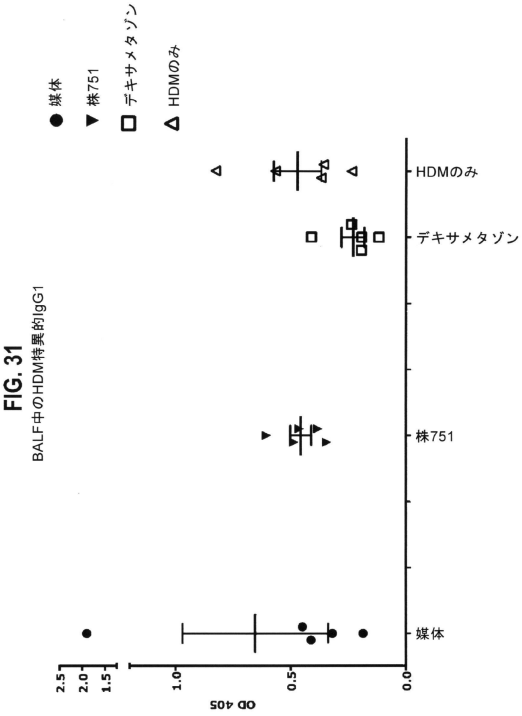
【図２９】



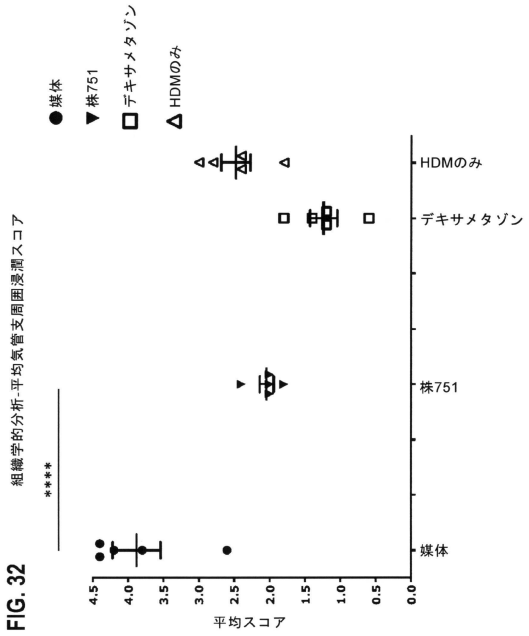
【図３０】



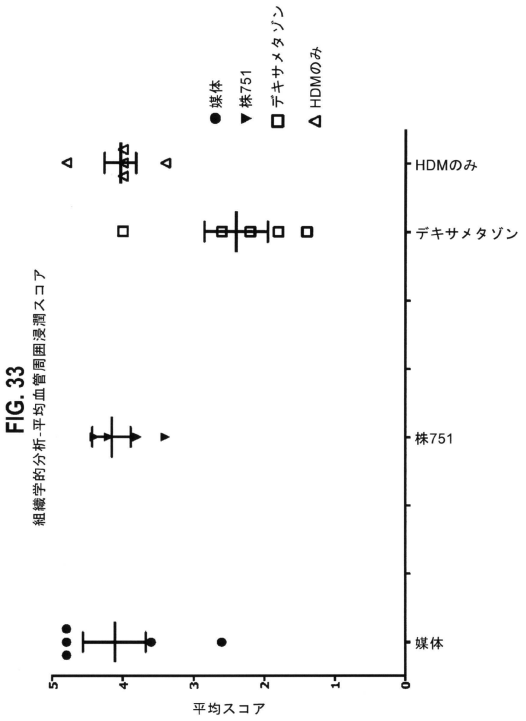
【図３１】



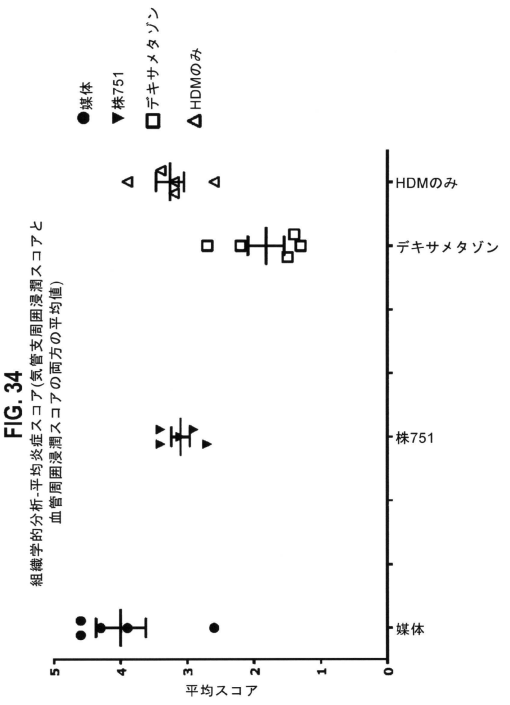
【図３２】



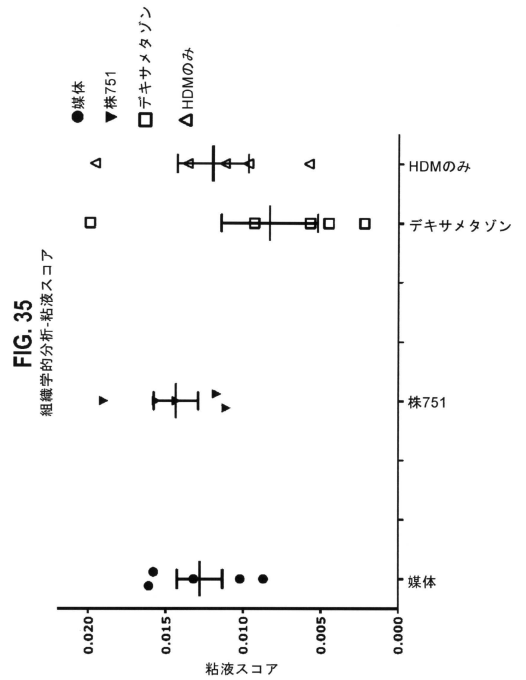
【図３３】



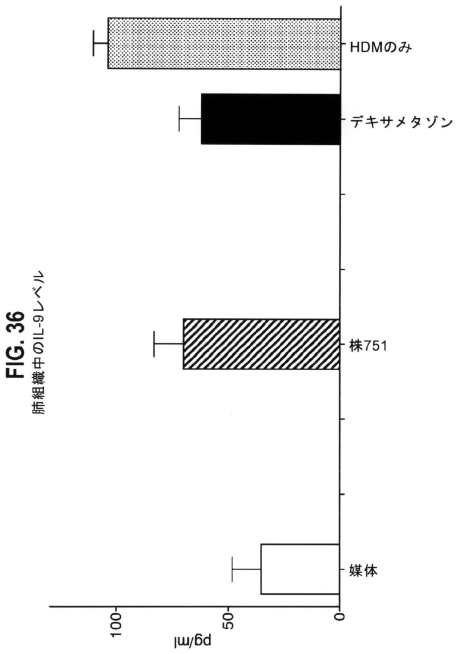
【図３４】



【図３５】



【図３６】



【図３７】

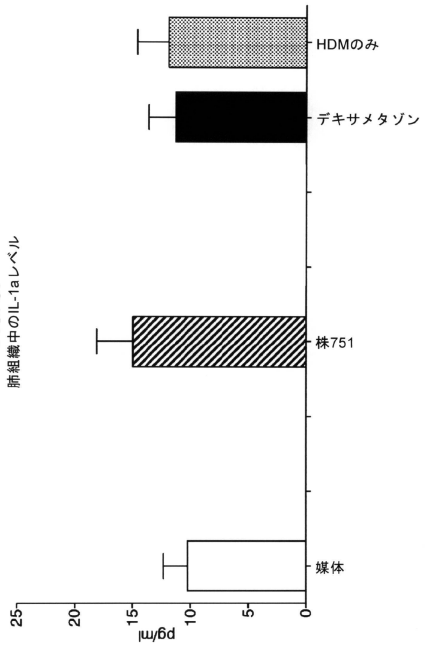


FIG. 37
肺組織中のIL-1aレベル

【図３８】

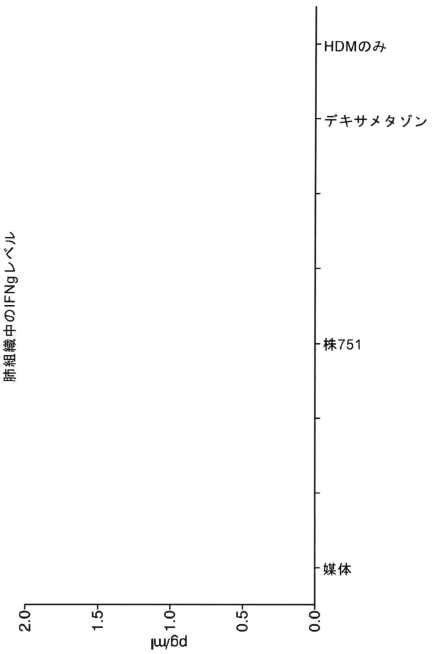


FIG. 38
肺組織中のIFNgレベル

【図３９】

