



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201945015 A

(43)公開日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：108104512

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 02 月 11 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/74 (2015.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
C12M1/00 (2006.01) *C07K16/28 (2006.01)*
C12N1/20 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*
C12R1/01 (2006.01)

(30)優先權：2018/02/06 美國 62/626,789
 2018/05/04 美國 62/666,944
 2018/07/25 美國 62/703,269

(71)申請人：美商艾弗洛生物科技股份有限公司 (美國) EVELO BIOSCIENCES, INC. (US)
 美國

(72)發明人：古德曼 布萊恩 GOODMAN, BRIAN (US)；包斯 邦多納 BOSE, BAUNDAUNA (US)；大衛特 克里斯多夫 J H DAVITT, CHRISTOPHER JH (IE)；席諾瓦 瑪麗亞 SIZOVA, MARIA (US)；卡爾頓 蘇菲亞 CARLTON, SOFIA (PT)；義塔諾 安德烈 ITANO, ANDREA (US)；波尼奇特拉 霍莉 PONICHTERA, HOLLY (US)；柯麥克 泰勒 A CORMACK, TAYLOR A. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：133 項 圖式數：15 共 223 頁

(54)名稱

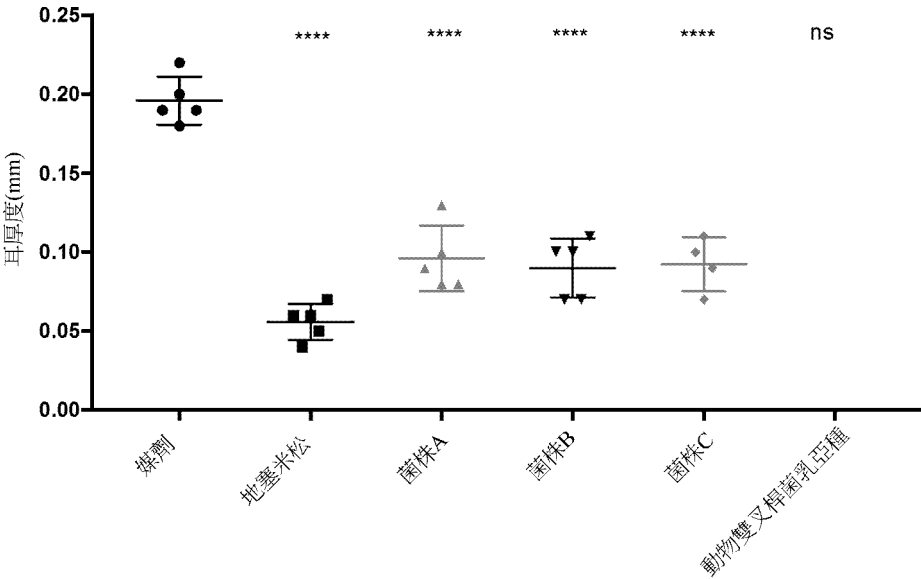
以範永氏球菌 (Veillonella Bacteria) 治療癌症及免疫病症之組合物及方法

(57)摘要

本發明提供與適用作治療劑之範永氏球菌(Veillonellabacteria)相關之方法及組合物。

Provided herein are methods and compositions related to Veillonellabacteria useful as therapeutic agents.

指定代表圖：



【圖1】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

以範永氏球菌 (*Veillonella Bacteria*) 治療癌症及免疫病症之組合物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CANCER AND IMMUNE DISORDERS USING VEILLONELLA BACTERIA

【技術領域】

【0001】 本發明係關於以範永氏球菌治療癌症及免疫病症之組合物及方法。

【先前技術】

【發明內容】

【0002】 在某些態樣中，本文提供與個體(例如人類個體)之疾病(例如癌症、自體免疫疾病、發炎性疾病、代謝疾病)之治療及/或預防相關之方法及組合物(例如細菌組合物、醫藥組合物)，該等方法包含投與包含範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌(*Veillonella tobetsuensis*)、小範永氏球菌(*Veillonella parvula*))及/或該細菌之產物(例如細胞外囊泡(EV)及/或醫藥學上活性之生質(PhAB))之細菌組合物。本文亦提供製造及/或識別此類細菌及/或細菌產物之方法。在一些實施例中，此處提供包含該細菌之生物反應器。在一些實施例中，範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列(例如基因組序列、16S序列、CRISPR序列)包含至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性(例如至少99.5 %序列

一致性、至少99.6%序列一致性、至少99.7%序列一致性、至少99.8%序列一致性、至少99.9%序列一致性)的菌株。在一些實施例中，投與細菌組合物治療個體之免疫病症。在一些實施例中，免疫病症為自體免疫疾病。在一些實施例中，免疫病症為發炎性疾病。在一些實施例中，免疫病症為過敏。

【0003】 在一些實施例中，本文提供由本文所提供之小範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)產生及/或由其生成及/或與其分離之細胞外囊泡(EV)。在一些實施例中，細菌組合物包含範永氏球菌EV及全範永氏球菌(例如活細菌、經殺滅之細菌、減毒細菌)兩者。在某些實施例中，本文提供包含在不存在範永氏球菌EV之情況下之範永氏球菌之細菌組合物。在一些實施例中，醫藥組合物包含在不存在範永氏球菌之情況下之範永氏球菌EV。

【0004】 在某些實施例中，本文提供治療患有免疫病症(例如自體免疫疾病、發炎性疾病、過敏)之個體之方法，其包含向個體投與包含範永氏球菌(例如經殺滅之細菌、活細菌及/或減毒細菌)之細菌組合物。在某些實施例中，本文提供治療患有代謝疾病之個體之方法，其包含向個體投與本文所描述之細菌組合物。在一些實施例中，細菌為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌為與表1中列舉之細菌菌株之對應核苷酸序列包含至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性(例如基因組序列一致性、16S序列一致性、CRISPR序列一致性)(例如至少99.5%序列一致性、至少99.6%序列一致性、至少99.7%序列一致性、至少99.8%序列一致性、至少99.9%序列一致性)的菌株。在一些實施例中，細菌組合物中至少50%、60%、70%、80%、85%、90%、90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%或99%細菌為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，全部或實質上全部細菌調配物中之細菌為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌調配物包含至少 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 或 1×10^9 個菌落形成單位之範永氏球菌(例如表1中列舉之細菌菌株)。

【0005】 在某些實施例中，本文提供治療患有癌症之個體之方法，其包含向個體投與本文所描述之細菌組合物。

【0006】 在一些實施例中，該方法進一步包含向個體投與抗生素。在一些實施例中，該方法進一步包含向個體投與一或多種其他癌症療法(例如腫瘤手術移除、化學治療劑投與、輻射療法投與及/或癌症免疫療法投與，諸如免疫檢查點抑制劑、癌症特異性抗體、癌症疫苗、經誘發抗原呈現細胞、癌症特異性T細胞、癌症特異性嵌合抗原受體(CAR) T細胞、免疫活化蛋白及/或佐劑)。

【0007】 在一些實施例中，該方法進一步包含投與另一治療細菌。在一些實施例中，該方法進一步包含投與免疫抑制劑及/或消炎劑。在一些實施例中，該方法進一步包含投與代謝疾病治療劑。

【0008】 在某些實施例中，本文提供包含表1中列舉之細菌菌株(例如經殺滅之細菌、活細菌及/或減毒細菌)及/或該細菌之產物(例如細胞外囊泡(EV)及/或醫藥學上活性之生質(PhAB))之細菌組合物。在一些實施例中，細菌組合物中至少50%、60%、70%、80%、85%、90%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%細菌為表1中列

舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少99%序列一致性(例如基因組序列一致性、16S序列一致性、CRISPR序列一致性)(例如至少99.5%序列一致性、至少99.6%序列一致性、至少99.7%序列一致性、至少99.8%序列一致性、至少99.9%序列一致性)的菌株。在一些實施例中，全部或實質上全部細菌調配物中之細菌為表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌調配物包含至少 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 或 1×10^9 個菌落形成單位之表1中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌組合物包含由表1中列舉之細菌菌株製成之EV及/或PhAB (例如全細胞、細胞部分、來自醱酵之上清液、上清液部分及/或細胞外囊泡)。

【0009】 在一些實施例中，細菌組合物係經口、靜脈內、瘤內或皮下投與。在一些實施例中，細菌組合物係以2次或更多次(例如3次或更多次、4次或更多次或5次或更多次劑量)投與。在一些實施例中，向個體之兩次或更多次劑量之投與相隔至少1小時、2小時、3小時、4小時、5小時、6小時、7小時、8小時、9小時、10小時、11小時、12小時、13小時、14小時、15小時、16小時、17小時、18小時、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天。在一些實施例中，投與作為生態共生物種之部分之第二細菌。

【0010】 在某些實施例中，該組合物包含特定比率之範永氏球菌與

範永氏球菌EV顆粒。舉例而言，在一些實施例中，醫藥組合物包含至少1個範永氏球菌/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、

5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、
 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏
 球菌EV顆粒。在一些實施例中，醫藥組合物包含約1個範永氏球菌/1、
 1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、
 2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、
 3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、
 5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、
 6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、
 7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、
 9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、
 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、
 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、
 45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、
 60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、
 75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、
 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、
 300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、
 900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、
 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、
 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、
 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、
 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、
 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、

8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、
 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、
 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、
 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌EV顆粒。在
 一些實施例中，醫藥組合物包含不超過1個範永氏球菌/1、1.1、1.2、
 1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、
 2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、
 3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、
 5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、
 6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、
 7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、
 9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、15、16、
 17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、
 32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、
 47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、
 62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、
 77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、
 92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、300、
 350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、
 950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、
 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、
 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、
 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、

9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、
 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、
 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、
 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、
 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、
 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌EV顆粒。在一些實施
 例中，醫藥組合物包含至少1個範永氏球菌EV顆粒/1、1.1、1.2、1.3、
 1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、
 2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、
 4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、
 5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、
 6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、
 8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、
 9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、15、16、17、
 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、
 33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、
 48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、
 63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、
 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、
 93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、300、350、
 400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、
 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、
 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、

1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、
 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、
 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、
 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、
 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、
 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、
 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、
 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌。在一些實施例中，醫藥組合物
 包含約1個範永氏球菌EV顆粒/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、
 1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、
 3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、
 4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、
 5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、
 7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、
 8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、
 9.8、9.9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、
 23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、
 38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、
 53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、
 68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、
 83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、
 98、99、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、
 600、650、700、750、800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、

4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、
 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、
 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、
 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、
 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、
 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、
 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、
 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、
 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/
 或 1×10^{12} 個範永氏球菌。在一些實施例中，醫藥組合物包含不超過1個範
 永氏球菌EV顆粒/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、
 2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、
 3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、
 4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、
 6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、
 7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、
 8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、
 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、
 26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、
 41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、
 56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、
 71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、
 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、

150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、
750、800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、
 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、
 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、
 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、
 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、
 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、
 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、
 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、
 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、
 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏
球菌。

【0011】 在某些實施例中，細菌組合物抑制遲發型過敏(DTH)中之免疫反應。在某些實施例中，細菌組合物誘發調節T細胞或消炎反應。在某些實施例中，細菌組合物抑制抗原特異性反應。在某些實施例中，細菌組合物治療過敏性接觸性皮炎。在某些實施例中，細菌組合物治療自體免疫性心肌炎。在某些實施例中，細菌組合物治療1型糖尿病。在某些實施例中，細菌組合物治療肉芽腫。在某些實施例中，細菌組合物治療周邊神經病變。在某些實施例中，細菌組合物治療橋本氏甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)。在某些實施例中，細菌組合物治療多發性硬化症。在某些實施例中，細菌組合物治療類風濕性關節炎。

【0012】 在某些實施例中，細菌組合物治療結腸炎症。在某些實施例中，細菌組合物治療結腸炎。結腸炎可為急性及自限性或長期的。在某

些實施例中，細菌組合物治療潰瘍性結腸炎。在某些實施例中，細菌組合物治療消化疾病。在某些實施例中，細菌組合物治療克羅恩氏病(Crohn's disease)。在某些實施例中，細菌組合物治療發炎性腸病(IBD)。在某些實施例中，細菌組合物治療顯微鏡下結腸炎(microscopic colitis)。在某些實施例中，細菌組合物治療膠原性結腸炎。在某些實施例中，細菌組合物治療轉流性結腸炎(diversion colitis)。在某些實施例中，細菌組合物治療化學性結腸炎。在某些實施例中，細菌組合物治療缺血性結腸炎。在某些實施例中，細菌組合物治療未定型結腸炎。在某些實施例中，細菌組合物治療非典型結腸炎。在一些實施例中，該方法進一步包含向個體投與額外的治療劑(例如抗生素、免疫抑制劑、消炎劑)。在一些實施例中，該方法進一步包含向個體投與第二治療性細菌。

【0013】 在一些實施例中，個體為哺乳動物。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體為非人類哺乳動物(例如狗、貓、牛、馬、豬、驢、山羊、駱駝、小鼠、大鼠、天竺鼠、綿羊、駱馬、猴、大猩猩或黑猩猩)。

【圖式簡單說明】

【0014】 圖1顯示在KLH基遲發型過敏小鼠模型中與媒劑(陰性對照)、消炎地塞米松(Dexamethasone)(陽性對照)及動物雙叉桿菌乳亞種(*Bifidobacterium animalis lactis*)相比之在24小時時經口投與之範永氏球菌菌株A、B及C在減少抗原特異性耳腫脹(耳厚度)中的功效。

【0015】 圖2顯示在KLH基遲發型過敏模型中在抗原攻毒之後與媒劑(陰性對照)相比之在24小時時經口投與之經照射之(25kGy)範永氏球菌菌株B在減少抗原特異性耳腫脹(耳厚度)中的功效。活範永氏球菌菌株B

及經照射之範永氏球菌菌株B兩者均有效地抑制耳腫脹，但經照射之範永氏球菌菌株B比活菌株B甚至更有效，且其比陽性對照地塞米松甚至更有效。活範永氏球菌菌株C群及經照射之範永氏球菌菌株C群兩者均展現功效，但與菌株B之照射不同，範永氏球菌菌株C之照射既不增強其功效，亦不減弱其功效。

【0016】 圖3顯示在KLH基遲發型過敏模型中在抗原攻毒之後與媒劑(陰性對照)相比之在48小時時經口投與之經照射之(25kGy)範永氏球菌菌株B在減少抗原特異性耳腫脹(耳厚度)中的功效。活範永氏球菌菌株B及經照射之範永氏球菌菌株B兩者均有效地抑制耳腫脹，但經照射之範永氏球菌菌株B比活菌株B甚至更有效，且其比陽性對照地塞米松甚至更有效。活範永氏球菌菌株C群及經照射之範永氏球菌菌株C群兩者均展現功效，但與菌株B之照射不同，範永氏球菌菌株C之照射既不增強其功效，亦不減弱其功效。

【0017】 圖4顯示在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內注射(i.p.)之抗PD-1或媒劑相比之範永氏球菌菌株A及B EV之功效。

【0018】 圖5顯示在第11天時在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內注射(i.p.)之抗PD-1或媒劑相比之範永氏球菌菌株A及B EV之功效。

【0019】 圖6顯示在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內注射(i.p.)之抗PD-1或媒劑相比之範永氏球菌菌株A及B EV之劑量及投與途徑依賴性功效。

【0020】 圖7顯示在第11天時在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內注射(i.p.)之抗PD-1或媒劑相比之範永氏球菌菌株A及B EV之劑量及投與途徑依賴性功效。

【0021】 圖8顯示在KLH基遲發型過敏小鼠模型中與媒劑(陰性對照)及消炎地塞米松(陽性對照)相比之在24小時時所投與之經照射之(25kGy)範永氏球菌菌株D、E、F及G在減少抗原特異性耳腫脹(耳厚度)中的功效。

【0022】 圖9顯示在KLH基遲發型過敏模型中在抗原攻毒之後與媒劑(陰性對照)及消炎地塞米松(陽性對照)相比之在24小時時經照射之(25kGy)範永氏球菌菌株B、E、F及G在減少抗原特異性耳炎症中的功效。活範永氏球菌菌株B及E及經照射之範永氏球菌菌株B及E兩者均有效地抑制耳炎症，但經照射之範永氏球菌菌株E比活菌株E甚至更有效。對於範永氏球菌菌株F，照射 γ -照射使得不良範永氏球菌菌株變得有效。所有群組均接受10 mg粉末/次劑量。

【0023】 圖10顯示範永氏球菌菌株C-有效地降低接受誘發NASH症狀之甲硫胺酸膽鹼缺乏(MCD)膳食之小鼠之NASH活性分數(NAS)。

【0024】 圖11顯示範永氏球菌菌株C減少進料MCD膳食之小鼠之纖維化。

【0025】 圖12顯示範永氏球菌菌株C減少進料MCD膳食之小鼠之肝總膽固醇。

【0026】 圖13顯示範永氏球菌菌株C減少進料MCD膳食之小鼠之肝三酸甘油酯。

【0027】 圖14顯示在第11天時在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內(i.p.)投與之抗PD-1或媒劑之功效相比之小範永氏球菌菌株A EV及非典型範永氏球菌(*Veillonella atypica*)菌株A及B EV的功效。執行針對相對於媒劑之治療之威爾奇測試(Welch's test)。

【0028】 圖15顯示在第11天時在小鼠結腸直腸癌模型中與腹膜內(i.p.)投與之抗PD-1或媒劑之功效相比之小範永氏球菌菌株A EV及非典型範永氏球菌菌株A及B EV的功效。執行針對相對於抗PD-1之治療之威爾奇測試。

【實施方式】

相關申請

【0029】 本申請主張2018年2月6日申請之美國臨時專利申請序號62/626,789、2018年5月4日申請之美國臨時專利申請序號62/666,944及2018年7月25日申請之美國臨時專利申請序號62/703,269的優先權，該等申請中之各者之內容特此以全文引用之方式併入本文中。

概要

【0030】 在某些態樣中，本文提供與個體(例如人類個體)之疾病(例如癌症、自體免疫疾病、發炎性疾病、代謝疾病)治療及/或預防相關之方法及組合物，該等方法包含投與包含範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)之細菌組合物，以及製造及/或識別此類細菌之方法。

定義

【0031】 「佐劑」或「佐劑療法」廣義上係指影響患者或個體之免疫或生理學反應之藥劑。舉例而言，佐劑可隨時間推移增加抗原之呈現，或對於如腫瘤之所關注區域，有助於吸收抗原呈現細胞抗原，活化巨噬細胞及淋巴細胞且支持細胞介素之產生。藉由改變免疫反應，佐劑可准許較小劑量之免疫相互作用藥劑增加特定劑量之免疫相互作用藥劑之有效性或安全性。舉例而言，佐劑可預防T細胞衰竭。

【0032】 「投與」廣義上係指向個體投與組合物之途徑。投與途徑

之實例包括經口投與、直腸投與、局部投與、吸入(經鼻)或注射。藉由注射進行之投與包括靜脈內(IV)、肌肉內(IM)、瘤內(IT)及皮下(SC)投與。本文所描述之醫藥組合物可藉由任何有效途徑以任何形式來投與，該途徑包括但不限於：瘤內、經口、非經腸、腸內、靜脈內、腹膜內、局部、經皮(例如使用任何標準貼片)、皮內、經眼、經鼻(鼻內)、局部、非經口(諸如噴霧劑)、吸入、皮下、肌肉內、頰內、舌下、直腸(經直腸)、陰道、動脈內及鞘內、經黏膜(例如舌下、經舌、頰內(經頰)、尿道(經尿道)、陰道(例如經陰道及陰道周)、膀胱內、肺內、十二指腸內、胃內及支氣管內。在較佳實施例中，本文所描述之醫藥組合物係經口、經直腸、瘤內、局部、膀胱內、藉由注射至引流淋巴結中或靠近引流淋巴結、靜脈內、藉由吸入或噴霧劑或皮下來投與。

【0033】 如本文所使用之術語「抗體」可指完整抗體及其抗原結合片段兩者。完整抗體為包括藉由二硫鍵互連之至少兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈之糖蛋白。各重鏈包括重鏈可變區(本文中縮寫為V_H)及重鏈恆定區。各輕鏈包括輕鏈可變區(本文中縮寫為V_L)及輕鏈恆定區。V_H區及V_L區可進一步細分成稱為互補決定區(CDR)之高變區，該等高變區穿插有稱為構架區(FR)之較保守區。各V_H及V_L係由自胺基末端至羧基末端按以下次序排列之三個CDR及四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈可變區及輕鏈可變區含有與抗原相互作用之結合域。術語「抗體」包括例如單株抗體、多株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、人類抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)、單鏈抗體及抗原結合抗體片段。

【0034】 如本文所使用之術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結

合部分」係指保留與抗原結合之能力之抗體之一或多個片段。涵蓋於術語抗體之「抗原結合片段」內之結合片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、二硫鍵聯Fv、Fd、雙功能抗體、單鏈抗體、NANOBODIES®、經分離之CDRH3及保留完整抗體的可變區的至少一部分的其他抗體片段。此等抗體片段可使用習知之重組及/或酶素性技術來獲得，且可以與完整抗體相同之方式對其進行抗原結合篩選。

【0035】「癌症」廣義上係指導致周圍組織及潛在地宿主中之異常細胞生長之初始位點遠側之組織侵入的宿主自身細胞的不可控的異常生長。主要種類包括：癌瘤，其為上皮組織(例如皮膚、鱗狀細胞)之癌症；肉瘤，其為結締組織(例如骨骼、軟骨、脂肪、肌肉、血管等)之癌症；白血病，其為血液形成組織(例如骨髓組織)之癌症；淋巴瘤及骨髓瘤，其為免疫細胞之癌症；及中樞神經系統癌症，其包括腦組織及脊髓組織之癌症。「一或多種癌症」、「一或多種贅瘤」及「一或多種腫瘤」在本文中可互換使用。如本文所使用之「癌症」係指所有類型之癌症或贅瘤或惡性腫瘤，包括白血病、癌瘤及肉瘤，不論為新的或復發的。癌症之具體實例為：癌瘤、肉瘤、骨髓瘤、白血病、淋巴瘤及混合類型腫瘤。癌症之非限制性實例為以下之新癌症或復發癌症：腦癌、黑色素瘤、膀胱癌、乳房癌、子宮頸癌、結腸癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、非小細胞肺癌、間皮瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及神經管胚細胞瘤。

【0036】術語「LPS突變體或脂多糖突變體」廣義上係指包含LPS損失之所選細菌。LPS損失可能歸因於涉及於諸如*lpxA*、*lpxC*及*lpxD*之脂質A生物合成之基因之突變或破壞。包含LPS突變體之細菌可對胺基糖苷及多黏菌素(多黏菌素B及可利斯汀(*colistin*))具有耐藥性。

【0037】 「細胞擴充」廣義上係指環境中之細胞流入或細胞擴展，該等細胞在投與組合物之前實質上不存在於該環境中且自身不存在於該組合物中。擴充環境之細胞包括免疫細胞、基質細胞、細菌細胞及真菌細胞。尤其受關注之環境為癌細胞駐留或定位之微環境。在一些情況下，微環境為腫瘤微環境或腫瘤引流淋巴結。在其他情況下，微環境為癌前組織位點或局部投與組合物之位點或距離投與很長時間之後聚積組合物之位點。

【0038】 「演化支(clade)」係指種系發生樹中之統計學上有效之節點之下游的種系發生樹的OTU或成員。演化支在種系發生樹中包含末端葉(terminal leaf)集合，該末端葉集合為獨特之單元演化單元且共有一定程度之序列相似性。「操作分類單元」、「OTU」(或複數，「多個OTU」)係指種系發生樹中之末端葉，且由例如整個基因組之核酸序列或特異性基因序列及在物種層級上與此核酸序列共有序列一致性之所有序列定義。在一些實施例中，特異性基因序列可為16S序列或16S序列之一部分。在其他實施例中，對兩個實體之整個基因組進行定序且進行比較。在另一實施例中，可對諸如多位點序列標籤(MLST)、特異性基因或基因集合之選擇區域進行基因比較。在16S實施例中，在整個16S或16S之某一可變區上共有 $\geq 97\%$ 平均核苷酸一致性之OTU視為相同OTU (參見例如Claesson M J, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole J R, Ros R P及O'Toole P W. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res* 38: e200. Konstantinidis K T, Ramette A及Tiedje J M. 2006. The bacterial species

definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940.)。在涉及完整基因組、MLST、特異性基因或基因集合之實施例中，共有 $\geq 95\%$ 平均核苷酸一致性之OTU視為相同OTU（參見例如 Achtman M及Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 431-440. Konstantinidis K T, Ramette A及Tiedje J M. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940.)。OTU通常藉由比較生物體之間之序列來定義。一般而言，具有小於95%序列一致性之序列不視為形成相同OTU之部分。OTU亦可藉由核苷酸標記物或基因、詳言之高度保守基因(例如「管家」基因)或其組合之任何組合來表徵。該表徵採用例如WGS資料或全基因組序列。

【0039】 兩種或更多種單株微生物菌株之「組合」包括同一物質或產物中或物理上連接之產物中之兩種單株微生物菌株的物理共存，以及單株微生物菌株的暫態共投與或共定位。

【0040】 術語「降低」或「耗乏」意謂使得當與治療前狀態相比時在治療之後視情況而定差異為至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、1/100、1/1000、1/10,000、1/100,000、1/1,000,000或不可偵測之變化。

【0041】 術語「生態共生物種」為與經由活化互補宿主路徑誘發宿主協同作用以用於改善功效之兩種細菌對比之彼此交換代謝物且正向共調節之一群細菌。

【0042】 術語「抗原決定基」意謂能夠與抗體特異性結合之蛋白質決定子。抗原決定基通常由諸如胺基酸或糖側鏈之分子之化學上活性之表

面基團組成。某些抗原決定基可由能夠與抗體結合之胺基酸之特定序列定義。

【0043】 如本文所使用之「工程化細菌」為已藉由人工干預由其天然狀態基因改變之任何細菌及任何該細菌之後代。工程化細菌包括例如靶向基因修飾之產物、隨機突變誘發篩選之產物及定向演化之產物。

【0044】 術語「基因」廣義上用於指與生物功能相關之任何核酸。術語「基因」適用於特異性基因組序列以及由彼基因組序列編碼之cDNA或mRNA。

【0045】 如兩個核酸分子之核酸序列之間之「一致性」可使用諸如「FASTA」程序之已知電腦算法使用例如如下中的系統內定參數以一致性百分比形式來測定：Pearson等人(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (其他程序包括GCG套裝程序(Devereux, J.,等人, Nucleic Acids Research 12(I):387 (1984))、BLASTP、BLASTN、FASTA Atschul, S. F.,等人, J Molec Biol 215:403 (1990)；Guide to Huge Computers, Mrtin J. Bishop編, Academic Press, San Diego, 1994，及Carillo等人(1988) SIAM J Applied Math 48:1073)。舉例而言，可使用國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)資料庫之BLAST功能來測定一致性。其他商業上或公共可獲得之程序包括DNASar「MegAlign」程序(威斯康辛麥迪遜(Madison, Wis.))及威斯康辛大學遺傳學電腦組(the University of Wisconsin Genetics Computer Group, UWG)「Gap」程序(威斯康星麥迪遜)。

【0046】 如本文所使用之術語「免疫病症」係指由免疫系統之活性所導致之任何疾病、病症或疾病症狀，包括自體免疫疾病、發炎性疾病及

過敏。免疫病症包括但不限於自體免疫疾病(例如狼瘡、硬皮病、溶血性貧血、血管炎、一型糖尿病、格雷氏病(Grave's disease)、類風濕性關節炎、多發性硬化症、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、惡性貧血及/或肌病)、發炎性疾病(例如尋常痤瘡、哮喘、乳糜瀉、慢性前列腺炎、絲球體腎炎、發炎性腸病、骨盆發炎性疾病、再灌注損傷、類風濕性關節炎、類肉瘤病、移植排斥、血管炎及/或間質性膀胱炎)及/或過敏(例如食物過敏、藥物過敏及/或環境過敏)。

【0047】術語「增加」意謂使得當與治療前狀態相比時在治療之後視情況而定差異為至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、2倍、4倍、10倍、100倍、 10^3 倍、 10^4 倍、 10^5 倍、 10^6 倍及/或 10^7 倍以上之變化。可增加之特性包括免疫細胞、細菌細胞、基質細胞、骨髓來源之抑制性細胞、纖維母細胞、代謝物及細胞介素。

【0048】「內轉錄間隔子(internal transcribed spacer)」或「ITS」為位於常用於識別真核物種(詳言之真菌)之普通前驅體轉錄物上之結構性核糖體RNA (rRNA)之間的一段非功能性RNA。形成核糖體核心之真菌之rRNA經轉錄為信號基因，且由8S區、5.8S區及28S區組成，其中分別在8S區與5.8S區之間及在5.8S區與28S區之間具有ITS4及5。此等兩個在18S區與5.8S區之間及在5.8S區與28S區之間之順反子間區段係藉由剪接來移除，且出於如先前所描述之條形碼編碼目的在物種之間含有相當大的變異(Schoch等人Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. PNAS 109:6241-6246. 2012)。18S rDNA傳統上用於種系發生重建，然而，ITS可提供此功能，因為其一般為高度保守的但含有具有足夠核苷酸多樣性以將大部分真菌之

屬及物種區別開之高變區。

【0049】術語「經分離之」或「增濃」涵蓋已進行以下之微生物、細菌或其他實體或物質：(1)與在最初產生(不論在自然界中或在實驗環境中)時其所締合之組分中之至少一些分離，及/或(2)由人工產生、製備、純化及/或製造。經分離之微生物可與其最初所締合之其他組分之至少約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或更多分離。在一些實施例中，經分離之微生物之純度為超過約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或超過約99%。如本文所使用，若物質實質上不含其他組分，則其為「純的」。術語「純化(purify/purifying/purified)」係指已進行以下之微生物或其他物質：在最初產生或生成(例如不論在自然界中或在實驗環境中)時或在其初始產生之後之任何時間期間，與其所締合之組分中之至少一些分離。若微生物或微生物群在產生之時或在產生之後諸如與含有該微生物或微生物群之物質或環境分離，則該微生物或微生物群可視為純化的，且純化微生物或微生物群可含有至多約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或高於約90%之其他物質，且仍視為「經分離的」。在一些實施例中，純化微生物或微生物群之純度為超過約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或超過約99%。在本文所提供之微生物組合物之情況下，可獨立地自於含有該微生物類型之物質或環境中產生及/或存在之一或多種其他微生物中純化存在於組合物中之一或多種微生物類型。一般自殘餘生境產物中純化微生物組合物及其微生物組分。

【0050】如本文所使用之「代謝物」係指用作任何細胞或微生物代謝反應中之受質或作為來自任何細胞或微生物代謝反應之產物化合物、組合物、分子、離子、輔因子、催化劑或營養素得到的任何及所有分子化合物、組合物、分子、離子、輔因子、催化劑或營養素。

【0051】「微生物」係指表徵為細菌、真菌、顯微鏡下藻類、原蟲之任何天然或工程化生物體，及與該生物體相關之發育階段或生命週期階段(例如營養期、孢子期(包括孢子形成、休眠及發芽)、潛伏期、生物膜期)。腸微生物之實例包括：葛氏放線菌(*Actinomyces graevenitzii*)、齧齒放線菌(*Actinomyces odontolyticus*)、嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)、糞類桿菌(*Bacteroides caccae*)、脆弱類桿菌(*Bacteroides fragilis*)、腐敗類桿菌(*Bacteroides putredinis*)、多形類桿菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)、普通類桿菌(*Bacteroides vulgus*)、青春雙叉桿菌(*Bifidobacterium adolescentis*)、雙歧雙叉桿菌(*Bifidobacterium bifidum*)、沃氏嗜膽菌(*Bilophila wadsworthia*)、雷特氏乳球菌(*Lactococcus lactis*)、丁酸弧菌屬(*Butyrivibrio*)、纖細曲桿菌(*Campylobacter gracilis*)、梭菌叢III (*Clostridia cluster III*)、梭菌叢IV、梭菌叢IX (胺基酸球菌群(*Acidaminococcaceae group*))、梭菌叢XI、梭菌叢XIII (消化鏈球菌群(*Peptostreptococcus group*))、梭菌叢XIV、梭菌叢XV、產氣柯林斯菌(*Collinsella aerofaciens*)、糞球菌(*Coprococcus*)、桑斯棒狀桿菌(*Corynebacterium sunsvallense*)、惰性脫硫弧菌(*Desulfomonas pigra*)、產甲酸多爾氏菌(*Dorea formicigenerans*)、長鏈多爾氏菌(*Dorea longicatena*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、龐大真桿菌(*Eubacterium hadrum*)、直腸真桿菌

(*Eubacterium rectale*)、普拉梭菌(*Faecalibacteria prausnitzii*)、孿生球菌屬(*Gemella*)、乳球菌屬(*Lactococcus*)、毛螺菌屬(*Lachnospira*)、柔膜菌叢XVI (*Mollicutes cluster XVI*)、柔膜菌叢XVIII、普雷沃菌(*Prevotella*)、黏滑羅氏菌(*Rothia mucilaginosa*)、伶俐瘤胃球菌(*Ruminococcus callidus*)、活潑瘤胃球菌(*Ruminococcus gnavus*)、扭鏈瘤胃球菌(*Ruminococcus torques*)及鏈球菌屬(*Streptococcus*)。

【0052】「微生物群系」廣義上係指駐留於個體或患者之身體部位之上或之中之微生物。微生物群系中之微生物可包括細菌、病毒、真核微生物體及/或病毒。微生物群系中之單獨微生物可為代謝上活性的、休眠的、潛伏的或以孢子形式存在，可以浮游生物方式存在或存在於生物膜中，或可以可持續或瞬時性方式存在於微生物群系中。微生物群系可為共生或健康態之微生物群系或病態微生物群系。微生物群系對於個體或患者可為天然的，或微生物群系之組分可由於健康狀態(例如癌變前或癌狀態)或治療條件(例如抗生素治療、曝露於不同微生物)之變化而加以調節、引入或耗乏。在一些態樣中，微生物群系出現在黏膜表面處。在一些態樣中，微生物群系為腸微生物群系。在一些態樣中，微生物群系為腫瘤微生物群系。

【0053】組織或樣品之「微生物群系分佈」或「微生物群系標誌」係指微生物群系之細菌構成之至少部分特徵化。在一些實施例中，微生物群系分佈指示至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多種細菌菌株係否存在或不存在於微生物群系中。

【0054】關於細菌之「經修飾」廣義上係指已經歷自其野生型形式

之變化之細菌。細菌修飾之實例包括基因修飾、基因表現、表型修飾、調配、化學修飾及給與或濃縮。改善特性之實例描述於整個本說明書中且包括例如減毒作用、營養缺陷性、導向性或抗原性。表型修飾可包括例如修飾增加或降低毒性之細菌之表型之培養基中的細菌生長。

【0055】 如本文所使用，若基因在工程化細菌中在至少某些條件下以比由相同物種之野生型細菌在相同條件下表現之量更高之量表現，則該基因在細菌中「過度表現」。類似地，若基因在工程化細菌中在至少某些條件下以比由相同物種之野生型細菌在相同條件下表現之量更低之量表現，則該基因在細菌中「表現不足」。

【0056】 術語「多核苷酸」及「核酸」可互換使用。其係指聚合物形式之任何長度之核苷酸(脫氧核糖核苷酸或核糖核苷酸)或其類似物。多核苷酸可具有任何三維結構，且可執行任何功能。以下為多核苷酸之非限制性實例：基因或基因片段之編碼或非編碼區域、由連接分析所定義之基因座(loci/locus)、外顯子、內含子、信使RNA (mRNA)、轉移RNA、核糖體RNA、核糖核酸酵素、cDNA、重組多核苷酸、分支鏈多核苷酸、質體、載體、具有任何序列之經分離之DNA、具有任何序列之經分離之RNA、核酸探針及引子。多核苷酸可包含經修飾核苷酸，諸如甲基化核苷酸及核苷酸類似物。若存在，則可在裝配聚合物之前或之後賦予核苷酸結構以修飾。可諸如藉由與標記組分綴合來進一步修飾多核苷酸。在本文所提供之所有核酸序列中，U核苷酸可與T核苷酸互換。

【0057】 「操作分類單元」及「一或多個OTU」係指種系發生樹中之末端葉，且由例如整個基因組之核酸序列或特異性基因序列及在物種層級上與此核酸序列共有序列一致性之所有序列定義。在一些實施例中，特

異性基因序列可為16S序列或16S序列之一部分。在其他實施例中，對兩個實體之整個基因組進行定序且進行比較。在另一實施例中，可對諸如多位點序列標籤(MLST)、特異性基因或基因集合之選擇區域進行基因比較。對於16S，在整個16S或16S之某一可變區上共有 $\geq 97\%$ 平均核苷酸一致性之OTU視為相同OTU。參見例如Claesson MJ, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole JR, Ross RP及O'Toole PW. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res* 38: e200. Konstantinidis KT, Ramette A及Tiedje JM. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940。對於完整基因組、MLST、除16S以外之特異性基因或基因集合，共有 $\geq 95\%$ 平均核苷酸一致性之OTU視為相同OTU。參見例如Achtman M及Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 431-440. Konstantinidis KT, Ramette A及Tiedje JM. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940。OTU通常藉由比較生物體之間之序列來定義。一般而言，具有小於95%序列一致性之序列不視為形成相同OTU之部分。OTU亦可藉由核苷酸標記物或基因、詳言之高度保守基因(例如「管家」基因)或其組合之任何組合來表徵。本文提供對例如屬、物種及種系發生演化支(phylogenetic clade)進行分類分配之操作分類單元(OTU)。

【0058】 如本文所使用，若物質實質上不含其他組分，則其為「純

的」。術語「純化(purify/purifying/purified)」係指已進行以下之EV或其他物質：在最初產生或生成(例如不論在自然界中或在實驗環境中)時或在其初始產生之後之任何時間期間與其所締合之組分中之至少一些分離。若EV在產生之時或在產生之後諸如與一或多種其他細菌組分分離，則該EV可視為純化的，且純化微生物或微生物群可含有至多約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或高於約90%之其他物質且仍視為「純化的」。在一些實施例中，純化EV之純度為超過約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或超過約99%。例如自殘餘生境產物中純化EV組合物及其微生物組分。

【0059】 如本文所使用之術語「純化EV組合物」或「EV組合物」係指包括已進行以下之EV之製劑：與源物質中所找到之至少一種締合物質分離(例如與至少一種其他細菌組分分離)，或與用於產生該製劑之任何方法中之EV所締合之任何物質分離。其亦指已明顯經增濃或濃縮之組合物。在一些實施例中，EV濃縮2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、100倍、1000倍、10,000倍或超過10,000倍。

【0060】 如本文所使用之「特異性結合」係指抗體與預定抗原結合之能力或多肽與其預定結合配偶體結合之能力。通常，抗體或多肽利用約 10^{-7} M或更小之對應於 K_D 之親和力特異性結合至其預定抗原或結合配偶體，且利用至少10倍以下、至少100倍以下或至少1000倍以下其用於結合至非特異性且不相關抗原/結合配偶體(例如BSA，酪蛋白)之親和力之親和力(如表示為 K_D)結合至預定抗原/結合配偶體。可替代地，特異性結合更廣泛地應用於雙組分系統，其中一個組分為蛋白質、脂質或碳水化合物或

其組合且以特異性方式與作為蛋白質、脂質、碳水化合物或其組合之第二組分結合。

【0061】 術語「個體」或「患者」係指任何動物。描述為「有需要之」個體或患者係指需要治療疾病之個體或患者。哺乳動物(mammal/mammalian animal)包括人類、實驗室動物(例如靈長類動物、大鼠、小鼠)、家畜(例如牛、綿羊、山羊、豬)及家養寵物(例如狗、貓、嚙齒動物)。舉例而言，個體可為包括但不限於狗、貓、牛、馬、豬、驢、山羊、駱駝、小鼠、大鼠、天竺鼠、綿羊、駱馬、猴、大猩猩或黑猩猩之非人類哺乳動物。個體或患者可能為健康的，或可能患有處於任何發展階段之免疫病症。

【0062】 「菌株」係指具有基因標誌之細菌物種之成員，該基因標誌使得該細菌物種之成員可與相同細菌物種之緊密相關之成員區別開。基因標誌可為不存在至少一種基因之全部或部分、不存在至少一個調節區(例如啟動子、終止子、核糖開關、核糖體結合位點)之全部或部分、不存在(「消除」)至少一種天然質體、存在至少一種重組基因、存在至少一種突變基因、存在至少一種外源基因(來源於另一物種之基因)、存在至少一個突變調節區(例如啟動子、終止子、核糖開關、核糖體結合位點)、存在至少一種非天然質體、存在至少一種耐抗生素性卡匣或其組合。不同菌株之間之基因標誌可藉由PCR擴增，視情況隨後對所關注之一或多個基因組區域或全基因組進行DNA定序來識別。在一種菌株(相較於相同物種之另一菌株)已獲得或失去耐抗生素性或獲得或失去生物合成能力(諸如營養缺陷型菌株)之情況下，菌株可藉由分別使用抗生素或營養素/代謝物進行選擇或反選擇來區別開。

【0063】 如本文所使用之術語「治療」個體之疾病或「治療」患有或疑似患有疾病之個體係指對個體進行醫藥治療，例如投與一或多種藥劑，以使得減弱疾病之至少一種症狀或預防其惡化。因此，在一個實施例中，「治療」尤其指延遲進展、加速緩解、誘發緩解、增強緩解、加速恢復、增加替代性治療之功效或降低對替代性治療之耐藥性或其組合。

細菌

【0064】 在某些態樣中，本文提供使用細菌組合物之方法，該細菌組合物包含範永氏球菌及/或該細菌之產物(例如細胞外囊泡(EV)及/或醫藥學上活性之生質(PhAB))。在一些實施例中，範永氏球菌具有以下物種：當別町範永氏球菌或小範永氏球菌。在一些實施例中，範永氏球菌具有以下物種：非典型範永氏球菌或殊異範永氏球菌(*Veillonella dispar*)。在一些實施例中，細菌為表1中列舉之細菌菌株。

表1：細菌菌株

菌株	生物體名稱	16S序列	SEQ ID NO
A	當別町範永氏球菌	>S11-19-357F AGCAACGCCGCGTGAGTGATGACGGCCTT CGGGTTGTAAAGCTCTGTAAATCGGGACGA AAGGCCTTCTTGCGAATAGTTAGAAGGATT GACGGTACCGGAATAGAAAGCCACGGCTA ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA GGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGC GTAAAGCGCGCGCAGGCGGATCGGTCAGT CTGTCTTAAAAGTTCTGGGGCTTAACCCCGT GAGGGGATGGAAACTGCTGATCTAGAGTAT CGGAGAGGAAAGTGGAATTCCTAGTGTAG CGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAAGAACA CCAGTGCGAAGGCGACTTTCTGGACGAA AACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGG AGCGAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCC TGGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTGTAGG AGGTATCGACCCCTTCTGTGCCGGAGTTAA CGCAATAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGA CCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC GGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTG GTTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTA	SEQ ID NO 1

		CCAGGTCTTGACATTGATGGACAGAACTAG AGATAGTTCCTCTTCTTCGGAAGCCAGAAA ACAGGTGGTGCACGGTTGTCGTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAAC GAGCGCAACCCCTATCTTATGTTGCCAGCA CTTCGGGTGGGAACTCAT	
B	小範永氏球菌	>S14-201重疊群 GAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCT CTGTTAATCGGGACGAAAGGCCTTCTTGCG AATAGTGAGAAGGATTGACGGTACCGGAAT AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA GCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTG TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCA GGCGGATAGGTCAGTCTGTCTTAAAAGTTC GGGGCTTAACCCCGTGATGGGATGGAAACT GCCAATCTAGAGTATCGGAGAGGAAAGTG GAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG ATATTAGGAAGAACACCAGTGCGCAAGGC GACTTTCTGGACGAAAACCTGACGCTGAGG CGCGAAAGCCAGGGGAGCGAACGGGATTA GATACCCCGGTAGTCCTGGCCGTAAACGAT GGGTACTAGGTGTAGGAGGTATCGACCCCT TCTGTGCCGGAGTTAACGCAATAAGTACCC CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACA AGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGACGC AACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACAT TGATGGACAGAACCAGAGATGGTTCCTCTT CTTCGGAAGCCAGAAAACAGGTGGTGCAC GGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTT GGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT ATCTTATGTTGCCAGCACTTTGGGTGGGGA CTCATGAGAGACTGCCGCAGACAATGCGG AGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCAT GCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACT ACAATGGGAGTTAATAGACGGAAGCGAGAT CGCGAGATGGAGCAAACCCGAGAAACACT CTCTCAGTTCGGATCGTAGGCTGCAACTCG CCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG CAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCC CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCA CGAAAGTCGGAAGTGCCCAAAGCCGGTGG GGTAACCTTC	SEQ ID NO. 2
C	小範永氏球菌	>S14-205重疊群 GAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCT CTGTTAATCGGGACGAAAGGCCTTCTTGCG AATAGTGAGAAGGATTGACGGTACCGGAAT AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA GCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTG TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCA	SEQ ID NO. 3

		GGCGGATAGGTCAGTCTGTCTTAAAAGTTC GGGGCTTAACCCCGTGATGGGATGGAAACT GCCAATCTAGAGTATCGGAGAGGAAAGTG GAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG ATATTAGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGC GACTTTCTGGACGAAAACGACGCTGAGG CGCGAAAGCCAGGGGAGCGAACGGGATTA GATACCCCGGTAGTCCTGGCCGTAAACGAT GGGTACTAGGTGTAGGAGGTATCGACCCCT TCTGTGCCGGAGTTAACGCAATAAGTACCC CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC GCACA AGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGACGC AACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACAT TGATGGACAGAACCAGAGATGGTTCCTCTT CTTCGGAAGCCAGAAAACAGGTGGTGCAC GGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTT GGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT ATCTTATGTTGCCAGCACTTTGGGTGGGGA CTCATGAGAGACTGCCGCAGACAATGCGG AGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCAT GCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACT ACAATGGGAGTTAATAGACGGAAGCGAGAT CGCGAGATGGAGCAAACCCGAGAAACACT CTCTCAGTTCGGATCGTAGGCTGCAACTCG CCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG CAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCC CGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCA CGAAAGTCGGAAGTGCCCAAAGCCGGTG	
--	--	---	--

【0065】 在一些實施例中，細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列(例如基因組、16S或CRISPR核苷酸序列)包含至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性(例如至少99.5%序列一致性、至少99.6%序列一致性、至少99.7%序列一致性、至少99.8%序列一致性、至少99.9%序列一致性)的菌株。

【0066】 申請人表示，ATCC為提供持久保藏且公眾易於獲得其(若專利得到授予)之儲藏所。在授予專利後將不可撤消地移除對公眾獲得如此保藏之材料之所有限制。在專利申請懸而未決期間，由根據37 CFR 1.14及35 U.S.C. 122授權之委員判定之人將可獲得材料。保藏材料應維持

有所有必要之關注以使其在最近一次供給保藏質體樣品之請求之後至少五年之時間段內、且在任何情況下在保藏之日之後至少三十(30)年之時間段內或在專利有效期內(取該等時間段中之較長者)保持存活且不受污染。申請人承認其在儲藏所由於保藏條件而無法應請求供給樣品時置換保藏物之責任。

【0067】 在一些實施例中，本文所描述之細菌經修飾以改善哺乳動物胃腸道中之拓殖及/或植入(例如改良之代謝，諸如改善之黏蛋白降解、增強之競爭概況、增加之運動性、增加之對腸上皮細胞之黏著、改良之趨化性)。在一些實施例中，本文所描述之細菌經修飾以增強其免疫調節及/或治療效果(例如單獨地或與另一治療劑組合)。在一些實施例中，本文所描述之細菌經修飾以增強免疫活化(例如經由改良之多糖、菌毛、傘毛、黏著素、囊泡之生產)。在一些實施例中，本文所描述之細菌經修飾以改善細菌製造(例如更高之耐氧性、改善之耐凍融性、更短之生成時間)。

【0068】 可根據此項技術中已知之方法培養範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)。舉例而言，可在ATCC培養基2722、ATCC培養基1490或其他培養基中使用例如Caballero等人, 2017. 「Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*」 *Cell Host & Microbe* 21:592-602中所揭示之方法生長範永氏球菌(例如表1中列舉之細菌菌株)，該文獻特此以全文引用之方式併入。

EV生產

【0069】 在某些態樣中，可使用此項技術中已知之任何方法製備本文所描述之範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌) EV。

【0070】 在一些實施例中，在無EV純化步驟之情況下製備免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌) EV。舉例而言，在一些實施例中，使用使得免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌) EV完整之方法殺滅本文所描述之包含EV之免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)，且包括EV之所得細菌組分用於本文所描述之方法及組合物中。在一些實施例中，使用抗生素(例如使用本文所描述之抗生素)殺滅免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)。在一些實施例中，使用UV照射殺滅免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)。

【0071】 在一些實施例中，自一或多種其他細菌組分中純化本文所描述之EV。用於自細菌中純化EV之方法為此項技術中已知的。在一些實施例中，使用S. Bin Park等人PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011)或G. Norheim等人PLoS ONE. 10(9): e0134353 (2015)中所描述之方法由細菌培養物製備EV，該等文獻中之各者特此以全文引用之方式併入。在一些實施例中，將細菌培養至高光密度且隨後進行離心以集結細菌(例如在4℃下以10,000× g達30 min，在4℃下以15,500× g達15 min)。在一些實施例中，隨後使培養上清液通過過濾器(例如0.22 μm過濾器)以排除完整細菌細胞。在一些實施例中，隨後對上清液進行切向流過濾，在此期間濃縮上清液，移除小於100 kDa之物種，且用PBS部分交換培養基。在一些實施例中，對經過濾上清液進行離心以集結細菌EV (例如在4℃下以100,000-150,000× g達1-3小時、在4℃下以200,000× g達1-3小時)。在一些實施例中，藉由再懸浮所得EV集結粒(例如於PBS中)且將經再懸浮之EV施用至Optiprep (碘克沙醇(iodixanol))梯度或蔗糖梯度(例如30%-60%非連續梯

度、0%-45%非連續梯度)，隨後進行離心(例如在4℃下以200,000× g達4-20小時)來進一步純化EV。可收集EV帶，用PBS稀釋，且進行離心以集結EV (例如在4℃下以150,000× g達3小時、在4℃下以200,000× g達1小時)。可例如在-80℃或-20℃下儲存純化EV直至使用為止。在一些實施例中，藉由用脫氧核糖核酸酶及/或蛋白酶K處理來進一步純化EV。

【0072】舉例而言，在一些實施例中，可將本文所揭示之免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)之培養物在4℃下以11,000× g離心20-40 min以集結細菌。可使培養上清液通過0.22 μm過濾器以排除完整細菌細胞。隨後，可使用可包括但不限於硫酸銨沈澱、超速離心或過濾之方法濃縮經過濾上清液。舉例而言，對於硫酸銨沈澱，可將1.5-3 M硫酸銨緩慢添加至經過濾上清液中，同時在4℃下攪拌。可在4℃下培育沈澱物8-48小時，且隨後在4℃下以11,000× g離心20-40分鐘。所得集結粒含有免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌) EV及其他碎片。使用超速離心，可將經過濾上清液在4℃下以100,000-200,000× g離心1-16小時。此離心之集結粒含有免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌) EV及諸如大蛋白質複合物之其他碎片。在一些實施例中，使用過濾技術，諸如經由使用Amicon Ultra旋轉過濾器或藉由切向流過濾，可過濾上清液以便保留分子量>50或100 kDa之物種。

【0073】可替代地，可連續地在生長期間或在生長期間之所選時間點例如藉由將生物反應器連接至交替切向流(ATF)系統(例如來自Repligen之XCell ATF)來自免疫調節範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)培養物中獲得EV。ATF系統保留生物反應器中之完整細胞(>0.22

μm)，且使較小組分(例如EV、游離蛋白)通過過濾器以用於收集。舉例而言，系統可經組態以使得<0.22 μm濾液隨後通過100 kDa之第二過濾器，允許收集在0.22 μm與100 kDa之間之諸如EV之物種，且允許小於100 kDa之物種泵送回至生物反應器中。可替代地，系統可經組態以使得在培養物生長期間生物反應器中之培養基得到補給及/或修飾。可藉由如上文對於經過濾上清液所描述之超速離心或過濾來進一步純化及/或濃縮藉由此方法收集之EV。

【0074】 可藉由基於尺寸之管柱層析法、藉由親和性層析法、藉由離子交換層析法且藉由梯度超速離心使用可包括但不限於使用蔗糖梯度或Optiprep梯度之方法來進一步純化藉由本文所提供之方法獲得之EV。簡言之，若使用硫酸銨沈澱或超速離心來濃縮經過濾上清液，則使用蔗糖梯度法將集結粒再懸浮於60%蔗糖、30 mM Tris，pH 8.0中。若使用過濾來濃縮經過濾上清液，則使用Amicon Ultra管柱將濃縮物緩衝交換為60%蔗糖、30 mM Tris，pH 8.0。將樣品施用至35%-60%非連續蔗糖梯度且在4℃下以200,000× g離心3-24小時。簡言之，若使用硫酸銨沈澱或超速離心來濃縮經過濾上清液，則使用Optiprep梯度法將集結粒再懸浮於PBS中，且將3體積之60% Optiprep添加至樣品中。在一些實施例中，若使用過濾來濃縮經過濾上清液，則使用60% Optiprep將濃縮物稀釋至35% Optiprep之最終濃度。將樣品施用至0%-45%非連續Optiprep梯度且在4℃下以200,000× g離心3-24小時，例如在4℃下4-24小時。

【0075】 在一些實施例中，為證實EV製劑之無菌性及分離，在用於常規培養所測試之細菌之瓊脂培養基上連續稀釋EV，且使用常規條件進行培育。使非無菌製劑通過0.22 μm過濾器以排除完整細胞。為進一步增

加純度，可使經分離之EV經脫氧核糖核酸酶或蛋白酶K處理。

【0076】 在一些實施例中，對於用於活體內注射之EV之製備，如先前所描述處理純化EV (G. Norheim等人PLoS ONE. 10(9): e0134353 (2015))。簡言之，在蔗糖梯度離心之後，使含有EV之帶再懸浮於含有3%蔗糖之溶液或熟習此項技術者已知之適合於活體內注射的其他溶液中至50 µg/mL最終濃度。此溶液亦可含有佐劑，例如濃度為0%-0.5% (w/v)之氫氧化鋁。在一些實施例中，對於用於活體內注射之EV之製備，將於PBS中之EV無菌過濾至 $< 0.22\ \mu\text{m}$ 。

【0077】 在某些實施例中，為製造與進一步測試(例如以在TEM成像或活體外檢定之前移除蔗糖)兼容之樣品，使用過濾(例如Amicon Ultra管柱)、滲析或超速離心($200,000\times g$ ， ≥ 3 小時， 4°C)將樣品緩衝交換為PBS或30 mM Tris，pH 8.0，且進行再懸浮。

【0078】 在一些實施例中，可藉由將一部分EV塗佈於用於在EV生成中所使用之細菌之標準培養物的瓊脂培養基上且使用標準條件進行培育來證實EV製劑之無菌性。

【0079】 在一些實施例中，藉由層析法及EV上之結合表面部分分離且增濃選擇EV。在其他實施例中，藉由螢光細胞分選，藉由使用親和試劑、化學染料、重組蛋白進行之方法或熟習此項技術者已知之其他方法來分離及/或增濃選擇EV。

細菌/醫藥組合物

【0080】 在某些態樣中，本文提供包含範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)及/或該細菌之產物(例如細胞外囊泡(EV)及/或醫藥學上活性之生質(PhAB))之細菌組合物。在一些實施例中，細菌為表1

中列舉之細菌菌株。在一些實施例中，細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列一致性(例如至少99.5%序列一致性、至少99.6%序列一致性、至少99.7%序列一致性、至少99.8%序列一致性、至少99.9%序列一致性)的菌株。在一些實施例中，細菌調配物包含細菌及/或本文所描述之細菌與醫藥學上可接受之載劑之組合(例如醫藥組合物)。

【0081】 在某些實施例中，細菌組合物中至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%細菌為範永氏球菌(例如表1中列舉之細菌菌株)。在某些實施例中，細菌組合物中實質上所有細菌為範永氏球菌(例如表1中列舉之細菌菌株)。在某些實施例中，細菌組合物包含至少 1×10^3 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^4 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^5 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^5 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 2×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 3×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 4×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 6×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 7×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 8×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 9×10^6 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 2×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 3×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 4×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 6×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 7×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 8×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 9×10^7 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 2×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 3×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 4×10^8 個菌落形成單位(CFU)、

5×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 6×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 7×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 8×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 9×10^8 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^9 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^9 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^{10} 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^{10} 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^{11} 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^{11} 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^{12} 個菌落形成單位(CFU)、 5×10^{12} 個菌落形成單位(CFU)、 1×10^{13} 個菌落形成單位(CFU)之範永氏球菌(例如表1中列舉之細菌菌株)。

【0082】 在一些實施例中，至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%組合物中之細菌選自本文所描述之細菌物種。10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%組合物中之細菌選自本文所描述之細菌菌株。

【0083】 在一些實施例中，本文所描述之組合物可僅包括一種本文所描述之細菌物種，或可包括兩種或更多種本文所描述之細菌物種。舉例而言，本文所提供之組合物可包括呈任何組合形式之本文所描述之物種中之1種、2種或3種。

【0084】 在一些實施例中，細菌組合物包含經殺滅之細菌、活細菌及/或減毒細菌。可藉由巴氏殺菌(pasteurization)、滅菌、高溫處理、噴霧蒸煮及/或噴霧乾燥來熱殺滅細菌(熱處理可在 50°C 、 65°C 、 85°C 或各種其他溫度及/或變化時間量下執行)。亦可使用 γ -照射(γ -irradiation/gamma irradiation)、曝露於UV光、福馬林失活(formalin-inactivation)及/或冷凍方法或其組合來殺滅細菌或使細菌失活。舉例而言，在投與之前，可使細

菌曝露於1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40或50 kGy之輻射。在一些實施例中，使用 γ 照射殺滅細菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)。在一些實施例中，使用電子照射(例如 β 輻射)或x射線照射來殺滅細菌或使細菌失活。

【0085】 細菌可生長至各種生長期且在不同稀釋液下及在生長期期間之不同點測試功效。舉例而言，可在生長停滯期(包括早生長停滯期或後生長停滯期)或在指數生長期期間之各種時間點在投與之後測試細菌之功效。除藉由各種方法進行失活之外，可使用不同比率之活細胞與失活細胞或不同比率之處於各種生長期之細胞來測試細菌之功效。

【0086】 在某些實施例中，本文提供包含範永氏球菌EV (例如當別町範永氏球菌EV、小範永氏球菌EV)及/或範永氏球菌(例如當別町範永氏球菌、小範永氏球菌)之醫藥組合物。本文提供(例如EV組合物)，諸如美國臨時專利申請第62/578,559號中所揭示之彼等物，該申請特此以全文引用之方式併入。在一些實施例中，EV組合物包含EV及/或本文所描述之EV與醫藥學上可接受之載劑之組合。

【0087】 在一些實施例中，醫藥組合物包含實質上或完全不含細菌之範永氏球菌EV。在一些實施例中，醫藥組合物包含範永氏球菌EV及全範永氏球菌(例如活細菌、經殺滅之細菌、減毒細菌)兩者。在某些實施例中，醫藥組合物包含實質上或完全不含EV之範永氏球菌。

【0088】 在一些實施例中，醫藥組合物包含至少1個範永氏球菌/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、

5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、
 6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、
 7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、
 9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、
 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、
 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、
 45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、
 60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、
 75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、
 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、
 300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、
 900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、
 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、
 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、
 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、
 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、
 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、
 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、
 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、
 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、
 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌EV顆粒。

【0089】 在一些實施例中，醫藥組合物包含約1個範永氏球菌/1、

1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、

2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、
 3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、
 5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、
 6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、
 7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、
 9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、
 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、
 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、
 45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、
 60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、
 75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、
 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、
 300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、
 900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、
 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、
 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、
 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、
 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、
 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、
 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、
 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、
 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、
 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌EV顆粒。

【0090】 在某些實施例中，醫藥組合物包含特定比率之範永氏球菌顆粒與範永氏球菌EV顆粒。範永氏球菌顆粒之數目可基於實際顆粒數目或(若細菌為活的) CFU之數目。可藉由將設定數目之純化範永氏球菌EV與設定數目之純化範永氏球菌組合、藉由修改培養範永氏球菌之生長條件或藉由修飾範永氏球菌自身以產生更多或更少之範永氏球菌EV來確立顆粒數目。

【0091】 在一些實施例中，為對細菌樣品中所存在之範永氏球菌EV及/或範永氏球菌之數目進行定量，可使用電子顯微法(例如超薄冷凍切片之EM)來觀察囊泡及細菌且對其相對數目進行計數。可替代地，可使用奈米顆粒追蹤分析(NTA)、庫爾特計數(Coulter counting)及動態光散射(DLS)或此等技術之組合之組合。NTA及庫爾特計數器對顆粒進行計數且展示其尺寸。DLS給出顆粒之尺寸分佈，但未給出濃度。細菌直徑通常為1-2 μm 。全範圍為0.2-20 μm 。庫爾特計數及NTA之組合結果可展現給定樣品中之細菌之數目。庫爾特計數展現直徑為0.7-10 μm 之顆粒之數目。NTA展現直徑為50-1400 nm之顆粒之數目。對於大部分細菌樣品，單獨之庫爾特計數器可展現樣品中之細菌之數目。EV直徑為20-250 nm。NTA將允許吾等對直徑為50-250 nm之顆粒之數目進行計數。DLS展現具有在1 nm-3 μm 之大致範圍內之不同直徑之顆粒的分佈。

【0092】 在一些實施例中，醫藥組合物包含不超過1個範永氏球菌/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、

6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、
 7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、
 9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、
 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、
 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、
 45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、
 60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、
 75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、
 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、
 300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、
 900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、
 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、
 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、
 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、
 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、
 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、
 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、
 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、
 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、
 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌EV顆粒。

【0093】 在一些實施例中，醫藥組合物包含至少1個範永氏球菌EV
 顆 粒/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、
 2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、

3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、
 4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、
 6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、
 7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、
 8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、
 13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、
 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、
 43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、
 58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、
 73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、
 88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、
 200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、
 800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、
 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、
 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、
 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、
 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、
 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、
 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、
 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、
 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、
 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌。

【0094】 在一些實施例中，醫藥組合物包含約1個範永氏球菌EV顆

粒/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、
 2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、
 3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、
 4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、
 6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、
 7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、
 8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、
 13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、
 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、
 43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、
 58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、
 73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、
 88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、
 200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、
 800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、
 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、
 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、
 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、
 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、
 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、
 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、
 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、
 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、

5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌。在一些實施例中，醫藥組合物包含不超過1個範永氏球菌EV顆粒/1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 、 5×10^3 、 6×10^3 、 7×10^3 、 8×10^3 、 9×10^3 、 1×10^4 、 2×10^4 、 3×10^4 、 4×10^4 、 5×10^4 、 6×10^4 、 7×10^4 、 8×10^4 、 9×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、 2×10^7 、 3×10^7 、 4×10^7 、 5×10^7 、 6×10^7 、 7×10^7 、 8×10^7 、 9×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 3×10^8 、 4×10^8 、 5×10^8 、 6×10^8 、 7×10^8 、 8×10^8 、 9×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、

9×10^9 、 1×10^{10} 、 2×10^{10} 、 3×10^{10} 、 4×10^{10} 、 5×10^{10} 、 6×10^{10} 、 7×10^{10} 、 8×10^{10} 、 9×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 及/或 1×10^{12} 個範永氏球菌。

【0095】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌EV。

【0096】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌。

【0097】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌EV。

【0098】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌。

【0099】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、

27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、
49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、
60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、
71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、
82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、
93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌EV。

【0100】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、
5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、
16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、
27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、
49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、
60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、
71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、
82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、
93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%顆粒為範永氏球菌。

【0101】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、
4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、
16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、
27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、
49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、

60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌EV蛋白質。

【0102】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌蛋白質。

【0103】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、

71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌EV蛋白質。

【0104】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌蛋白質。

【0105】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、

82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌EV蛋白質。

【0106】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%蛋白質為範永氏球菌蛋白質。

【0107】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、

93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌EV脂質。

【0108】 在一些實施例中，醫藥組合物中至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌脂質。

【0109】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌EV脂質。

【0110】 在一些實施例中，醫藥組合物中不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、

16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、
27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、
49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、
60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、
71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、
82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、
93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌脂質。

【0111】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、
5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、
16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、
27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、
49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、
60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、
71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、
82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、
93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌EV脂質。

【0112】 在一些實施例中，醫藥組合物中約1%、2%、3%、4%、
5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、
16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、
27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、
38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、

49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%脂質為範永氏球菌脂質。

【0113】 在一些實施例中，自一或多種其他細菌組分中純化醫藥組合物中之範永氏球菌EV。在一些實施例中，醫藥組合物進一步包含其他細菌組分。在一些實施例中，醫藥組合物包含細菌細胞。

【0114】 如下文詳細描述，本文所揭示之醫藥組合物可專門經調配以用於以固體或液體形式投與，該形式包括適於經口或直腸投與之彼等形式。

【0115】 在一些實施例中，本文所描述之組合物可為醫藥組合物、膳食增補劑或食品(例如食物或飲料)。在一些實施例中，食品為動物飼料。

【0116】 在某些實施例中，本文所描述之用於經口投與之醫藥組合物包含使得能夠將細菌有效遞送至結腸之額外的組分。在一些實施例中，可使用使得能夠將細菌遞送至結腸之醫藥製劑。該等調配物之實例包括pH敏感性組合物，諸如經緩衝藥囊調配物或腸聚合物，當在腸聚合物穿過胃之後pH變成鹼性時，該等經緩衝藥囊調配物或腸聚合物釋放其內容物。當pH敏感性組合物用於調配醫藥製劑時，pH敏感性組合物可為組合物分解之pH臨限值在約6.8與約7.5之間之聚合物。

【0117】 可用於將細菌遞送至結腸之醫藥組合物之另一實施例為藉由延遲細菌釋放約3至5小時(其對應於小腸轉運時間)以確保遞送至結腸之

醫藥組合物。在一些實施例中，用於延遲釋放之醫藥組合物包括水凝膠殼。水凝膠為水合的，且在與胃腸流體接觸時膨脹，結果為有效地釋放內容物(主要在結腸中釋放)。延遲釋放劑量單元包括具有包覆或選擇性包覆細菌之物質之含細菌組合物。此類選擇性包衣物質之實例包括活體內可降解聚合物、可逐漸水解聚合物、可逐漸溶於水之聚合物及/或酶可降解聚合物。用於有效延遲釋放之廣泛多種之包衣物質為可獲得的，且包括例如纖維素類聚合物，諸如羥丙基纖維素；丙烯酸聚合物及共聚物，諸如甲基丙烯酸聚合物及共聚物；及乙烯基聚合物及共聚物，諸如聚乙烯吡咯啉酮。

【0118】 使得能夠遞送至結腸之組合物之實例進一步包括特異性黏著於結腸黏膜之生物黏著劑組合物(例如美國專利第6,368,586號之說明書中所描述之聚合物，該專利特此以引用之方式併入)，及其中摻入蛋白酶抑制劑以用於尤其在胃腸道中保護生物醫藥製劑免受由蛋白酶活性導致之分解之組合物。

【0119】 使得能夠遞送至結腸之系統之實例為以一定方式藉由壓力變化將組合物遞送至結腸之系統，該方式藉由利用由胃之遠端部分處之細菌發酵中之氣體生成所引起的壓力變化來釋放內容物。此類系統不受特別限制，且其更具體實例為將內容物分散於栓劑基劑中且包覆有疏水性聚合物(例如乙基纖維素)之膠囊。

【0120】 使得能夠遞送至結腸之系統之另一實例為將組合物遞送至結腸之系統，該系統特異性地由結腸中所存在之酶(例如碳水化合物水解酶或碳水化合物還原酶)分解。此類系統不受特別限制，且其更具體實例包括使用諸如非澱粉多糖、直鏈澱粉、三仙膠及偶氮聚合物之食物組分之

系統。

【0121】 在一些實施例中，含有表1中列舉之細菌菌株之益生菌調配物係以經囊封、包覆腸溶包衣或粉末形式提供，且劑量範圍至多 10^{11} 個cfu（例如至多 10^{10} 個cfu）。在一些實施例中，組合物包含於膠囊中之 5×10^{11} 個cfu之表1中列舉之細菌菌株及10% (w/w)玉米澱粉。膠囊包覆腸溶包衣以用於在pH 5.5下之十二指腸釋放。在一些實施例中，膠囊包覆腸溶包衣以用於在pH 5.5下之十二指腸釋放。在一些實施例中，組合物包含表1中列舉之細菌菌株之冷凍乾燥細菌粉末，其視為「安全資格推定」(Qualified Presumption of Safety, QPS)狀態。在一些實施例中，組合物在冷凍或冷藏溫度下為穩定的。

【0122】 用於產生微生物組合物之方法可包括三個主要處理步驟。該等步驟為：生物體儲備、生物體產生及保存。在某些實施例中，可藉由避免分離步驟來培養含有大量細菌菌株(例如表1中列舉之細菌菌株)之樣品。

【0123】 對於儲備，微生物組合物中所包括之菌株可(1)直接與試樣分離或取自儲備原料，(2)視情況在支持生長以生成活生質之營養素瓊脂或培養液上培養，及(3)生質視情況保存於長期儲存之多個等分試樣中。

【0124】 在使用培養步驟之實施例中，瓊脂或培養液可含有提供使得能夠生長之基本元素及特異性因子之營養素。實例應為由以下構成之培養基：20 g/L葡萄糖、10 g/L酵母萃、10 g/L大豆蛋白腴、2 g/L檸檬酸、1.5 g/L磷酸二氫鈉、100 mg/L檸檬酸鐵銨、80 mg/L硫酸鎂、10 mg/L氯原血紅素、2 mg/L氯化鈣、1 mg/L甲萘醌。另一實例應為由以下構成之培養基：10 g/L之牛肉萃、10 g/L之蛋白腴、5 g/L之氯化鈉、5 g/L之右

旋糖、3 g/L之酵母萃、3 g/L之乙酸鈉、1 g/L之可溶澱粉及0.5 g/L之L-半胱胺酸HCl，pH 6.8。各種微生物培養基及變異形式為此項技術中眾所周知的(例如R.M. Atlas, *Handbook of Microbiological Media* (2010) CRC Press)。可將培養基在開始時添加至培養物中，可在培養期間添加，或可間歇地/連續地流過培養物。細菌組合物中之菌株可作為微生物組合物之子集或作為包含微生物組合物之整個集合單獨地培養。作為實例，可將第一菌株與第二菌株一起在混合連續培養中以低於任一細胞之最大生長速率之稀釋速率培養以防止培養物自培養中洗滌出。

【0125】 在有利條件下培育經接種之培養物持續一段足以生成生質之時間。對於用於人類用途之微生物組合物，此通常在37°C 溫度、pH及具有與正常人類生態棲位類似之值之其他參數下進行。可主動地控制、被動地控制(例如經由緩衝液)環境或允許環境變動。舉例而言，對於厭氧細菌組合物，可採用缺氧/還原環境。此可藉由向培養液中添加諸如半胱胺酸之還原劑及/或對其脫氧來實現。作為實例，細菌組合物之培養物可在37°C、pH 7下、在用1 g/L半胱胺酸-HCl預還原之上文培養基中生長。

【0126】 當培養物已生成足夠之生質時，可將其保存以儲備。可將生物體置放於化學環境中，該化學環境保護其免受冷凍(添加『低溫保護劑』)、乾燥(『凍乾保護劑』)及/或滲壓衝擊(『滲壓保護劑』)，分配至多個(視情況相同的)容器中以產生均一庫，且隨後處理培養物以保存。容器一般為不可滲透的且具有確保與環境分離之密封件。低溫保存處理係藉由在超低溫度(例如處於或低於-80°C)下冷凍液體來實現。乾燥保存係藉由蒸發(在噴霧乾燥或『冷卻乾燥』之情況下)或藉由昇華(例如對於冷凍乾燥、噴霧冷凍乾燥)來自培養物中移除水。水移除改善在升高至高於低

溫條件之溫度下之長期微生物組合物儲存穩定性。若微生物組合物包含例如產孢子物種且引起孢子產生，則可藉由諸如密度梯度離心之額外的方法來純化最終組合物。微生物組合物儲備可藉由單獨地培養且保護菌株或藉由將菌株混合在一起來產生組合庫來進行。作為低溫保存之實例，可藉由離心以集結來自培養基之細胞來收取微生物組合物培養物，對上清液進行傾析且用含有15%甘油之新製培養液置換。隨後，可將培養物等分至1 mL冷凍管中，密封，且置放於-80℃下以用於長期活力保留。在自冷凍儲存恢復後，此程序達成可接受之活力。

【0127】 微生物產生可使用類似於儲備之培養步驟來進行，包括上文所描述之培養基組成及培養條件。其可在較大操作規模下進行，尤其對於臨床研發或商業生產如此。在較大規模下，可在最終培養之前對微生物組合物進行數次培養。在培養結束時，收取培養物以使得能夠進一步調配成用於投與之劑型。此可涉及濃縮、移除不合需要之培養基組分及/或引入化學環境中，該化學環境保存微生物組合物且使得可接受經由所選途徑進行投與。舉例而言，可將微生物組合物培養至 10^{10} 個CFU/mL之濃度，隨後藉由切向流微過濾濃縮20倍；可藉由透濾將所消耗培養基與由2%明膠、100 mM海藻糖及10 mM磷酸鈉緩衝液組成之保存培養基交換。隨後，可將懸浮液冷凍乾燥成粉末且進行滴定。

【0128】 在乾燥之後，可將粉末摻合至適當效力，且與其他培養物及/或用於稠度及處置容易性之諸如微晶纖維素之填充劑及如本文所提供之所調配細菌組合物混合。

【0129】 在某些態樣中，提供用於投與個體之細菌組合物。在一些實施例中，將細菌組合物與額外之活性及/或非活性材料組合以便產生最

終產物，該最終產物可呈單一劑量單位或呈多劑量格式。

【0130】 在一些實施例中，組合物包含至少一種碳水化合物。「碳水化合物」係指糖或糖聚合物。術語「糖」、「多糖」、「碳水化合物」及「寡糖」可互換使用。大部分碳水化合物為具有多個羥基之醛或酮，通常在分子之各碳原子上具有一個羥基。碳水化合物一般具有分子式 $C_nH_{2n}O_n$ 。碳水化合物可為單糖、雙糖、三糖、寡糖或多糖。大部分基礎碳水化合物為單糖，諸如葡萄糖、蔗糖、半乳糖、甘露糖、核糖、阿拉伯糖、木糖及果糖。雙糖為兩個連接單糖。例示性雙糖包括蔗糖、麥芽糖、纖維二糖及乳糖。通常，寡糖包括三個與六個之間之單糖單元(例如棉子糖、水蘇糖)，且多糖包括六個或更多個單糖單元。例示性多糖包括澱粉、肝糖及纖維素。碳水化合物可含有經修飾之糖單元，諸如2'-脫氧核糖，其中羥基被移除；2'-氟核糖，其中羥基經氟置換；或N-乙醯葡萄糖胺，一種含氮形式之葡萄糖(例如2'-氟核糖、脫氧核糖及己糖)。碳水化合物可以多種不同形式存在，例如構象異構體、環狀形式、非環形式、立體異構體、互變異構體、端基異構體及異構體。

【0131】 在一些實施例中，組合物包含至少一種脂質。如本文所使用之「脂質」包括脂肪、油、三酸甘油酯、膽固醇、磷脂、包括游離脂肪酸之呈任何形式之脂肪酸。脂肪、油及脂肪酸可為飽和、不飽和(順式或反式)或部分不飽和(順式或反式)的。在一些實施例中，脂質包含選自以下之至少一種脂肪酸：月桂酸(12:0)、肉豆蔻酸(14:0)、棕櫚酸(16:0)、棕櫚油酸(16:1)、十七酸(17:0)、十七碳烯酸(17:1)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)、亞麻油酸(18:2)、次亞麻油酸(18:3)、十八碳四烯酸(18:4)、花生酸(20:0)、二十碳烯酸(20:1)、二十碳二烯酸(20:2)、二十碳四烯酸