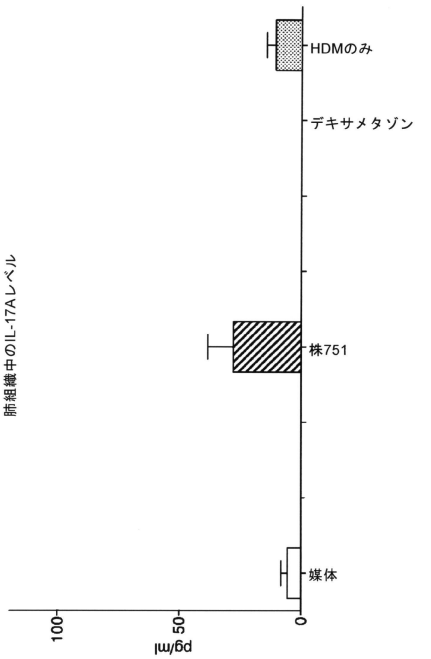


FIG. 39
肺組織中のIL-17Aレベル

【図４０】

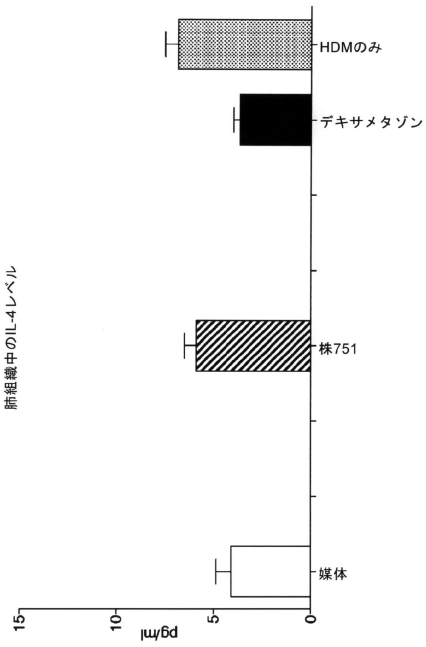


FIG. 40
肺組織中のIL-4レベル

【図４１】

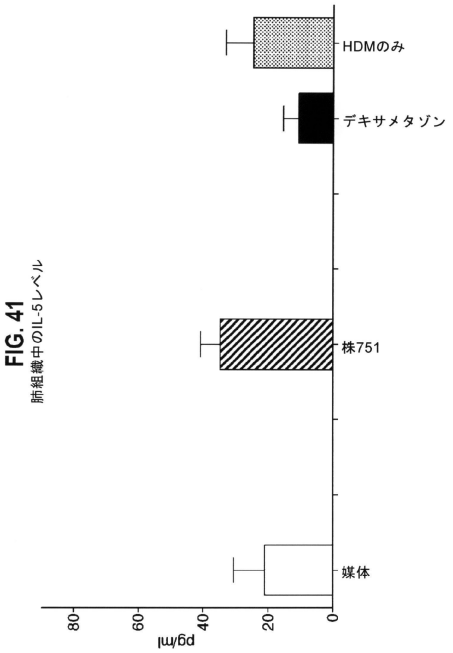


FIG. 41
肺組織中のIL-5レベル

【図４２】

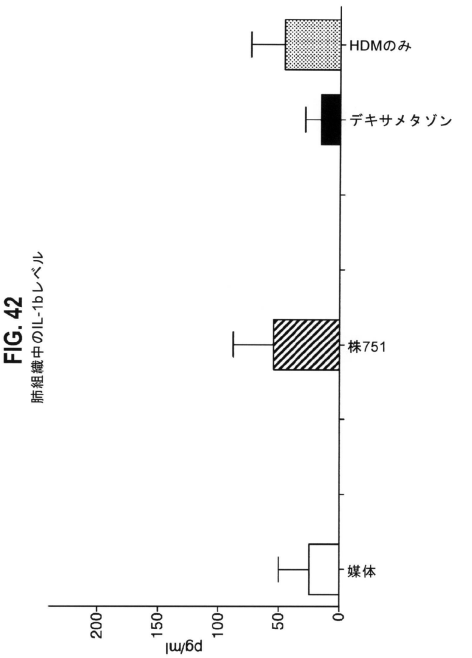


FIG. 42
肺組織中のIL-1bレベル

【図４３】

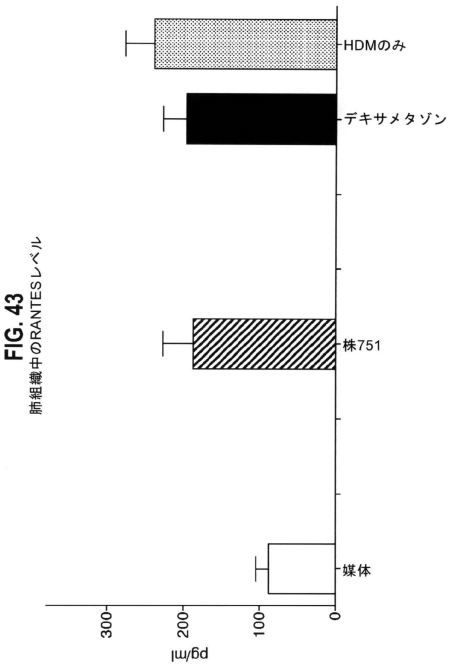


FIG. 43
肺組織中のRANTESレベル

【図４４】

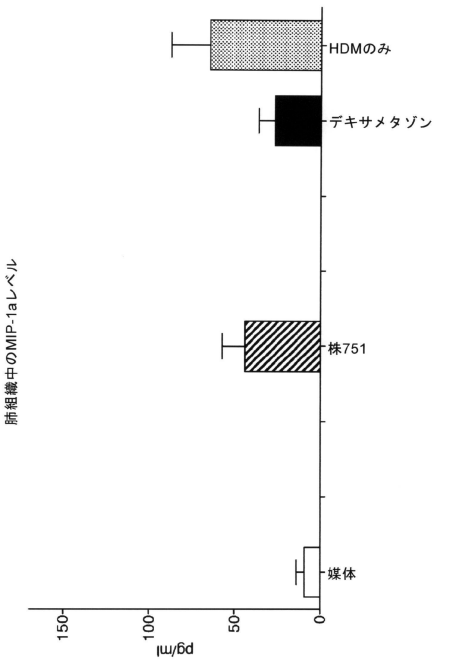
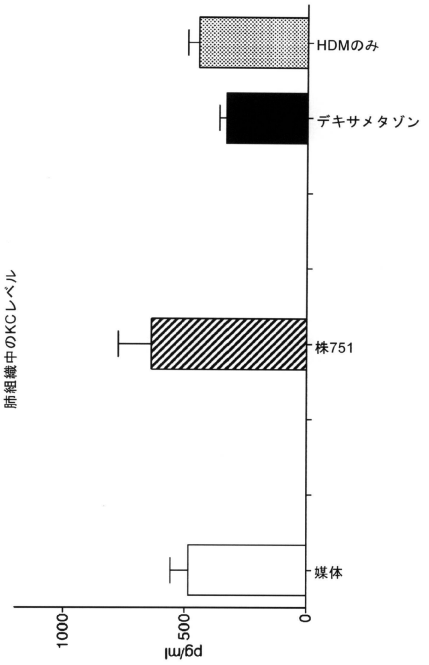
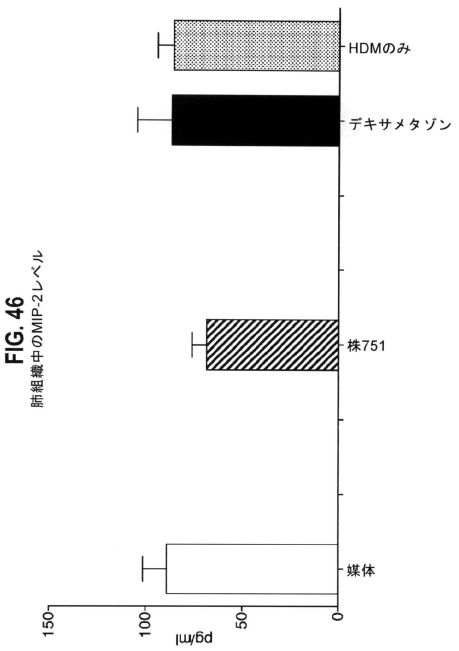