(20:4)、二十碳五烯酸(20:5) (EPA)、二十二烷酸(22:0)、二十二碳烯酸(22:1)、二十二碳五烯酸(22:5)、二十二碳六烯酸(22:6) (DHA)及二十四烷酸(24:0)。在一些實施例中，組合物包含至少一種經改質之脂質，例如已藉由蒸煮改質之脂質。

【0132】 在一些實施例中，組合物包含至少一種補充礦物或礦物源。礦物之實例包括但不限於：氯、鈉、鈣、鐵、鉻、銅、碘、鋅、鎂、錳、鋁、磷、鉀及硒。前述礦物中之任一者之合適形式包括可溶性礦物鹽、微溶性礦物鹽、不可溶礦物鹽、螯合礦物、礦物錯合物、諸如羰基礦物之非反應性礦物及還原礦物以及其組合。

【0133】 在一些實施例中，組合物包含至少一種補充維生素。至少一種維生素可為脂溶性或水溶性維生素。合適之維生素包括但不限於維生素C、維生素A、維生素E、維生素B12、維生素K、核黃素、菸鹼酸、維生素D、維生素B6、葉酸、吡哆醇、硫胺素、泛酸及生物素。前述物質中之任一者之合適形式為維生素之鹽、維生素之衍生物、具有與維生素之活性相同或類似之活性之化合物及維生素之代謝物。

【0134】 在一些實施例中，組合物包含賦形劑。合適賦形劑之非限制性實例包括緩衝劑、保存劑、穩定劑、黏合劑、壓緊劑、潤滑劑、分散增強劑、崩解劑、調味劑、甜味劑及著色劑。

【0135】 在一些實施例中，賦形劑為緩衝劑。合適緩衝劑之非限制性實例包括檸檬酸鈉、碳酸鎂、碳酸氫鎂、碳酸鈣及碳酸氫鈣。

【0136】 在一些實施例中，賦形劑包含保存劑。合適保存劑之非限制性實例包括諸如 α -生育酚及抗壞血酸酯之抗氧化劑及諸如對羥苯甲酸酯、氯丁醇及苯酚之抗微生物劑。

【0137】 在一些實施例中，組合物包含黏合劑作為賦形劑。合適黏合劑之非限制性實例包括澱粉、預膠凝化澱粉、明膠、聚乙烯吡咯啉酮、纖維素、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素、聚丙烯醯胺、聚乙烯噁唑啉酮、聚乙烯醇、C₁₂-C₁₈脂肪酸醇、聚乙二醇、多元醇、糖、寡糖及其組合。

【0138】 在一些實施例中，組合物包含潤滑劑作為賦形劑。合適潤滑劑之非限制性實例包括硬脂酸鎂、硬脂酸鈣、硬脂酸鋅、氫化植物油、sterotex、聚氧乙烯單硬脂酸酯、滑石、聚乙二醇、苯甲酸鈉、月桂基硫酸鈉、月桂基硫酸鎂及輕質礦物油。

【0139】 在一些實施例中，組合物包含分散增強劑作為賦形劑。合適分散劑之非限制性實例包括作為高HLB乳化劑界面活性劑之澱粉、褐藻酸、聚乙烯吡咯啉酮、瓜爾膠、高嶺土、膨潤土、純化木質纖維素、羥基乙酸澱粉鈉、異非晶形矽酸鹽及微晶纖維素。

【0140】 在一些實施例中，組合物包含崩解劑作為賦形劑。在一些實施例中，崩解劑為非發泡崩解劑。合適非發泡崩解劑之非限制性實例包括澱粉，諸如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉、其預膠凝化且經改質之澱粉；甜味劑；黏土，諸如膨潤土；微晶纖維素；褐藻酸鹽；羥基乙酸澱粉鈉；膠，諸如瓊脂、瓜爾膠、刺槐豆、刺梧桐膠、果膠及黃蓍膠。在一些實施例中，崩解劑為發泡崩解劑。合適發泡崩解劑之非限制性實例包括碳酸氫鈉與檸檬酸之組合及碳酸氫鈉與酒石酸之組合。

【0141】 在一些實施例中，細菌調配物包含腸溶包衣或微囊封。在某些實施例中，腸溶包衣或微囊封改善對胃腸道之所需區域之標靶。舉例而言，在某些實施例中，細菌組合物包含在與胃腸道之特定區域相關之

pH下溶解之腸溶包衣及/或微囊封。在一些實施例中，腸溶包衣及/或微囊封係在約5.5-6.2之pH下溶解以在十二指腸中釋放；在約7.2-7.5之pH值下溶解以在回腸中釋放；且/或在約5.6-6.2之pH值下溶解以在結腸中釋放。例示性腸溶包衣及微囊封描述於例如美國專利公開第2016/0022592號中，該專利公開特此以全文引用之方式併入。

【0142】 在一些實施例中，組合物為食品(例如食物或飲料)，諸如健康食物或飲料、嬰兒食物或飲料、妊娠期婦女、運動員、老年人或其他指定群體之食物或飲料、功能性食物、飲料、指定健康用途之食物或飲料、膳食增補劑、患者食物或飲料或動物飼料。食物及飲料之具體實例包括各種飲料，諸如果汁、提神飲料、茶飲料、飲用製品、果凍飲料及功能性飲料；酒精性飲料，諸如啤酒；含碳水化合物食物，諸如稻米食品、麵條、麵包及意大利面；膏狀產品，諸如魚腸、香腸、海產食物之膏狀產品；殺菌袋裝產品，諸如咖喱、用濃厚澱粉調味醬調味之食物及中式湯；湯；乳製品，諸如牛奶、乳飲料、冰淇淋、乾酪及酸酪乳；醱酵品，諸如醱酵豆醬、酸酪乳、醱酵飲料及醃菜；豆製品；各種糖果產品，包括餅乾、甜餅及其類似物、糖果、口香糖、膠質糖、冷甜點(包括果凍)、焦糖奶油及冷凍甜點；快餐食品，諸如快餐湯及快餐大豆湯；微波食品；及其類似物。此外，實例亦包括以粉末、粒劑、錠劑、膠囊、液體、膏體及凍膠形式製備之健康食物及飲料。

【0143】 在某些實施例中，結合本文所揭示之細菌與益菌助生質向個體投與。益菌助生質為一般難以由宿主動物消化且選擇性地由細菌醱酵或代謝之碳水化合物。益菌助生質可為改變宿主中之微生物群系之組成或代謝之短鏈碳水化合物(例如寡糖)及/或簡單之糖(例如單糖及二糖)及/或

黏蛋白(高度糖基化之蛋白質)。短鏈碳水化合物亦稱為寡糖，且通常含有2或3個及至多8、9、10、15個或更多個糖部分。當將益菌助生質引入宿主中時，益菌助生質影響宿主體內之細菌且不直接影響宿主。在某些態樣中，益菌助生質組合物可選擇性地刺激宿主中之有限數目個細菌中之一者之生長及/或活性。益菌助生質包括寡糖，諸如果寡糖(FOS) (包括菊寡糖)、半乳寡糖(GOS)、反式半乳寡糖、木寡糖(XOS)、殼寡糖(COS)、大豆寡糖(例如水蘇糖及棉子糖)、龍膽寡糖、異麥芽糖寡糖、甘露寡糖(mannooligosaccharide)、麥芽糖寡糖及甘露寡糖(mannanooligosaccharides)。寡糖未必為單一組分，且可為含有具有不同寡聚程度之寡糖之混合物，有時包括母體雙糖及單體糖。在包括水果、蔬菜、牛奶及蜂蜜之許多常見食物中發現呈天然組分形式之各種類型之寡糖。寡糖之具體實例為乳酮糖、乳果糖、巴拉金糖(palatinose)、糖基蔗糖、瓜爾膠、阿拉伯膠(gum Arabic)、塔格糖(tagalose)、直鏈澱粉、支鏈澱粉、果膠、木聚糖及環糊精。益菌助生質亦可經純化或以化學方式或以酶促方式合成。

投與

【0144】 在某些態樣中，本文提供將本文所描述之細菌及/或細菌組合物遞送至個體之方法。在本文所提供之方法之一些實施例中，細菌投與與額外治療劑投與結合。在一些實施例中，在醫藥組合物中共調配細菌與額外治療劑。在一些實施例中，共投與細菌與額外治療劑。在一些實施例中，在投與細菌之前(例如之前約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50或55分鐘，之前約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22

或23小時，或之前約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)向個體投與額外治療劑。在一些實施例中，在投與細菌之後(例如之後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50或55分鐘，之後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23小時，或之後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)向個體投與額外治療劑。在一些實施例中，使用相同遞送模式來遞送細菌及額外治療劑兩者。在一些實施例中，使用不同遞送模式來投與細菌及額外治療劑。舉例而言，在一些實施例中，經口投與細菌，而經由注射(例如靜脈內、肌肉內及/或瘤內注射)投與額外治療劑。

【0145】 在某些實施例中，可結合任何其他習知之抗免疫病症治療來投與本文所描述之醫藥組合物、劑型及套組。此等治療可視需要及/或如所指示來施用，且可在投與本文所描述之醫藥組合物、劑型及套組之前、同時或之後進行。

【0146】 給藥方案可為各種方法及量中之任一種，且可藉由熟習此項技術者根據已知臨床因素來確定。如醫學技術中所已知，用於任一名患者之劑量可視多種因素而定，包括個體之物種、身材、體表面積、年齡、性別、免疫能力及一般健康狀況、待投與之特定微生物、投與持續時間及途徑、疾病之種類及階段(例如腫瘤大小)及諸如同時投與之藥物之其他化合物。除以上因素之外，該等位準可能受微生物之感染力及微生物之性質影響，該等微生物之感染力及微生物之性質如可由熟習此項技術者來測定。在本發明方法中，微生物之適當最小劑量位準可為微生物足以存活、生長及複製之位準。本文所描述之治療方法可適合於治療免疫病症(例如

自體免疫疾病、發炎性疾病、過敏)。本文所描述之醫藥組合物之劑量可根據劑型、投與途徑、靶疾病之程度或階段及其類似者來適當地設定或調整。舉例而言，藥劑之一般有效劑量可在0.01 mg/kg體重/天與1000 mg/kg體重/天之間、在0.1 mg/kg體重/天與1000 mg/kg體重/天、0.5 mg/kg體重/天與500 mg/kg體重/天、1 mg/kg體重/天與100 mg/kg體重/天之間或在5 mg/kg體重/天與50 mg/kg體重/天之間之範圍內。有效劑量可為0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、3、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、500或1000 mg/kg體重/天或更多，但劑量不限於此。

【0147】 在一些實施例中，向個體投與之劑量足以預防免疫病症、延遲其發作或減緩或終止其進展或預防免疫病症復發。熟習此項技術者應認識到，劑量將視各種因素而定，包括所採用之特定化合物之強度以及個體之年齡、物種、病況及體重。劑量大小亦應由以下來確定：投與之途徑、時序及頻率，以及可伴隨特定化合物之投與之任何不良副作用之存在、性質及程度，以及所需生理效應。

【0148】 合適劑量及給藥方案可藉由一般熟習此項技術者已知之習知範圍探求技術來確定。一般而言，治療係以小於化合物之最佳劑量之較小劑量起始。其後，劑量以小增量增加，直至達至在該等情況下之最佳效應為止。有效劑量及治療方案可藉由常規且習知之方法來確定，該等方法以例如在實驗動物中使用低劑量為起始，且隨後增加劑量，同時監視效應，且同樣系統地改變給藥方案。通常使用動物研究以測定生物活性劑之最大可容許劑量(「MTD」)/公斤體重。熟習此項技術者有規律地推知包括人類之其他物種中之用於功效同時避免毒性之劑量。

【0149】 根據上文，在治療性應用中，除影響所選劑量之其他因素外，根據本發明使用之活性劑之劑量視以下而變化：活性劑、受體患者之年齡、體重及臨床病況以及投與療法之臨床醫師或醫師之經驗及判斷。一般而言，劑量應足以引起減緩免疫病症之進展，且較佳消退免疫病症之進展。

【0150】 獨立投與可包括任何次數之兩次或更多次投與(例如劑量)，包括兩次、三次、四次、五次或六次投與。根據此項技術中已知之用於監視治療方法之方法及本文提供之其他監視方法，熟習此項技術者可易於確定執行投與之次數或執行一或多次額外投與之客觀需要。在一些實施例中，劑量可相隔至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天或1、2、3或4週。因此，本文所提供之方法包括向個體提供一或多次細菌投與之方法，其中投與次數可藉由監視個體及基於監視結果來確定，確定係否提供一或多次額外投與。決定係否提供一或多次額外投與可基於各種監視結果，包括但不限於指示腫瘤生長或抑制腫瘤生長、出現新的癌轉移或抑制癌轉移、個體之抗細菌抗體力價、個體之抗腫瘤抗體力價、個體之總體健康狀況及/或個體之體重。

【0151】 投與之間之時段可為各種時段中之任一種。投與之間之時段可隨各種因素中之任一者而變化，該等因素包括如關於投與次數所描述之監視步驟、個體建立免疫反應之時段及/或個體自正常組織清除細菌之時段。在一個實例中，時段可隨個體建立免疫反應之時段而變化；舉例而言，時段可大於個體建立免疫反應之時段，諸如大於約一週、大於約十天、大於約兩週或大於約一月；在另一實例中，時段可小於個體建立免疫

反應之時段，諸如小於約一週、小於約十天、小於約兩週或小於約一月。在另一實例中，時段可隨個體自正常組織清除細菌之時段而變化；舉例而言，時段可大於個體自正常組織清除細菌之時段，諸如大於約一天、大於約兩天、大於約三天、大於約五天或大於約一週。

【0152】 在一些實施例中，結合本文所描述之細菌遞送免疫病症治療劑減少不良反應及/或改善免疫病症治療劑之功效。

【0153】 本文所描述之免疫病症治療劑之有效劑量為可有效達成特定患者、組合物及投與模式所需之治療反應且達成對患者的最小毒性的治療劑的量。有效劑量位準可使用本文所描述之方法來識別，且應視各種藥物動力學因素而定，該等因素包括所投與之特定組合物之活性、投與途徑、投與時間、所採用之特定化合物之排泄速率、治療持續時間、與所採用之特定組合物組合使用之其他藥物、化合物及/或材料；所治療患者之年齡、性別、體重、病況、一般健康狀況及先前病史以及醫學技術中熟知之類似因素。一般而言，免疫病症療法之有效劑量應為作為可有效產生治療效果之最低劑量之治療劑的量。此類有效劑量一般應視上文所描述之因素而定。

【0154】 免疫病症療法之毒性為個體在治療期間及之後經歷之不良反應的程度。與免疫病症療法毒性相關之不良事件包括但不限於腹痛、消化不良、酸逆流、過敏性反應、禿髮、全身性過敏反應、貧血、焦慮、食慾不振、關節痛、無力、運動失調、氮質血症、失衡、骨痛、出血、血凝塊、低血壓、高血壓、呼吸困難、支氣管炎、淤血、低白血球計數、低紅細胞計數、低血小板計數、心臟毒性、膀胱炎、出血性膀胱炎、心律不整、心瓣膜疾病、心肌病、冠狀動脈疾病、白內障、中樞神經毒性、認知

障礙、混淆、結膜炎、便秘、咳嗽、痙攣、膀胱炎、深層靜脈栓塞、脫水、抑鬱、腹瀉、眩暈、口乾、皮膚乾燥、消化不良、呼吸困難、水腫、電解質不平衡、食道炎、疲勞、生育力喪失、發熱、胃腸積氣、面紅、胃逆流、胃食道逆流病、生殖器疼痛、粒細胞減少症、男性女乳症、青光眼、脫髮、手足症候群、頭痛、聽力喪失、心臟衰竭、心悸、胃灼熱、血腫、出血性膀胱炎、肝毒性、高澱粉酶血症、高鈣血症、高氯血症、高血糖症、高鉀血症、高脂血症、高鎂血症、高鈉血症、高磷酸鹽血症、色素過多、高三酸甘油酯血症、高尿酸血症、低白蛋白血症、低鈣血症、低氯血症、低血糖症、低鉀血症、低鎂血症、低鈉血症、低磷酸鹽血症、陽萎、感染、注射位點反應、失眠、缺鐵、瘙癢、關節痛、腎衰竭、白細胞減少症、肝功能障礙、記憶力喪失、停經、口瘡、黏膜炎、肌肉痛、肌痛、骨髓抑制、心肌炎、嗜中性白血球減少性發熱、噁心、腎毒性、嗜中性白血球減少症、流鼻血、麻木、耳毒性、疼痛、手掌-足底紅腫、全部血球減少症、心包炎、周邊神經病變、咽炎、畏光、光敏感、肺炎、局部肺炎、蛋白尿、肺栓塞、肺纖維化、肺毒性、皮疹、心跳過快、直腸出血、坐立不安、鼻炎、癲癇、呼吸短促、鼻竇炎、血小板減少、耳鳴、泌尿道感染、陰道出血、陰道乾燥、眩暈、水滯留、虛弱、體重減輕、體重增加及口乾症。一般而言，若經由療法達成之對個體之益處勝過個體由於療法而經歷之不良事件，則毒性為可接受的。

【0155】 在一些實施例中，細菌組合物之投與治療疾病(例如癌症、自體免疫疾病、發炎性疾病、代謝疾病)。

治療劑

【0156】 在某些態樣中，本文所提供之方法包括向個體投與單獨或

與另一治療劑組合之本文所描述之細菌及/或細菌組合物(例如包含表1中列舉之細菌菌株之細菌組合物)。在一些實施例中，可按任何次序向個體投與細菌組合物及其他療法。在一些實施例中，聯合投與細菌組合物及其他療法。

【0157】 在一些實施例中，在投與額外治療劑之前向個體投與細菌(例如之前至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24小時，或之前至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天)。在一些實施例中，在投與額外治療劑之後向個體投與細菌(例如之後至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24小時，或之後至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天)。在一些實施例中，同時或幾乎同時(例如彼此相隔一小時進行投與)向個體投與細菌及額外治療劑。在一些實施例中，在向個體投與細菌之前向個體投與抗生素(例如之前至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24小時，或之前至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天)。在一些實施例中，在向個體投與細菌之後向個體投與抗生素(例如之後至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24小時，或之後至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、

21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天)。在一些實施例中，同時或幾乎同時(例如彼此相隔一小時進行投與)向個體投與細菌及抗生素。

【0158】 在某些實施例中，個體可能經歷手術。手術類型包括但不限於預防性、診斷性或階段性、治癒性及姑息性手術。

【0159】 在一些實施例中，額外治療劑為抗生素。舉例而言，若根據本文所提供之方法偵測到存在免疫病症相關細菌及/或免疫病症相關微生物群系分佈，則可投與抗生素以自個體消除免疫病症相關細菌。「抗生素」廣義上係指能夠抑制或預防細菌感染之化合物。可以多種方式分類抗生素，包括其針對特定感染之用途、其作用機制、其生物可用性或其靶微生物譜(例如革蘭氏陰性菌對革蘭氏陽性菌、好氧菌對厭氧菌等)，且此等抗生素可用於在特定宿主區域(「生態棲位」)中殺滅特定細菌(Leekha等人2011. *General Principles of Antimicrobial Therapy*. *Mayo Clin Proc.* 86(2): 156-167)。在某些實施例中，抗生素可用於選擇性地靶向特定生態棲位之細菌。在一些實施例中，已知治療特定感染(包括免疫病症生態棲位)之抗生素可用於靶向免疫病症相關微生物，包括彼生態棲位中之免疫病症相關細菌。在其他實施例中，在細菌治療之後投與抗生素。在一些實施例中，在細菌治療之後投與抗生素以移除植入。

【0160】 在一些態樣中，可基於抗生素之殺菌或抑菌特性來選擇抗生素。殺菌抗生素包括破壞細胞壁(例如 β -內醯胺)、細胞膜(例如達托黴素(daptomycin))或細菌DNA (例如氟喹諾酮(fluoroquinolone))之作用機制。抑菌劑抑制細菌複製且包括磺醯胺、四環素及巨環內酯，且藉由抑制蛋白質合成而起作用。此外，儘管一些藥物可在某些生物體中具有殺菌性而在其他生物體中具有抑菌性，但應知曉，靶生物體允許熟習此項技術者

選擇具有適當特性之抗生素。在某些治療條件下，抑菌抗生素抑制殺菌抗生素之活性。因此，在某些實施例中，不組合殺菌抗生素及抑菌抗生素。

【0161】 抗生素包括但不限於胺基糖苷、安莎黴素(ansamycin)、碳頭孢烯、碳青黴烯、頭孢菌素、糖肽、林可醯胺、脂肽、巨環內酯、單環 β -內醯胺、硝基呋喃、噁唑啉酮、青黴素、多肽抗生素、喹諾酮、氟喹諾酮、磺醯胺、四環素及抗分枝桿菌化合物以及其組合。

【0162】 胺基糖苷包括但不限於阿米卡星(Amikacin)、慶大黴素(Gentamicin)、康黴素(Kanamycin)、新黴素、奈替黴素(Netilmicin)、托普黴素(Tobramycin)、巴龍黴素(Paromomycin)及觀黴素(Spectinomycin)。胺基糖苷例如對於諸如大腸桿菌、克雷伯氏菌(Klebsiella)、綠膿桿菌(Pseudomonas aeruginosa)及土拉文氏桿菌(Francisella tularensis)之革蘭氏陰性菌有效，且對於某些好氧菌有效但對於專性/兼性厭氧菌不太有效。咸信胺基糖苷與細菌30S或50S核糖體次單元結合，由此抑制細菌蛋白合成。

【0163】 安莎黴素包括但不限於格爾德黴素(Geldanamycin)、除莠黴素(Herbimycin)、利福黴素(Rifamycin)及曲張鏈絲菌素(Streptovaricin)。咸信格爾德黴素及除莠黴素抑制或改變熱休克蛋白90之功能。

【0164】 碳頭孢烯包括但不限於氯碳頭孢(Loracarbef)。咸信碳頭孢烯抑制細菌細胞壁合成。

【0165】 碳青黴烯包括但不限於厄他培南(Ertapenem)、多尼培南(Doripenem)、亞胺培南(Imipenem)/西司他汀(Cilastatin)及美羅培南(Meropenem)。碳青黴烯作為廣譜抗生素對於革蘭氏陽性菌及革蘭氏陰性

菌兩者皆具有殺菌性。咸信碳青黴烯抑制細菌細胞壁合成。

【0166】 頭孢菌素包括但不限於頭孢卓西(Cefadroxil)、頭孢若林(Cefazolin)、頭孢噻吩(Cefalotin)、先鋒黴素(Cefalothin)、頭孢胺苄(Cefalexin)、頭孢可若(Cefaclor)、頭孢孟多(Cefamandole)、頭孢西丁(Cefoxitin)、頭孢羅齊(Cefprozil)、頭孢呋辛(Cefuroxime)、頭孢克肟(Cefixime)、頭孢地尼(Cefdinir)、頭孢妥侖(Cefditoren)、頭孢匹拉(Cefoperazone)、頭孢噻肟(Cefotaxime)、頭孢泊肟(Cefpodoxime)、頭孢他啶(Ceftazidime)、頭孢布烯(Ceftibuten)、頭孢唑肟(Ceftizoxime)、頭孢曲松(Ceftriaxone)、頭孢吡肟(Cefepime)、頭孢洛林酯(Ceftaroline fosamil)及頭孢比普(Ceftobiprole)。所選頭孢菌素例如對於革蘭氏陰性菌及對於革蘭氏陽性菌(包括假單胞菌(*Pseudomonas*))有效，某些頭孢菌素對於抗二甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (MRSA)有效。咸信頭孢菌素藉由干擾細菌細胞壁之肽聚糖層之合成來抑制細菌細胞壁合成。

【0167】 糖肽包括但不限於替考拉寧(Teicoplanin)、萬古黴素(Vancomycin)及特拉萬星(Telavancin)。糖肽例如對於包括MRSA及難養芽胞梭菌(*Clostridium difficile*)之好氧性及厭氧性革蘭氏陽性菌有效。咸信糖肽藉由干擾細菌細胞壁之肽聚糖層之合成來抑制細菌細胞壁合成。

【0168】 林可醯胺包括但不限於克林達黴素(Clindamycin)及林可黴素(Lincomycin)。林可醯胺例如對於厭氧菌以及葡萄球菌及鏈球菌有效。咸信林可醯胺與細菌50S核糖體次單元結合，由此抑制細菌蛋白合成。

【0169】 脂肽包括但不限於達托黴素。脂肽例如對於革蘭氏陽性菌有效。咸信脂肽與細菌膜結合，且引起快速去極化。

【0170】 巨環內酯包括但不限於阿奇黴素(Azithromycin)、克拉黴素(Clarithromycin)、地紅黴素(Dirithromycin)、紅黴素(Erythromycin)、羅紅黴素(Roxithromycin)、醋竹桃黴素(Troleandomycin)、泰利黴素(Telithromycin)及螺旋黴素(Spiramycin)。巨環內酯例如對於鏈球菌及黴漿菌有效。咸信巨環內酯與細菌50S核糖體次單元結合，由此抑制細菌蛋白合成。

【0171】 單環 β -內醯胺包括但不限於胺曲南(Aztreonam)。單環 β -內醯胺例如對於革蘭氏陰性菌有效。咸信單環 β -內醯胺藉由干擾細菌細胞壁之肽聚糖層之合成來抑制細菌細胞壁合成。

【0172】 硝基呋喃包括但不限於呋喃唑酮(Furazolidone)及硝基呋喃妥因(Nitrofurantoin)。

【0173】 噁唑啉酮包括但不限於利奈唑胺(Linezolid)、泊斯唑胺(Posizolid)、雷德唑胺(Radezolid)及特地佐利(Torezolid)。咸信噁唑啉酮為蛋白質合成抑制劑。

【0174】 青黴素包括但不限於阿莫西林(Amoxicillin)、安比西林(Ampicillin)、阿洛西林(Azlocillin)、卡本西林(Carbenicillin)、氯噻青黴素(Cloxacillin)、二氯噻青黴素(Dicloxacillin)、氟氯西林(Flucloxacillin)、美洛西林(Mezlocillin)、二甲氧苯青黴素(Methicillin)、萘夫西林(Nafcillin)、苯唑西林(Oxacillin)、青黴素G、青黴素V、哌拉西林(Piperacillin)、替莫西林(Temocillin)及替卡西林(Ticarcillin)。青黴素例如對於革蘭氏陽性菌、兼性厭氧菌(例如鏈球菌、疏螺旋體屬(*Borrelia*)及密螺旋體屬(*Treponema*))有效。咸信青黴素藉由干擾細菌細胞壁之肽聚糖層之合成來抑制細菌細胞壁合成。

【0175】 青黴素組合包括但不限於阿莫西林/棒酸鹽、安比西林/舒巴坦(sulbactam)、哌拉西林/他唑巴坦(tazobactam)及替卡西林/棒酸鹽。

【0176】 多肽抗生素包括但不限於枯草菌素、可利斯汀以及多黏菌素B及E。多肽抗生素例如對於革蘭氏陰性菌有效。咸信某些多肽抗生素抑制涉及細菌細胞壁之肽聚糖層之合成之焦磷酸異戊二烯酯，而其他多肽抗生素藉由置換細菌相對離子來使細菌外膜不穩定。

【0177】 喹諾酮及氟喹諾酮包括但不限於賽普沙星(Ciprofloxacin)、依諾沙星(Enoxacin)、加替沙星(Gatifloxacin)、吉米沙星(Gemifloxacin)、左旋氧氟沙星(Levofloxacin)、洛美沙星(Lomefloxacin)、莫西沙星(Moxifloxacin)、萘啶酮酸(Nalidixic acid)、諾氟沙星(Norfloxacin)、氧氟沙星(Ofloxacin)、曲伐沙星(Trovafoxacin)、格帕沙星(Grepafloxacin)、司帕沙星(Sparfloxacin)及替馬沙星(Temafloxacin)。喹諾酮/氟喹諾酮例如對於鏈球菌及奈瑟菌(*Neisseria*)有效。咸信喹諾酮/氟喹諾酮抑制細菌DNA旋轉酶或拓撲異構酶IV，由此抑制DNA複製及轉錄。

【0178】 磺醯胺包括但不限於磺胺米隆(Mafenide)、乙醯磺胺、磺胺嘧啶、磺胺嘧啶銀、達美磺胺、磺胺甲二唑、磺胺甲異噁唑、對胺苯磺醯亞胺、柳氮磺胺吡啶、磺胺異噁唑、三甲氧苄二胺嘧啶-磺胺甲異噁唑(複方新諾明(Co-trimoxazole))及偶氮磺胺(Sulfonamidochrysoidine)。咸信磺醯胺藉由競爭性抑制二氫葉酸合成酶來抑制葉酸合成，由此抑制核酸合成。

【0179】 四環素包括但不限於去甲基氯四環素、脫氧羥四環素、米諾四環素、羥四環素及四環素。四環素例如對於革蘭氏陰性菌有效。咸信

四環素與細菌30S核糖體次單元結合，由此抑制細菌蛋白合成。

【0180】 抗分支桿菌化合物包括但不限於氯法齊明(Clofazimine)、二胺苯砒(Dapsone)、卷麴黴素(Capreomycin)、環絲胺酸、乙胺丁醇、乙硫異菸醯胺、異菸酸肼、吡嗪醯胺、利福平(Rifampicin)、利福布汀(Rifabutin)、利福噴丁(Rifapentine)及鏈黴素。

【0181】 合適之抗生素亦包括阿斯凡納明(arsphenamine)、氯黴素(chloramphenicol)、磷黴素(fosfomycin)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、甲硝噻唑(metronidazole)、莫匹羅星(mupirocin)、平板黴素(platensimycin)、奎奴普汀(quinupristin)/達福普汀(dalfopristin)、泰格環黴素(tigecycline)、磺甲硝咪唑(tinidazole)、三甲氧苄二胺嘧啶阿莫西林/棒酸鹽、安比西林/舒巴坦、安福黴素(amphotericin)瑞斯特黴素(ristocetin)、阿奇黴素、枯草菌素、蟾蜍素II、嘉寶黴素(carbomycin)、殺菌肽PI、克拉黴素、紅黴素、呋喃唑酮、梭鏈孢酸、褐酶酸Na (Na fusidate)、短桿菌素(gramicidin)、亞胺培南(imipenem)、吲哚力西丁(indolicidin)、交沙黴素(josamycin)、美甘寧II (magainin II)、甲硝噻唑、硝基咪唑、蜜柑黴素(mikamycin)、變鏈素B-Ny266、變鏈素B-JH1 140、變鏈素J-T8、乳酸鏈球菌素、乳酸鏈球菌素A、新生黴素、奧連黴素、牡蠣菌素、哌拉西林/他唑巴坦、普那黴素(pristinamycin)、雷莫拉寧(ramoplanin)、蘭那雷辛(ranalexin)、羅伊氏素(reuterin)、利福昔明(rifaximin)、薔薇黴素(rosamicin)、羅沙米星(rosaramicin)、觀黴素、螺旋黴素、葡萄黴素(staphylomycin)、鏈黴殺陽素(streptogramin)、鏈黴殺陽素A、協同素(synergistin)、滔羅定(taurolidine)、替考拉寧、泰利黴素、替卡西林/克拉維酸(clavulanic acid)、三乙醯奧連黴素(triacetyloleandomycin)、泰黴

素(tylosin)、短桿菌酪肽(tyrocidin)、短桿菌素(tyrothricin)、萬古黴素、維莫黴素(vemamycin)及維吉黴素(virginiamycin)。

【0182】 在一些實施例中，額外治療劑為免疫抑制劑、DMARD、疼痛控制藥物、類固醇、非類固醇消炎藥(NSAID)或細胞介素拮抗劑及其組合。代表性藥劑包括但不限於環孢素、類視黃素、皮質類固醇、丙酸衍生物、乙酸衍生物、烯醇酸衍生物、芬那酸衍生物、Cox-2抑制劑、盧米羅可(lumiracoxib)、布洛芬、膽鹼柳酸鎂、非諾洛芬(fenoprofen)、雙柳酸酯、二氟尼柳、托美丁(tolmetin)、酮洛芬、氟比洛芬、奧沙普嗪(oxaprozin)、吲哚美辛(indomethacin)、舒林酸(sulindac)、依託度酸(etodolac)、酮咯酸、萘丁美酮、萘普生(naproxen)、伐地昔布(valdecoxib)、依託昔布(etoricoxib)、MK0966；羅非昔布(rofecoxib)、乙醯胺苯酚、塞內昔布(Celecoxib)、雙氯芬酸、曲馬多(tramadol)、吡羅昔康(piroxicam)、美洛昔康(meloxicam)、替諾昔康(tenoxicam)、屈噁昔康(droxicam)、氯諾昔康(lornoxicam)、伊索昔康(isoxicam)、甲芬那酸、甲氯芬那酸、氟芬那酸、托芬那酸、伐地昔布、帕瑞昔布(parecoxib)、依託度酸、吲哚美辛、阿司匹林(aspirin)、布洛芬、非羅昔布(firocoxib)、甲胺喋呤(MTX)、抗瘡疾藥(例如羥基氯奎及氯奎)、柳氮磺胺吡啶、來氟米特(Leflunomide)、硫唑嘌呤、環孢素、金鹽、米諾四環素、環磷醯胺、D-青黴胺、米諾四環素、金諾芬(auranofin)、他克莫司(tacrolimus)、硫代苯酸金鈉(myocrisin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、TNF α 拮抗劑(例如TNF α 拮抗劑或TNF α 受體拮抗劑)，例如阿達木單抗(ADALIMUMAB)(Humira®)、依那西普(ETANERCEPT)(Enbrel®)、英利昔單抗(INFLIXIMAB)(Remicade®；TA-650)、聚乙二醇化賽妥珠單抗

(CERTOLIZUMAB PEGOL)(Cimzia®; CDP870)、戈利木單抗(GOLIMUMAB)(Simpom®; CNTO 148)、阿那白滯素(ANAKINRA)(Kineret®)、利妥昔單抗(RITUXIMAB)(Rituxan®; MabThera®)、阿巴西普(ABATACEPT)(Orencia®)、托珠單抗(TOCILIZUMAB)(RoActemra/Actemra®)、整合素拮抗劑(TYSABRI®(那他珠單抗(natalizumab)))、IL-1拮抗劑(ACZ885 (Ilaris))、阿那白滯素(Kineret®)、CD4拮抗劑、IL-23拮抗劑、IL-20拮抗劑、IL-6拮抗劑、BLyS拮抗劑(例如阿塞西普(Atacicept)、Benlysta®/LymphoStat-B®(貝利單抗(belimumab)))、p38抑制劑、CD20拮抗劑(奧克珠單抗(Ocrelizumab)、奧伐木單抗(Ofatumumab)(Arzerra®))、干擾素 γ 拮抗劑(芳妥珠單抗(Fontolizumab))、潑尼龍(prednisolone)、潑尼松(Prednisone)、地塞米松、皮質醇、皮質酮、氫皮質酮、甲基潑尼龍、倍他米松(betamethasone)、曲安西龍(triamcinolone)、貝洛他松(beclometasone)、氟氫可的松(fludrocortisone)、脫氧皮質固酮、醛固酮、多西環素、萬古黴素、吡格列酮(pioglitazone)、SBI-087、SCIO-469、Cura-100、昂科星+維生素德(Oncoxin+Viusid)、TwHF、甲氧沙林(Methoxsalen)、維生素D-麥角鈣化固醇、米那普侖(Milnacipran)、太平洋紫杉醇、羅格酮(rosig tazone)、他克莫司(Tacrolimus)(Prograf®)、RADOOL、雷帕鳴(rapamune)、雷帕黴素(rapamycin)、福他替尼(fostamatinib)、芬太尼(Fentanyl)、XOMA 052、福他替尼二鈉、羅格列酮(rosig tazone)、薑黃素(Longvida™)、羅素他汀(Rosuvastatin)、馬拉維若(Maraviroc)、雷米普利(ramipnl)、米那普侖(Milnacipran)、科普斯酮(Cobiprostone)、生長激素(somatropin)、tgAAC94基因療法載體、

MK0359、GW856553、埃索美拉唑(esomeprazole)、依維莫司(everolimus)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、JAK1及JAK2抑制劑、泛JAK抑制劑，例如四環吡啶酮6 (P6)、325、PF-956980、地諾單抗(denosumab)、IL-6拮抗劑、CD20拮抗劑、CTLA4拮抗劑、IL-8拮抗劑、IL-21拮抗劑、IL-22拮抗劑、整合素拮抗劑(Tysarbri® (那他珠單抗))、VGEF拮抗劑、CXCL拮抗劑、MMP拮抗劑、防禦素拮抗劑、IL-1拮抗劑(包括IL-1 β 拮抗劑)及IL-23拮抗劑(例如受體誘餌、拮抗性抗體等)。

【0183】 在一些實施例中，藥劑為免疫抑制劑。免疫抑制劑之實例包括但不限於皮質類固醇、美色拉嗪(mesalazine)、美塞拉明(mesalamine)、柳氮磺胺吡啶、柳氮磺胺吡啶衍生物、免疫抑制藥、環孢素A、巯基嘌呤、硫唑嘌呤、潑尼松、甲胺喋呤、抗組織胺、糖皮質激素、腎上腺素、茶鹼、色甘酸鈉、抗白三烯、用於鼻炎之抗膽鹼激導性藥、TLR拮抗劑、炎性體抑制劑、抗膽鹼激導性解充血劑、肥大細胞穩定劑、單株抗IgE抗體、疫苗(例如用於疫苗接種之疫苗，其中過敏原之量逐漸增加)、細胞介素抑制劑(諸如抗IL-6抗體)、TNF抑制劑(諸如英利昔單抗、阿達木單抗、聚乙二醇化賽妥珠單抗、戈利木單抗或依那西普)及其組合。

【0184】 在一些實施例中，免疫病症療法包含向個體投與治療性細菌及/或治療性細菌組合，因此可在個體中重建健康之微生物群系。在一些實施例中，治療性細菌為非免疫病症相關細菌。在一些實施例中，治療性細菌為益生菌。

【0185】 在一些實施例中，額外治療劑為癌症治療劑。在一些實施

例中，癌症治療劑為化學治療劑。該等化學治療劑之實例包括但不限於烷基化劑，諸如環磷醯胺；磺酸烷基酯，諸如硫酸布他卡因(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；乙烯亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺；多聚乙醯(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼(包括合成類似物拓朴替康(topotecan))；苔蘚蟲素；卡利斯他汀(callystatin)；CC-1065 (包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；念珠藻素(cryptophycin)(特別地念珠藻素1及念珠藻素8)；海兔毒素；倍癌黴素(包括合成類似物、KW-2189及CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼；沙考地汀(sarcodictyin)；海綿抑制素；氮芥，諸如苯丁酸氮芥、蔡氮芥、氯磷醯胺、雌氮芥、異環磷醯胺、甲基二(氯乙基)胺、氧化甲基二(氯乙基)胺鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥、膽固醇對苯乙酸氮芥、潑尼氮芥、曲洛磷胺、脲嘧啶氮芥；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)及雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)，尤其卡奇黴素 γ I及卡奇黴素 ω 1；達內黴素(dynemicin)，包括達內黴素A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新抑癌蛋白發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素、奧納黴素(authrarnycin)、偶氮絲胺酸、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素c、卡拉比星(carabycin)、

洋紅黴素、嗜癌黴素、色黴素、放線菌素d、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓(包括嗎啉基-小紅莓、氰基嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及脫氧小紅莓)、表阿黴素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素、鏈脲佐菌素、殺結核菌素、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟脲嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如環胞苷(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮脲苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二脫氧脲苷、脫氧氟脲苷、依諾他濱(enocitabine)、氟脲苷；雄激素，諸如卡魯甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇、美雄烷、甾內酯；抗腎上腺，諸如胺魯米特、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如弗羅林酸；醋葡醛內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；恩脲嘧啶；安吡啶；貝斯布西(bestrabucil)；比生群；依達曲沙(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；地吡醌；艾福米辛(elformithine)；依利醋鉍；埃坡黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；脛基尿素；磨菇多糖；氯尼達明(lonidainine)；類美登素，諸如美登素及安絲菌素；丙脒脒；米托蒽醌；莫比達摩

(mopidanmol)；二胺硝吡啶；噴司他汀(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蔥醌；鬼臼酸；2-乙基醯肼；丙卡巴肼；PSK多糖複合物)；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素；西佐喃(sizofuran)；鎳螺胺；細交鏈孢菌酮酸；三亞胺醌；2,2',2''-三氯三乙胺；新月毒素(尤其T-2毒素、弗納庫林A (verracurin A)、桿孢菌素A及蛇形菌素)；胺甲酸乙酯；長春地辛；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露醇氮芥；二溴甘露醇；二溴衛矛醇；哌泊溴烷；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派(thiotepa)；類紫杉醇，例如太平洋紫杉醇及多西他賽(doxetaxel)；苯丁酸氮芥；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫代鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑配位錯合物，諸如順鉑、奧沙利鉑(oxaliplatin)及卡鉑；長春鹼；鉑；依託泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺；米托蔥醌；長春新鹼；長春瑞濱；諾凡特龍(novantrone)；替尼泊甙(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；柔紅黴素；胺基喋呤；截瘤達(xeloda)；伊班膦酸鹽；伊立替康(irinotecan)(例如CPT-11)；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視黃素，諸如視黃酸；卡培他濱(capecitabine)；及醫藥學上可接受之鹽、酸或以上中之任一者之衍生物。

【0186】 在一些實施例中，癌症治療劑為癌症免疫療法藥劑。免疫療法係指使用個體之免疫系統來治療癌症之治療，例如檢查點抑制劑、癌症疫苗、細胞介素、細胞療法、CAR-T細胞及樹突細胞療法。免疫療法之非限制性實例為檢查點抑制劑，包括納武單抗(Nivolumab) (BMS，抗PD-1)、派姆單抗(Pembrolizumab) (Merck，抗PD-1)、伊匹單抗(Ipilimumab) (BMS，抗CTLA-4)、MEDI4736 (AstraZeneca，抗PD-L1)

及MPDL3280A (Roche, 抗PD-L1)。其他免疫療法可為腫瘤疫苗, 諸如Gardail、Cervarix、BCG、sipulencel-T、Gp100:209-217、AGS-003、DCVax-L、Algenpantucel-L、Tergenpantucel-L、TG4010、ProstAtak、Prostvac-V/R-TRICOM、林多派木(Rindopepimul)、E75乙 酸 肽 、IMA901、POL-103A、Belagenpumatucel-L、GSK1572932A、MDX-1279、GV1001及特西泰德(Tecemotide)。免疫療法可經由注射(例如靜脈內、瘤內、皮下或至淋巴結中)投與, 但亦可經口、局部或經由噴霧劑投與。免疫療法可包含諸如細胞介素之佐劑。

【0187】 在一些實施例中, 免疫療法藥劑為免疫檢查點抑制劑。免疫檢查點抑制廣義上係指抑制癌細胞可產生以預防或下調免疫反應之檢查點。免疫檢查點蛋白之實例包括但不限於CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。免疫檢查點抑制劑可為與免疫檢查點蛋白結合且抑制免疫檢查點蛋白之抗體或其抗原結合片段。免疫檢查點抑制劑之實例包括但不限於納武單抗、派姆單抗、皮立珠單抗(pidilizumab)、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012及STI-A1010。

【0188】 在一些實施例中, 免疫療法藥劑為例如與癌症相關抗原結合之抗體或其抗原結合片段。癌症相關抗原之實例包括但不限於親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、

CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH(hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KKLC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-ras、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-

2、端粒酶、TGF- β R2、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1、XAGE-1b/GAGED2a。在一些實施例中，抗原為新抗原。

【0189】 在一些實施例中，免疫療法藥劑為癌症疫苗及/或癌症疫苗之組分(例如抗原肽及/或蛋白質)。癌症疫苗可為蛋白質疫苗、核酸疫苗或其組合。舉例而言，在一些實施例中，癌症疫苗包含有包含癌症相關抗原之抗原決定基之多肽。在一些實施例中，癌症疫苗包含編碼癌症相關抗原之抗原決定基之核酸(例如DNA或RNA，諸如mRNA)。在一些實施例中，核酸為載體(例如細菌載體、病毒載體)。細菌載體之實例包括但不限於牛分支桿菌(*Mycobacterium bovis*; BCG)、鼠傷寒沙氏桿菌屬(*Salmonella Typhimurium* ssp.)、傷寒沙氏桿菌屬(*Salmonella Typhi* ssp.)、芽孢梭菌孢子(*Clostridium* sp. spore)、大腸桿菌(*Escherichia coli*) Nissle 1917、大腸桿菌K-12/LLO、單核球增多性李氏菌(*Listeria monocytogenes*)及副痢疾桿菌(*Shigella flexneri*)。病毒載體之實例包括但不限於牛痘、腺病毒、RNA病毒及複製缺陷鳥類痘、複製缺陷禽痘、複製缺陷金絲雀痘、複製缺陷MVA及複製缺陷腺病毒。

【0190】 在一些實施例中，癌症免疫療法包含投與經癌症特異性抗原誘發之抗原呈現細胞(APC)。在一些實施例中，APC為樹突細胞、巨噬細胞或B細胞。

【0191】 癌症相關抗原之實例包括但不限於親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、

CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、
COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白
-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH
(hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、
ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、
G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、
GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、
GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、
HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、
IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KK-
LC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、
LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、
MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、
MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋
白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-
A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、
MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋
白、N-ras、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-
1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、
pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、
PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、
RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋
白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、

STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β RII、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1、XAGE-1b/GAGED2a。在一些實施例中，抗原為新抗原。

【0192】 在一些實施例中，癌症免疫療法包含投與癌症特異性嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，CAR係投與至T細胞之表面上。在一些實施例中，CAR與癌症相關抗原特異性結合。

【0193】 在一些實施例中，癌症免疫療法包含向個體投與癌症特異性T細胞。在一些實施例中，T細胞為CD4⁺ T細胞。在一些實施例中，CD4⁺ T細胞為TH1 T細胞、TH2 T細胞或TH17 T細胞。在一些實施例中，T細胞表現對癌症相關抗原具有特異性之T細胞受體。

【0194】 在一些實施例中，將癌症疫苗與佐劑一起投與。佐劑之實例包括但不限於免疫調節蛋白、佐劑65、 α -GalCer、磷酸鋁、氫氧化鋁、磷酸鈣、 β -葡聚糖肽、CpG ODN DNA、GPI-0100、脂質A、脂多醣、利普凡特(Lipovant)、孟塔納(Montanide)、N-乙醯基-胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸、Pam3CSK4、quil A、霍亂毒素(CT)及來自腸毒性大腸桿菌之不耐熱毒素(LT)(包括此等不耐熱毒素之衍生物(CTB、mmCT、CTA1-DD、LTB、LTK63、LTR72、dmLT))及海藻糖二黴菌酸酯。

【0195】 在一些實施例中，免疫療法藥劑為向個體之免疫調節蛋白。在一些實施例中，免疫調節蛋白為細胞介素或趨化介素。免疫調節蛋白質之實例包括但不限於B淋巴細胞趨化因子(「BLC」)、C-C模體趨化介素11(「伊紅趨素-1」)、嗜伊紅白血球趨化蛋白2(「伊紅趨素-2」)、顆粒球群落刺激因子(「G-CSF」)、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子(「GM-

CSF」) 1-309、細胞間黏著分子1 (「ICAM-1」)、干擾素 α (「IFN- α 」)、干擾素 β (「IFN- β 」)、干擾素 γ (「IFN- γ 」)、介白素-1 α (「IL-1 α 」)、介白素-1 β (「IL-1 β 」)、介白素1受體拮抗劑(「IL-1 ra」)、介白素-2 (「IL-2」)、介白素-4 (「IL-4」)、介白素-5 (「IL-5」)、介白素-6 (「IL-6」)、介白素-6可溶性受體(「IL-6 sR」)、介白素-7 (「IL-7」)、介白素-8 (「IL-8」)、介白素-10 (「IL-10」)、介白素-11 (「IL-11」)、介白素-12之次單元 β (「IL-12 p40」或「IL-12 p70」)、介白素-13 (「IL-13」)、介白素-15 (「IL-15」)、介白素-16 (「IL-16」)、介白素-17A-F (「IL-17A-F」)、介白素-18 (「IL-18」)、介白素-21 (「IL-21」)、介白素-22 (「IL-22」)、介白素-23 (「IL-23」)、介白素-33 (「IL-33」)、趨化介素(C-C模體)配位體2 (「MCP-1」)、巨噬細胞群落刺激因子(「M-CSF」)、 γ 干擾素誘導之單核球激素(「MIG」)、趨化介素(C-C模體)配位體2 (「MIP-1 α 」)、趨化介素(C-C模體)配位體4 (「MIP-1 β 」)、巨噬細胞炎性蛋白-1- δ (「MIP-1 δ 」)、血小板來源之生長因子次單元B (「PDGF-BB」)、趨化介素(C-C模體)配位體5、調節活化正常T細胞表現及分泌因子(「RANTES」)、TIMP金屬肽酶抑制因子1 (「TIMP-1」)、TIMP金屬肽酶抑制因子2 (「TIMP-2」)、腫瘤壞死因子淋巴毒素- α (「TNF α 」)、腫瘤壞死因子淋巴毒素- β (「TNF β 」)、1型可溶性TNF受體(「sTNFRI」)、sTNFRIIAR、腦源性神經滋養因子 (「BDNF」)、鹼性纖維母細胞生長因子(「bFGF」)、骨成形性蛋白4 (「BMP-4」)、骨成形性蛋白5 (「BMP-5」)、骨成形性蛋白7 (「BMP-7」)、神經生長因子(「b-NGF」)、表皮生長因子(「EGF」)、表皮生長因子受體(「EGFR」)、內分泌腺來源之血管內皮生長因子(「EG-

VEGF」)、纖維母細胞生長因子4 (「FGF-4」)、角質細胞生長因子 (「FGF-7」)、生長分化因子15 (「GDF-15」)、膠細胞來源之神經滋養因子(「GDNF」)、生長激素、類肝素結合性EGF生長因子(「HB-EGF」)、肝細胞生長因子(「HGF」)、類胰島素生長因子結合蛋白1 (「IGFBP-1」)、類胰島素生長因子結合蛋白2 (「IGFBP-2」)、類胰島素生長因子結合蛋白3 (「IGFBP-3」)、類胰島素生長因子結合蛋白4 (「IGFBP-4」)、類胰島素生長因子結合蛋白6 (「IGFBP-6」)、類胰島素生長因子1 (「IGF-1」)、胰島素、巨噬細胞群落刺激因子(「M-CSF R」)、神經生長因子受體(「NGF R」)、神經滋養蛋白-3 (「NT-3」)、神經滋養蛋白-4 (「NT-4」)、破骨細胞生成抑制因子(「護骨素」)、血小板來源之生長因子受體(「PDGF-AA」)、磷脂肌醇-聚糖生物合成 (「PIGF」)、含Sklp、Cullin、F-box之複合物(「SCF」)、幹細胞因子受體(「SCF R」)、轉變生長因子 α (「TGF α 」)、轉變生長因子 β -1 (「TGF β 1」)、轉變生長因子 β -3 (「TGF β 3」)、血管內皮生長因子 (「VEGF」)、血管內皮生長因子受體2 (「VEGFR2」)、血管內皮生長因子受體3 (「VEGFR3」)、VEGF-D 6Ckine、酪胺酸-蛋白激酶受體UFO (「Ax1」)、 β 細胞調節素(「BTC」)、黏膜相關上皮趨化介素 (「CCL28」)、趨化介素(C-C模體)配位體27 (「CTACK」)、趨化介素(C-X-C模體)配位體16 (「CXCL16」)、C-X-C模體趨化介素5 (「ENA-78」)、趨化介素(C-C模體)配位體26 (「伊紅趨素-3」)、顆粒球趨化蛋白 2 (「GCP-2」)、GRO、趨化介素(C-C模體)配位體14 (「HCC-1」)、趨化介素(C-C模體)配位體16 (「HCC-4」)、介白素-9 (「IL-9」)、介白素-17 F (「IL-17F」)、介白素-18-結合蛋白(「IL-18 BPa」)、介白素-28 A

(「IL-28A」)、介白素29 (「IL-29」)、介白素31 (「IL-31」)、C-X-C模體趨化介素10 (「IP-10」)、趨化介素受體CXCR3 (「I-TAC」)、白血抑制因子(「LIF」)、Light、趨化介素(C模體)配位體(「淋巴細胞趨化介素」)、單核球趨化因子蛋白2 (「MCP-2」)、單核球趨化因子蛋白3 (「MCP-3」)、單核球趨化因子蛋白4 (「MCP-4」)、巨噬細胞來源之趨化介素(「MDC」)、巨噬細胞遷移抑制因子(「MIF」)、趨化介素(C-C模體)配位體20 (「MIP-3 α 」)、C-C模體趨化介素19 (「MIP-3 β 」)、趨化介素(C-C模體)配位體23 (「MPIF-1」)、巨噬細胞刺激蛋白 α 鏈(「MSP α 」)、類核小體裝配蛋白1之4 (「NAP-2」)、分泌磷蛋白1 (「骨橋蛋白」)、肺及活化調節細胞介素(「PARC」)、血小板因子4 (「PF4」)、基質細胞源性因子-1 α (「SDF-1 α 」)、趨化介素(C-C模體)配位體17 (「TARC」)、胸腺表現之趨化介素(「TECK」)、胸腺基質淋巴細胞生成素(「TSLP 4- IBB」)、CD 166抗原(「ALCAM」)、分化簇80 (「B7-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員17 (「BCMA」)、分化簇14 (「CD14」)、分化簇30 (「CD30」)、分化簇40 (「CD40配位體」)、癌胚抗原相關細胞黏著分子1 (膽糖蛋白) (「CEACAM-1」)、死亡受體6 (「DR6」)、脫氧胸苷激酶(「Dtk」)、1型膜糖蛋白(「內皮因子」)、受體酪胺酸-蛋白激酶erbB-3 (「ErbB3」)、內皮細胞-白血球黏著分子1 (「E-選滯蛋白」)、細胞凋亡抗原1 (「Fas」)、類Fms酪胺酸激酶3 (「Flt-3L」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員1 (「GITR」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員14 (「HVEM」)、細胞間黏著分子3 (「ICAM-3」)、IL-1 R4、IL-1 RI、IL-10 R β 、IL-17R、IL-2R γ 、IL-21R、溶酶體膜蛋白2 (「LIMPII」)、嗜中性球明膠酶相關脂質運載蛋白(「脂質運載蛋白-

2」)、CD62L (「L-選滯蛋白」)、淋巴內皮(「LYVE-1」)、MHC I類多肽相關序列A (「MICA」)、MHC I類多肽相關序列B (「MICB」)、NRG1-β1、β型血小板來源之生長因子受體(「PDGF Rβ」)、血小板內皮細胞黏著分子(「PECAM-1」)、RAGE、A型肝炎病毒細胞受體1 (「TIM-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員IOC (「TRAIL R3」)、Trappin蛋白轉麩醯胺酸酶結合域(「Trappin-2」)、尿激酶受體 (「uPAR」)、血管細胞黏著蛋白1 (「VCAM-1」)、XEDAR活化素A、刺鼠相關蛋白(「AgRP」)、核糖核酸酶5 (「血管生成素」)、血管生成素1、血管抑制素、組織蛋白酶S、CD40、隱藏家族蛋白IB (「Cripto-1」)、DAN、Dickkopf相關蛋白1 (「DKK-1」)、E-鈣黏蛋白、上皮細胞黏著分子(「EpCAM」)、Fas配位體(FasL或CD95L)、Fcγ RIIB/C、濾泡抑素、半乳糖凝集素-7、細胞間黏著分子2 (「ICAM-2」)、IL-13 R1、IL-13R2、IL-17B、IL-2 Ra、IL-2 Rb、IL-23、LAP、神經元細胞黏著分子(「NrCAM」)、纖維蛋白溶酶原活化因子抑制因子-1 (「PAI-1」)、血小板來源之生長因子受體(「PDGF-AB」)、抵抗素、基質細胞源性因子1 (「SDF-1 β」)、sgpl30、分泌型捲曲相關蛋白2 (「ShhN」)、唾液酸結合免疫球蛋白型凝集素(「Siglec-5」)、ST2、轉變生長因子-β 2 (「TGF β 2」)、Tie-2、血小板生成素(「TPO」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員10D (「TRAIL R4」)、在骨髓細胞上表現之觸發受體1 (「TREM-1」)、血管內皮生長因子C (「VEGF-C」)、VEGFR1脂聯素、脂肪酶 (「AND」)、α-胎蛋白(「AFP」)、類血管生成素4 (「ANGPTL4」)、β-2-微球蛋白(「B2M」)、基底細胞黏著分子(「BCAM」)、碳水化合物抗原125 (「CA125」)、癌抗原15-3 (「CA15-3」)、癌胚抗原(「CEA」)、

cAMP受體蛋白(「CRP」)、人類表皮生長因子受體2 (「ErbB2」)、濾泡抑素、激濾泡素(「FSH」)、趨化介素(C-X-C模體)配位體1 (「GRO α 」)、人類絨毛膜促性腺素(「 β HCG」)、類胰島素生長因子1受體(「IGF-1 sR」)、IL-1 sRII、IL-3、IL-18 Rb、IL-21、瘦素、基質金屬蛋白酶-1 (「MMP-1」)、基質金屬蛋白酶-2 (「MMP-2」)、基質金屬蛋白酶-3 (「MMP-3」)、基質金屬蛋白酶-8 (「MMP-8」)、基質金屬蛋白酶-9 (「MMP-9」)、基質金屬蛋白酶-10 (「MMP-10」)、基質金屬蛋白酶-13 (「MMP-13」)、神經細胞黏著分子(「NCAM-1」)、巢蛋白(「Nidogen-1」)、神經元特異性烯醇酶(「NSE」)、抑瘤素M (「OSM」)、降鈣素原、泌乳素、前列腺特異性抗原(「PSA」)、類唾液酸結合Ig凝集素9 (「Siglec-9」)、ADAM 17內肽酶(「TACE」)、甲狀腺球蛋白、金屬蛋白酶抑制因子4 (「TIMP-4」)、TSH2B4、含解整合素及金屬蛋白酶域蛋白9 (「ADAM-9」)、血管生成素2、腫瘤壞死因子配位體超家族成員13/酸性富白胺酸核磷蛋白32家族成員B (「APRIL」)、骨成形性蛋白質2 (「BMP-2」)、骨成形性蛋白質9 (「BMP-9」)、補體組分5a (「C5a」)、組織蛋白酶L、CD200、CD97、趨化素、腫瘤壞死因子受體超家族成員6B (「DcR3」)、脂肪酸結合蛋白2 (「FABP2」)、纖維母細胞活化蛋白 α (「FAP」)、纖維母細胞生長因子19 (「FGF-19」)、半乳糖凝集素-3、肝細胞生長因子受體(「HGF R」)、IFN- γ α/β R2、類胰島素生長因子2 (「IGF-2」)、類胰島素生長因子2受體(「IGF-2 R」)、介白素-1受體6 (「IL-1R6」)、介白素24 (「IL-24」)、介白素33 (「IL-33」)、胰舒血管素14、天冬醯胺醯基內肽酶(「豆莢蛋白」)、氧化低密度脂蛋白受體1 (「LOX-1」)、甘露糖結合凝集素(「MBL」)、腦啡肽酶

(「NEP」)、Notch同系物1、易位相關(果蠅)(「Notch-1」)、腎胚細胞瘤過度表現(「NOV」)、骨活素、程序化細胞死亡蛋白1(「PD-1」)、N-乙醯胞壁醯基-L-丙胺酸醯胺酶(「PGRP-5」)、絲胺酸蛋白酶抑制因子A4、分泌型捲曲相關蛋白3(「sFRP-3」)、血栓調節蛋白、Toll樣受體2(「TLR2」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員10A(「TRAIL R1」)、運鐵蛋白(「TRF」)、WIF-1ACE-2、白蛋白、AMICA、血管生成素4、B細胞活化因子(「BAFF」)、碳水化合物抗原19-9(「CA19-9」)、CD 163、群集素、CRT AM、趨化介素(C-X-C模體)配位體14(「CXCL14」)、胱抑素C、核心蛋白聚糖(「DCN」)、Dickkopf相關蛋白3(「Dkk-3」)、類 δ 蛋白1(「DLL1」)、胎球蛋白A、肝素結合生長因子1(「aFGF」)、葉酸受體 α (「FOLR1」)、弗林蛋白、GPCR相關分選蛋白1(「GASP-1」)、GPCR相關分選蛋白2(「GASP-2」)、顆粒球群落刺激因子受體(「GCSF R」)、絲胺酸蛋白酶肝絲酶(「HAI-2」)、介白素-17B受體(「IL-17B R」)、介白素27(「IL-27」)、淋巴細胞活化基因3(「LAG-3」)、脂蛋白元A-V(「LDL R」)、胃蛋白酶原I、視黃醇結合蛋白4(「RBP4」)、SOST、硫酸乙醯肝素蛋白聚糖(「Syndecan-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員13B(「TACI」)、組織因子路徑抑制因子(「TFPI」)、TSP-1、腫瘤壞死因子受體超家族成員10b(「TRAIL R2」)、TRANCE、肌鈣蛋白I、尿激酶纖維蛋白溶酶原活化因子(「uPA」)、鈣黏蛋白5、2型或VE-鈣黏蛋白(血管內皮)(亦稱為CD144(「VE-鈣黏蛋白」))、WNT1可誘導型信號傳導路徑蛋白1(「WISP-1」)及核因子 κ B之受體活化因子(「RANK」)。

【0196】 在一些實施例中，癌症治療劑為抗癌化合物。例示性抗癌

化合物包括但不限於阿侖單抗(Alemtuzumab)(Campath®)、亞利崔托寧(Alitreinoin)(Panretin®)、阿那曲唑(Anastrozole)(Arimidex®)、貝伐單抗(Bevacizumab)(Avastin®)、貝瑟羅汀(Bexarotene)(Targretin®)、硼替佐米(Bortezomib)(Velcade®)、伯舒替尼(Bosutinib)(Bosulif®)、本妥昔單抗維多汀(Brentuximab vedotin)(Adcetris®)、卡博替尼(Cabozantinib)(Cometriq™)、卡非佐米(Carfilzomib)(Kyprolis™)、西妥昔單抗(Cetuximab)(Erbix®)、克唑替尼(Crizotinib)(Xalkori®)、達沙替尼(Dasatinib)(Sprycel®)、地尼介白素(Denileukin diftitox)(Ontak®)、鹽酸埃羅替尼(Erlotinib hydrochloride)(Tarceva®)、依維莫司(Everolimus)(Afinitor®)、依西美坦(Exemestane)(Aromasin®)、氟維司群(Fulvestrant)(Faslodex®)、吉非替尼(Gefitinib)(Iressa®)、替伊莫單抗(Ibritumomab tiuxetan)(Zevalin®)、甲磺酸伊馬替尼(Imatinib mesylate)(Gleevec®)、伊匹單抗(Ipilimumab)(Yervoy™)、二甲苯磺酸拉帕替尼(Lapatinib ditosylate)(Tykerb®)、來曲唑(Letrozole)(Femara®)、尼羅替尼(Nilotinib)(Tasigna®)、奧伐木單抗(Ofatumumab)(Arzerra®)、帕尼單抗(Panitumumab)(Vectibix®)、鹽酸帕唑帕尼(Pazopanib hydrochloride)(Votrient®)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)(Perjeta™)、普拉曲沙(Pralatrexate)(Folotyn®)、瑞戈非尼(Regorafenib)(Stivarga®)、利妥昔單抗(Rituximab)(Rituxan®)、羅米地辛(Romidepsin)(Istodax®)、甲磺酸索拉非尼(Sorafenib tosylate)(Nexavar®)、蘋果酸舒尼替尼(Sunitinib malate)(Sutent®)、他莫昔芬(Tamoxifen)、坦羅莫司(Temsirolimus)(Torisel®)、托瑞米芬(Toremifene)(Fareston®)、托西莫單抗(Tositumomab)及131I-托西莫單抗(Bexxar®)、曲妥珠單抗

(Trastuzumab)(Herceptin®)、維甲酸(Tretinoin)(Vesanoid®)、凡德他尼(Vandetanib)(Caprelsa®)、維羅非尼(Vemurafenib)(Zelboraf®)、伏立諾他(Vorinostat)(Zolinza®)及阿柏西普(Ziv-aflibercept)(Zaltrap®)。

【0197】 修改調節基因表現之蛋白質之功能及其他細胞功能之例示性抗癌化合物(例如HDAC抑制劑、類視黃素受體配位體)為伏立諾他(Zolinza®)、貝瑟羅汀(Targretin®)及羅米地辛(Istodax®)、亞利崔托寧(Panretin®)及維甲酸(Vesanoid®)。

【0198】 誘導細胞凋亡之例示性抗癌化合物(例如蛋白酶體抑制劑、抗葉酸劑)為硼替佐米(Velcade®)、卡非佐米(Kyprolis™)及普拉曲沙(Folotyn®)。

【0199】 增加抗腫瘤免疫反應之例示性抗癌化合物(例如抗CD20、抗CD52；抗細胞毒性T淋巴細胞相關抗原-4)為利妥昔單抗(Rituxan®)、阿倫單抗(Campath®)、奧伐木單抗(Arzerra®)及伊匹單抗(Yervoy™)。

【0200】 將毒性劑遞送至癌細胞之例示性抗癌化合物(例如抗CD20放射性核種融合物；IL-2白喉毒素融合物；抗CD30單甲基奧瑞他汀E(MMAE)融合物)為托西莫單抗及¹³¹I-托西莫單抗(Bexxar®)及替伊莫單抗(Zevalin®)、地尼介白素(Ontak®)及本妥昔單抗維多汀(Adcetris®)。

【0201】 其他例示性抗癌化合物為具有例如Janus激酶(Janus kinase)、ALK、Bcl-2、PARP、PI3K、VEGF受體、Braf、MEK、CDK及HSP90之小分子抑制劑及其綴合物。

【0202】 例示性鉑基抗癌化合物包括例如順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、賽特鉑(satraplatin)、吡鉑(picoplatin)、奈達鉑(Nedaplatin)、特瑞鉑(Triplatin)及利普鉑(Lipoplatin)。適合於治療之其他金屬基藥物包括但不

限於鈮基化合物、二茂鐵衍生物、鈦基化合物及鎵基化合物。

【0203】 在一些實施例中，癌症治療劑為包含放射性核種之放射性部分。例示性放射性核種包括但不限於Cr-51、Cs-131、Ce-134、Se-75、Ru-97、I-125、Eu-149、Os-189m、Sb-119、I-123、Ho-161、Sb-117、Ce-139、In-111、Rh-103m、Ga-67、Tl-201、Pd-103、Au-195、Hg-197、Sr-87m、Pt-191、P-33、Er-169、Ru-103、Yb-169、Au-199、Sn-121、Tm-167、Yb-175、In-113m、Sn-113、Lu-177、Rh-105、Sn-117m、Cu-67、Sc-47、Pt-195m、Ce-141、I-131、Tb-161、As-77、Pt-197、Sm-153、Gd-159、Tm-173、Pr-143、Au-198、Tm-170、Re-186、Ag-111、Pd-109、Ga-73、Dy-165、Pm-149、Sn-123、Sr-89、Ho-166、P-32、Re-188、Pr-142、Ir-194、In-114m/In-114及Y-90。

【0204】 在一些實施例中，癌症治療劑為抗生素。舉例而言，若根據本文所提供之方法偵測到癌症相關細菌及/或癌症相關微生物群系分佈之存在，則可投與抗生素以自個體消除癌症相關細菌。「抗生素」廣義上係指能夠抑制或預防細菌感染之化合物。可以多種方式分類抗生素，包括其針對特定感染之用途、其作用機制、其生物可用性或其靶微生物譜(例如革蘭氏陰性菌對革蘭氏陽性菌、好氧菌對厭氧菌等)，且此等抗生素可用於在特定宿主區域(「生態棲位」)中殺滅特定細菌(Leekha等人2011. General Principles of Antimicrobial Therapy. Mayo Clin Proc. 86(2): 156-167)。在某些實施例中，抗生素可用於選擇性地靶向特定生態棲位之細菌。在一些實施例中，已知治療特定感染(包括癌症生態棲位)之抗生素可用於靶向癌症相關微生物，包括彼生態棲位中之癌症相關細菌。在其他實施例中，在細菌治療之後投與抗生素。在一些實施例中，在細菌治療之

後投與抗生素以移除植入。

免疫病症

【0205】 在一些實施例中，本文所描述之方法及組合物係關於治療或預防病理學免疫反應相關疾病或病症，諸如自體免疫疾病、過敏反應及/或發炎性疾病。在一些實施例中，疾病或病症為發炎性腸病(例如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎)。在一些實施例中，本文所描述之方法及組合物係關於治療或預防遲發型過敏、自體免疫性心肌炎、肉芽腫、周邊神經病變、橋本氏甲狀腺炎、結腸炎症、結腸炎、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、轉流性結腸炎、化學性結腸炎、缺血性結腸炎、未定型結腸炎、非典型結腸炎。

【0206】 本文所描述之方法可用於治療任何有需要之個體。如本文所使用之「有需要之個體」包括患有病理性免疫反應相關疾病或病症(例如發炎性腸病)之任何個體，以及具有增加之罹患此類疾病或病症之可能性之任何個體。

【0207】 本文所描述之組合物可用作例如用於預防或治療以下(部分或完全減少以下之不良反應)之醫藥組合物：自體免疫疾病，諸如慢性發炎性腸病、全身性紅斑狼瘡、牛皮癬、穆-韋二氏症候群(muckle-wells syndrome)、類風濕性關節炎、多發性硬化症或橋本氏病(Hashimoto's disease)；過敏性疾病，諸如食物過敏、花粉病或哮喘；傳染病，諸如感染難養芽胞梭菌；發炎性疾病，諸如TNF介導之發炎性疾病(例如發炎性胃腸道疾病，諸如結腸袋炎；心血管發炎性病況，諸如動脈粥樣硬化；或發炎性肺病，諸如慢性阻塞性肺病)；用於抑制器官移植排斥或可能發生組織排斥之其他情況之醫藥組合物；用於改善免疫功能之補充劑、食物或

飲料；或用於抑制免疫細胞增殖或功能之試藥。

【0208】 在一些實施例中，本文所提供之方法適用於治療炎症。在某些實施例中，如下文所論述，身體之任何組織及器官之炎症包括肌肉骨骼炎症、血管炎症、神經炎症、消化系統炎症、眼部炎症、生殖系統炎症及其他炎症。

【0209】 肌肉骨骼系統之免疫病症包括但不限於影響包括手關節、手腕關節、肘關節、肩關節、頷關節、脊柱關節、頸關節、髖關節、膝關節、踝關節及足關節之骨骼關節之彼等病況，及影響諸如肌腱之連接肌肉與骨之組織之病況。可用本文所描述之方法及組合物治療之該等免疫病症之實例包括但不限於關節炎(包括例如骨關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、關節黏連性脊椎炎、急性及慢性感染性關節炎、痛風及假性痛風相關之關節炎及青少年特發性關節炎)、肌腱炎、滑膜炎、腱鞘炎、滑囊炎、纖維組織炎(肌肉纖維疼痛)、上髌炎、肌炎及骨炎(包括例如佩吉特氏病(Paget's disease)、恥骨骨炎及囊性纖維性骨炎)。

【0210】 眼部免疫病症係指影響包括眼瞼之眼睛之任何結構之免疫病症。可用本文所描述之方法及組合物治療之眼部免疫病症之實例包括但不限於瞼炎、眼瞼鬆弛、結膜炎、淚腺炎、角膜炎、乾性角膜結膜炎(乾眼)、鞏膜炎、倒睫及眼色素層炎。

【0211】 可用本文所描述之方法及組合物治療之神經系統免疫病症之實例包括但不限於腦炎、格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)、腦膜炎、神經肌強直、發作性睡病、多發性硬化症、脊髓炎及精神分裂症。可用本文所描述之方法及組合物治療之血管或淋巴系統炎症之實例包括但不限於關節硬化、關節炎、靜脈炎、血管炎及淋巴管炎。

【0212】 可用本文所描述之方法及組合物治療之消化系統免疫病症之實例包括但不限於膽管炎、膽囊炎、腸炎、小腸結腸炎、胃炎、胃腸炎、發炎性腸病、回腸炎及直腸炎。發炎性腸病包括例如某些此項技術中公認之形式之一組相關病況。已知發炎性腸病之數種主要形式，其中克羅恩氏病(局部性腸病，例如非活性及活性形式)及潰瘍性結腸炎(例如非活性及活性形式)為此等病症中最常見的。另外，發炎性腸病涵蓋腸躁症候群、顯微鏡下結腸炎、淋巴細胞性漿細胞腸炎、腹腔病、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎及嗜酸性球性小腸結腸炎。IBD之其他較不常見形式包括未定型結腸炎、假膜性結腸炎(壞死性結腸炎)、缺血性發炎性腸病、白塞氏病(Behcet's disease)、類肉瘤病、硬皮病、IBD相關發育不良、發育不良相關腫塊或病變及原發性硬化性膽管炎。

【0213】 可用本文所描述之方法及組合物治療之生殖系統免疫病症之實例包括但不限於子宮頸炎、絨膜羊膜炎、子宮內膜炎、附睪炎、睪炎、卵巢炎、睪丸炎、輸卵管炎、輸卵管卵巢膿腫、尿道炎、陰道炎、外陰炎及外陰疼痛。

【0214】 本文所描述之方法及組合物可用於治療具有發炎組分之自體免疫病況。該等病況包括但不限於急性散播性全身性禿髮症、白塞氏病、卻格司氏病(Chagas' disease)、慢性疲勞症候群、自主神經障礙、腦脊髓炎、關節黏連性脊椎炎、再生不全性貧血、化膿性汗腺炎、自體免疫性肝炎、自體免疫性卵巢炎、乳糜瀉、克羅恩氏病、1型糖尿病、巨大細胞動脈炎、古巴士德氏症候群、格雷氏病、格-巴二氏症候群、橋本氏病、亨諾-絲奇恩賴紫斑症(Henoch-Schonlein purpura)、川崎氏病(Kawasaki's disease)、紅斑狼瘡、顯微鏡下結腸炎、顯微鏡下多動脈炎、

混合結締組織疾病、穆-韋二氏症候群、多發性硬化症、重症肌無力、眼陣攣肌陣攣症候群、視神經炎、奧德氏甲狀腺炎(ord's thyroiditis)、天疱瘡、結節性多動脈炎、多肌痛、類風濕性關節炎、萊特爾氏症候群(Reiter's syndrome)、休格連氏症候群(Sjogren's syndrome)、顳動脈炎、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、溫抗體型自體免疫性溶血性貧血、間質性膀胱炎、萊姆病(Lyme disease)、硬斑病、牛皮癬、類肉瘤病、硬皮病、潰瘍性結腸炎及白斑病。

【0215】 本文所描述之方法及組合物可用於治療具有發炎組分之T細胞介導之過敏性疾病。該等病況包括但不限於接觸性過敏、接觸性皮膚炎(包括由於野葛(poison ivy)所致之接觸性皮炎)、蕁麻疹、皮膚過敏、呼吸道過敏(花粉熱、過敏性鼻炎、屋塵蟎過敏)及麩質敏感性腸病(乳糜瀉)。

【0216】 可用該等方法及組合物治療之其他免疫病症包括例如闌尾炎、皮炎、皮肌炎、心內膜炎、纖維組織炎、牙齦炎、舌炎、肝炎、化膿性汗腺炎、虹膜炎、喉炎、乳腺炎、心肌炎、腎炎、耳炎、胰臟炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、肺炎、前列腺炎、腎盂腎炎及口腔炎、移植排斥(涉及諸如腎臟、肝臟、心臟、肺臟、胰臟(例如胰島細胞)、骨髓、角膜、小腸之器官、皮膚同種異體移植、皮膚同種移植及心瓣膜異種移植、血清病及移植物抗宿主疾病)、急性胰臟炎、慢性胰臟炎、急性呼吸窘迫症候群、塞紮里氏症候群(Sexary's syndrome)、先天性腎上腺增生、非化膿性甲狀腺炎、癌症相關高鈣血症、天疱瘡、大皰性疱疹樣皮炎、重度多形性紅斑、剝落性皮炎、脂溢性皮炎、季節性或常年性過敏性鼻炎、支氣管哮喘、接觸性皮炎、異位性皮炎、藥物過敏反應、過