FIG. 44
肺組織中のMIP-1aレベル

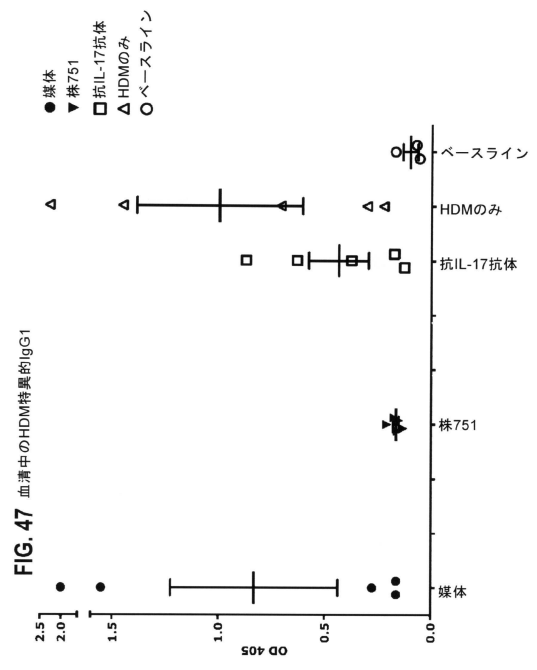
【図４５】



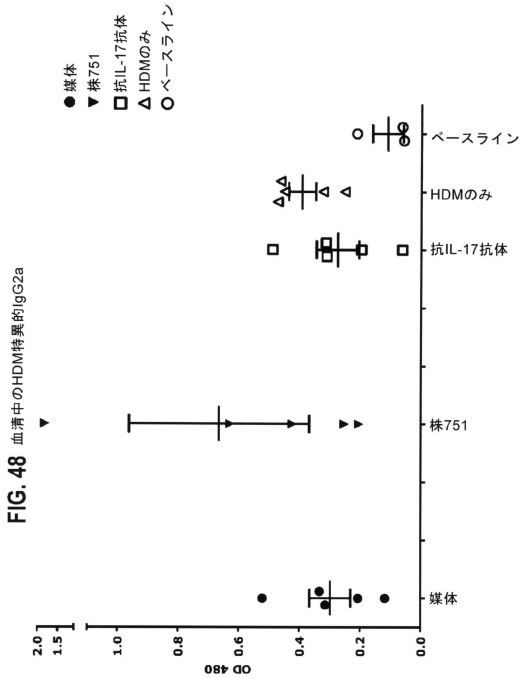
【図４６】



【図４７】



【図４８】



【図４９】

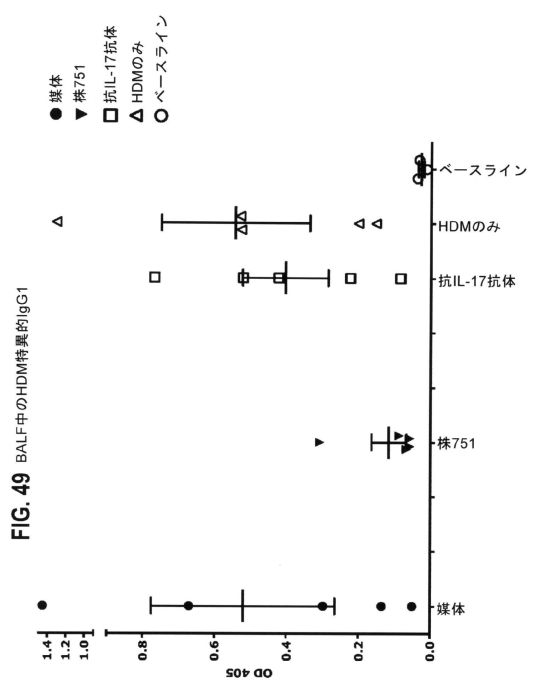


FIG. 49 BALF中のHDM特異的IgG1

【図５０】

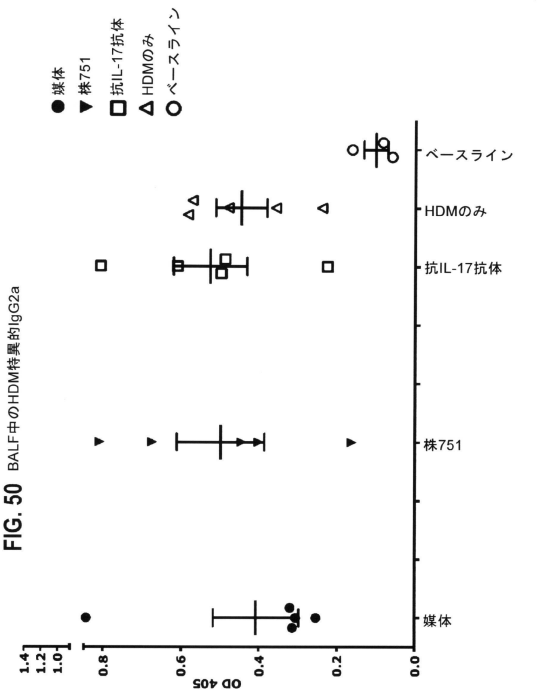


FIG. 50 BALF中のHDM特異的IgG2a

【図５１】

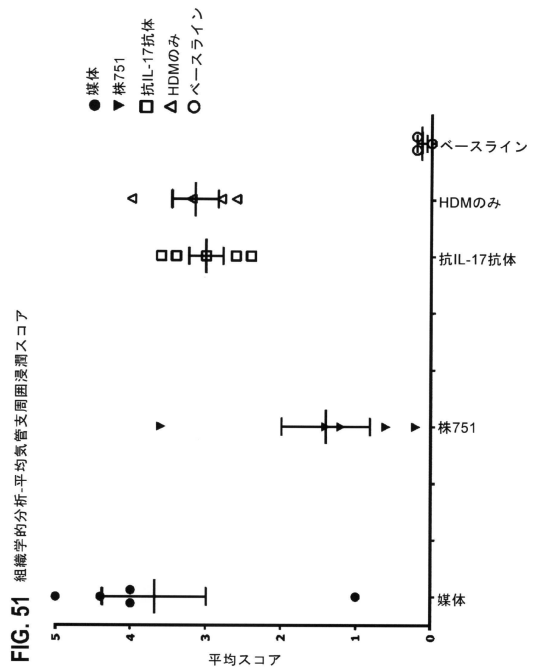