敏性結膜炎、角膜炎、眼部帶狀疱疹、虹膜炎及虹膜睫狀體炎、脈絡膜視網膜炎、視神經炎、症狀性類肉瘤病、暴發性或散播性肺結核化學療法、成人特發性血小板減少性紫斑症、成人繼發性血小板減少症、後天性(自體免疫性)溶血性貧血、成人白血病及淋巴瘤、兒童急性白血病、局部性腸炎、自體免疫性血管炎、多發性硬化症、慢性阻塞性肺病、實體器官移植排斥、敗血症。較佳治療包括移植排斥、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、多發性硬化症、1型糖尿病、哮喘、發炎性腸病、全身性紅斑狼瘡、牛皮癬、慢性阻塞性肺病及感染性病況伴隨炎症(例如敗血症)治療。

【0217】 本文所描述之方法及組合物可用於治療代謝失調及代謝症候群。該等病況包括但不限於II型糖尿病、腦病、泰-薩克斯病(Tay-Sachs disease)、克拉培病(Krabbe disease)、半乳糖血症、苯酮尿症(PKU)及楓糖漿尿病。

【0218】 本文所描述之方法及組合物可用於治療神經退化性疾病及神經疾病。該等病況包括但不限於帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、朊病毒病、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、運動神經元疾病(MND)、脊髓小腦失調、脊髓性肌萎縮、肌肉緊張不足、特發性顱內高血壓、癲癇症、神經系統疾病、中樞神經系統疾病、運動障礙、多發性硬化症、腦病、周邊神經病變及術後認知功能障礙。

癌症

【0219】 在一些實施例中，本文所描述之方法及組合物係關於癌症治療。在一些實施例中，可使用本文所描述之方法治療任何癌症。可藉由本文所描述之方法及組合物治療之癌症之實例包括但不限於來自以下之癌

細胞：膀胱、血液、骨、骨髓、腦部、乳房、結腸、食道、胃腸、齒齦、頭部、腎臟、肝臟、肺臟、鼻咽、頸部、卵巢、前列腺、皮膚、胃、睪丸、舌或子宮。另外，癌症可特定地具有以下組織學類型，但其不限於此等組織學類型：贅瘤，惡性；癌；癌，未分化型；巨大及梭狀細胞癌；小細胞癌；乳頭狀癌；鱗狀細胞癌；淋巴上皮癌；基底細胞癌；毛髮基質癌；移行細胞癌；乳頭狀移行細胞癌；腺癌；胃泌素瘤，惡性；膽管癌；肝細胞癌；合併肝細胞癌及膽管癌；小梁腺癌；腺樣囊性癌；腺瘤性息肉腺癌；腺癌，家族性結腸息肉病；實質癌；類癌瘤，惡性；細支氣管肺泡腺癌；乳頭狀腺癌；嫌色細胞癌；嗜酸性癌；嗜氧性腺癌；嗜鹼性癌；透明細胞腺癌；顆粒狀細胞癌；濾泡性腺癌；乳頭狀及濾泡性腺癌；非囊性硬化性癌；腎上腺皮層癌；子宮內膜樣癌；皮膚附屬癌；先端分泌腺癌；皮脂腺癌；耵聍腺癌；黏液表皮樣癌；囊腺癌；乳頭狀囊腺癌；乳頭狀漿液性囊腺癌；黏液性囊腺癌；黏液性腺癌；戒環細胞癌；浸潤性導管癌；髓質癌；小葉癌；發炎性癌；佩吉特氏病，乳腺；腺泡細胞癌；腺鱗癌；腺癌伴鱗狀化生；胸腺瘤，惡性；卵巢基質腫瘤，惡性；泡膜細胞瘤，惡性；粒層細胞腫瘤，惡性；及胚細胞瘤，惡性；塞特利氏細胞癌(sertoli cell carcinoma)；雷迪格細胞腫瘤(leydig cell tumor)，惡性；脂質細胞腫瘤，惡性；副神經節瘤，惡性；乳腺外副神經節瘤，惡性；嗜鉻細胞瘤；血管球肉瘤；惡性黑色素瘤；無黑色素性黑色素瘤；淺表擴散性黑色素瘤；巨形色素痣中之惡性黑色素瘤；上皮狀細胞黑色素瘤；藍痣，惡性；肉瘤；纖維肉瘤；纖維組織細胞瘤，惡性；黏液肉瘤；脂肪肉瘤；平滑肌肉瘤；橫紋肌肉瘤；胚胎性橫紋肌肉瘤；肺泡橫紋肌肉瘤；基質肉瘤；混合腫瘤，惡性；苗勒氏管混合腫瘤(mullerian mixed tumor)；腎胚細胞

瘤；肝胚細胞瘤；癌肉瘤；間質瘤，惡性；布倫納氏瘤(brenner tumor)，惡性；葉狀腫瘤，惡性；滑液肉瘤；間皮瘤，惡性；無性細胞瘤；胚胎性瘤；畸胎瘤，惡性；甲狀腺腫樣卵巢瘤，惡性；絨膜癌；中腎瘤，惡性；血管肉瘤；血管內皮瘤，惡性；卡波西氏肉瘤(kaposi's sarcoma)；血管外皮瘤，惡性；淋巴管肉瘤；骨肉瘤；皮質旁骨肉瘤；軟骨肉瘤；軟骨胚細胞瘤，惡性；間葉細胞軟骨肉瘤；骨巨細胞瘤；尤文氏肉瘤(ewing's sarcoma)；牙源性腫瘤，惡性；釉質母細胞牙肉瘤；釉質母細胞瘤，惡性；釉質母細胞纖維肉瘤；松果體瘤，惡性；脊索瘤；神經膠質瘤，惡性；室管膜瘤；星形細胞瘤；原生質星形細胞瘤；肌原纖維性星形細胞瘤；星形胚細胞瘤；神經膠胚細胞瘤；寡樹突神經膠細胞瘤；寡樹突胚細胞瘤；原始神經外胚層；小腦肉瘤；成神經節細胞瘤；神經母細胞瘤；視網膜胚細胞瘤；嗅覺神經性腫瘤；腦脊髓膜瘤，惡性；神經纖維肉瘤；神經鞘瘤，惡性；顆粒狀細胞腫瘤，惡性；惡性淋巴瘤；霍奇金氏病(Hodgkin's disease)；霍奇金氏淋巴瘤；類肉芽腫；惡性淋巴瘤，小淋巴細胞性；惡性淋巴瘤，大細胞擴散性；惡性淋巴瘤，濾泡性；蕈狀肉芽腫；其他指定非霍奇金氏淋巴瘤；惡性組織細胞增生症；多發性骨髓瘤；肥大細胞肉瘤；免疫增殖性小腸疾病；白血病；類淋巴細胞性白血病；漿細胞白血病；紅白血病；淋巴肉瘤細胞白血病；骨髓白血病；嗜鹼性球性白血病；嗜酸性球性白血病；單核球性白血病；肥大細胞白血病；巨核母細胞白血病；骨髓肉瘤；漿細胞瘤、結腸直腸癌、直腸癌及毛細胞白血病。

【0220】 在一些實施例中，本文所提供之方法及組合物係關於白血病治療。術語「白血病」廣義上意謂造血器官/系統之進行性惡性疾病，

且一般特徵在於血液及骨髓中之白血球及其前驅體之畸變增殖及發展。白血病之非限制性實例包括急性非淋巴細胞性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、急性顆粒球性白血病、慢性顆粒球性白血病、急性前髓細胞性白血病、成人T細胞白血病、白血球缺乏性白血病、白血球性白血病、嗜鹼性球性白血病、胚細胞白血病、牛白血病、慢性骨髓細胞性白血病、皮膚白血病、胚胎白血病、嗜酸性球性白血病、格羅斯白血病(Gross' leukemia)、里德爾細胞白血病(Rieder cell leukemia)、希林氏白血病(Schilling's leukemia)、幹細胞白血病、亞白血性白血病、未分化型細胞白血病、毛細胞白血病、血母細胞性白血病、血胚細胞性白血病、組織細胞性白血病、幹細胞白血病、急性單核球性白血病、白血球減少性白血病、淋巴性白血病、淋巴母細胞白血病、淋巴細胞性白血病、淋巴生成性白血病、類淋巴細胞性白血病、淋巴肉瘤細胞白血病、肥大細胞白血病、巨核細胞白血病、小骨髓母細胞性白血病、單核球性白血病、骨髓母細胞性白血病、骨髓細胞性白血病、骨髓顆粒球性白血病、骨髓單核球性白血病、內格利白血病(Naegeli leukemia)、漿細胞白血病、漿球性白血病及前髓細胞性白血病。

【0221】 在一些實施例中，本文所提供之方法及組合物係關於癌治療。術語「癌」係指由傾向於浸潤周圍組織及/或抵抗生理學及非生理學細胞死亡信號且引起癌轉移之上皮細胞構成之惡性生長。癌之非限制性例示性類型包括腺泡癌、腺泡狀癌、腺囊癌、腺樣囊性癌、腺瘤癌、腎上腺皮質癌、肺泡癌、肺泡細胞癌、基底細胞癌、基底樣細胞癌、基底樣癌、基底鱗狀細胞癌、細支氣管肺泡癌、細支氣管癌、支氣管癌、腦樣癌(cerebriform carcinoma)、膽管細胞癌、絨毛膜癌、膠質性癌、粉刺性

癌、子宮體癌、篩骨狀癌、鎧甲狀癌、皮膚癌、圓柱狀癌、圓柱狀細胞癌、導管癌、硬癌(carcinoma durum)、胚胎性癌、腦樣癌(encephaloid carcinoma)、表皮樣癌、腺狀上皮癌、外生性癌、潰瘍性癌、纖維癌、膠狀癌、膠體癌、巨細胞癌(giant cell carcinoma)、戒環細胞癌、單純癌、小細胞癌、馬鈴薯狀癌、球狀細胞癌、梭狀細胞癌、髓狀癌、鱗狀癌、鱗狀細胞癌、繩捆癌、毛細管擴張癌、血管擴張癌、移行細胞癌、塊狀癌、結節性癌、疣狀癌、絨毛狀癌、巨細胞癌(carcinoma gigantocellulare)、腺癌、粒層細胞癌、基底細胞癌(hair-matrix carcinoma)、血樣癌、肝細胞癌、何氏細胞癌(Hurthle cell carcinoma)、玻質狀癌、腎上腺樣癌、嬰兒胚胎性癌、原位癌、表皮內癌、上皮內癌、侵蝕性潰瘍(Krompecher's carcinoma)、庫爾契茨基細胞癌(Kulchitzky-cell carcinoma)、大細胞癌、扁豆狀癌、豆狀癌、脂癌、淋巴上皮癌、髓樣癌、髓質癌、黑色素癌、軟癌、黏液素癌、黏液癌、黏液細胞癌、黏液表皮樣癌、黏膜癌、黏液性癌、黏液瘤樣癌、鼻咽癌、燕麥狀細胞癌、骨化性癌、骨樣癌、乳頭狀癌、門脈周性癌、未侵襲癌、棘細胞癌、髓樣癌、腎臟腎細胞癌、儲備細胞癌、肉瘤樣癌、施耐德癌(schneiderian carcinoma)、硬癌(scirrhous carcinoma)、梅克爾細胞癌(merkel cell carcinoma)、唾液腺癌及陰囊癌。

【0222】 在一些實施例中，本文所提供之方法及組合物係關於肉瘤治療。術語「肉瘤」一般係指由如胚胎結締組織之物質構成且一般由包埋於纖維狀異質或同質之物質中之緊實細胞構成的腫瘤。肉瘤包括但不限於軟骨肉瘤、纖維肉瘤、淋巴肉瘤、黑色素肉瘤、黏液肉瘤、骨肉瘤、子宮內膜肉瘤、基質肉瘤、尤文氏肉瘤(Ewing' s sarcoma)、筋膜肉瘤、纖維

母細胞肉瘤、巨細胞肉瘤、艾伯內西氏肉瘤(Abemethy's sarcoma)、脂肉瘤、脂肪肉瘤、軟組織肺泡狀肉瘤、釉質母細胞肉瘤、葡萄樣肉瘤、綠色瘤肉瘤、絨膜癌、胚胎肉瘤、威耳姆士腫瘤肉瘤(Wilms' tumor sarcoma)、顆粒球性肉瘤、霍奇金氏肉瘤(Hodgkin's sarcoma)、特發性多發性色素性出血性肉瘤、B細胞免疫胚細胞肉瘤、淋巴瘤、T細胞免疫胚細胞肉瘤、詹恩遜氏肉瘤(Jensen's sarcoma)、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、庫普弗細胞肉瘤(Kupffer cell sarcoma)、血管肉瘤、白血病性肉瘤、惡性間質瘤肉瘤、骨膜外肉瘤、網狀細胞肉瘤、勞斯肉瘤(Rous sarcoma)、漿液囊性肉瘤、滑液肉瘤及毛細管擴張性肉瘤。

【0223】 可使用本文所描述之方法及組合物治療之額外之例示性贅瘤包括霍奇金氏病、非霍奇金氏淋巴瘤、多發性骨髓瘤、神經母細胞瘤、乳房癌、卵巢癌、肺癌、橫紋肌肉瘤、原發性血小板增多症、原發性巨球蛋白血症、小細胞肺腫瘤、原發性腦瘤、胃癌、結腸癌、惡性胰島瘤、惡性類癌、癌前皮膚病變、睪丸癌、淋巴瘤、甲狀腺癌、神經母細胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、惡性高鈣血症、子宮頸癌、子宮內膜癌及腎上腺皮層癌。

【0224】 在一些實施例中，所治療之癌症為黑色素瘤。術語「黑色素瘤」用於意謂由皮膚及其他器官之黑色素細胞系統產生之腫瘤。黑色素瘤之非限制性實例為哈帕二氏黑色素瘤(Harding-Passey melanoma)、青少年型黑色素瘤、小痣性惡性黑色素瘤、惡性黑色素瘤、肢端小痣性黑色素瘤、無黑色素性黑色素瘤、良性青少年型黑色素瘤、克勞德曼氏黑色素瘤(Cloudman's melanoma)、S91黑色素瘤、結節性黑色素瘤、甲下黑色素瘤及淺表擴散性黑色素瘤。

【0225】 可使用本文所描述之方法及組合物治療之特定類別之腫瘤包括淋巴增生病症、乳房癌、卵巢癌、前列腺癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、骨癌、肝癌、胃癌、結腸癌、胰腺癌、甲狀腺癌、頭頸癌、中樞神經系統癌、周邊神經系統癌、皮膚癌、腎癌以及所有以上病症之癌轉移。特定類型之腫瘤包括肝細胞癌、肝細胞瘤、肝胚細胞瘤、橫紋肌肉瘤、食道癌、甲狀腺癌、神經節胚細胞瘤、纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨原性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、內皮肉瘤、尤文氏腫瘤、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、侵襲性乳腺管癌、乳頭狀腺癌、黑色素瘤、肺鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌(高分化型、中分化型、低分化型或未分化型)、細支氣管肺泡癌、腎細胞癌、腎上腺樣瘤、腎上腺樣腺癌、膽管癌、絨膜癌、精細胞癌、胚胎性瘤、威耳姆士腫瘤、睪丸腫瘤、肺癌(包括小細胞、非小細胞及大細胞肺癌)、膀胱癌、神經膠質瘤、星形細胞瘤、神經管胚細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、視網膜胚細胞瘤、神經母細胞瘤、結腸癌、直腸癌、造血性惡性病(包括所有類型之白血病及淋巴瘤，包括：急性骨髓性白血病、急性骨髓細胞性白血病、急性淋巴細胞性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、肥大細胞白血病、多發性骨髓瘤、骨髓淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤)。

【0226】 在某些實施例中，所治療之癌症亦包括癌變前病變，例如光化性角化症(日旋光性角化症)、黑痣(發育不良痣)、光化性唇炎(農民唇)、皮角、巴雷斯特氏食道症(Barrett's esophagus)、萎縮性胃炎、先天性角化不良、缺鐵性吞咽困難、扁平苔癬、口腔黏膜下纖維化、光化性(日旋光性)彈性組織變性及子宮頸發育不良。

【0227】 在一些實施例中，所治療之癌症包括例如內胚層、外胚層

或間葉細胞源之非癌性或良性腫瘤，包括但不限於膽管瘤、結腸息肉、腺瘤、乳頭瘤、囊腺瘤、肝細胞腺瘤、水囊狀胎塊、腎源性小管性腺瘤、鱗狀細胞乳頭瘤、胃息肉、血管瘤、骨瘤、軟骨瘤、脂肪瘤、纖維瘤、淋巴管瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、星形細胞瘤、痣、腦脊髓膜瘤及神經節細胞瘤。

實例

實例1：KLH基遲發型過敏模型中之人類共生細菌之免疫調節

【0228】遲發型過敏(DTH)為異位性皮炎(或過敏性接觸性皮炎)之動物模型，如Petersen等人(In vivo pharmacological disease models for psoriasis and atopic dermatitis in drug discovery. Basic & Clinical Pharm & Toxicology. 2006. 99(2): 104-115；亦參見Irving C. Allen (編) Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 2013. 第1031卷, DOI 10.1007/978-1-62703-481-4_13)所綜述。可在各種小鼠及大鼠菌株中使用各種半抗原或抗原，例如使用經佐劑乳化之抗原來誘導DTH。DTH之特徵在於敏感以及抗原特異性T細胞介導之反應，該反應導致紅斑、水腫及細胞浸潤-尤其抗原呈現細胞(APC)、嗜酸性球、活化CD4⁺ T細胞及細胞介素表現之Th2細胞之浸潤。

【0229】製備測試調配物以用於KLH基遲發型過敏模型。DTH模型提供活體內機制以研究細胞介導之免疫反應，且在曝露於已致敏小鼠之特異性抗原之後，導致發炎。已使用數種變異形式之DTH模型且其為此項技術中眾所周知的(Irving C. Allen (編). *Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology. 第1031卷, DOI

10.1007/978-1-62703-481-4_13, Springer Science + Business Media, LLC 2013)。舉例而言，在免疫接種當天(第0天)，新製備匙孔螺血氰蛋白(KLH)及完全弗氏佐劑(Complete Freund's Adjuvant; CFA)之乳液。為此目的，稱重8 mg KLH粉末且充分地再懸浮於16 mL鹽水中。藉由使用注射器及魯爾鎖定連接器(luer lock connector)將KLH/鹽水與等體積之CFA溶液混合(例如10 mL KLH/鹽水+ 10 mL CFA溶液)來製備乳液。將KLH及CFA劇烈混合數分鐘以形成白色乳液來獲得最大穩定性。進行液滴測試以檢查係否獲得均質乳液，繼續混合直至在水中保持完整液滴可見為止。

【0230】 在第0天，藉由皮下免疫接種(4個位點，每個位點50 μ L)用於CFA中之KLH抗原對約7週齡之C57Bl/6J雌性小鼠進行誘發。

【0231】 地塞米松(一種皮質類固醇)為改善小鼠中之DTH反應之已知消炎劑，且在此模型中充當用於抑制發炎之陽性對照(Taube及Carlsten, Action of dexamethasone in the suppression of delayed-type hypersensitivity in reconstituted SCID mice. Inflamm Res. 2000. 49(10): 548-52)。對於陽性對照組，在第0天藉由將6.8 mg地塞米松稀釋於400 μ L 96%乙醇中來製備17 mg/mL地塞米松之儲備溶液。對於每日給藥，藉由在隔瓶中將儲備溶液100 $\times$ 稀釋於無菌PBS中以獲得0.17 mg/mL之最終濃度來製備使用溶液以供腹膜內給藥。經地塞米松治療之小鼠i.p.接受100 μ L地塞米松(5 mL/kg之0.17 mg/mL溶液)。冷凍蔗糖充當陰性對照(媒劑)。每天以 1×10^{10} CFU經口給藥範永氏球菌菌株A、B及C。每天給藥地塞米松(陽性對照)、媒劑(陰性對照)及動物雙叉桿菌乳亞種(10 mg粉末)。

【0232】 在第8天，在左耳中用於鹽水中(於10 μ L體積中)之10 μ g

KLH皮內(i.d.)攻毒小鼠。使用此項技術中已知之方法量測發炎反應。在抗原攻毒之後24小時量測耳廓厚度(圖1)。如藉由耳厚度所測定，與接受單獨媒劑之小鼠相比，範永氏球菌菌株A、B及C有效地抑制發炎(與地塞米松治療相當)。

【0233】 可進一步使用不同時序及不同劑量來研究範永氏球菌菌株之功效。舉例而言，可在接近誘發時間或接近DTH攻毒時間之某一時間點啟動用範永氏球菌組合物進行之治療。舉例而言，可在皮下注射(第0天)之同時投與或在皮內注射之前或在皮內注射時投與範永氏球菌(1×10^9 個CFU/隻小鼠/天)。可以不同劑量及以經界定間隔且以各種組合形式投與範永氏球菌菌株(例如菌株A、菌株B或菌株C)。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之範圍向一些小鼠靜脈內注射範永氏球菌菌株A。一些小鼠接受菌株A及/或菌株B及/或菌株C之混合物。一些小鼠經由i.v.注射接受範永氏球菌菌株，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼、局部投與、皮內(i.d.)注射或其他投與方法接受範永氏球菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第0天開始)接受範永氏球菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受範永氏球菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0234】 舉例而言，如上文所描述之KLH致敏小鼠，且群組接受活範永氏球菌或經照射之範永氏球菌(25 kGy)。小鼠接受媒劑、地塞米松、活範永氏球菌菌株B (5.09×10^9)、經照射之範永氏球菌菌株B (5.09×10^9 , 25 kGy)、活範永氏球菌菌株C (5.38×10^9)或經照射之範永氏球菌菌株C (5.38×10^9 , 25 kGy)。在第1-9天對小鼠給藥，且在第8天

進行攻毒，且在第9天(24小時)及第10天(48小時)進行耳量測。與媒劑(陰性對照)相比在24及48小時兩者時活範永氏球菌菌株B及經照射之範永氏球菌菌株B兩者均有效地減少耳腫脹(分別為圖2及圖3)。經照射之範永氏球菌菌株B比非經照射之菌株B更有效地抑制耳腫脹，且經照射之範永氏球菌菌株B甚至比地塞米松更有效地抑制耳腫脹。與菌株B對比，在24及48時間點活範永氏球菌菌株C群及經照射之範永氏球菌菌株C群兩者均展現功效，範永氏球菌菌株C之照射既不增強其功效，亦不減弱其功效。

【0235】 可研究替代性細胞給藥範圍及/或輻射給藥。舉例而言，一些小鼠群組可在一次投與中接受在 1×10^4 個與 5×10^9 個之間之細菌細胞。可替代地，可在例如在15 kGy或35 kGy之間之更高或更低輻射劑量下照射一些細菌細胞。細菌細胞組合物投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射、i.d.注射、局部投與或經鼻途徑投與。

【0236】 可在各種時間點且以有效劑量用一或多種消炎劑(例如抗CD154、TNF家族成員阻斷劑或其他治療劑)及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0237】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。

【0238】 可在第10天藉由在CO₂/O₂麻醉下自眼血管叢進行放血，隨後進行頸椎脫位術來處死研究動物。對於血清製備，在離心之前使血液樣品凝塊。將血清轉移至乾淨試管中，各動物處於獨立試管中。在放血之

後，將所有動物之雙耳(各耳於獨立小瓶中)、脾臟、腸系膜淋巴結(MLN)、整個小腸及結腸收集於冷凍小瓶中，進行速凍且儲存於 $< -70^{\circ}\text{C}$ 下。

【0239】 可根據製造商說明書使用解離酶來解離組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45⁺浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

實例2：測試物在調節C57BL/6小鼠中之DSS誘導之結腸炎方面之評估

【0240】 葡聚糖硫酸鈉(DSS)誘導之結腸炎為充分研究之結腸炎動物模型，如Randhawa等人(A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. Korean J Physiol Pharmacol. 2014. 18(4): 279-288；亦參見Chassaing等人Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. Curr Protoc Immunol. 2014年2月4日; 104: 15.25

單元)所綜述。在此模型中，用於飲用水中之DSS處理小鼠，導致腹瀉及體重減輕。

【0241】 為檢驗範永氏球菌在DSS誘導之結腸炎中之功效，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如此項技術中已知，使小鼠群組經DSS處理以誘導結腸炎(Randhawa等人2014；Chassaing等人2014；亦參見Kim等人Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. J Vis Exp. 2012. 60: 3678)。舉例而言，藉由自第0天至第5天曝露於經3% DSS處理之飲用水來在小鼠中誘導結腸炎。一個群組不接受DSS且充當未處理對照。對動物給藥蔗糖媒劑(陰性對照)、細菌菌株(1×10^9 個CFU/隻小鼠/天)或抗p40陽性對照(在第0、3、7及10天i.p.投與)。所有動物均每天進行稱重。

【0242】 在其他研究中，可在一些時間點(在DSS投與第1天或在其後某時)啟動用含細菌菌株(例如表1中列舉之細菌菌株)之細菌組合物進行之治療。舉例而言，可在DSS啟動(第1天)之同時或在第一次疾病跡象(例如體重減輕或腹瀉)時或在重度結腸炎階段期間投與範永氏球菌。可針對重量、發病率、存活率、腹瀉及/或血便之存在對小鼠每天進行觀測。

【0243】 以不同劑量、不同間隔及/或不同投與途徑及/或以與其他範永氏球菌菌株或其他物種組合之形式投與細菌菌株。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之劑量向一些小鼠靜脈內注射範永氏球菌。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌。一些小鼠可每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以

替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0244】 在添加或不添加其他消炎劑之情況下，可測試單獨或與全細菌細胞組合之含有細菌菌株之細菌組合物在小鼠DSS誘導之結腸炎模型中的功效。

【0245】 舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射或經鼻途徑投與。

【0246】 可在各種時間點且以有效劑量用額外之一或多種消炎劑(例如抗CD154、TNF家族成員阻斷劑或其他治療劑)及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0247】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。一些小鼠在預先不接受抗生素之情況下接受DSS。

【0248】 在各種時間點，使用小型動物內窺鏡(德國Karl Storz Endoskope)使小鼠在異氟醚麻醉下經歷視訊內窺鏡檢查。記錄靜止影像及視訊以評估結腸炎程度及對治療之反應。使用此項技術中已知之準則對結腸炎進行評分。收集糞便物以用於研究。

【0249】 可移除胃腸(GI)道、淋巴結及/或其他組織以用於使用此項

技術中已知之方法進行活體外組織學、細胞介素及/或流動式細胞量測分析。舉例而言，收取組織且可根據製造商說明書使用解離酶來解離組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45⁺ GI道浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

【0250】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可用疾病觸發劑來再攻毒一些小鼠，而非將其處死。在再攻毒之後，分析小鼠對結腸炎嚴重程度之易感性。

【0251】 在處死之後，可自所有動物收集結腸、小腸、脾臟及腸系膜淋巴結，且收集血液以用於分析。

實例3：小鼠實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)模型

【0252】 EAE為充分研究之多發性硬化症之動物模型，如Constantinescu等人(Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE))

as a model for multiple sclerosis (MS). Br J Pharmacol. 2011年10月; 164(4): 1079-1106)所綜述。可在各種小鼠及大鼠菌株中使用不同髓鞘相關肽藉由授受性轉移活化致腦炎T細胞或使用易受EAE影響之TCR基因轉殖小鼠誘導EAE，如Mangalam等人(Two discreet subsets of CD8⁺ T cells modulate PLP₉₁₋₁₁₀ induced experimental autoimmune encephalomyelitis in HLA-DR3 transgenic mice. J Autoimmun. 2012年6月; 38(4): 344-353)中所論述。

【0253】在添加或不添加其他消炎治療之情況下，可測試單獨或與全細菌細胞組合之本文所描述之含有範永氏球菌之細菌組合物在EAE嚙齒動物模型中的功效。舉例而言，自Taconic (紐約日耳曼敦(Germantown, NY))獲得雌性6-8週齡之C57Bl/6小鼠。在背部上之兩個部位(上部及下部)處向小鼠群組投與兩個以下之皮下(s.c.)注射劑：乳化於完全弗氏佐劑(CFA；2-5 mg殺滅結核分枝桿菌H37Ra/ml乳液)之0.1 ml髓鞘寡樹突神經膠細胞糖蛋白35-55 (MOG35-55；100 µg/個注射劑；200 µg/隻小鼠(總0.2 ml/隻小鼠)。在上述處理之後約1-2小時，對小鼠腹膜內(i.p.)注射於0.1 ml PBS (2 µg/ml)中之200 ng百日咳毒素(PTx)。在第2天投與額外之PTx之IP注射劑。可替代地，使用適量之替代性髓鞘肽(例如蛋白脂質蛋白(PLP))以誘導EAE。一些動物充當未處理對照。根據此項技術中已知之方法(Mangalam等人2012)，評估EAE嚴重程度且自第4天開始每天分配失能分數。

【0254】在接近免疫接種時間或在EAE免疫接種之後之某一時間點啟動用範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株進行之治療。舉例而言，可與免疫接種(第1天)之同時

投與含有細菌菌株之細菌組合物，或可在第一次失能跡象(例如尾部疲軟)時或在重度EAE期間投與其。以不同劑量且以經界定間隔投與含有細菌菌株之細菌組合物。舉例而言，向一些小鼠靜脈內注射有效劑量之細菌菌株。舉例而言，小鼠可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞/隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0255】 舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株(例如表1中列舉之細菌菌株)一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射、皮下(s.c.)注射或經鼻途徑投與。

【0256】 可在各種時間點且以有效劑量用額外之一或多種消炎劑或一或多種EAE治療劑(例如抗CD154、TNF家族成員阻斷劑、維生素D或其他治療劑)及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0257】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。

【0258】 在各種時間點，處死小鼠且可移除發炎部位(例如腦部及脊髓)、淋巴結或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外組織學、細胞介素及/或流動式細胞量測分析。舉例而言，根據製造商說明書使用解離酶來解離組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+中樞神經系統(CNS)浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

【0259】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可用疾病觸發劑(例如活化致腦炎之T細胞或EAE誘導之肽再注射劑)來再攻毒一些小鼠，而非將其處死。在再攻毒之後，分析小鼠對疾病及EAE嚴重程度之易感性。

實例4：小鼠膠原蛋白誘導之關節炎(CIA)模型

【0260】 膠原蛋白誘導之關節炎(CIA)為常用於研究類風濕性關節炎(RA)之動物模型，如Caplazi等人(Mouse models of rheumatoid

arthritis. Veterinary Pathology. 2015年9月1日. 52(5): 819-826) (亦參見 Brand等人Collagen-induced arthritis. Nature Protocols. 2007. 2: 1269-1275 ; Pietrosimone等人Collagen-induced arthritis: a model for murine autoimmune arthritis. Bio Protoc. 2015年10月20日; 5(20): e1626)所描述。

【0261】 在其他型式之CIA嚙齒動物模型之中，一種模型涉及用雞II型膠原蛋白使HLA-DQ8 Tg小鼠免疫，如Taneja等人(J. Immunology. 2007. 56: 69-78 ; 亦參見Taneja等人J. Immunology 2008. 181: 2869-2877 ; 及Taneja等人Arthritis Rheum., 2007. 56: 69-78)所描述。雞CII純化已由Taneja等人(Arthritis Rheum., 2007. 56: 69-78)描述。在免疫接種之後，監視小鼠之CIA疾病發作及進展，且對疾病之嚴重程度進行評估及「分級」，如Wooley, J. Exp. Med. 1981. 154: 688-700所描述。

【0262】 針對CIA誘導對小鼠進行免疫接種且分成各種治療組。在添加或不添加其他消炎治療之情況下，測試單獨或與全細菌細胞組合之含有細菌菌株之細菌組合物在CIA中之功效。

【0263】 在接近用膠原蛋白進行之免疫接種之時間或在免疫接種之後啟動用含有範永氏球菌之細菌組合物進行的治療。舉例而言，在一些群組中，可在免疫接種(第1天)之同時投與細菌菌株，或可在第一次疾病跡象時或在嚴重症狀發作時投與細菌菌株。以不同劑量且以經界定間隔投與細菌菌株。

【0264】 舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之劑量向一些小鼠靜脈內注射範永氏球菌。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠群組可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途

徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0265】舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射、皮下(s.c.)注射、皮內(i.d.)注射或經鼻途徑投與。

【0266】可在各種時間點且以有效劑量用額外之一或多種消炎劑或一或多種CIA治療劑(例如抗CD154、TNF家族成員阻斷劑、維生素D或其他治療劑)及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0267】另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。

【0268】在各種時間點，獲得血清樣品以使用標準ELISA評估抗雞CII IgG抗體及抗小鼠CII IgG抗體之量(Batsalova等人Comparative analysis of collagen type II-specific immune responses during development of collagen-induced arthritis in two B10 mouse strains. Arthritis Res Ther. 2012. 14(6): R237)。此外，處死一些小鼠且可移除發炎部位(例如滑膜)、淋巴結或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法

進行活體外組織學、細胞介素及/或流動式細胞量測分析。使用此項技術中已知之技術針對漿細胞浸潤及抗體之存在分析滑膜及滑液。另外，根據製造商說明書使用解離酶來解離組織以檢驗細胞浸潤物之分佈。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+滑膜浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

【0269】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可用疾病觸發劑(例如具有CIA誘導之肽之活化再注射劑)來再攻毒一些小鼠，而非將其處死。在再攻毒之後，分析小鼠對疾病及CIA嚴重程度之易感性。

實例5：小鼠1型糖尿病(T1D)模型

【0270】 1型糖尿病(T1D)為自體免疫疾病，其中免疫系統靶向胰臟之蘭氏小島(islets of Langerhans)，由此破壞身體產生胰島素之能力。

【0271】 存在T1D動物模型之各種模型，如Belle等人(Mouse

models for type 1 diabetes. Drug Discov Today Dis Models. 2009; 6(2): 41-45 ; 亦參見Aileen JF King. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol. 2012年6月; 166(3): 877-894)所綜述。存在化學誘導之T1D、病原體誘導之T1D之模型以及其中小鼠自發罹患T1D之模型。

【0272】 在添加或不添加其他消炎治療之情況下，可測試單獨或與其他菌株組合之本文所描述之範永氏球菌菌株在小鼠T1D模型中之功效。

【0273】 視T1D誘導之方法而定且/或不論T1D發展係否為自發的，在接近誘導時間或在誘導之後或在自發發生之T1D發作之前(或在發作時)之某一時間點啟動用細菌菌株進行之治療。以不同劑量且以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之劑量向一些小鼠靜脈內注射範永氏球菌。其他小鼠可接受25、50或100 mg細菌菌株/隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0274】 舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射或經鼻途徑投與。

【0275】 可在各種時間點且以有效劑量用額外之治療及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0276】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。

【0277】 在實驗開始之前每兩週監視血糖一次。在其後各種時間點量測非空腹血糖。在各種時間點，處死小鼠且可移除胰腺、淋巴結或其他組織部位以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外組織學、細胞介素及/或流動式細胞量測分析。舉例而言，根據製造商說明書使用解離酶來解離組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化組織浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。亦可藉由ELISA評估

抗體產生。

【0278】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可用疾病觸發劑來再攻毒一些小鼠，而非將其處死，或評估對復發之易感性。分析再攻毒(或自發發生之復發)之後小鼠對糖尿病發作及嚴重程度之易感性。

實例6：小鼠原發性硬化性膽管炎(PSC)模型

【0279】 原發性硬化性膽管炎(PSC)為緩慢損傷膽管且導致末期肝硬化之慢性肝病。其與發炎性腸病(IBD)相關。

【0280】 存在各種PSC動物模型，如Fickert等人(Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC). J Hepatol. 2014年6月. 60(6): 1290-1303；亦參見Pollheimer及Fickert. Animal models in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. Clin Rev Allergy Immunol. 2015年6月. 48(2-3): 207-17)所綜述。PSC模型中之疾病誘導包括化學誘導(例如3,5-二乙氧羰基-1,4-二氫柯林鹼(DDC)誘導之膽管炎)、病原體誘導(例如小球隱孢子蟲)、實驗性膽阻塞(例如總膽管結紮(common bile duct ligation；CBDL))及抗原驅動膽損傷之基因轉殖小鼠模型(例如Ova-Bil基因轉殖小鼠)。舉例而言，如Georgiev等人(Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. Br J Surg. 2008. 95(5): 646-56)所描述執行膽管結紮，或疾病係由如Fickert等人(A new xenobiotic-induced mouse model of sclerosing cholangitis and biliary fibrosis. Am J Path. 第171(2)卷: 525-536)所描述之DCC曝露誘導。

【0281】 在添加或不添加某一其他治療劑之情況下，可測試單獨或與其他菌株組合之本文所描述之範永氏球菌菌株在小鼠PSC模型中之功

效。

DCC誘導之膽管炎

【0282】舉例而言，自Taconic或其他供應商獲得6-8週齡之C57bl/6小鼠。向小鼠餵飼經0.1% DCC補充之膳食達各種持續時間。一些群組接受DCC補充食物達1週，其他群組達4週，其他群組達8週。一些小鼠群組可接受DCC補充膳食達一定時長，且隨後使其恢復，其後接受正常膳食。可研究此等小鼠自疾病恢復之能力及/或其對後續曝露於DCC時復發之易感性。在接近DCC餵飼時間或在初始曝露於DCC之後之某一時間點啟動用範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株進行之治療。舉例而言，可在第1天投與細菌菌株，或可在其後某時投與其。以不同劑量且以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之範圍向一些小鼠靜脈內注射細菌菌株。其他小鼠可接受25、50、100 mg細菌菌株/隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠可經由i.p.注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。範永氏球菌投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射或經鼻途徑投與。可在各種時間點且以有效劑量用額外之藥劑及/或適當對照(例如媒劑或抗體)

治療一些小鼠群組。

【0283】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。在不同時間點，針對ALT、AP、膽紅素及血清膽汁酸(BA)量分析血清樣品。

【0284】 在各種時間點，處死小鼠，記錄身體及肝臟重量，且可移除發炎部位(例如肝臟、小腸及大腸、脾臟)、淋巴結或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外組織形態學表徵、細胞介素及/或流動式細胞量測分析(參見Fickert等人Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC)). J Hepatol. 2014. 60(6): 1290-1303)。舉例而言，針對ICAM-1、VCAM-1、MadCAM-1之表現對膽管進行染色。對一些組織進行染色以用於組織學檢驗，而根據製造商說明書使用解離酶來解離其他組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)以及黏著分子表現(ICAM-1、VCAM-1、MadCAM-1)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、

G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+膽管浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。

【0285】製備肝臟組織以用於組織學分析，例如使用天狼星紅(Sirius-red)進行染色，隨後定量纖維化區域。在治療結束時，收集血液以用於進行例如AST或ALT之肝臟酶之血漿分析，且用以測定膽紅素量。可使用已建立之方案量測肝羥基脯胺酸含量。可藉由qRT-PCR使用經驗證之引子來執行發炎及纖維化標記物之肝基因表現分析。此等標記物可包括但不限於MCP-1、 α -SMA、Coll1a1及TIMP-。可使用已建立之代謝體學方法在血漿、組織及糞便樣品中執行代謝物量測。最後，在肝臟切片上進行免疫組織化學反應以量測嗜中性球、T細胞、巨噬細胞、樹突細胞或其他免疫細胞浸潤物。

【0286】為檢驗疾病保護之影響及長久性，稍後可用DCC來再攻毒一些小鼠，而非將其處死。在再攻毒之後，分析小鼠對膽管炎及膽管炎嚴重程度之易感性。

BDL誘導之膽管炎

【0287】可替代地，測試含有範永氏球菌之細菌組合物在BDL誘導之膽管炎中之功效。舉例而言，自Taconic或其他供應商獲得6-8週齡之C57Bl/6J小鼠。在馴化週期之後，對小鼠進行手術程序以執行膽管結紮(BDL)。一些對照動物接受假手術。BDL程序在7-21天內導致肝臟損傷、發炎及纖維化。

【0288】在接近手術時間或在手術之後之某一時間之某一時間點啟動用範永氏球菌進行之治療。以不同劑量且以經界定間隔投與範永氏球

菌。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之範圍向一些小鼠靜脈內注射細菌菌株。其他小鼠可接受25、50或100 mg細菌菌株/隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受範永氏球菌，而其他小鼠可經由i.p.注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射或經鼻途徑投與。可在各種時間點且以有效劑量用額外之藥劑及/或適當對照(例如媒劑或抗體)治療一些小鼠群組。

【0289】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。在不同時間點，針對ALT、AP、膽紅素及血清膽汁酸(BA)量分析血清樣品。

【0290】 在各種時間點，處死小鼠，記錄身體及肝臟重量，且可移除發炎部位(例如肝臟、小腸及大腸、脾臟)、淋巴結或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外組織形態學表徵、細胞介素及/或流動式細胞量測分析(參見Fickert等人Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC)). J Hepatol. 2014. 60(6): 1290-

1303)。舉例而言，針對ICAM-1、VCAM-1、MadCAM-1之表現對膽管進行染色。對一些組織進行染色以用於組織學檢驗，而根據製造商說明書使用解離酶來解離其他組織。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)以及黏著分子表現(ICAM-1、VCAM-1、MadCAM-1)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+膽管浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。

【0291】 製備肝臟組織以用於組織學分析，例如使用天狼星紅進行染色，隨後定量纖維化區域。在治療結束時，收集血液以用於進行例如AST或ALT之肝臟酶之血漿分析，且用以測定膽紅素量。可使用已建立之方案量測肝羥基脯胺酸含量。可藉由qRT-PCR使用經驗證之引子來執行發炎及纖維化標記物之肝基因表現分析。此等標記物可包括但不限於MCP-1、 α -SMA、Coll1a1及TIMP-。可使用已建立之代謝體學方法在血漿、組織及糞便樣品中執行代謝物量測。最後，在肝臟切片上進行免疫組織化學反應以量測嗜中性球、T細胞、巨噬細胞、樹突細胞或其他免疫細胞。

胞浸潤物。

【0292】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可分析一些小鼠之恢復率，而非將其處死。

實例7：小鼠非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)模型

【0293】 非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)為重度形式之非酒精性脂肪肝病(NAFLD)，其中肝脂肪堆積(脂肪變性)及發炎導致肝臟損傷及肝細胞細胞死亡(氣脹)。

【0294】 存在各種NASH動物模型，如Ibrahim等人(Animal models of nonalcoholic steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflammation. Dig Dis Sci. 2016年5月. 61(5): 1325-1336；亦參見Lau等人Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances 2017年1月. 241(1): 36-44)所綜述。

【0295】 在添加或不添加另一治療劑之情況下，可測試單獨或與全細菌細胞組合之範永氏球菌在小鼠NASH模型中之功效。舉例而言，為自Taconic (紐約日耳曼敦)或其他供應商獲得之8-10週齡之C57Bl/6J小鼠安排甲硫胺酸膽鹼缺乏(MCD)膳食達4-8週週期，在此期間顯現NASH特點，包括脂肪變性、發炎、氣脹及纖維化。

【0296】 在膳食開始或在膳食啟動之後之某一時間點(例如之後一週)之某一時間點啟動用範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株進行之治療。舉例而言，可在MCD膳食啟動之同一天開始投與細菌菌株。以不同劑量且以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之劑量向一些小鼠靜脈內注射細菌菌株。其他小鼠可接受25、50或100 mg細菌菌株/

隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、皮下(s.c.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第1天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0297】舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射或經鼻途徑投與。可在各種時間點且以有效劑量用額外之一或多種NASH治療劑(例如FXR促效劑、PPAR促效劑、CCR2/5拮抗劑或其他治療劑)及/或適當對照治療一些小鼠群組。

【0298】在各種時間點及/或在治療結束時，處死小鼠且可移除肝臟、腸、血液、糞便或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外組織學、生物化學、分子或細胞介素及/或流動式細胞量測術分析。舉例而言，稱重且準備肝臟組織以用於組織學分析，該組織學分析可包含用H&E、天狼星紅進行之染色及NASH活性分數(NAS)測定。在各種時間點，收集血液以使用標準檢定進行例如AST或ALT之肝臟酶之血漿分析。另外，可使用已建立之方案量測肝膽固醇、三酸甘油酯或脂肪酸含量。可藉由qRT-PCR使用經驗證之引子執行發炎、纖維化、脂肪變性、ER應激或氧化應激標記物之肝基因表現分析。此等標記物可包括但不限於IL-6、MCP-1、 α -SMA、Coll1a1、CHOP及NRF2。可使用已建立之生物化學方

法及基於質譜法之代謝體學方法在血漿、組織及糞便樣品中執行代謝物量測。分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+膽管浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在肝臟或腸切片上進行免疫組織化學反應以量測嗜中性球、T細胞、巨噬細胞、樹突細胞或其他免疫細胞浸潤物。

【0299】 為檢驗疾病保護之影響及長久性，可分析一些小鼠之恢復率，而非將其處死。

實例8：小鼠牛皮癬模型

【0300】 牛皮癬為T細胞介導之慢性發炎性皮膚病。所謂之「溶菌斑型」牛皮癬為最常見形式之牛皮癬且代表為乾鱗屑(dry scale)、紅斑及因免疫細胞浸潤至真皮及表皮中所致之皮膚增厚。數種動物模型已對理解此疾病作出貢獻，如Gudjonsson等人(Mouse models of psoriasis. J Invest Derm. 2007. 127: 1292-1308；亦參見van der Fits等人Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. J. Immunol. 2009年5月1日. 182(9): 5836-45)所綜述。

【0301】 可在各種小鼠模型中誘導牛皮癬，該等小鼠模型包括使用基因轉殖、基因剔除或異種移植模型以及局部施用作為TLR7/8配位體之咪喹莫特(IMQ)之彼等模型。

【0302】 在添加或不添加其他消炎治療之情況下，可測試單獨或與全細菌細胞組合之範永氏球菌在小鼠牛皮癬模型中之功效。舉例而言，自

Taconic (紐約日耳曼敦)或其他供應商獲得6-8週齡之C57Bl/6或Balb/c小鼠。對小鼠背部及右耳進行刮毛。各組小鼠接受62.5 mg之局部日劑量之市售IMQ乳膏(5%)(樂得美(Aldara)；3M Pharmaceuticals)。將劑量施用至經刮毛區域達5或6個連續日。以規則間隔針對紅斑、脫屑及增厚以0至4之分值對小鼠進行評分，如van der Fits等人(2009)所描述。使用Mitutoyo測微計監視小鼠之耳厚度。

【0303】 在接近第一次施用IMQ之時間或在其後之某時之某一時間點啟動用細菌菌株進行之治療。舉例而言，可皮下注射(第0天)之同時投與範永氏球菌，或可在施用之前或之時投與其。以不同劑量且以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，以在 1×10^4 與 5×10^9 個細菌細胞/隻小鼠之間之劑量向一些小鼠靜脈內注射細菌菌株。其他小鼠可接受25、50或100 mg細菌菌株/隻小鼠。一些小鼠經由i.v.注射接受細菌菌株，而其他小鼠可經由腹膜內(i.p.)注射、經鼻途徑投與、經口管飼、局部投與、皮內(i.d.)注射、皮下(s.c.)注射或其他投與方法接受細菌菌株。一些小鼠可每天(例如在第0天開始)接受細菌菌株，而其他小鼠可以替代性間隔(例如每隔一天或每三天一次)接受細菌菌株。額外之小鼠群組可接受某一比率之細菌細胞與細菌菌株。細菌細胞可為活的、死的或弱化的。可新鮮(或冷凍)收取且投與細菌細胞，或其在投與之前可經照射或熱殺滅。

【0304】 舉例而言，在獨立於細菌菌株投與或與其共混之投與中一些小鼠群組可接受在 1×10^4 與 5×10^9 個之間之細菌細胞。如同細菌菌株一樣，細菌細胞投與可因投與途徑、劑量及時程而變化。此可包括經口管飼、i.v.注射、i.p.注射、i.d.注射、s.c.注射、局部投與或經鼻途徑投與。

【0305】 可在各種時間點且以有效劑量用一或多種消炎劑(例如抗

CD154、TNF家族成員阻斷劑或其他治療劑)及/或適當對照(例如媒劑或對照抗體)治療一些小鼠群組。

【0306】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受抗生素之情況下治療一些經免疫接種之小鼠。

【0307】 在各種時間點，自背部及耳皮膚採取樣品以用於使用此項技術中已知之方法進行冷凍切片染色分析。處死其他小鼠群組且可移除淋巴結、脾臟、腸系膜淋巴結(MLN)、小腸、結腸及其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行組織學研究、活體外組織學、細胞介素及/或流動式細胞量測分析。可根據製造商說明書使用解離酶來解離一些組織。對冷凍切片樣品、組織樣品或活體外獲得之細胞進行染色以用於使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1、F4/80)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45⁺皮膚浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，

在各種組織切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

【0308】為檢驗牛皮癬保護之影響及長久性，可研究一些小鼠以評估恢復率，而非將其處死，或可用IMQ對其進行再攻毒。分析各組經再攻毒之小鼠對牛皮癬及反應嚴重程度之易感性。

實例9：小鼠黑色素瘤模型

【0309】自Taconic (紐約州日耳曼敦)獲得雌性6-8週齡之C57Bl/6小鼠。將100,000個B16-F10 (ATCC CRL-6475)腫瘤細胞再懸浮於含有50%基質膠之無菌PBS中，且以100 μ l最終體積接種至各小鼠之一個後側腹(第一側腹)中。在腫瘤細胞接種之後之某一時間點以不同劑量且以經界定間隔啟動用範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株進行之治療。舉例而言，一些小鼠接受在 1×10^9 個與 5×10^9 個之間之CFU (100 μ l最終體積)/次劑量。可能性投與途徑包括經口管飼(p.o.)、靜脈內注射、瘤內注射(IT)或瘤周或腫瘤下或皮下注射。為評估範永氏球菌治療之全身性抗腫瘤效應，可在第一側腹中用範永氏球菌進行之IT、瘤周或腫瘤下治療之前，在對側(未治療，第二)側腹中用腫瘤細胞對額外之小鼠進行接種。

【0310】一些小鼠可在第1天(在腫瘤細胞注射之後一天)(p.o.)接受範永氏球菌。其他小鼠可接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm^3)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。舉例而言，當腫瘤體積達至平均值100 mm^3 (約在腫瘤

細胞接種之後10-12天)時，將動物分佈至各組中且用煤劑或細菌菌株(p.o.或IT)治療。一些額外之小鼠群組可經額外之癌症治療劑或適當之對照抗體治療。可投與之癌症治療劑之一個實例為免疫檢查點抑制劑，例如抗PD-1、抗PD-L1或阻斷免疫檢查點與其一或多種配位體結合之其他治療劑。檢查點抑制劑抗PD-1及抗PD-L1可於PBS中調配且以有效劑量進行腹膜內(i.p.)投與。舉例而言，在第1天開始，每四天(i.p.)給予小鼠一次100 ug 抗PD-1，且繼續進行達研究持續時間。

【0311】 另外，在治療之前用抗生素治療一些小鼠。舉例而言，將萬古黴素(0.5 g/L)、安比西林(1.0 g/L)、慶大黴素(1.0 g/L)及雙性黴素B(0.2 g/L)添加至飲用水中，且在治療時或在治療之前數天停止抗生素治療。在不接受用抗生素進行之先前治療之情況下對一些小鼠接種腫瘤細胞。

【0312】 在各種時間點，處死小鼠且可移除腫瘤、淋巴結或其他組織以用於使用此項技術中已知之方法進行活體外流動式細胞量測分析。舉例而言，根據製造商說明書使用Miltenyi腫瘤解離酶混合液來解離腫瘤。記錄腫瘤重量，且將腫瘤切短，隨後置放於含有酶混合液之15 ml試管中，且置放於冰上。隨後，在37°C下將樣品置放於平緩振盪器上達45分鐘，且用至多15 ml完整RPMI淬滅。將各細胞懸浮液經由70 µm過濾器篩濾至50 ml falcon試管中，且以1000 rpm離心10分鐘。將細胞再懸浮於FACS緩衝液中且進行洗滌以移除剩餘碎片。必要時，將樣品經由第二70 µm過濾器再次篩濾至新試管中。對細胞進行染色以使用此項技術中已知之技術藉由流動式細胞量測術進行分析。染色抗體可包括抗CD11c (樹突細胞)、抗CD80、抗CD86、抗CD40、抗MHCII、抗CD8a、抗CD4及抗

CD103。可經分析之其他標記物包括泛免疫細胞標記物CD45、T細胞標記物(CD3、CD4、CD8、CD25、Foxp3、T-bet、Gata3、Roryt、顆粒酶B、CD69、PD-1、CTLA-4)及巨噬細胞/骨髓標記物(CD11b、MHCII、CD206、CD40、CSF1R、PD-L1、Gr-1)。除了免疫表型分型之外，亦分析血清細胞介素，其包括但不限於TNFa、IL-17、IL-13、IL-12p70、IL12p40、IL-10、IL-6、IL-5、IL-4、IL-2、IL-1b、IFNy、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、MIG、IP10、MIP1b、RANTES及MCP-1。可在自淋巴結或其他組織獲得之免疫細胞上及/或在活體外獲得之純化CD45+腫瘤浸潤免疫細胞上進行細胞介素分析。最後，在腫瘤切片上進行免疫組織化學反應以量測T細胞、巨噬細胞、樹突細胞及檢查點分子蛋白表現。

【0313】 可向對側側腹(或其他區域)中利用腫瘤細胞注射來再攻毒一些小鼠，而非將其處死，以測定免疫系統之記憶反應對於腫瘤生長之影響。

【0314】 與媒劑及無治療組(陰性對照)相比，在接受MCD (NASH誘導之)膳食之小鼠中，經口投與之範永氏球菌菌株C有效地降低NAS分數(圖10)。範永氏球菌菌株C降低經治療小鼠中之纖維化分數(圖11)。範永氏球菌菌株C降低肝總膽固醇(圖12)及肝三酸甘油酯(圖13)。

實例10：小鼠肺癌模型

【0315】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌在小鼠肺癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫

瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0316】 將 1×10^6 個LLC1細胞或適當數目之來自另一肺癌細胞株之肺癌細胞注射至同基因型小鼠之後側腹中。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流式細胞量測術進行活體外腫瘤分析。可向對側側腹中利用腫瘤細胞注射來再攻毒其他小鼠以測定免疫系統之記憶反應對於腫瘤生長之影響。

實例11：小鼠乳房癌模型

【0317】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌菌株在小鼠乳房癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0318】 自ATCC獲得4T1小鼠乳癌細胞，且將於50 ul PBS中之 1×10^6 個細胞皮下注射至Balb/c雌性小鼠之一個或兩個後肢中(如Wang等

人2003, Systemic dissemination of viral vectors during intratumoral injection. *Molecular Cancer Therapeutics*; 2(11)所描述)。可替代地，自ATCC獲得EMT6小鼠乳癌細胞，且將於50 μ l PBS中之 1×10^6 個細胞皮下注射至Balb/c 6-8週齡之雌性小鼠之一個或兩個後肢中(如Guo等人2014, Combinatorial Photothermal and Immuno Cancer Therapy Using Chitosan-Coated Hollow Copper Sulfide Nanoparticles. *ASC Nano.*; 8(6): 5670-5681所描述)。另外，可使用其他可獲得之小鼠乳腺細胞株。

【0319】 以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析。可向對側側腹中利用腫瘤細胞注射來再攻毒其他小鼠以測定免疫系統之記憶反應對於腫瘤生長之影響。

【0320】 可替代地，可在乳房癌正位鼠類模型中使用4T1細胞，如Tao等人(Tao等人2008. Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer. 8: 288)所描述。處死小鼠以用於進行活體外腫瘤分析。藉由流動式細胞量測術及免疫組織化學來分析腫瘤。

實例12：小鼠胰腺癌模型

【0321】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌菌株在小鼠胰腺癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受細菌菌株之群組。如實例9中所描述，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受範永氏球菌。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受

一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0322】 將Panc02細胞維持在補充有10%胎牛血清及1%青黴素/鏈黴素之DMEM中，且在37°C下在5% CO₂下培育。自Charles River, Inc.或其他認證供應商獲得雌性8-10週齡之C57Bl/6小鼠。將1×10⁶個Panc02細胞皮下注射至雌性C57Bl/6小鼠之右後側腹中。此方案係基於標準Panc02腫瘤模型(Maletzki等人2008. *Pancreatic cancer regression by intratumoral injection of live streptococcus pyogenes in a syngeneic mouse model*. *Gut*. 57:483-491)。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

【0323】 可替代地，可在胰腺癌正位鼠類模型中使用Panc02、6606PDA或Capan-1細胞株，如Partecke等人(Partecke等人2011. *A syngeneic orthotopic murine model of pancreatic adenocarcinoma in the C57/Bl6 mouse using the Panc02 and 6606PDA cell lines*. *Eur. Surg. Res.* 47(2):98-107)或Chai等人(Chai等人2013. *Bioluminescent orthotopic model of pancreatic cancer progression*. *J. Vis. Exp.* 76: 50395)所描述。處死小鼠以用於進行活體外腫瘤分析。藉由流動式細胞量測術及免疫組織化學來分析腫瘤。

實例13：小鼠肝細胞癌模型

【0324】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法

組合之範永氏球菌菌株在小鼠肝細胞癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受細菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受範永氏球菌。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0325】藉由皮下接種 1×10^6 個Hepa129細胞(自NCI或其他來源獲得)或適當數目之來自其他肝細胞癌細胞株之細胞在小鼠中誘導肝細胞癌(如Gonzalez-Carmona等人2008. CD40 ligand-expressing dendritic cells induce regression of hepatocellular carcinoma by activating innate and acquired immunity in vivo. Hepatology. 48(1):157-168所描述)。將腫瘤細胞接種至一個或兩個側腹中。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例14：小鼠淋巴瘤模型

【0326】測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌菌株在小鼠淋巴瘤模型中之功效。舉例而言，在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，

一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0327】 一個淋巴瘤細胞株為A20淋巴瘤，但同基因型小鼠可使用其他淋巴瘤細胞株。A20淋巴瘤細胞獲自ATCC，且將於50 ul PBS中之 5×10^6 個細胞皮下注射至Balb/c雌性小鼠之一個或兩個後肢中(如Houot等人2009. T-cell modulation combined with intratumoral CpG cures lymphoma in a mouse model without the need for chemotherapy. Blood. 113(15): 3546-3552所描述)。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例15：小鼠前列腺癌模型

【0328】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌菌株在小鼠前列腺癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之範永氏球菌(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代

地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0329】 將小鼠前列腺癌細胞(1×10^5 個RM-1細胞或適當數目之來自另一前列腺癌細胞株之細胞)注射至同基因型小鼠中。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例16：小鼠漿細胞瘤模型

【0330】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之細菌菌株在小鼠漿細胞瘤模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與細菌菌株。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之範永氏球菌(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

礦物油誘導之漿細胞瘤模型

【0331】 為檢驗範永氏球菌在漿細胞瘤或多發性骨髓瘤模型中之功效，在第0與60天之間之各種時間點，向小鼠腹膜內注射三次500 ul之2,6,10,12-四甲基十五烷(「姥鯨烷油」)，如Potter等人1983. Peritoneal plasmacytomagenesis in mice: comparison of different pristane dose

regimens. J. Natl. Cancer Inst. 71(2):391-5所描述(亦參見Lattanzio等人1997. Defective Development of Pristane-Oil Induced Plasmacytomas in Interleukin-6-Deficient BALB/C Mice. Am. J. Pathology: 151(3):689-696)。藉由腹脹程度及腹水中之免疫細胞及顆粒來量測疾病進展。藉由流動式細胞量測術來分析腹水流體之免疫細胞表型。

細胞株誘導之漿細胞瘤模型

【0332】為檢驗範永氏球菌在漿細胞瘤或多發性骨髓瘤模型中之功效，將MOPC-104E細胞或J558漿細胞瘤細胞(TIB-6 ATCC)(5×10^6 個細胞)皮下注射至Balb/c小鼠之一或多個後側腹中，此係基於由Bhoopalam等人1980. Effect of dextran-S (alpha, 1-3 dextran) on the growth of plasmacytomas MOPC-104E and J558. J. Immunol. 125(4):1454-8所描述之模型(亦參見Wang等人2015. IL-10 enhances CTL-mediated tumor rejection by inhibiting highly suppressive CD4+ T cells and promoting CTL persistence in a murine model of plasmacytoma. OncoImmunology. 4(7): e1014232-1-9)。將小鼠分成藉由經口管飼及在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下接受範永氏球菌之群組。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例17：SCID小鼠骨髓瘤模型

【0333】測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之範永氏球菌在SCID小鼠骨髓瘤模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球

菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之範永氏球菌(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0334】為檢驗範永氏球菌用於人類漿細胞白血病之功效，使用 1×10^7 個人類骨髓瘤細胞株ARH77細胞(ARH77-ATCC CRL-1621，或適當數目之來自諸如KPM2之另一骨髓瘤細胞株之細胞)。將骨髓瘤細胞皮下注射至SCID小鼠之一個或兩個後側腹中(參見Caers等人2004. *Of mice and men: disease models of multiple myeloma*. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 1(4):373-380)。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例18：小鼠腎細胞癌模型

【0335】測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之細菌菌株在小鼠腎細胞癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，可以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次

連續劑量之範永氏球菌細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0336】 為檢驗範永氏球菌在小鼠腎細胞癌模型中之功效，將Renca細胞(ATCC CRL-2947)或其他腎細胞癌細胞(於0.1 ml PBS中 5×10^6 個)皮下注射至7-8週齡之同基因型Balb/c小鼠之一個或兩個側腹中。以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例19：小鼠膀胱癌模型

【0337】 測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之細菌菌株在小鼠膀胱癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，可以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0338】 在接種當天，收取MBT-2細胞(或其他膀胱癌細胞株)且將其再懸浮於1:1 PBS/基質膠混合物中。將 2×10^5 個MBT-2細胞懸浮於100

μl混合物中，且皮下注射至同基因型小鼠之一個或兩個後側腹中。以規則間隔用測徑器量測腫瘤。

【0339】如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例20：小鼠結腸直腸癌模型

【0340】測試單獨或與包括一或多種檢查點抑制劑之其他癌症療法組合之細菌菌株在小鼠結腸直腸癌模型中之功效。在存在或不存在檢查點抑制劑治療之情況下，將小鼠分成接受範永氏球菌菌株A、範永氏球菌菌株B、範永氏球菌菌株C及/或其他範永氏球菌菌株之群組。如實例9中所描述，可以不同劑量以經界定間隔投與範永氏球菌。舉例而言，一些小鼠在腫瘤細胞注射之後一天(第1天)(p.o.)接受細菌菌株。一些小鼠接受七(7)次連續劑量之細菌菌株(在第14-21天，每天一次劑量)。其他小鼠每天接受一次給藥，或可替代地，一些小鼠每隔一天接受一次給藥。可替代地，在經界定時間點(例如在第13天)或當腫瘤達至特定尺寸(例如100 mm³)時將小鼠隨機分為各種治療組，且因此隨後啟動治療。

【0341】自Taconic (紐約州日耳曼敦)獲得雌性6-8週齡之Balb/c小鼠。將100,000個CT-26結腸直腸腫瘤細胞(ATCC CRL-2638)再懸浮於無菌PBS中且在存在50%基質膠之情況下進行接種。將CT-26腫瘤細胞皮下注射至各小鼠之一個後側腹中。在腫瘤細胞接種之後某一時間點以不同劑量且以經界定間隔啟動用範永氏球菌菌株進行之治療。舉例而言，一些小鼠接受在 1×10^9 個與 5×10^9 個之間之CFU (100 μl最終體積)/次劑量。可能性投與途徑包括經口管飼(p.o.)、靜脈內注射、瘤內注射(IT)或瘤周或

腫瘤下或皮下注射。為評估範永氏球菌治療之全身性抗腫瘤效應，可在第一側腹中用範永氏球菌進行之IT、瘤周或腫瘤下治療之前，在對側(未治療，第二)側腹中用腫瘤細胞對額外之小鼠進行接種。

【0342】以規則間隔用測徑器量測來自各種治療組之腫瘤。如實例9中所描述，處死一些小鼠以用於使用流動式細胞量測術進行活體外腫瘤分析，而對其他小鼠進行再攻毒以測定記憶反應對腫瘤生長之影響。

實例21：製造條件

【0343】使用增濃培養基來生長且製備細菌以供活體外及活體內使用。舉例而言，培養基可含有糖、酵母萃、植物基蛋白腴、緩衝液、鹽、痕量元素、界面活性劑、消泡劑及維生素。諸如酵母萃及蛋白腴之複合物組分之組成可未經界定或經部分界定(包括胺基酸、糖等之大致濃度)。微生物代謝可視諸如碳及氮之來源之可用性而定。可測試各種糖或其他碳源。可替代地，可製備培養基且生長所選細菌，如Saarela等人*J. Applied Microbiology*. 2005.99: 1330-1339所示，該文獻特此以引用之方式併入。醱酵時間、低溫保護劑及細胞濃縮物中和影響冷凍乾燥存活率、儲存穩定性，且在無乳基成分之情況下產生之所選細菌發生酸及膽汁曝露。

【0344】在大規模下，培養基為滅菌的。滅菌可藉由超高溫(UHT)處理來進行。在極高溫下執行UHT處理達短時間段。UHT範圍可為135°C -180°C。舉例而言，可將培養基在135°C下滅菌在10秒至30秒之間。

【0345】可在燒瓶中或在較小生物反應器中製備接種物，且監視生長。舉例而言，接種物尺寸可在總生物反應器體積之約0.5與3%之間。視應用及材料需求而定，生物反應器體積可為至少2 L、10 L、80 L、100 L、250 L、1000 L、2500 L、5000 L、10,000 L。

【0346】 在接種之前，製備具有在所需pH值、溫度及氧濃度下之培養基之生物反應器。培養基之初始pH可與過程設定點pH不同。pH應激在低細胞濃度下可能為不利的；初始pH可在pH 7.5與過程設定點之間。舉例而言，pH可設定在4.5與8.0之間。在醱酵期間，可經由使用氫氧化鈉、氫氧化鉀或氫氧化銨來控制pH。溫度可控制在25°C至45°C，例如在37°C下。藉由使培養液中之氧含量自約8 mg/L降低至0 mg/L來創建厭氧條件。舉例而言，可使用氮氣或氣體混合物(N₂、CO₂及H₂)以便建立厭氧條件。可替代地，不使用氣體，且藉由細胞消耗來自培養基之剩餘氧氣來建立厭氧條件。視菌株及接種物尺寸而定，生物反應器醱酵時間可變化。舉例而言，醱酵時間可在約5小時至48小時之範圍內變化。

【0347】 舉例而言，將冷凍小瓶在37°C下在1 L培養基中稀釋至0.1%達12-16小時。培養基為具有1 g/l L-乳酸鈉(無FeSO₄，無NH₄Cl，無蘋果酸鹽)之PM11。將1 L培養基在37、150 rpm、5%CO₂及95%N₂氣體、不可控pH下在15 L生物反應器中稀釋至1%達16-18小時。進料為10X YEP，33 g/l L-乳酸鈉(無G₂)(恆定進料：11 mL/Lh)。隨後，以10,000 g、在10°C下將其離心10分鐘以收集90 g集結粒/15 L。隨後，置放於新穩定劑：蔗糖-聚葡萄糖-半胱胺酸0.18 g穿刺物/g集結粒中。

【0348】 使微生物自冷凍狀態復活可能需要特殊考慮因素。生產培養基可在解凍之後使細胞受激；可能需要特定解凍培養基來一致地自解凍物質開始種子培養。出於增加種子體積或維持微生物生長狀態之目的將種子物質轉移或傳遞至新製培養基之動力學可能會受微生物當前狀態(例如指數生長、穩態生長、未應激、受應激)影響。

【0349】 一或多個生產醱酵槽之接種可能影響生長動力學及細胞活

性。必須使生物反應器系統之初始狀態優化以促進成功且一致之生產。種子培養物對總培養基之分率(例如百分比)對生長動力學具有顯著影響。範圍可為醱酵槽工作體積之1%-5%。培養基之初始pH可與過程設定點不同。pH應激在低細胞濃度下可能為不利的；初始pH可在pH 7.5與過程設定點之間。在接種期間系統中之攪動及氣流可與過程設定點不同。因兩種條件所致之物理及化學應激在低細胞濃度下可能為不利的。

【0350】 處理條件及控制設定可能會影響微生物生長動力學及細胞活性。處理條件之變換可能會改變膜組成、代謝物產生、生長率、細胞應激等。用於生長之最佳溫度範圍可隨菌株而變化。範圍可為20-40℃。用於細胞生長之最佳pH及後續活動之效能可隨菌株而變化。範圍可為pH 5-8。溶解於培養基中之氣體可由細胞使用以供代謝。可能需要在整個過程中調節O₂、CO₂及N₂之濃度。營養素之可用性可變換細胞生長。當過量營養素為可用時，微生物可具有替代性動力學。

【0351】 在醱酵結束時及在收取期間之微生物狀態可能影響細胞存活率及活性。可在收取前不久預處理微生物以使其更好地準備應對涉及分離及後續處理之物理及化學應激。當自醱酵槽移除時，溫度變化(通常降低至20℃-5℃)可減少細胞代謝、減緩生長(及/或死亡)及生理學變化。離心濃度之有效性可能會受培養物pH影響。使pH提高1至2個點可改善濃度之有效性，但亦可能對細胞不利。可在收取前不久藉由增加培養基中之鹽及/或糖之濃度來使微生物受激。以此方式受激之細胞可更佳地在後續期間經受住冷凍及凍乾。

【0352】 分離方法及技術可影響微生物與培養基有效分離之程度。可使用離心技術移除固體。離心濃度之有效性可能會受培養物pH或受絮

凝劑之使用影響。使pH提高1至2個點可改善濃度之有效性，但亦可能對細胞不利。可在收取前不久藉由增加培養基中之鹽及/或糖之濃度來使微生物受激。以此方式受激之細胞可更佳地在後續期間經受住冷凍及凍乾。另外，亦可經由過濾來分離微生物。對於純化，若細胞需要過量公克數-分鐘數以成功地進行離心，則過濾優於離心技術。可在分離前後添加賦形劑。可添加賦形劑以用於低溫保護或用於凍乾期間之保護。賦形劑可包括但不限於蔗糖、海藻糖或乳糖，且可替代地，此等賦形劑可與緩衝劑及抗氧化劑混合。在凍乾之前，將數滴與賦形劑混合之細胞集結粒浸沒於液氮中。

【0353】 可藉由連續離心來執行收取。可用各種賦形劑使產物再懸浮至所需最終濃度。可添加賦形劑以用於低溫保護或用於凍乾期間之保護。賦形劑可包括但不限於蔗糖、海藻糖或乳糖，且可替代地，此等賦形劑可與緩衝劑及抗氧化劑混合。在凍乾之前，將數滴與賦形劑混合之細胞集結粒浸沒於液氮中。

【0354】 包括活細菌之物質之凍乾係以初級乾燥開始。在初級乾燥階段期間，移除冰。此處，產生真空，且向物質供應適量熱以使冰昇華。在二級乾燥階段期間，移除結合水分子之產物。此處，使溫度升高高於初級乾燥階段中之溫度以破壞水分子與產物物質之間已形成之任何物理-化學相互作用。亦可降低壓力以進一步增強此階段期間之解吸附。在完成冷凍乾燥過程之後，可用諸如氮氣之惰性氣體填充腔室。可在乾燥條件下將產物密封於冷凍乾燥器內，防止曝露於大氣水及污染物。

實例22：靜脈內投與之範永氏球菌抑制結腸直腸癌腫瘤生長

【0355】 自Taconic (紐約州日耳曼敦)獲得雌性6-8週齡之Balb/c小

鼠。將100,000個CT-26結腸直腸腫瘤細胞(ATCC CRL-2638)再懸浮於無菌PBS中且在存在50%基質膠之情況下進行接種。將CT-26腫瘤細胞皮下注射至各小鼠之一個後側腹中。當腫瘤體積達至平均值100 mm³ (在腫瘤細胞接種之後約10-12天)時，將動物分佈至以下群組中：1)媒劑；2)範永氏球菌菌株A；3)範永氏球菌菌株B及4)抗PD-1抗體。在第1天開始，以200 µg/隻小鼠(100 µl最終體積)每四天腹膜內(i.p.)投與一次抗體，總計3次(Q4D×3)，且在第1天開始，每三天靜脈內(i.v.)注射一次範永氏球菌EV (5 µg)，總計4次(Q3D×4)。兩個範永氏球菌群組均顯示大於抗PD-1群組中所見之腫瘤生長抑制之腫瘤生長抑制(圖4及5)。根據實例27製備且定量EV。

實例23：EV功效係基於源微生物、劑量及投與途徑而變化

【0356】 自Taconic (紐約州日耳曼敦)獲得雌性6-8週齡之Balb/c小鼠。將100,000個CT-26結腸直腸腫瘤細胞(ATCC CRL-2638)再懸浮於無菌PBS中且在存在50%基質膠之情況下進行接種。將CT-26腫瘤細胞皮下注射至各小鼠之一個後側腹中。當腫瘤體積達至平均值100 mm³ (在腫瘤細胞接種之後約10-12天)時，將動物分佈至以下群組中，如表2中所突出顯示。

表2：治療組

群組	治療	劑量/途徑/時程
1	IV媒劑(PBS)	N/A / IV / Q3Dx4
2	PO媒劑(蔗糖)	N/A / PO / QD
3	抗PD-1	200 µg / IP / Q4Dx3
4	小範永氏球菌菌株B EV	10 µg / IV / Q3Dx4
5	小範永氏球菌菌株B EV	5 µg / IV / Q3Dx4
6	小範永氏球菌菌株B EV	2 µg / IV / Q3Dx4
7	當別町範永氏球菌菌株A EV	75 µg / PO. QD
8	當別町範永氏球菌菌株A EV	5 µg / IV / Q3Dx4

如該表所指出，在第1天開始，以200 µg/隻小鼠(100 µl最終體積)每

第 152 頁(發明說明書)

四天腹膜內(i.p.)投與一次抗體，總計3次(Q4D×3)，且當投與時，在第1天開始，每三天靜脈內(i.v.)注射一次EV，總計4次(Q3D×4)。每天(QD)投與藉由口部(p.o.)投與之治療組。範永氏球菌EV功效係基於源微生物、劑量及投與途徑而變化(圖6及7)。

實例24：KLH基遲發型過敏模型中之人類共生細菌之免疫調節

【0357】類似於實例1，如上文所描述之KLH致敏小鼠，且群組接受活範永氏球菌或經照射之範永氏球菌(25 kGy)。小鼠接受媒劑、地塞米松、經照射之範永氏球菌菌株D (8.32×10^9 ，25 kGy)、經照射之範永氏球菌菌株E (3.28×10^9 ，25 kGy)、經照射之範永氏球菌菌株F (5.38×10^9 ，25 kGy)或經照射之範永氏球菌菌株G (2.01×10^9 ，25 kGy)。在第1-9天對小鼠給藥，且在第8天進行攻毒，且在第9天(24小時)及第10天(48小時)進行耳量測。

【0358】如圖8中所示，與媒劑(陰性對照)相比，在24小時經照射之範永氏球菌菌株有效地減少耳腫脹。如圖9中所示，在KLH基遲發型過敏模型中在抗原攻毒之後與媒劑(陰性對照)及消炎劑地塞米松(陽性對照)相比，在24小時範永氏球菌菌株B、E、F及G之結果減少抗原特異性耳炎症。活範永氏球菌菌株B及E及經照射之範永氏球菌菌株B及E兩者均有效地抑制耳炎症，但經照射之範永氏球菌菌株E比活菌株E甚至更有效。對於範永氏球菌菌株F，照射 γ -照射使得不良範永氏球菌菌株變得有效。所有群組均接受10 mg粉末/次劑量。

實例25：範永氏球菌LPS突變體生成

【0359】耐抗生素性可分類為固有的、後天性的或自適應性的。自適應性耐藥性定義為原先易受特定抗生素藥劑影響之細菌種群中之減少的

抗微生物殺滅。其涉及細菌經受住抗生素之能力之瞬時增加，此主要係由於由諸如應激、營養素條件及抗生素之次抑制性量之環境條件觸發之基因及/或蛋白質表現量的更改。與穩定且可傳代至後代之固有耐藥性機制及後天性耐藥性機制對比，自適應性耐藥性為瞬時的且通常在移除抗生素藥劑時喪失。已報導細菌中之對胺基糖苷及多黏菌素(多黏菌素B及可利斯汀)之此類型之耐藥性，該細菌尤其為革蘭氏陰性菌。