FIG. 51 組織学的分析-平均気管支周囲浸潤スコア

【図５２】

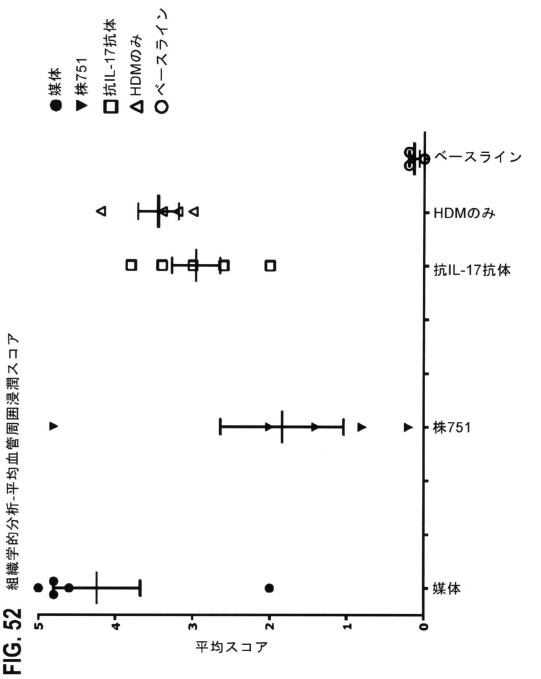


FIG. 52 組織学的分析-平均血管周囲浸潤スコア

【図５３】

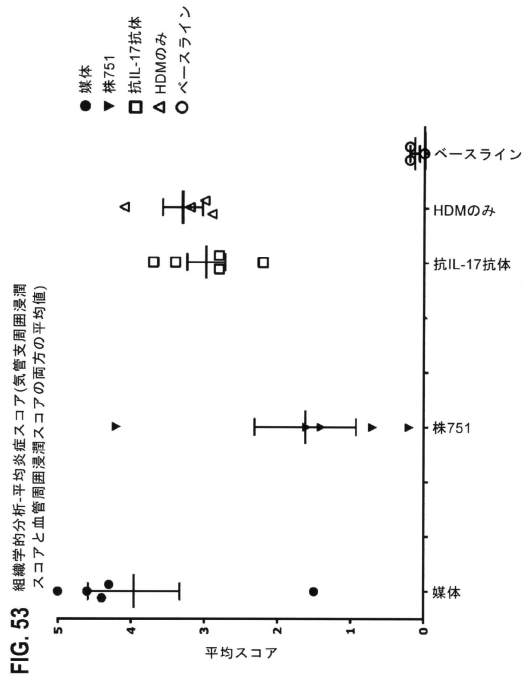


FIG. 53

【図５４】

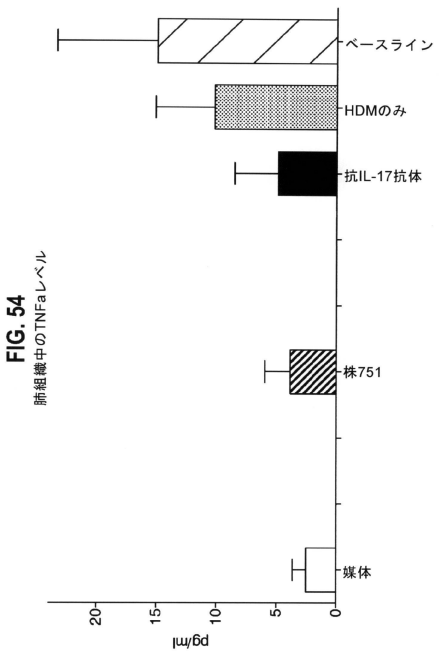


FIG. 54

【図５５】

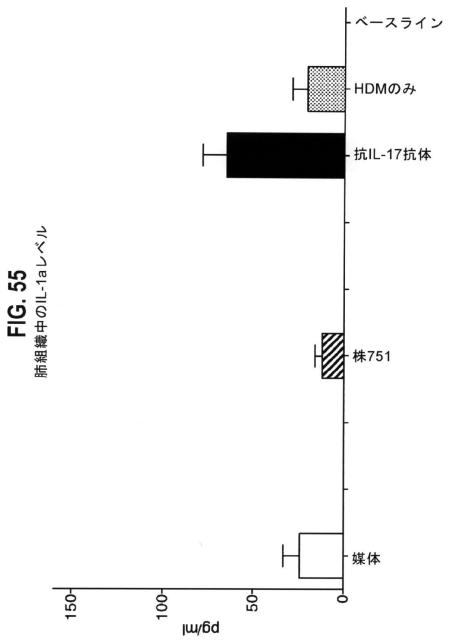


FIG. 55

【図５６】

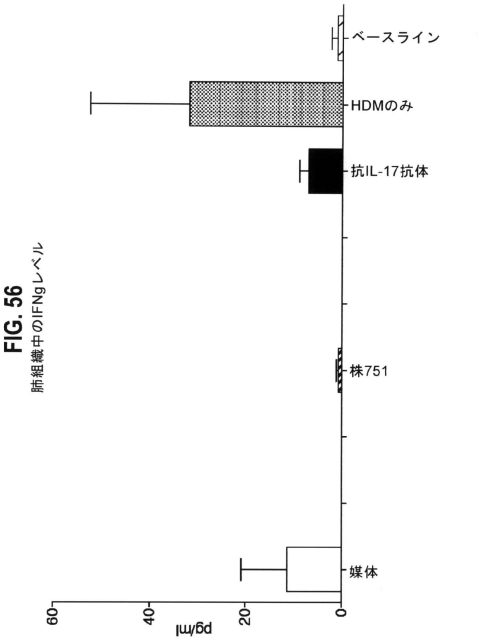


FIG. 56

【図５７】

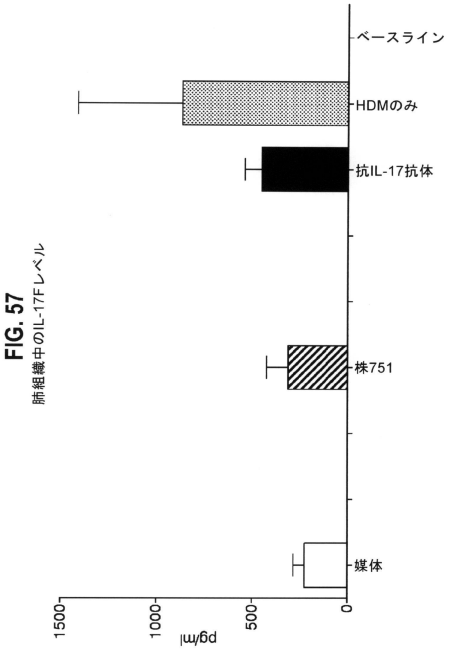


FIG. 57
肺組織中のIL-17Fレベル

【図５８】

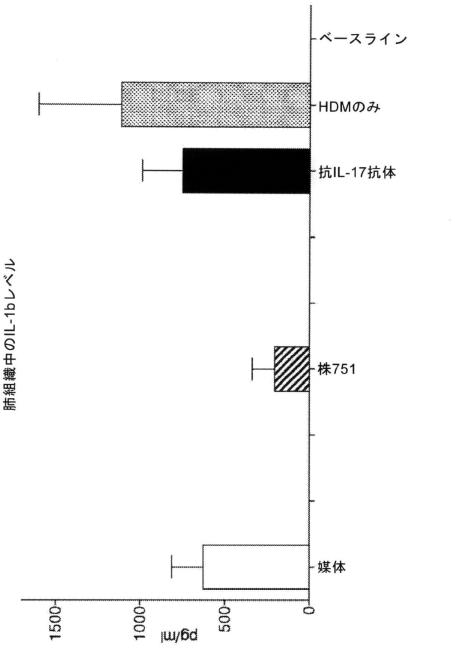


FIG. 58
肺組織中のIL-1bレベル

【図５９】

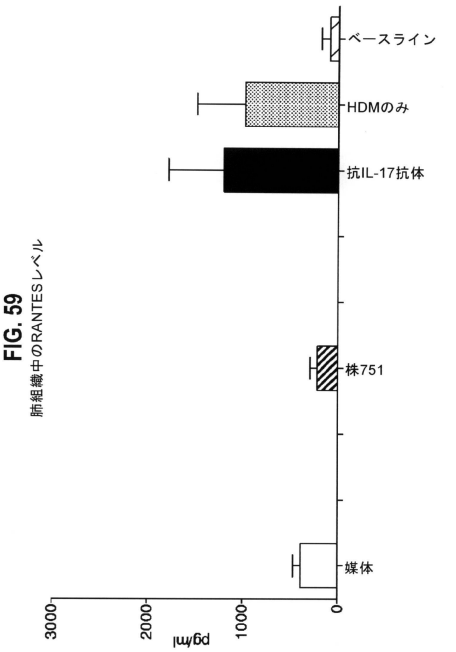


FIG. 59
肺組織中のRANTESレベル

【図６０】

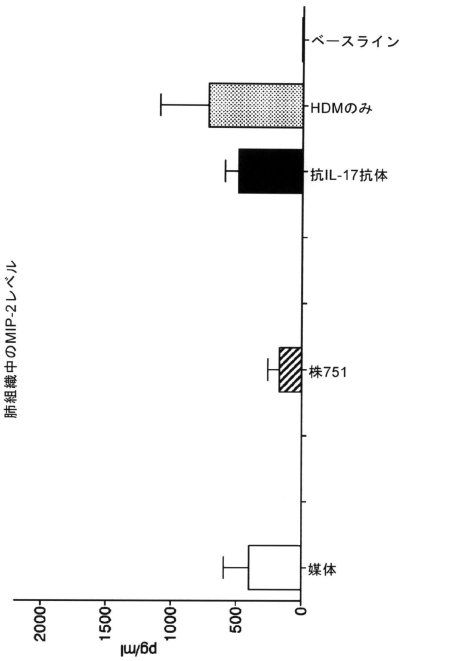
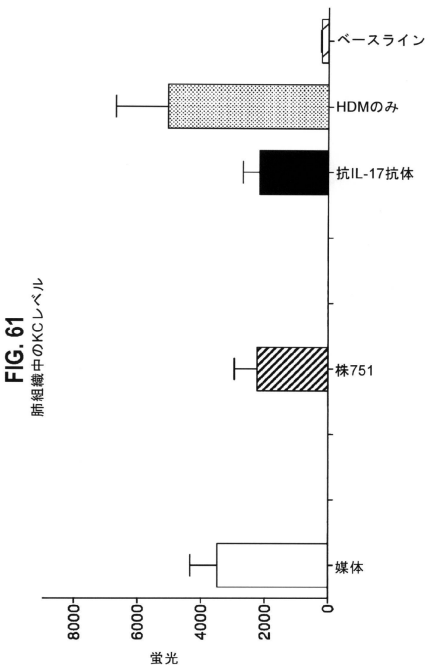
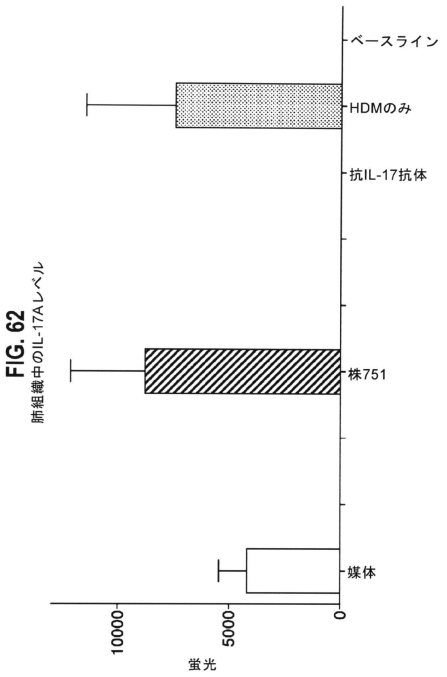