【0360】 自適應耐藥性可為實驗室易感性結果不與抗生素臨床有效性一致之現象之原因中之一種。細菌中之耐多黏菌素性已知為自適應的，其特徵在於在存在藥物之情況下誘導耐藥性且在其不存在之情況下反轉成易感表型。作為革蘭氏陰性菌中之外膜之主要成分之與脂多糖(LPS)結合的多黏菌素經由與LPS核及脂質A部分的磷酸酯及脂肪酸的相互作用。隨後，此等相互作用導致細胞溶解及死亡。

【0361】 革蘭氏陰性菌中之耐多黏菌素性係與向脂質A及核寡糖組分中添加4-胺基-L-阿拉伯糖(L-Ara4N)或磷酸乙醇胺(pEtN)相關。此引起外膜之淨負電荷降低。調節性雙組分系統(TCS) PhoP-PhoQ (PhoPQ)及PmrA-PmrB (PmrAB)在脂質A修飾中起重要作用，隨後其引起細菌變得對多黏菌素具有耐藥性。此外，當存在次抑制性濃度之可利斯汀時，包含涉及LPS生物合成及修飾之缺失突變體(*lpxC*及/或*pmrB*)之細菌之存活率相較於彼等用於其WT親本之細菌之存活率降低>4倍。

【0362】 耐可利斯汀性之演化係歸因於LPS中之脂質A之修飾。此引起外膜之淨電荷降低。已知藉由數個包括PhoPQ、PmrAB、ParRS及CprRS之雙組分系統(TCS)來調節此修飾。已報導因涉及於諸如*lpxA*、*lpxC*及*lpxD*之脂質A生物合成之基因突變或破壞所致之LPS損失。

【0363】藉由在存在可利斯汀之情況下使用熟習此項技術者已知之方法進行連續傳代來生成範永氏球菌LPS突變體(JY Lee等人Sci Rep. 2016年5月6日;6:25543)。

【0364】舉例而言，常規地在BRU瓊脂盤(厭氧系統)上在37°C下生長範永氏球菌培養物達2-4天。在存在一定範圍之可利斯汀濃度(0.1至16 mg/L)之情況下在液體培養基中生長範永氏球菌培養物達1至3天以便測定可利斯汀之最低抑制性濃度。在存在次抑制性可利斯汀濃度(亦即小於最低抑制性濃度)之情況下在液體培養基中生長範永氏球菌培養物達1至3天以允許細菌生長。在含有2倍以上濃度之可利斯汀之新製培養基中將生長培養物稀釋25倍至50倍。各含有作為細菌培養物之0.13、0.25、0.5、1、2、4、8、16、32、64、128或256 mg/L可利斯汀之細菌培養物培養基連續傳代10-14代。當細菌培養物不能在具有2倍以上濃度之可利斯汀之液體培養基中生長時，將培養物塗覆於BRU瓊脂盤上且使其生長2-4天。自盤收集細菌群落以在含有在允許細菌生長之濃度下之可利斯汀之液體培養基中開始培養。重複連續傳代直至細菌對>250 mg/L濃度之可利斯汀具有耐藥性為止。在最後一次傳代之後，在含有100 mg/L可利斯汀之BRU盤上生長細菌群落，且選定數個單獨群落以用於進行脂多糖(LPS)分析。

【0365】選定耐可利斯汀性範永氏球菌菌株以用於進行LPS分析。分析方法包括SDS-PAGE分析，隨後為ProQ LPS染色(Invitrogen)、顯色LAL內毒素檢定(GeneScript)、藉由MALDI-TOF MS分析之脂質A分析(Bruker)。

實例26：自細菌之EV製備及純化

【0366】使用熟習此項技術者已知之方法由細菌培養物製備細胞外

囊泡(EV)(S. Bin Park等人PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011))。

【0367】舉例而言，在4°C下以11,000× g離心細菌培養物達20-40 min以集結細菌。隨後，使培養上清液通過0.22 μm過濾器以排除完整細菌細胞。使用可包括但不限於硫酸銨沈澱、超速離心或過濾之方法濃縮經過濾上清液。簡言之，對於硫酸銨沈澱，可將1.5-3 M硫酸銨緩慢添加至經過濾上清液中，同時在4°C下攪拌。可在4°C下培育沈澱物8-48小時，且隨後在4°C下以11,000× g離心20-40 min。集結粒含有細菌EV及其他碎片。簡言之，使用超速離心，將經過濾上清液在4°C下以100,000-200,000× g離心1-16小時。此離心之集結粒含有細菌EV及其他碎片。簡言之，使用過濾技術、使用Amicon Ultra旋轉過濾器或藉由切向流過濾來過濾上清液以保留分子量> 50或100 kDa之物種。

【0368】可替代地，根據製造商說明書，在生長期間或在生長期間之所選時間點藉由使生物反應器與交替切向流(ATF)系統(例如來自Repligen之XCell ATF)連接來自細菌培養物連續獲得EV。ATF系統保留生物反應器中之完整細胞(>0.22 μm)，且使較小組分(例如EV、游離蛋白)通過過濾器以用於收集。舉例而言，系統可經組態以使得<0.22 μm濾液隨後通過100 kDa之第二過濾器，允許收集在0.22 μm與100 kDa之間之諸如EV之物種，且允許小於100 kDa之物種泵送回至生物反應器中。可替代地，系統可經組態以使得在培養物生長期間生物反應器中之培養基得到補給及/或修飾。可藉由如上文對於經過濾上清液所描述之超速離心或過濾來進一步純化及/或濃縮藉由此方法收集之EV。

【0369】可藉由梯度超速離心使用可包括但不限於使用蔗糖梯度或Optiprep梯度之方法來進一步純化藉由上文所描述之方法獲得之EV。簡

言之，若使用硫酸銨沈澱或超速離心來濃縮經過濾上清液，則使用蔗糖梯度法將集結粒再懸浮於60%蔗糖、30 mM Tris，pH 8.0中。若使用過濾來濃縮經過濾上清液，則使用Amicon Ultra管柱將濃縮物緩衝交換為60%蔗糖、30 mM Tris，pH 8.0。將樣品施用至35%-60%非連續蔗糖梯度且在4℃下以200,000× g離心3-24小時。簡言之，若使用硫酸銨沈澱或超速離心來濃縮經過濾上清液，則使用Optiprep梯度法將集結粒再懸浮於於PBS中之35% Optiprep中。若使用過濾來濃縮經過濾上清液，則使用60% Optiprep將濃縮物稀釋至35% Optiprep之最終濃度。將樣品施用至35%-60%非連續蔗糖梯度且在4℃下以200,000× g離心3-24小時。

【0370】 為證實EV製劑之無菌性及分離，將EV連續稀釋至用於常規培養所測試之細菌之瓊脂培養基上，且使用常規條件進行培育。使非無菌製劑通過0.22 μm過濾器以排除完整細胞。為進一步增加純度，可使經分離之EV經脫氧核糖核酸酶或蛋白酶K處理。

【0371】 可替代地，對於用於活體內注射之EV之製備，如先前所描述處理純化EV (G. Norheim等人PLoS ONE. 10(9): e0134353 (2015))。簡言之，在蔗糖梯度離心之後，使含有EV之帶再懸浮於含有3%蔗糖之溶液或熟習此項技術者已知之適合於活體內注射的其他溶液中至50 μg/mL最終濃度。此溶液亦可含有佐劑，例如濃度為0%-0.5% (w/v)之氫氧化鋁。

【0372】 為使樣品與進一步測試兼容(例如以在TEM成像或活體外檢定之前移除蔗糖)，使用過濾(例如Amicon Ultra管柱)、滲析或超速離心(200,000× g，≥3小時，4℃)及再懸浮將樣品緩衝交換為PBS或30 mM Tris，pH 8.0。

實例27：自細菌之範永氏球菌EV之製備及純化

製備方法：

【0373】 將細菌培養物在4℃、10℃或室溫下以10,000-16,000× g離心10-15 min以集結細菌。隨後，將培養上清液過濾至≤0.22 μm以排除完整細菌細胞。將經過濾上清液濃縮且藉由切向流過濾緩衝交換為PBS，保留>100 kDa之物種。隨後，再次將上清液過濾至≤0.22 μm且藉由超速離心在4℃下以200,000× g集結EV達1 h。將集結粒再懸浮於PBS中且藉由梯度超速離心進行進一步純化。用3體積之60%Optiprep將樣品稀釋至45%Optiprep且施用至0%-45%非連續Optiprep梯度之底部。將梯度在4℃下以200,000× g離心4-24小時。將來自上文該量之原始樣品之含有EV之溶離份移除，用PBS稀釋至少15倍，且藉由超速離心在4℃下以200,000× g集結1 h。將集結粒再懸浮於PBS中。在活體內投與之前，將樣品無菌過濾至≤0.22 μm。

定量：

【0374】 EV給藥係基於顆粒計數，如根據製造商說明書藉由奈米顆粒追蹤分析(NTA)使用NanoSight NS300 (Malvern Panalytical)所評估。針對各樣品之計數係基於至少三個各30秒持續時間之視訊，計數40-140個顆粒/幀，且注射泵速度為75。亦針對各EV製備追蹤且定量每次劑量之蛋白質量。根據製造商說明書藉由布萊德福檢定(Bradford assay)使用快速開始布萊德福1×染料試劑(Bio-Rad)定量總蛋白質。

實例28：範永氏球菌製備

用於分批進料製程之進料製備

組分	每3 L (g)
酵母萃19512 Organotechnie S.A.S.	300
大豆蛋白腴E110 19885 Organotechnie S.A.S.	300

馬鈴薯蛋白胰E210 19425 Organotechnie S.A.S.	150
大豆蛋白胰A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S.	300

【0375】 在微波中加熱3 L DI水達約6 min (在50-60℃下)。在5 L燒杯中標記2 L及3 L量。在最大磁體之情況下，將2 L DI水添加至燒杯中。開啟加熱器及攪拌器(200 rpm)。在混合期間將溶液溫度保持在50℃-60℃之間。逐一添加上表中之組分。每次最多添加100 g，直至在添加下一組分之前其完全溶解為止。在添加最後一個組分之後，將其完全溶解至少30 min。最終體積為約2800 ml。過濾滅菌溶液。使用1 L無菌瓶(945 ml溶液，於1 L瓶中×3)。向各瓶中無菌添加55 ml 60% L-乳酸鈉(以得到於進料中之33 g/l乳酸鹽)。

【0376】 製備L-乳酸鈉儲備液且事先進行滅菌。
由冷凍儲備液製備接種物：

【0377】 遵循PM11培養基製備方案事先製備PM11 (具有5 g/l鈉-L-乳酸鹽)。將培養基轉移至coy且在接種之前脫氣隔夜。將冷凍小瓶轉移至coy。用乙醇拭紙清潔其封蓋。在解凍小瓶之後，將其輕輕地渦旋且緊接著將1 ml儲備液轉移至1 L PM11培養基(0.1%接種物)。將培養基在37℃下培育隔夜。接種物品質決定培育時間。因此，至少在第一對運行中，建議遵循生長，得到關於接種物階段的想法。收取點對於接種物為極關鍵的。接種物應在中指數期或後指數期。

【0378】 PM11培養基(過濾器滅菌)

PM11	g/L
L-乳酸鈉	5
酵母萃19512 Organotechnie S.A.S.	10
大豆蛋白胰E110 19885 Organotechnie S.A.S.	10
馬鈴薯蛋白胰E210 19425 Organotechnie S.A.S.	5
大豆蛋白胰A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S.	10
磷酸二鉀K ₂ HPO ₄	5.03
磷酸一鉀KH ₂ PO ₄	2.87

L-半胱胺酸-HCl	0.5
檸檬酸三鈉	5
氯化鎂	0.5
氯化錳	0.1

第1組組分	g/L
酵母萃19512 Organotechnie S.A.S.	10
大豆蛋白胰E110 19885 Organotechnie S.A.S	10
大豆蛋白胰A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S	10
馬鈴薯蛋白胰E210 19425 Organotechnie S.A.S	5
磷酸二鉀K ₂ HPO ₄	5.03
磷酸一鉀KH ₂ PO ₄	2.87
檸檬酸三鈉	5
L-乳酸鈉	5

培養基製備：

【0379】 將2 L燒杯置放於天平上且稱皮重且用800 g水填充。置放磁體且開始攪拌。稱重出除L-乳酸鈉之外之第1組組分中之各者。將除L-乳酸鈉之外之各組分逐一添加至混合容器中，確保在添加下一組分之前各組分完全溶解。一旦所有固體均完全溶解，則停止攪拌器。用DI水QS至1 kg質量。用0.2 um滅菌級過濾器將混合物進行過濾器滅菌。將500 mL L-乳酸鈉在121℃下進行高壓釜滅菌30分鐘。將10 mL第2組溶液添加至該組中且進行無菌混合。將8.3 mL滅菌L-乳酸鈉無菌添加至混合物中。標記培養基且轉移至coy。鬆開其封蓋且使其脫氣隔夜。

第2組組分	g/1 L
L-半胱胺酸-HCl	50
氯化鎂	50
氯化錳	10

第2組製備：

【0380】 將約700 ml添加至1 L燒杯中且置放於熱板上且加熱至50℃。稱重出第2組組分中之各者。逐一添加組分，確保在添加下一組分之前各組分完全溶解。一旦所有物質均溶解，則使用1 L量筒，QS至1 L，

且用0.2 μm過濾器進行過濾器滅菌。標記名稱及製備日期。以鋁箔包覆培養基瓶且轉移至COY，保留最多2個月。

實例29：靜脈內投與之範永氏球菌EV抑制結腸直腸癌腫瘤生長

【0381】 自Taconic (紐約州日耳曼敦)獲得雌性6-8週齡之Balb/c小鼠。將100,000個CT-26結腸直腸腫瘤細胞(ATCC CRL-2638)再懸浮於無菌PBS中且在存在50%基質膠之情況下進行接種。將CT-26腫瘤細胞皮下注射至各小鼠之一個後側腹中。當腫瘤體積達至平均值100 mm³ (在腫瘤細胞接種之後約10-12天)時，將動物分佈至以下群組中：1)媒劑；2)抗PD-1抗體；3)小範永氏球菌菌株A EV 7.0e+10顆粒；4)非典型範永氏球菌菌株A EV 2.0e+11顆粒；5)非典型範永氏球菌菌株A EV 7.0e+10顆粒；及5)非典型範永氏球菌菌株B EV 1.5e+10顆粒。在第1天開始，以200 ug/隻小鼠(100ul 最終體積)每四天腹膜內(i.p.)投與一次抗體(IP Q4D×3)，且在第1天開始，藉由靜脈內(IV)每天投與一次範永氏球菌EV (7.0e+10、2.0e+11或1.5e+10顆粒)(IV Q3D×4)，直至該研究結束為止。範永氏球菌群組顯示與抗PD-1群組中所見之腫瘤生長抑制相當或比其更大之腫瘤生長抑制(圖14及15)。根據實例27製備且定量EV。

群組	治療	革蘭氏染色	劑量(顆粒計數)	劑量(μg蛋白質)	途徑，時程
1 (n=10)	媒劑(PBS)	N.A.	N.A.	-	IV Q3D×4
2 (n=10)	抗PD-1	N.A.	200 ug	-	IP Q4D×3
3 (n=10)	EEV小範永氏球菌菌株A 7.0e+10PC	-	7.0e+10顆粒 (具有較少總蛋白質)	1.41	IV Q3D×4
4 (n=8)	EEV非典型範永氏球菌菌株A 2.0e+11PC	-	2.0e+11顆粒	9.94	IV Q3D×4
5 (n=8)	EEV非典型範永氏球菌菌株A 7.0e+10PC	-	7.0e+10顆粒	3.48	IV Q3D×4
6 (n=10)	EEV非典型範永氏球菌菌株B 1.5e+10PC	-	1.5e+10顆粒	5.00	IV Q3D×4

以引用之方式併入

【0382】 本文所提及之所有公開及專利申請均特此以全文引用之方式併入，如同各單獨公開或專利申請特定地且單獨地指示為以引用之方式併入一般。在有衝突之情況下，以本申請(包括本文中之任何定義)為準。

等效方案

【0383】 熟習此項技術者應認識到或能夠僅使用常規實驗來確定本文所描述之本發明之具體實施例之許多等效方案。以下申請專利範圍意欲涵蓋該等等效方案。

【生物材料寄存】

【0384】

國外寄存

美國；American Type Culture Collection (ATCC)；2019/01/25；

PTA-125691

國內寄存

食品工業發展研究所；108 年 5 月 7 日；BCRC910892



201945015

【發明摘要】

【中文發明名稱】

以範永氏球菌 (Veillonella Bacteria) 治療癌症及免疫病症之組合物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CANCER AND IMMUNE DISORDERS USING VEILLONELLA BACTERIA

【中文】

本發明提供與適用作治療劑之範永氏球菌(*Veillonella bacteria*)相關之方法及組合物。

【英文】

Provided herein are methods and compositions related to *Veillonella bacteria* useful as therapeutic agents.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種治療個體之疾病之方法，其包含向該個體投與包含範永氏球菌 (*Veillonella bacterium*)之細菌組合物。

【第2項】

如請求項1之方法，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少90%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

【第3項】

如請求項1之方法，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少99%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

【第4項】

如請求項1之方法，其中該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第5項】

如請求項1之方法，其中該細菌組合物包含經分離之範永氏球菌細胞外囊泡(EV)。

【第6項】

如請求項5之方法，其中該細菌組合物包含範永氏球菌細胞外囊泡(EV)及範永氏球菌。

【第7項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、

36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%總範永氏球菌
EV及範永氏球菌顆粒為範永氏球菌EV。

【第8項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、
2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、
14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、
25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、
36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該等總範永氏
球菌EV及範永氏球菌顆粒為範永氏球菌。

【第9項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、
2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、
14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、

25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、
36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%總範永氏球菌
EV及免疫調節範永氏球菌蛋白質為範永氏球菌EV蛋白質。

【第10項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、
2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、
14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、
25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、
36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該總範永氏球
菌EV及範永氏球菌蛋白質為範永氏球菌蛋白質。

【第11項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、
2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、

14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、
25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、
36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%範永氏球菌EV
及範永氏球菌脂質為範永氏球菌EV脂質。

【第12項】

如請求項6之方法，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、
2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、
14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、
25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、
36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、
47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、
58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、
69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、
80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該等總範永氏
球菌EV及範永氏球菌脂質為範永氏球菌脂質。

【第13項】

如請求項1之方法，其中該細菌組合物包含與EV分離之範永氏球

菌。

【第14項】

如請求項1至13中任一項之方法，其中該疾病為免疫病症。

【第15項】

如請求項14之方法，其中該免疫病症選自以下：過敏性反應、發炎性疾病、發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、遲發型過敏、自體免疫性心肌炎、肉芽腫、周邊神經病變、橋本氏甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、結腸炎症、結腸炎、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、轉流性結腸炎、化學性結腸炎、缺血性結腸炎、未定型結腸炎、非典型結腸炎、多發性硬化症、橋本氏病(Hashimoto's disease)、過敏性疾病、食物過敏、花粉病、哮喘、傳染病、感染難養芽胞梭菌(Clostridium difficile)、發炎性疾病、TNF介導之發炎性疾病、發炎性胃腸道疾病、結腸袋炎、心血管發炎性病況、動脈粥樣硬化、發炎性肺病、慢性阻塞性肺病、關節炎、骨關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、關節黏連性脊椎炎、急性及慢性感染性關節炎、痛風及假性痛風相關之關節炎、青少年特發性關節炎、肌腱炎、滑膜炎、腱鞘炎、滑囊炎、纖維組織炎、肌肉纖維疼痛、上髌炎、肌炎及骨炎、佩吉特氏病(Paget's disease)、恥骨骨炎、囊性纖維性骨炎、眼部免疫病症、瞼炎、眼瞼鬆弛、結膜炎、淚腺炎、角膜炎、乾性角膜結膜炎(乾眼)、鞏膜炎、倒睫、眼色素層炎、神經系統免疫、腦炎、格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)、腦膜炎、神經肌強直、發作性睡病、多發性硬化症、脊髓炎、精神分裂症、血管或淋巴系統炎症、關節硬化、關節炎、靜脈炎、血管炎、淋巴管炎、消化系統免疫病症、膽管炎、膽囊炎、腸炎、小腸結腸

炎、胃炎、胃腸炎、回腸炎、直腸炎、腸躁症候群、顯微鏡下結腸炎、淋巴細胞性漿細胞腸炎、腹腔病、膠原性結腸炎、淋巴細胞性結腸炎、嗜酸性球性小腸結腸炎、未定型結腸炎、假膜性結腸炎(壞死性結腸炎)、缺血性發炎性腸病、白塞氏病(Behcet's disease)、類肉瘤病、硬皮病、IBD相關發育不良、發育不良相關腫塊或病變、原發性硬化性膽管炎、生殖系統免疫病症、子宮頸炎、絨膜羊膜炎、子宮內膜炎、附睪炎、膈炎、卵巢炎、睪丸炎、輸卵管炎、輸卵管-卵巢膿腫、尿道炎、陰道炎、外陰炎、外陰疼痛、自體免疫病況、急性散播性全身性禿髮症、白塞氏病、卻格司氏病(Chagas' disease)、慢性疲勞症候群、自主神經障礙、腦脊髓炎、關節黏連性脊椎炎、再生不良性貧血、化膿性汗腺炎、自體免疫性肝炎、自體免疫性卵巢炎、乳糜瀉、1型糖尿病、巨大細胞動脈炎、古巴士德氏症候群(goodpasture's syndrome)、格雷氏病(Grave's disease)、格-巴二氏症候群、亨諾-絲奇恩賴紫斑症(Henoch-Schonlein purpura)、川崎氏病(Kawasaki's disease)、紅斑狼瘡、顯微鏡下結腸炎、顯微鏡下多動脈炎、混合結締組織疾病、穆-韋二氏症候群(Muckle-Wells syndrome)、多發性硬化症、重症肌無力、眼陣攣肌陣攣症候群、視神經炎、奧德氏甲狀腺炎(ord's thyroiditis)、天疱瘡、結節性多動脈炎、多肌痛、類風濕性關節炎、萊特爾氏症候群(Reiter's syndrome)、休格連氏症候群(Sjogren's syndrome)、顱動脈炎、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、溫抗體型自體免疫性溶血性貧血、間質性膀胱炎、萊姆病(Lyme disease)、硬斑病、牛皮癬、類肉瘤病、硬皮病、潰瘍性結腸炎、白斑病、T細胞介導之過敏疾病、接觸性過敏、接觸性皮炎、蕁麻疹、皮膚過敏、呼吸道過敏、花粉熱、過敏性鼻炎、屋塵蟎過敏、麩質敏感性腸病、

乳糜瀉、闌尾炎、皮炎、皮肌炎、心內膜炎、纖維組織炎、牙齦炎、舌炎、肝炎、化膿性汗腺炎、虹膜炎、喉炎、乳房炎、心肌炎、腎炎、耳炎、胰臟炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、肺炎、前列腺炎、腎盂腎炎、口腔炎、移植排斥、急性胰臟炎、慢性胰臟炎、急性呼吸窘迫症候群、塞紮里氏症候群(Sexary's syndrome)、先天性腎上腺增生、非化膿性甲狀腺炎、癌症相關高鈣血症、天疱瘡、大皰性疱疹樣皮炎、重度多形性紅斑、剝落性皮炎、脂溢性皮炎、季節性或常年性過敏性鼻炎、支氣管哮喘、接觸性皮炎、異位性皮炎、藥物過敏反應、過敏性結膜炎、角膜炎、眼部帶狀疱疹、虹膜炎及虹膜睫狀體炎、脈絡膜視網膜炎、視神經炎、症狀性類肉瘤病、暴發性或散播性肺結核化學療法、成人特發性血小板減少性紫斑症、成人繼發性血小板減少症、後天性(自體免疫性)溶血性貧血、成人白血病及淋巴瘤、兒童急性白血病、局部性腸炎、自體免疫性血管炎、多發性硬化症、慢性阻塞性肺病、實體器官移植排斥、敗血症、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、多發性硬化症、1型糖尿病、哮喘、發炎性腸病、全身性紅斑狼瘡、牛皮癬、慢性阻塞性肺病、感染性病況伴隨炎症及敗血症。

【第16項】

如請求項14之方法，其中該免疫病症為遲發型過敏、過敏性接觸性皮炎、自體免疫性心肌炎、1型糖尿病、肉芽腫、周邊神經病變、橋本氏甲狀腺炎、多發性硬化症、類風濕性關節炎、結腸炎症、結腸炎、潰瘍性結腸炎、顯微鏡下結腸炎、膠原性結腸炎、轉流性結腸炎、化學性結腸炎、缺血性結腸炎、未定型結腸炎、非典型結腸炎、消化疾病、克羅恩氏病或發炎性腸病。

【第17項】

如請求項1至13中任一項之方法，其中該疾病為癌症。

【第18項】

如請求項17之方法，其中該癌症選自由以下組成之群：惡性血液病、急性非淋巴細胞性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、急性顆粒球性白血病、慢性顆粒球性白血病、急性前髓細胞性白血病、成人T細胞白血病、白血球缺乏性白血病、白血球性白血病、嗜鹼性球性白血病、胚細胞白血病、牛白血病、慢性骨髓細胞性白血病、皮膚白血病、胚胎白血病、嗜酸性球性白血病、格羅斯白血病(Gross' leukemia)、里德爾細胞白血病(Rieder cell leukemia)、希林氏白血病(Schilling's leukemia)、幹細胞白血病、亞白血性白血病、未分化型細胞白血病、毛細胞白血病、血母細胞性白血病、血胚細胞性白血病、組織細胞性白血病、幹細胞白血病、急性單核球性白血病、白血球減少性白血病、淋巴性白血病、淋巴母細胞白血病、淋巴細胞性白血病、淋巴生成性白血病、類淋巴細胞性白血病、淋巴肉瘤細胞白血病、肥大細胞白血病、巨核細胞白血病、小骨髓母細胞性白血病、單核球性白血病、骨髓母細胞性白血病、骨髓細胞性白血病、骨髓顆粒球性白血病、骨髓單核球性白血病、內格利白血病(Naegeli leukemia)、漿細胞白血病、漿球性白血病、前髓細胞性白血病、腺泡癌、腺泡狀癌、腺囊癌、腺樣囊性癌、腺瘤癌、腎上腺皮質癌、肺泡癌、肺泡細胞癌、基底細胞癌、基底樣細胞癌、基底樣癌、基底鱗狀細胞癌、細支氣管肺泡癌、細支氣管癌、支氣管癌、腦樣癌(cerebriform carcinoma)、膽管細胞癌、絨毛膜癌、膠質性癌、粉刺性癌、子宮體癌、篩骨狀癌、鎧甲狀癌、皮膚癌、圓柱狀癌、圓柱狀細胞癌、導管癌、硬癌

(carcinoma durum)、胚胎性癌、腦樣癌(encephaloid carcinoma)、表皮樣癌、腺狀上皮癌、外生性癌、潰瘍性癌、纖維癌、膠狀癌、膠體癌、巨細胞癌(giant cell carcinoma)、戒環細胞癌、單純癌、小細胞癌、馬鈴薯狀癌、球狀細胞癌、梭狀細胞癌、髓狀癌、鱗狀癌、鱗狀細胞癌、繩捆癌、毛細管擴張癌、血管擴張癌、移行細胞癌、塊狀癌、結節性癌、疣狀癌、絨毛狀癌、巨細胞癌(carcinoma gigantocellulare)、腺癌、粒層細胞癌、基底細胞癌(hair-matrix carcinoma)、血樣癌、肝細胞癌、何氏細胞癌(Hurthle cell carcinoma)、玻質狀癌、腎上腺樣癌、嬰兒胚胎性癌、原位癌、表皮內癌、上皮內癌、侵蝕性潰瘍(Krompecher's carcinoma)、庫爾契茨基細胞癌(Kulchitzky-cell carcinoma)、大細胞癌、扁豆狀癌、豆狀癌、脂癌、淋巴上皮癌、髓樣癌、髓質癌、黑色素癌、軟癌、黏液素癌、黏液癌、黏液細胞癌、黏液表皮樣癌、黏膜癌、黏液性癌、黏液瘤樣癌、鼻咽癌、燕麥狀細胞癌、骨化性癌、骨樣癌、乳頭狀癌、門脈周性癌、未侵襲癌、棘細胞癌、髓樣癌、腎臟腎細胞癌、儲備細胞癌、肉瘤樣癌、施耐德癌(schneiderian carcinoma)、硬癌(scirrhou carcinoma)、陰囊癌、軟骨肉瘤、纖維肉瘤、淋巴肉瘤、黑色素肉瘤、黏液肉瘤、骨肉瘤、子宮內膜肉瘤、基質肉瘤、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、筋膜肉瘤、纖維母細胞肉瘤、巨細胞肉瘤、艾伯內西氏肉瘤(Abemethy's sarcoma)、脂肉瘤、脂肪肉瘤、軟組織肺泡狀肉瘤、釉質母細胞肉瘤、葡萄樣肉瘤、綠色瘤肉瘤、絨膜癌、胚胎肉瘤、威耳姆士腫瘤肉瘤(Wilms' tumor sarcoma)、顆粒球性肉瘤、霍奇金氏肉瘤(Hodgkin's sarcoma)、特發性多發性色素性出血性肉瘤、B細胞免疫胚細胞肉瘤、淋巴瘤、T細胞免疫胚細胞肉瘤、詹恩遜氏肉瘤(Jensen's sarcoma)、卡波西氏肉瘤(Kaposi's

sarcoma)、庫普弗細胞肉瘤(Kupffer cell sarcoma)、血管肉瘤、白血病性肉瘤、惡性間質瘤肉瘤、骨膜外肉瘤、網狀細胞肉瘤、勞斯肉瘤(Rous sarcoma)、漿液囊性肉瘤、滑液肉瘤、毛細管擴張性肉瘤、霍奇金氏病(Hodgkin's Disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(Non-Hodgkin's Lymphoma)、多發性骨髓瘤、神經母細胞瘤、乳房癌、卵巢癌、肺癌、橫紋肌肉瘤、原發性血小板增多症、原發性巨球蛋白血症、小細胞肺腫瘤、原發性腦瘤、胃癌、結腸癌、惡性胰島瘤、惡性類癌、癌前皮膚病變、睪丸癌、淋巴瘤、甲狀腺癌、神經母細胞瘤、食道癌、泌尿生殖道癌、惡性高鈣血症、子宮頸癌、子宮內膜癌、腎上腺皮層癌、哈帕二氏黑色素瘤(Harding-Passey melanoma)、青少年型黑色素瘤、小痣性惡性黑色素瘤、惡性黑色素瘤、肢端小痣性黑色素瘤、無黑色素性黑色素瘤、良性青少年型黑色素瘤、克勞德曼氏黑色素瘤(Cloudman's melanoma)、S91黑色素瘤、結節性黑色素瘤、甲下黑色素瘤及淺表擴散性黑色素瘤。

【第19項】

如前述請求項中任一項之方法，其中該細菌組合物係經口、經直腸、靜脈內、瘤內或皮下投與。

【第20項】

如請求項1至4及6至19中任一項之方法，其中該細菌組合物中至少50%該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第21項】

如請求項1至4及6至19中任一項之方法，其中該細菌組合物中至少90%該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第22項】

如請求項1至4及6至19中任一項之方法，其中該細菌組合物中實質上所有該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第23項】

如請求項1至4及6至22中任一項之方法，其中該細菌組合物包含至少 1×10^6 個菌落形成單位(CFU)之表1中列舉之細菌菌株。

【第24項】

如請求項23之方法，其中該細菌組合物包含至少 1×10^7 個CFU之表1中列舉之細菌菌株。

【第25項】

如請求項23之方法，其中該細菌組合物包含至少 1×10^8 個CFU之表1中列舉之細菌菌株。

【第26項】

如請求項1至25中任一項之方法，其中該細菌組合物係以兩次或更多次劑量投與。

【第27項】

如請求項26之方法，其中向該個體之該等兩次或更多次劑量之投與相隔至少1天。

【第28項】

如請求項27之方法，其中該等兩次或更多次劑量之投與相隔至少1週。

【第29項】

如請求項1至4及6至28中任一項之方法，其中該細菌組合物包含活細菌。

【第30項】

如請求項1至4及6至28中任一項之方法，其中該細菌組合物包含減毒細菌。

【第31項】

如請求項1至4及6至30中任一項之方法，其中該細菌組合物包含經殺滅之細菌。

【第32項】

如請求項31之方法，其中該細菌組合物包含經照射之細菌。

【第33項】

如請求項31之方法，其中該細菌組合物包含經 γ 照射之細菌。

【第34項】

如請求項1至33中任一項之方法，其中該範永氏球菌對多黏菌素具有耐藥性。

【第35項】

如請求項34之方法，其中該多黏菌素為多黏菌素B或可利斯汀(colistin)。

【第36項】

如請求項1至35中任一項之方法，其中該範永氏球菌包含LPS突變體。

【第37項】

如請求項36之方法，其中該LPS突變體為涉及於脂質A生物合成之基因中之突變或破壞。

【第38項】

如請求項37之方法，其中該基因為*lpxA*、*lpxC*或*lpxD*。

【第39項】

如請求項1至16及19至38中任一項之方法，其中該細菌組合物之投與治療該免疫病症。

【第40項】

如請求項1至16及19至40中任一項之方法，其中該細菌組合物之投與誘發免疫反應。

【第41項】

如請求項1至40中任一項之方法，其中該方法進一步包含向該個體投與額外治療劑。

【第42項】

如請求項41之方法，其中該額外治療劑選自由以下組成之群：免疫抑制劑、DMARD、疼痛控制藥物、類固醇、非類固醇消炎藥(NSAID)、細胞介素拮抗劑、環孢素、類視黃素、皮質類固醇、丙酸衍生物、乙酸衍生物、烯醇酸衍生物、芬那酸衍生物、Cox-2抑制劑、盧米羅可(lumiracoxib)、布洛芬、膽鹼柳酸鎂、非諾洛芬(fenoprofen)、雙柳酸酯、二氟尼柳、托美丁(tolmetin)、酮洛芬、氟比洛芬、奧沙普嗪(oxaprozin)、吲哚美辛(indomethacin)、舒林酸(sulindac)、依託度酸(etodolac)、酮咯酸、萘丁美酮、萘普生(naproxen)、伐地昔布(valdecoxib)、依託昔布(etoricoxib)、MK0966；羅非昔布(rofecoxib)、乙醯胺苯酚、塞內昔布(Celecoxib)、雙氯芬酸、曲馬多(tramadol)、吡羅昔康(piroxicam)、美洛昔康(meloxicam)、替諾昔康(tenoxicam)、屈惡昔康(droxicam)、氯諾昔康(lornoxicam)、伊索昔康(isoxicam)、甲芬那

酸、甲氯芬那酸、氟芬那酸、托芬那酸、伐地昔布、帕瑞昔布(parecoxib)、依託度酸、吲哚美辛、阿司匹林(aspirin)、布洛芬、非羅昔布(firocoxib)、甲胺喋呤(MTX)、抗瘧疾藥、羥基氯奎、氯奎、柳氮磺胺吡啶、來氟米特(Leflunomide)、硫唑嘌呤、環孢素、金鹽、米諾四環素、環磷醯胺、D-青黴胺、米諾四環素、金諾芬(auranofin)、他克莫司(tacrolimus)、硫代苯酸金鈉(myocrisin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、TNF α 拮抗劑(TNF α 拮抗劑、TNF α 受體拮抗劑)、阿達木單抗(ADALIMUMAB)(Humira®)、依那西普(ETANERCEPT)(Enbrel®)、英利昔單抗(INFLIXIMAB)(Remicade®; TA-650)、聚乙二醇化賽妥珠單抗(CERTOLIZUMAB PEGOL)(Cimzia®; CDP870)、戈利木單抗(GOLIMUMAB)(Simpom®; CNTO 148)、阿那白滯素(ANAKINRA)(Kineret®)、利妥昔單抗(RITUXIMAB)(Rituxan®; MabThera®)、阿巴西普(ABATACEPT)(Orencia®)、托珠單抗(TOCILIZUMAB)(RoActemra/Actemra®)、整合素拮抗劑、TYSABRI®(那他珠單抗(natalizumab))、IL-1拮抗劑、ACZ885 (Ilaris)、阿那白滯素(Kineret®)、CD4拮抗劑、IL-23拮抗劑、IL-20拮抗劑、IL-6拮抗劑、BLyS拮抗劑、阿塞西普(Atacicept)、Benlysta®/LymphoStat-B®(貝利單抗(belimumab))、p38抑制劑、CD20拮抗劑、奧克珠單抗(Ocrelizumab)、奧伐木單抗(Ofatumumab)(Arzerra®)、干擾素 γ 拮抗劑、芳妥珠單抗(Fontolizumab)、潑尼龍(prednisolone)、潑尼松(Prednisone)、地塞米松(dexamethasone)、皮質醇、皮質酮、氫皮質酮、甲基潑尼龍、倍他米松(betamethasone)、曲安西龍(triamcinolone)、貝洛他松(beclometasone)、氟氫可的松(fludrocortisone)、脫氧皮質固酮、醛