FIG. 60
肺組織中のMIP-2レベル

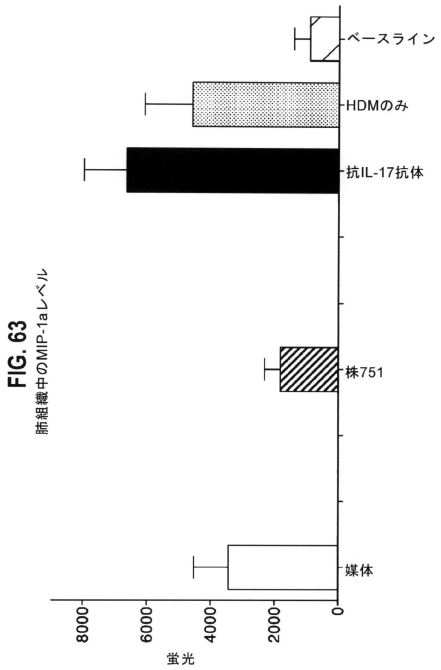
【図６１】



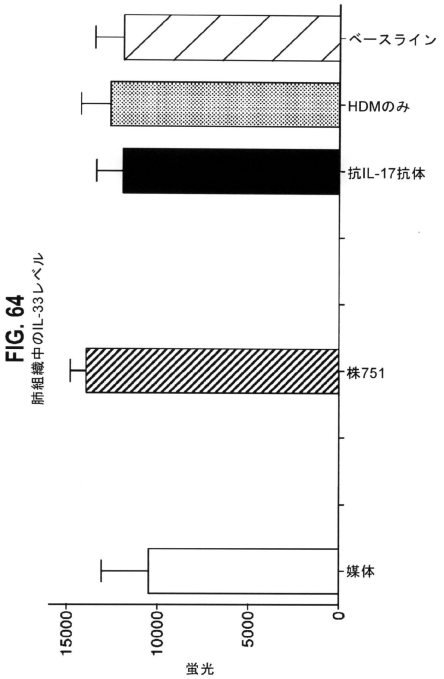
【図６２】



【図６３】



【図６４】



【図６５－１】

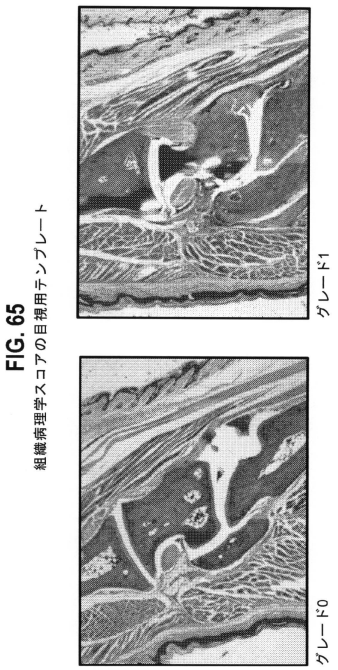


FIG. 65
組織病理学スコアの目視用テンプレート

【図６５－２】

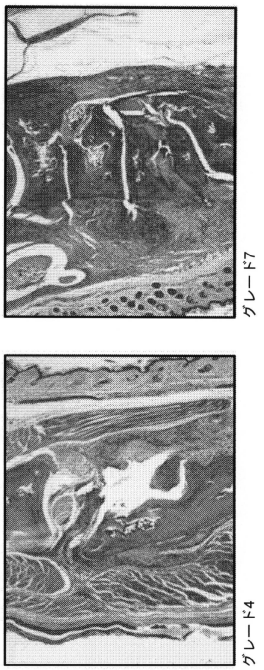


FIG. 65 (続き)

【図６５－３】

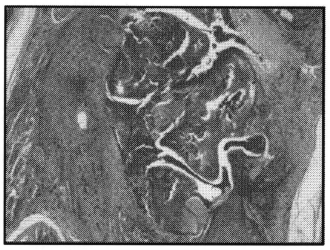
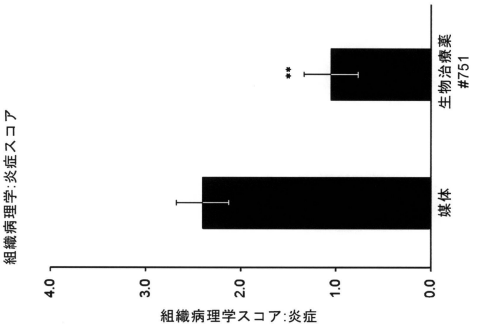
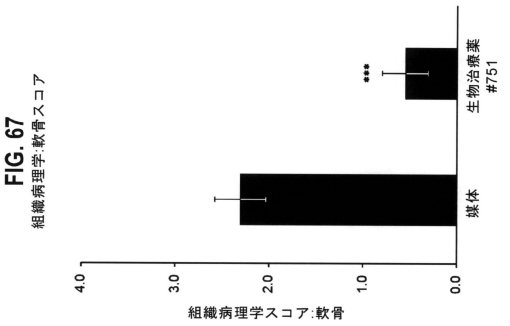


FIG. 65 (続き)

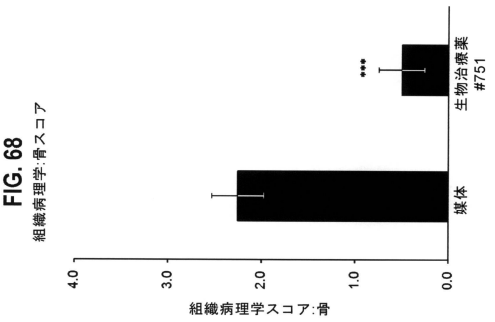
【図６６】



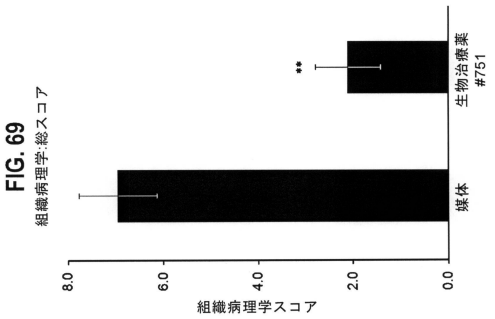
【図６７】



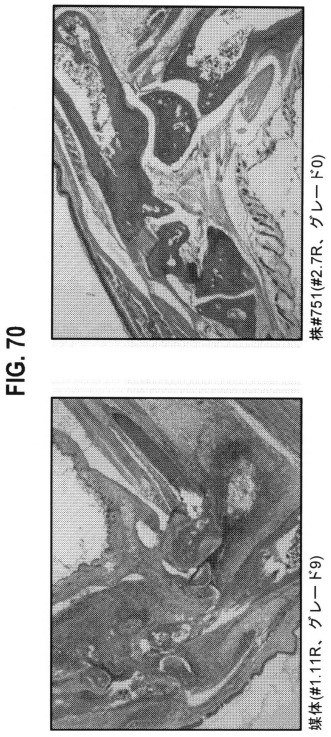
【図６８】



【図６９】

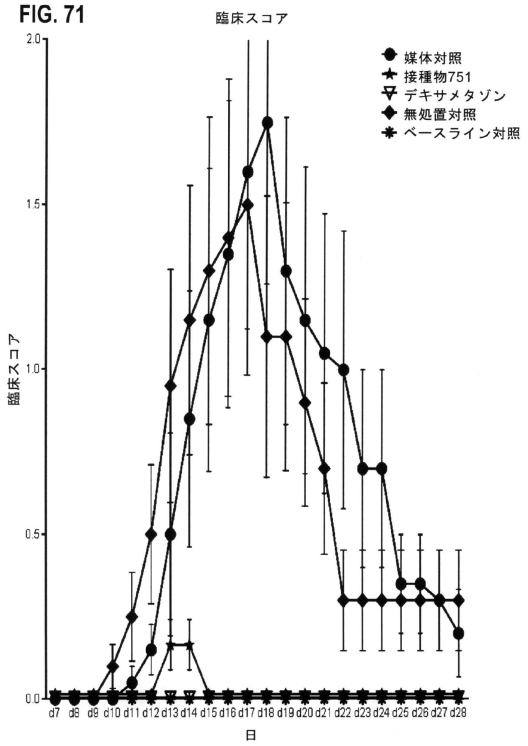


【図７０】



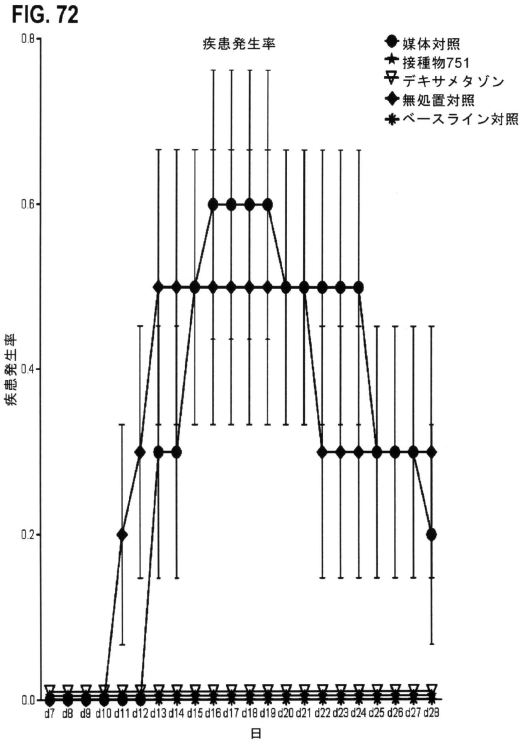
【図７１】

FIG. 71



【図７２】

FIG. 72



【図７３】

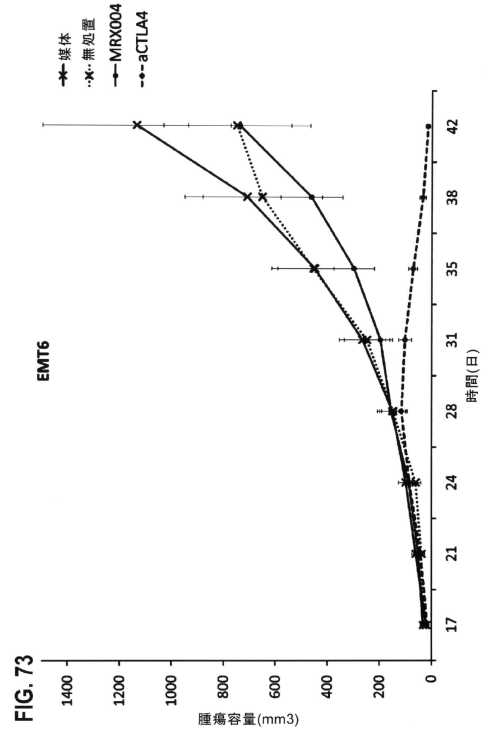


FIG. 73

【図７４】

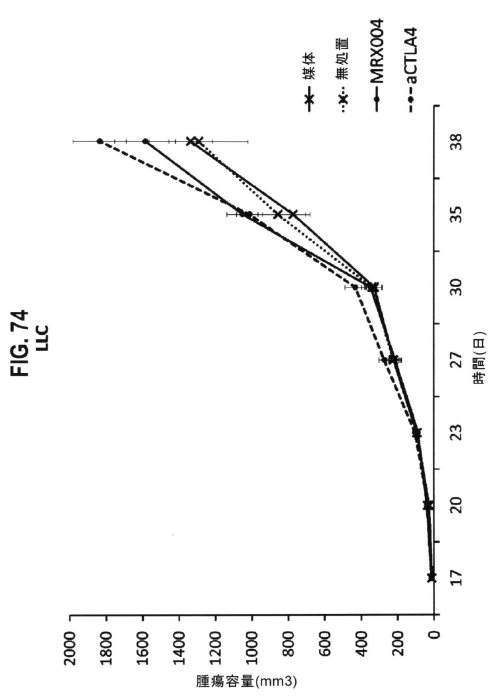
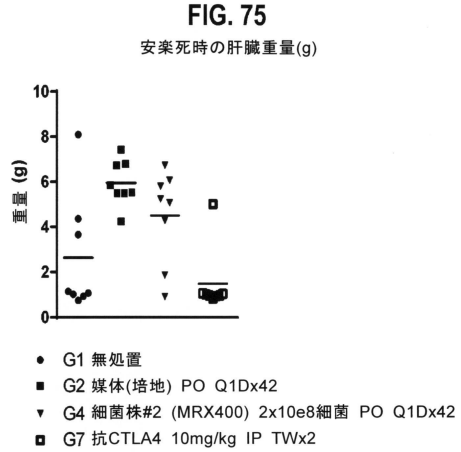
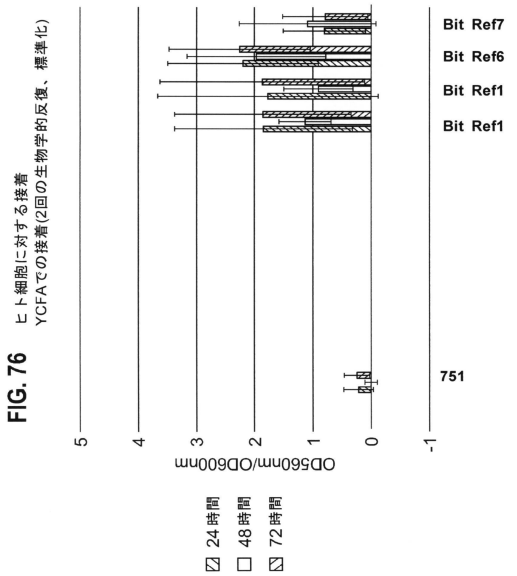


FIG. 74
LLC

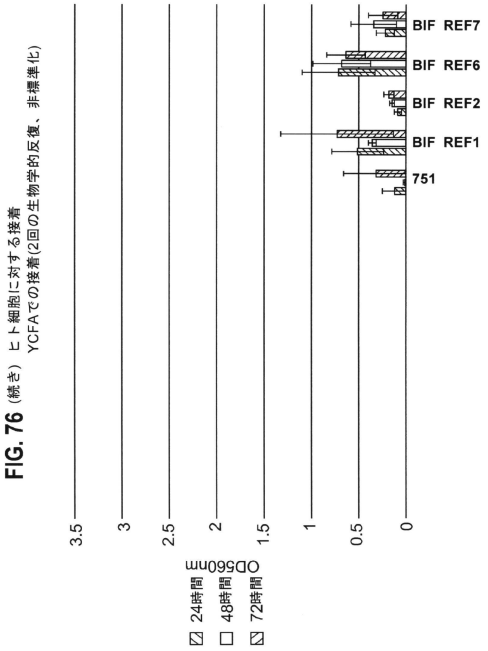
【図７５】



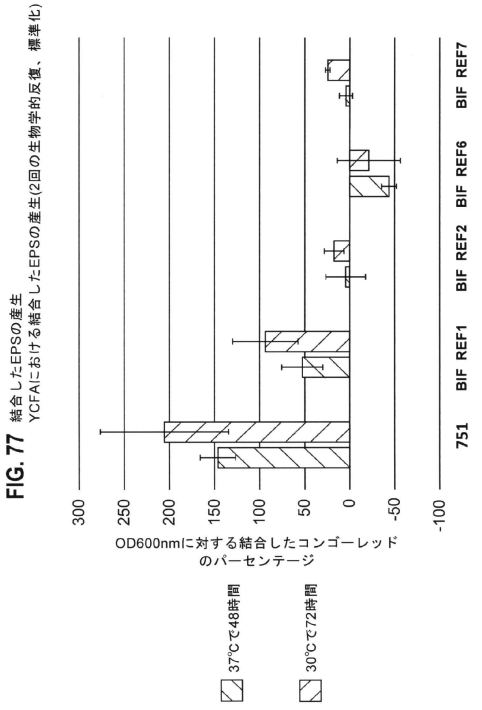
【図７６－１】



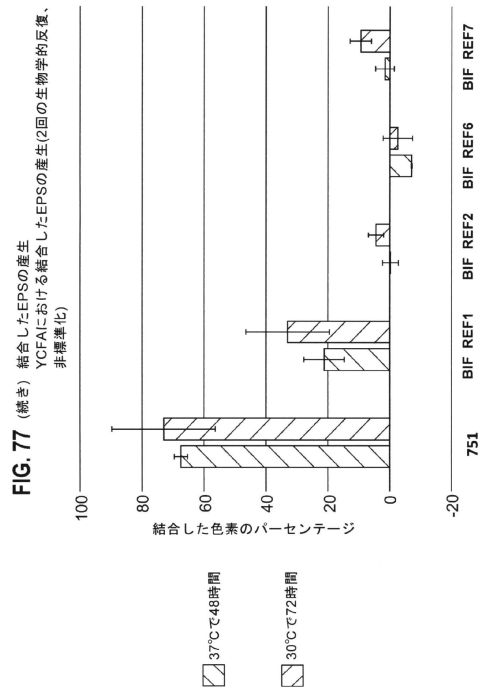
【図７６－２】



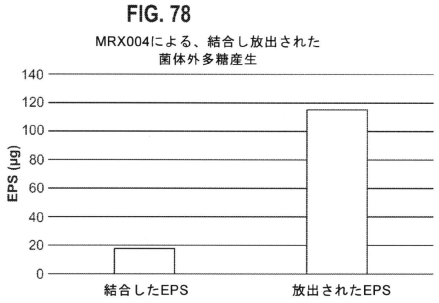
【図７７－１】



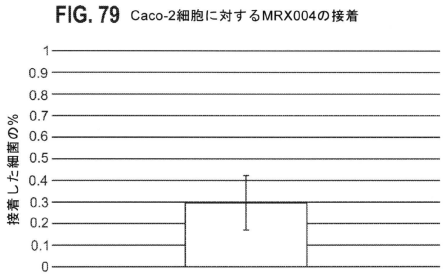
【図７７－２】



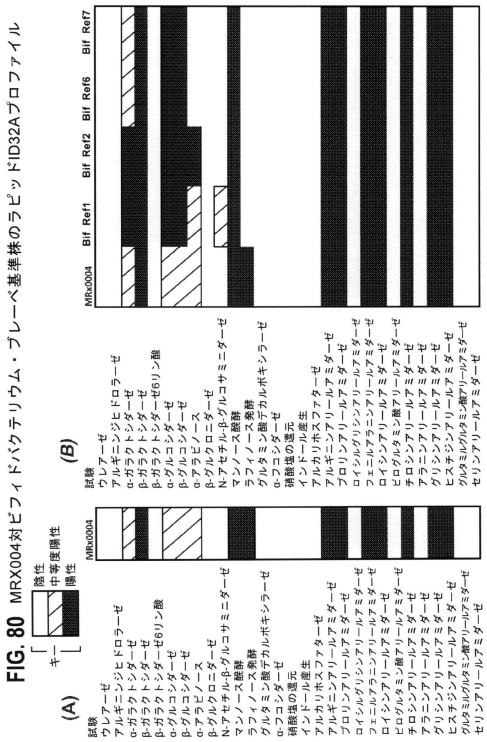
【図７８】



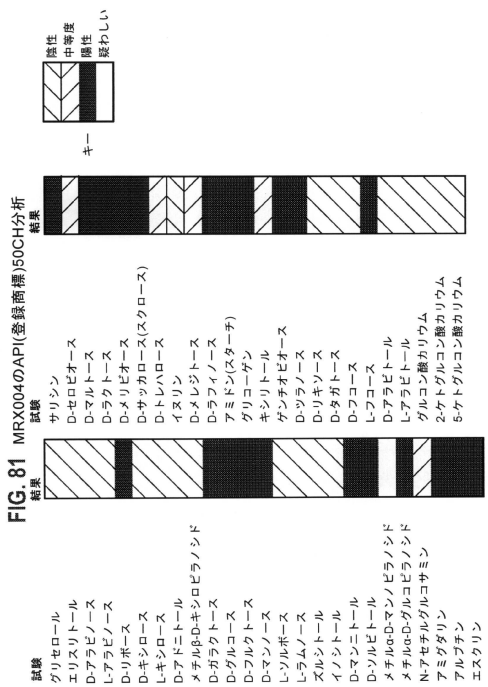
【図７９】



【図８０】



【図８１】



【配列表】

0007368433000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類　　FI
A23L 33/135(2016.01)　　A23L 33/135

英国(GB)

微生物の受託番号　NCIMB NCIMB 42380

ティオブイーストアングリア ファカルティーオブメディシンアンドヘルスサイエンシーズ ノリッチメディカルスクール

(72)発明者　ムルダー イムケ
イギリス国 エイビー２５ ２ゼットエス アバディーンシャー アバディーン コーンヒルロード ライフサイエンシーズイノベーションビルディング

(72)発明者　マックルスキー ショーニン
イギリス国 エルエス１ ２ジェイゼット ヨークシャー リーズ ボンドコート９ ３階 フォーディー ファーマ ピーエルシー気付

(72)発明者　ラフティス エマ
イギリス国 エルエス１ ２ジェイゼット ヨークシャー リーズ ボンドコート９ ３階 フォーディー ファーマ ピーエルシー気付

審査官　佐々木 大輔

(56)参考文献
特開２０１０－２４６５２３（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１５／１５６４１９（WO，Ａ１）
国際公開第２０１５／０１３２１４（WO，Ａ１）
特表２０１３－５２７２４０（ＪＰ，Ａ）
第６３回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, 2009, p.221, 3I-02a
Blood, 2003, Vol.101, pp.2620-2627
Biochem. Biophys. Res. Commun., 2008, Vol.374, No.3, pp.533-537
J. Immunol., 2005, Vol.175, No.9, pp.6177-6189
Clin. Exp. Gastroenterol., 2014, Vol.1, No.7, pp.297-306
第６３回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, 2009, p.41
Int. J. Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, Vol.55, pp.1335-1337

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ　３５／００－３５／７６８
Ａ６１Ｋ　９／００－ ９／７２
Ａ２３Ｌ　３３／００－３３／２９
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＧｅｎＢａｎｋ／ＥＭＢＬ／ＤＤＢＪ／ＧｅｎｅＳｅｑ