固酮、多西環素、萬古黴素(vancomycin)、吡格列酮(pioglitazone)、SBI-087、SCIO-469、Cura-100、昂科星+維生素德(Oncoxin+Viusid)、TwHF、甲氧沙林(Methoxsalen)、維生素D-麥角鈣化固醇、米那普侖(Milnacipran)、太平洋紫杉醇、羅格酮(rosig tazone)、他克莫司(Tacrolimus)、Prograf®、RADOOL、雷帕鳴(rapamune)、雷帕黴素(rapamycin)、福他替尼(fostamatinib)、芬太尼(Fentanyl)、XOMA 052、福他替尼二鈉、羅格列酮(rosightazone)、薑黃素、Longvida™、羅素他汀(Rosuvastatin)、馬拉維若(Maraviroc)、雷米普利(ramipnl)、米那普侖(Milnacipran)、科普斯酮(Cobiprostone)、生長激素(somatropin)、tgAAC94基因療法載體、MK0359、GW856553、埃索美拉唑(esomeprazole)、依維莫司(everolimus)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、JAK1及JAK2抑制劑、泛JAK抑制劑，例如四環吡啶酮6 (P6)、325、PF-956980、地諾單抗(denosumab)、IL-6拮抗劑、CD20拮抗劑、CTLA4拮抗劑、IL-8拮抗劑、IL-21拮抗劑、IL-22拮抗劑、整合素拮抗劑、Tysarbri® (那他珠單抗)、VGEF拮抗劑、CXCL拮抗劑、MMP拮抗劑、防禦素拮抗劑、IL-1拮抗劑、IL-1 β拮抗劑、IL-23拮抗劑、受體誘餌、拮抗性抗體、皮質類固醇、美色拉嗪(mesalazine)、美塞拉明(mesalamine)、柳氮磺胺吡啶、柳氮磺胺吡啶衍生物、免疫抑制藥、環孢素A、巯基嘌呤、硫唑嘌呤、潑尼松、甲胺喋呤、抗組織胺、糖皮質激素、腎上腺素、茶鹼、色甘酸鈉、抗白三烯、用於鼻炎之抗膽鹼激導性藥、TLR拮抗劑、炎性體抑制劑、抗膽鹼激導性解充血劑、肥大細胞穩定劑、單株抗IgE抗體、疫苗、細胞介素抑制劑、抗IL-6抗體、TNF抑制劑、英利昔單抗、阿達木單抗、聚乙二醇化賽妥珠單抗、戈利木單抗或依

那西普。

【第43項】

如請求項25至27中任一項之方法，其中該額外治療劑為抗生素。

【第44項】

如請求項43之方法，其中該抗生素選自由以下組成之群：胺基糖苷、安莎黴素(ansamycin)、碳頭孢烯、碳青黴烯、頭孢菌素、糖肽、林可醯胺、脂肽、巨環內酯、單環 β -內醯胺、硝基呋喃、噁唑啉酮、青黴素、多肽抗生素、喹諾酮、氟喹諾酮、磺醯胺、四環素、抗分枝桿菌化合物及其組合。

【第45項】

如請求項41之方法，其中該額外治療劑為癌症治療劑。

【第46項】

如請求項45之方法，其中該癌症治療劑包含化學療法藥劑。

【第47項】

如請求項46之方法，其中該化學療法藥劑選自由以下組成之群：噻替派(thiotepa)、環磷醯胺、硫酸布他卡因(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、哌泊舒凡(piposulfan)、苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)、尤利多巴(uredopa)、六甲蜜胺、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺、三羥甲基三聚氰胺、布拉他辛(bullatacin)、布拉他辛酮(bullatacinone)、喜樹鹼、拓朴替康(topotecan)、苔蘚蟲素、卡利斯他汀(callystatin)、CC-1065、念珠藻素1、念珠藻素8、海兔毒素、倍癌黴素、艾榴塞洛素(eleutherobin)、水鬼蕉鹼、沙考地汀(sarcodictyin)、海綿抑制素、苯丁

酸氮芥、萘氮芥、氯磷醯胺、雌氮芥、異環磷醯胺、甲基二(氯乙基)胺、
 氧化甲基二(氯乙基)胺鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新氮芥、膽固醇對苯
 乙酸氮芥、潑尼氮芥、曲洛磷胺、脲嘧啶氮芥、卡莫司汀(carmustine)、
 氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀
 (lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、卡奇黴素
 (calicheamicin)、達內黴素(dynemicin)、氯屈膦酸鹽、埃斯培拉黴素
 (esperamicin)、新抑癌蛋白發色團、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌
 素、奧納黴素(authrarnycin)、偶氮絲胺酸、博萊黴素(bleomycin)、放線
 菌素c、卡拉比星(carabycin)、洋紅黴素、嗜癌黴素、色黴素、放線菌素
 d、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基
 -L-正白胺酸、小紅莓、表阿黴素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾
 達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素、絲裂黴素
 C、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素、培洛黴素
 (peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素、三鐵阿黴素
 (quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素、鏈脲佐菌素、殺結核
 菌素、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星
 (zorubicin)、甲胺喋呤、5-氟脲嘧啶(5-FU)、迪諾特寧(denopterin)、甲
 胺喋呤、蝶羅呤、曲美沙特(trimetrexate)、氟達拉濱(fludarabine)、6-巰
 基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤、環胞苷(ancitabine)、阿紫胞苷
 (azacitidine)、6-氮脲苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二脫氧脲苷、
 脫氧氟脲苷、依諾他濱(enocitabine)、氟脲苷、卡魯甾酮(calusterone)、
 丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇、美雄烷、甾內
 酯、胺魯米特、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)、弗羅林酸、醋

葡醛內酯、醛磷醯胺糖苷、胺基乙醯丙酸、恩脲嘧啶、安吡啶、貝斯布西(bestrabucil)、比生群、依達曲沙(edatraxate)、得弗伐胺(defofamine)、地美可辛(demecolcine)、地吡醯、艾福米辛(elformithine)、依利醋鉍、埃坡黴素(epothilone)、依託格魯(etoglucid)、硝酸鎂、羥基尿素、磨菇多糖、氯尼達明(lonidainine)、美登素、安絲菌素、丙脒脒、米托蒽醯、莫比達摩(mopidanmol)、二胺硝吡啶、噴司他汀(pentostatin)、苯來美特(phenamet)、吡柔比星(pirarubicin)、洛索蒽醯、鬼臼酸、2-乙基醯肼、丙卡巴肼、PSK多糖複合物、雷佐生(razoxane)、根瘤菌素、西佐喃(sizofuran)、鎳螺胺、細交鏈孢菌酮酸、三亞胺醯、2,2',2''-三氯三乙胺、新月毒素、T-2毒素、弗納庫林A (verracurin A)、桿孢菌素A、蛇形菌素、胺甲酸乙酯、長春地辛、達卡巴嗪(dacarbazine)、甘露醇氮芥、二溴甘露醇、二溴衛矛醇、哌泊溴烷、加西托星(gacytosine)、阿拉伯糖苷、環磷醯胺、噻替派、太平洋紫杉醇、多西他賽(doxetaxel)、苯丁酸氮芥、吉西他濱(gemcitabine)、6-硫代鳥嘌呤、巯基嘌呤、甲胺喋呤、順鉑、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑、長春鹼、鉑、依託泊苷(etoposide)、異環磷醯胺、米托蒽醯、長春新鹼、長春瑞濱、諾凡特龍(novantrone)、替尼泊甙(teniposide)、依達曲沙(edatrexate)、柔紅黴素、胺基喋呤、截瘤達(xeloda)、伊班膦酸鹽、伊立替康(irinotecan)、RFS 2000、二氟甲基鳥胺酸、視黃酸及卡培他濱(capecitabine)。

【第48項】

如請求項45至47中任一項之方法，其中該癌症治療劑包含癌症免疫療法藥劑。

【第49項】

如請求項48之方法，其中該癌症免疫療法藥劑包含免疫檢查點抑制劑。

【第50項】

如請求項49之方法，其中該免疫檢查點抑制劑為與免疫檢查點蛋白特異性結合之抗體或其抗原結合片段。

【第51項】

如請求項41之方法，其中該免疫檢查點蛋白選自由以下組成之群：CTLA4、PD-1、PD-L1、PD-L2、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、KIR、LAG3、TIM-3或VISTA。

【第52項】

如請求項49之方法，其中該免疫檢查點抑制劑選自由以下組成之群：納武單抗(nivolumab)、派姆單抗(pembrolizumab)、皮立珠單抗(pidilizumab)、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、RG-7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB-0020718C、AUR-012及STI-A1010。

【第53項】

如請求項48至52中任一項之方法，其中該癌症免疫療法藥劑包含癌症特異性抗體或其抗原結合片段。

【第54項】

如請求項53之方法，其中該癌症特異性抗體或其抗原結合片段與癌症相關抗原特異性結合。

【第55項】

如請求項45之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親

脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH (hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KK-LC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-ran、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、

PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β RII、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第56項】

如請求項55之方法，其中該癌症相關抗原為新抗原。

【第57項】

如請求項48至56中任一項之方法，其中該癌症免疫療法藥劑包含癌症疫苗。

【第58項】

如請求項57之方法，其中該癌症疫苗包含有包含癌症相關抗原之抗原決定基之多肽。

【第59項】

如請求項58之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH

(hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶(Hepsin)、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KK-LC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-ran、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β R2、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、

VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第60項】

如請求項58之方法，其中該癌症相關抗原為新抗原。

【第61項】

如請求項58至60中任一項之方法，其中該多肽為融合蛋白。

【第62項】

如請求項57之方法，其中該癌症疫苗包含編碼癌症相關抗原之抗原決定基之核酸。

【第63項】

如請求項62之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH (hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KK-

LC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-raw、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β R2、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第64項】

如請求項62之方法，其中該癌症相關抗原為新抗原。

【第65項】

如請求項62至64中任一項之方法，其中該核酸為DNA。

【第66項】

如請求項62至64中任一項之方法，其中該核酸為RNA。

【第67項】

如請求項66之方法，其中該RNA為mRNA。

【第68項】

如請求項65至67中任一項之方法，其中該核酸係處於載體中。

【第69項】

如請求項68之方法，其中該載體為細菌載體。

【第70項】

如請求項69之方法，其中該細菌載體選自由以下組成之群：牛分支桿菌(*Mycobacterium bovis* ; BCG)、鼠傷寒沙氏桿菌屬(*Salmonella Typhimurium* ssp.)、傷寒沙氏桿菌屬(*Salmonella Typhi* ssp.)、芽孢梭菌孢子(*Clostridium* sp. spore)、大腸桿菌(*Escherichia coli*) Nissle 1917、大腸桿菌K-12/LLO、單核球增多性李氏菌(*Listeria monocytogenes*)及副痢疾桿菌(*Shigella flexneri*)。

【第71項】

如請求項68之方法，其中該載體為病毒載體。

【第72項】

如請求項71之方法，其中該病毒載體選自由以下組成之群：牛痘、腺病毒、RNA病毒及複製缺陷鳥類痘、複製缺陷禽痘、複製缺陷金絲雀痘、複製缺陷MVA及複製缺陷腺病毒。

【第73項】

如請求項48至72中任一項之方法，其中該免疫療法藥劑包含經癌症特異性抗原誘發之抗原呈現細胞(APC)。

【第74項】

如請求項73之方法，其中該APC為樹突細胞、巨噬細胞或B細胞。

【第75項】

如請求項73或請求項74之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH (hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KK-LC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1(亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-

3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-raw、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β RII、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第76項】

如請求項73或請求項74之方法，其中該癌症相關抗原為新抗原。

【第77項】

如請求項48至76中任一項之方法，其中該免疫療法藥劑包含癌症特异性嵌合抗原受體(CAR)。

【第78項】

如請求項77之方法，其中該CAR係投與至T細胞之表面上。

【第79項】

如請求項77或78之方法，其中該CAR與癌症相關抗原特异性結合。

【第80項】

如請求項79之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連

環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH(hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KKLC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-ras、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋

白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β RII、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第81項】

如請求項78之方法，其中該癌症相關抗原為新抗原。

【第82項】

如請求項48至81中任一項之方法，其中該免疫療法藥劑包含癌症特異性T細胞。

【第83項】

如請求項82之方法，其中該T細胞為CD4⁺ T細胞。

【第84項】

如請求項83之方法，其中該CD4⁺ T細胞為T_H1 T細胞、T_H2 T細胞或T_H17 T細胞。

【第85項】

如請求項82至84中任一項之方法，其中該T細胞表現對癌症相關抗原具有特異性之T細胞受體。

【第86項】

如請求項85之方法，其中該癌症相關抗原選自由以下組成之群：親脂素、AIM-2、ALDH1A1、 α -輔肌動蛋白-4、 α -胎蛋白(「AFP」)、ARTC1、B-RAF、BAGE-1、BCLX (L)、BCR-ABL融合蛋白b3a2、 β -連環蛋白、BING-4、CA-125、CALCA、癌胚抗原(「CEA」)、CASP-5、

CASP-8、CD274、CD45、Cdc27、CDK12、CDK4、CDKN2A、CEA、CLPP、COA-1、CPSF、CSNK1A1、CTAG1、CTAG2、週期蛋白D1、週期蛋白-A1、dek-can融合蛋白、DKK1、EFTUD2、延長因子2、ENAH(hMena)、Ep-CAM、EpCAM、EphA3、上皮腫瘤抗原(「ETA」)、ETV6-AML1融合蛋白、EZH2、FGF5、FLT3-ITD、FN1、G250/MN/CAIX、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-8、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAS7、磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3、GnTV、gp100/Pmel17、GPNMB、HAUS3、肝絲酶、HER-2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A11、HLA-A2、HLA-DOB、hsp70-2、IDO1、IGF2B3、IL13R α 2、腸羧基酯酶、K-ras、胰舒血管素4、KIF20A、KKLC-1、KKLC1、KM-HN-1、KMHN1 (亦稱為CCDC110)、LAGE-1、LDLR-岩藻糖基轉移酶AS融合蛋白、Lengsin、M-CSF、MAGE-A1、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-C1、MAGE-C2、蘋果酸酶、乳腺球蛋白-A、MART2、MATN、MC1R、MCSP、mdm-2、ME1、Melan-A/MART-1、Meloe、中期因子、MMP-2、MMP-7、MUC1、MUC5AC、黏蛋白、MUM-1、MUM-2、MUM-3、肌凝蛋白、I類肌凝蛋白、N-ras、NA88-A、neo-PAP、NFYC、NY-BR-1、NY-ESO-1/LAGE-2、OA1、OGT、OS-9、P多肽、p53、PAP、PAX5、PBF、pml-RAR α 融合蛋白、多型上皮黏蛋白(「PEM」)、PPP1R3B、PRAME、PRDX5、PSA、PSMA、PTPRK、RAB38/NY-MEL-1、RAGE-1、RBAF600、RGS5、RhoC、RNF43、RU2AS、SAGE、分離蛋白1、SIRT2、SNRPD1、SOX10、Sp17、SPA17、SSX-2、SSX-4、

STEAP1、存活素、SYT-SSX1或SYT-SSX2融合蛋白、TAG-1、TAG-2、端粒酶、TGF- β RII、TPBG、TRAG-3、磷酸丙糖異構酶、TRP-1/gp75、TRP-2、TRP2-INT2、酪胺酸酶、酪胺酸酶(「TYR」)、VEGF、WT1及XAGE-1b/GAGED2a。

【第87項】

如請求項48至86中任一項之方法，其中該免疫療法藥劑包含免疫活化蛋白。

【第88項】

如請求項87之方法，其中該免疫活化蛋白為細胞介素或趨化介素。

【第89項】

如請求項88之方法，其中該免疫活化蛋白選自由以下組成之群：B淋巴細胞趨化因子(「BLC」)、C-C模體趨化介素11(「伊紅趨素-1」)、嗜伊紅白血球趨化蛋白2(「伊紅趨素-2」)、顆粒球群落刺激因子(「G-CSF」)、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子(「GM-CSF」) 1-309、細胞間黏著分子1(「ICAM-1」)、干擾素 α (「IFN- α 」)、干擾素 β (「IFN- β 」)、干擾素 γ (「IFN- γ 」)、介白素-1 α (「IL-1 α 」)、介白素-1 β (「IL-1 β 」)、介白素1受體拮抗劑(「IL-1 ra」)、介白素-2(「IL-2」)、介白素-4(「IL-4」)、介白素-5(「IL-5」)、介白素-6(「IL-6」)、介白素-6可溶性受體(「IL-6 sR」)、介白素-7(「IL-7」)、介白素-8(「IL-8」)、介白素-10(「IL-10」)、介白素-11(「IL-11」)、介白素-12之次單元 β (「IL-12 p40」或「IL-12 p70」)、介白素-13(「IL-13」)、介白素-15(「IL-15」)、介白素-16(「IL-16」)、介白素-17A-F(「IL-17A-F」)、介白素-18(「IL-18」)、介白素-21(「IL-21」)、介白素-22(「IL-22」)、介白

素-23 (「IL-23」)、介白素-33 (「IL-33」)、趨化介素(C-C模體)配位體2 (「MCP-1」)、巨噬細胞群落刺激因子(「M-CSF」)、 γ 干擾素誘導之單核球激素(「MIG」)、趨化介素(C-C模體)配位體2 (「MIP-1 α 」)、趨化介素(C-C模體)配位體4 (「MIP-1 β 」)、巨噬細胞炎性蛋白-1- δ (「MIP-1 δ 」)、血小板衍生生長因子次單元B (「PDGF-BB」)、趨化介素(C-C模體)配位體5、調節活化正常T細胞表現及分泌因子(「RANTES」)、TIMP金屬肽酶抑制因子1 (「TIMP-1」)、TIMP金屬肽酶抑制因子2 (「TIMP-2」)、腫瘤壞死因子淋巴毒素- α (「TNF α 」)、腫瘤壞死因子淋巴毒素- β (「TNF β 」)、1型可溶性TNF受體(「sTNFRI」)、sTNFRIIAR、腦源性神經滋養因子(「BDNF」)、鹼性纖維母細胞生長因子(「bFGF」)、骨成形性蛋白4 (「BMP-4」)、骨成形性蛋白5 (「BMP-5」)、骨成形性蛋白7 (「BMP-7」)、神經生長因子(「b-NGF」)、表皮生長因子(「EGF」)、表皮生長因子受體(「EGFR」)、內分泌腺來源之血管內皮生長因子(「EG-VEGF」)、纖維母細胞生長因子4 (「FGF-4」)、角質細胞生長因子(「FGF-7」)、生長分化因子15 (「GDF-15」)、膠細胞來源之神經滋養因子(「GDNF」)、生長激素、類肝素結合性EGF生長因子(「HB-EGF」)、肝細胞生長因子(「HGF」)、類胰島素生長因子結合蛋白1 (「IGFBP-1」)、類胰島素生長因子結合蛋白2 (「IGFBP-2」)、類胰島素生長因子結合蛋白3 (「IGFBP-3」)、類胰島素生長因子結合蛋白4 (「IGFBP-4」)、類胰島素生長因子結合蛋白6 (「IGFBP-6」)、類胰島素生長因子1 (「IGF-1」)、胰島素、巨噬細胞群落刺激因子(「M-CSF R」)、神經生長因子受體(「NGF R」)、神經滋養蛋白-3 (「NT-3」)、神經滋養蛋白-4 (「NT-4」)、破骨細胞生成抑制因子(「護骨素」)、血小

板來源之生長因子受體(「PDGF-AA」)、磷脂肌醇-聚糖生物合成(「PIGF」)、含Skp、Cullin、F-box之複合物(「SCF」)、幹細胞因子受體(「SCF R」)、轉變生長因子 α (「TGF α 」)、轉變生長因子 β -1 (「TGF β 1」)、轉變生長因子 β -3 (「TGF β 3」)、血管內皮生長因子(「VEGF」)、血管內皮生長因子受體2 (「VEGFR2」)、血管內皮生長因子受體3 (「VEGFR3」)、VEGF-D 6Ckine、酪胺酸-蛋白激酶受體UFO (「Ax1」)、 β 細胞調節素(「BTC」)、黏膜相關上皮趨化介素(「CCL28」)、趨化介素(C-C模體)配位體27 (「CTACK」)、趨化介素(C-X-C模體)配位體16 (「CXCL16」)、C-X-C模體趨化介素5 (「ENA-78」)、趨化介素(C-C模體)配位體26 (「伊紅趨素-3」)、顆粒球趨化蛋白2 (「GCP-2」)、GRO、趨化介素(C-C模體)配位體14 (「HCC-1」)、趨化介素(C-C模體)配位體16 (「HCC-4」)、介白素-9 (「IL-9」)、介白素-17 F (「IL-17F」)、介白素-18-結合蛋白(「IL-18 BPa」)、介白素-28 A (「IL-28A」)、介白素29 (「IL-29」)、介白素31 (「IL-31」)、C-X-C模體趨化介素10 (「IP-10」)、趨化介素受體CXCR3 (「I-TAC」)、白血病抑制因子(「LIF」)、Light、趨化介素(C模體)配位體(「淋巴細胞趨化介素」)、單核球趨化因子蛋白2 (「MCP-2」)、單核球趨化因子蛋白3 (「MCP-3」)、單核球趨化因子蛋白4 (「MCP-4」)、巨噬細胞來源之趨化介素(「MDC」)、巨噬細胞遷移抑制因子(「MIF」)、趨化介素(C-C模體)配位體20 (「MIP-3 α 」)、C-C模體趨化介素19 (「MIP-3 β 」)、趨化介素(C-C模體)配位體23 (「MPIF-1」)、巨噬細胞刺激蛋白 α 鏈(「MSP α 」)、類核小體裝配蛋白1之4 (「NAP-2」)、分泌磷蛋白1 (「骨橋蛋白」)、肺及活化調節細胞介素(「PARC」)、血小板因子4

(「PF4」)、基質細胞源性因子-1 α (「SDF-1 α 」)、趨化介素(C-C模體)配位體17 (「TARC」)、胸腺表現之趨化介素(「TECK」)、胸腺基質淋巴細胞生成素(「TSLP 4- IBB」)、CD 166抗原(「ALCAM」)、分化簇80 (「B7-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員17 (「BCMA」)、分化簇14 (「CD14」)、分化簇30 (「CD30」)、分化簇40 (「CD40配位體」)、癌胚抗原相關細胞黏著分子1 (膽糖蛋白) (「CEACAM-1」)、死亡受體6 (「DR6」)、脫氧胸苷激酶(「Dtk」)、1型膜糖蛋白(「內皮因子」)、受體酪胺酸-蛋白激酶erbB-3 (「ErbB3」)、內皮細胞-白血球黏著分子1 (「E-選滯蛋白」)、細胞凋亡抗原1 (「Fas」)、類Fms酪胺酸激酶3 (「Flt-3L」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員1 (「GITR」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員14 (「HVEM」)、細胞間黏著分子3 (「ICAM-3」)、IL-1 R4、IL-1 RI、IL-10 R β 、IL-17R、IL-2R γ 、IL-21R、溶酶體膜蛋白2 (「LIMPII」)、嗜中性球明膠酶相關脂質運載蛋白(「脂質運載蛋白-2」)、CD62L (「L-選滯蛋白」)、淋巴內皮(「LYVE-1」)、MHC I類多肽相關序列A (「MICA」)、MHC I類多肽相關序列B (「MICB」)、NRG1- β 1、 β 型血小板來源之生長因子受體(「PDGF R β 」)、血小板內皮細胞黏著分子(「PECAM-1」)、RAGE、A型肝炎病毒細胞受體1 (「TIM-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員IOC (「TRAIL R3」)、Trappin蛋白轉羧醯胺酸酶結合域(「Trappin-2」)、尿激酶受體(「uPAR」)、血管細胞黏著蛋白1 (「VCAM-1」)、XEDAR活化素A、刺鼠相關蛋白(「AgRP」)、核糖核酸酶5 (「血管生成素」)、血管生成素1、血管抑制素、組織蛋白酶S、CD40、隱藏家族蛋白IB (「Cripto-1」)、DAN、Dickkopf相關蛋白1 (「DKK-1」)、E-鈣黏蛋白、上皮細胞

黏著分子(「EpCAM」)、Fas配位體(FasL或CD95L)、Fcγ RIIB/C、濾泡抑素、半乳糖凝集素-7、細胞間黏著分子2 (「ICAM-2」)、IL-13 R1、IL-13R2、IL-17B、IL-2 Ra、IL-2 Rb、IL-23、LAP、神經元細胞黏著分子(「NrCAM」)、纖維蛋白溶酶原活化因子抑制因子-1 (「PAI-1」)、血小板來源之生長因子受體(「PDGF-AB」)、抵抗素、基質細胞源性因子1 (「SDF-1 β」)、sgpl30、分泌型捲曲相關蛋白2 (「ShhN」)、唾液酸結合免疫球蛋白型凝集素(「Siglec-5」)、ST2、轉變生長因子-β 2 (「TGF β 2」)、Tie-2、血小板生成素(「TPO」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員10D (「TRAIL R4」)、在骨髓細胞上表現之觸發受體1 (「TREM-1」)、血管內皮生長因子C (「VEGF-C」)、VEGFR1脂聯素、脂肪酶(「AND」)、α-胎蛋白(「AFP」)、類血管生成素4 (「ANGPTL4」)、β-2-微球蛋白(「B2M」)、基底細胞黏著分子(「BCAM」)、碳水化合物抗原125 (「CA125」)、癌抗原15-3 (「CA15-3」)、癌胚抗原(「CEA」)、cAMP受體蛋白(「CRP」)、人類表皮生長因子受體2 (「ErbB2」)、濾泡抑素、激濾泡素(「FSH」)、趨化介素(C-X-C模體)配位體1 (「GRO α」)、人類絨毛膜促性腺素(「β HCG」)、類胰島素生長因子1受體(「IGF-1 sR」)、IL-1 sRII、IL-3、IL-18 Rb、IL-21、瘦素、基質金屬蛋白酶-1 (「MMP-1」)、基質金屬蛋白酶-2 (「MMP-2」)、基質金屬蛋白酶-3 (「MMP-3」)、基質金屬蛋白酶-8 (「MMP-8」)、基質金屬蛋白酶-9 (「MMP-9」)、基質金屬蛋白酶-10 (「MMP-10」)、基質金屬蛋白酶-13 (「MMP-13」)、神經細胞黏著分子(「NCAM-1」)、巢蛋白(「Nidogen-1」)、神經元特異性烯醇酶(「NSE」)、抑瘤素M (「OSM」)、降鈣素原、泌乳素、前列腺特異性抗原(「PSA」)、類唾液

酸結合Ig凝集素9 (「Siglec-9」)、ADAM 17內肽酶(「TACE」)、甲狀腺球蛋白、金屬蛋白酶抑制因子4 (「TIMP-4」)、TSH2B4、含解整合素及金屬蛋白酶域蛋白9 (「ADAM-9」)、血管生成素2、腫瘤壞死因子配位體超家族成員13/酸性富白胺酸核磷蛋白32家族成員B (「APRIL」)、骨成形性蛋白質2 (「BMP-2」)、骨成形性蛋白質9 (「BMP-9」)、補體組分5a (「C5a」)、組織蛋白酶L、CD200、CD97、趨化素、腫瘤壞死因子受體超家族成員6B (「DcR3」)、脂肪酸結合蛋白2 (「FABP2」)、纖維母細胞活化蛋白 α (「FAP」)、纖維母細胞生長因子19 (「FGF-19」)、半乳糖凝集素-3、肝細胞生長因子受體(「HGF R」)、IFN- γ α/β R2、類胰島素生長因子2 (「IGF-2」)、類胰島素生長因子2受體(「IGF-2 R」)、介白素-1受體6 (「IL-1R6」)、介白素24 (「IL-24」)、介白素33 (「IL-33」)、胰舒血管素14、天冬醯胺醯基內肽酶(「豆莢蛋白」)、氧化低密度脂蛋白受體1 (「LOX-1」)、甘露糖結合凝集素(「MBL」)、腦啡肽酶(「NEP」)、Notch同系物1、易位相關(果蠅) (「Notch-1」)、腎胚細胞瘤過度表現(「NOV」)、骨活素、程序化細胞死亡蛋白1 (「PD-1」)、N-乙醯胞壁醯基-L-丙胺酸醯胺酶(「PGRP-5」)、絲胺酸蛋白酶抑制因子A4、分泌型捲曲相關蛋白3 (「sFRP-3」)、血栓調節蛋白、Toll樣受體2 (「TLR2」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員10A (「TRAIL R1」)、運鐵蛋白(「TRF」)、WIF-1ACE-2、白蛋白、AMICA、血管生成素4、B細胞活化因子(「BAFF」)、碳水化合物抗原19-9 (「CA19-9」)、CD 163、群集素、CRT AM、趨化介素(C-X-C模體)配位體14 (「CXCL14」)、胱抑素C、核心蛋白聚糖(「DCN」)、Dickkopf相關蛋白3 (「Dkk-3」)、類 δ 蛋白1 (「DLL1」)、胎球蛋白A、肝素結合生長因子1 (「aFGF」)、葉酸

受體 α (「FOLR1」)、弗林蛋白、GPCR相關分選蛋白1 (「GASP-1」)、GPCR相關分選蛋白2 (「GASP-2」)、顆粒球群落刺激因子受體(「GCSF R」)、絲胺酸蛋白酶肝絲酶(「HAI-2」)、介白素-17B受體(「IL-17B R」)、介白素27 (「IL-27」)、淋巴細胞活化基因3 (「LAG-3」)、脂蛋白元A-V (「LDL R」)、胃蛋白酶原I、視黃醇結合蛋白4 (「RBP4」)、SOST、硫酸乙醯肝素蛋白聚糖(「Syndecan-1」)、腫瘤壞死因子受體超家族成員13B (「TACI」)、組織因子路徑抑制因子(「TFPI」)、TSP-1、腫瘤壞死因子受體超家族成員10b (「TRAIL R2」)、TRANCE、肌鈣蛋白I、尿激酶纖維蛋白溶酶原活化因子(「uPA」)、鈣黏蛋白5、2型或VE-鈣黏蛋白(血管內皮)(亦稱為CD144 (「VE-鈣黏蛋白」))、WNT1可誘導型信號傳導路徑蛋白1 (「WISP-1」)及核因子 κ B之受體活化因子(「RANK」)。

【第90項】

如請求項48至89中任一項之方法，其中該免疫療法藥劑包含佐劑。

【第91項】

如請求項90之方法，其中該佐劑選自由以下組成之群：免疫調節蛋白、佐劑65、 α -GalCer、磷酸鋁、氫氧化鋁、磷酸鈣、 β -葡聚糖肽、CpG DNA、GPI-0100、脂質A、脂多糖、利普凡特(Lipovant)、孟塔納(Montanide)、N-乙醯基-胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸、Pam3CSK4、quil A及海藻糖二黴菌酸酯。

【第92項】

如請求項45至91中任一項之方法，其中該癌症治療劑包含血管生成抑制劑。

【第93項】

如請求項92之方法，其中該血管生成抑制劑選自由以下組成之群：
貝伐單抗(Bevacizumab)(Avastin®)、阿柏西普(Ziv-aflibercept)(Zaltrap®)、索拉非尼(Sorafenib)(Nexavar®)、舒尼替尼(Sunitinib)(Sutent®)、帕佐泮尼(Pazopanib)(Votrient®)、瑞戈非尼(Regorafenib)(Stivarga®)及卡博替尼(Cabozantinib)(Cometriq™)。

【第94項】

如請求項1至93中任一項之方法，其中該方法進一步包含向該個體投與第二治療性細菌。

【第95項】

如請求項1至94中任一項之方法，其中該方法進一步包含向該個體投與益菌助生質。

【第96項】

如請求項95之方法，其中該益菌助生質為果寡糖、半乳糖寡糖、反式半乳糖寡糖、木寡糖、殼寡糖、大豆寡糖、龍膽寡糖、異麥芽糖寡糖、甘露寡糖(mannooligosaccharide)、麥芽糖寡糖、甘露寡糖(mannanooligosaccharide)、乳酮糖、乳果糖、巴拉金糖(palatinose)、糖基蔗糖、瓜爾膠、阿拉伯膠、塔格糖、直鏈澱粉、支鏈澱粉、果膠、木聚糖或環糊精。

【第97項】

如請求項1至96中任一項之方法，其中該個體為人類。

【第98項】

如請求項1至96中任一項之方法，其中該個體為非人類哺乳動物。

【第99項】

如請求項98之方法，其中該哺乳動物選自由以下組成之群：狗、貓、牛、馬、豬、驢、山羊、駱駝、小鼠、大鼠、天竺鼠、綿羊、駱馬、猴、大猩猩或黑猩猩。

【第100項】

如請求項1至99中任一項之方法，其中第二細菌係作為生態共生物種之部分來投與。

【第101項】

一種細菌組合物，其包含範永氏球菌及醫藥學上可接受之載劑。

【第102項】

如請求項101之細菌組合物，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少99%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

【第103項】

如請求項101之細菌組合物，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少99.9%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

【第104項】

如請求項101之細菌組合物，其中該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第105項】

如請求項101至104中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物經調配以用於經口、經直腸、靜脈內、瘤內或皮下投與。

【第106項】

如請求項101至104中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物中至少50%該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第107項】

如請求項101至104中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物中至少90%該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第108項】

如請求項101至107中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物中實質上所有該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

【第109項】

如請求項101至108中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物包含至少 1×10^6 個菌落形成單位(CFU)之表1中列舉之細菌菌株。

【第110項】

如請求項109之細菌組合物，其中該細菌組合物包含至少 1×10^7 個CFU之表1中列舉之細菌菌株。

【第111項】

如請求項109之細菌組合物，其中該細菌組合物包含至少 1×10^8 個CFU之表1中列舉之細菌菌株。

【第112項】

如請求項101至111中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物包含活細菌。

【第113項】

如請求項101至111中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物包含減毒細菌。

【第114項】

如請求項101至111中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物包含經殺滅之細菌。

【第115項】

如請求項101至114中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物之投與治療免疫病症。

【第116項】

如請求項101至115中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物之投與誘發免疫反應。

【第117項】

如請求項101至115中任一項之細菌組合物，其中該細菌經調配有腸溶包衣或微囊封。

【第118項】

如請求項101至117中任一項之細菌組合物，其中該細菌組合物包含經照射之細菌。

【第119項】

如請求項118之細菌組合物，其中該細菌組合物包含經 γ 照射之細菌。

【第120項】

一種細菌組合物，其包含經分離之範永氏球菌細胞外囊泡(EV)。

【第121項】

一種細菌組合物，其包含範永氏球菌細胞外囊泡(EV)及範永氏球菌。

【第122項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%總範永氏球菌EV及範永氏球菌顆粒為範永氏球菌EV。

【第123項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該等總範

永氏球菌EV及範永氏球菌顆粒為範永氏球菌。

【第124項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%總範永氏球菌EV及免疫調節範永氏球菌蛋白質為範永氏球菌EV蛋白質。

【第125項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該總範永氏球菌EV及範永氏球菌蛋白質為範永氏球菌蛋白質。

【第126項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%範永氏球菌EV及範永氏球菌脂質為範永氏球菌EV脂質。

【第127項】

如請求項121之細菌組合物，其中該醫藥組合物中至少、約或不超過1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、

79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%該等總範永氏球菌EV及範永氏球菌脂質為範永氏球菌脂質。

【第128項】

一種細菌組合物，其包含與EV分離之範永氏球菌。

【第129項】

一種生物反應器，其包含範永氏球菌。

【第130項】

如請求項129之生物反應器，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少90%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

【第131項】

如請求項129之生物反應器，其中該細菌為與表1中列舉之細菌菌株之核苷酸序列包含至少99%基因組、16S及/或CRISPR序列一致性的菌株。

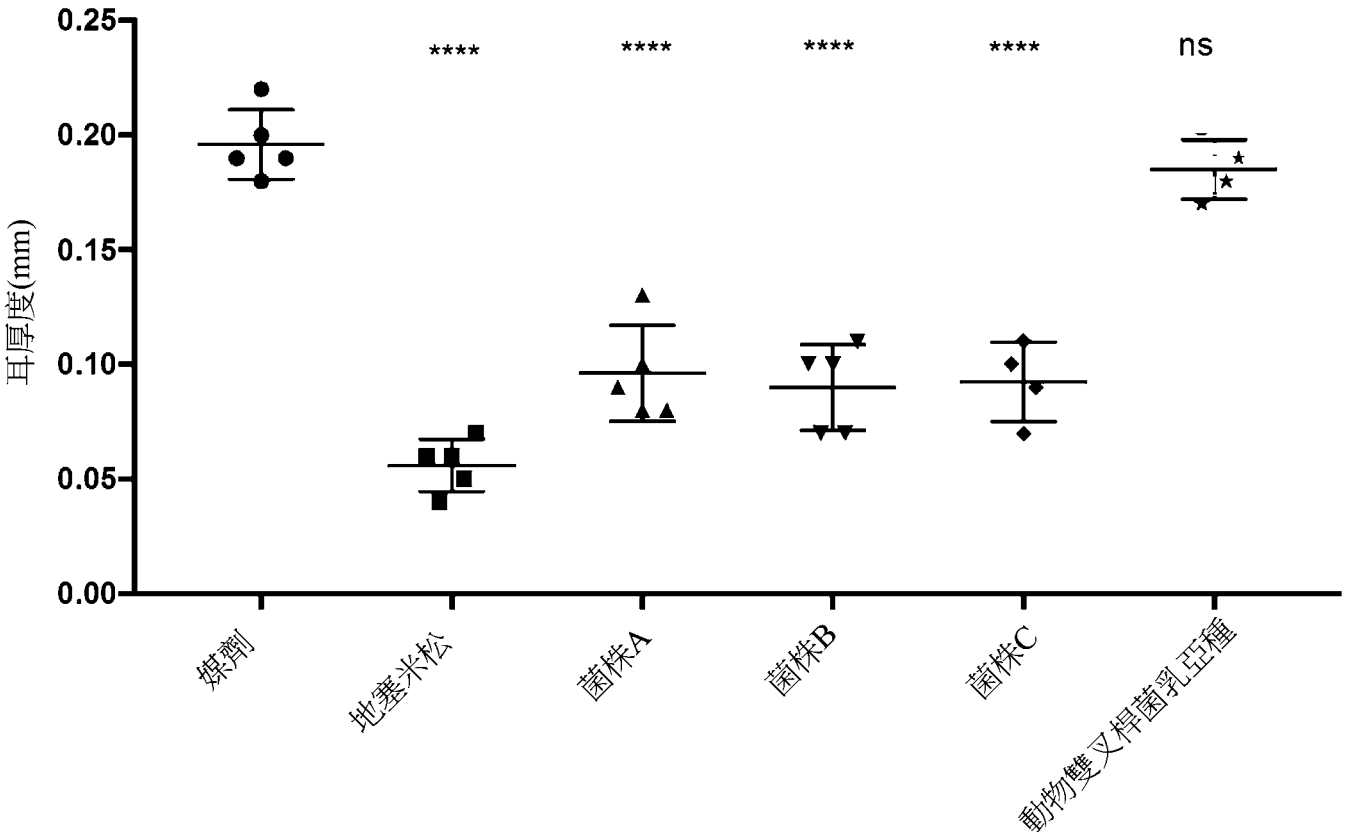
【第132項】

如請求項129之生物反應器，其中該細菌為表1中列舉之細菌菌株。

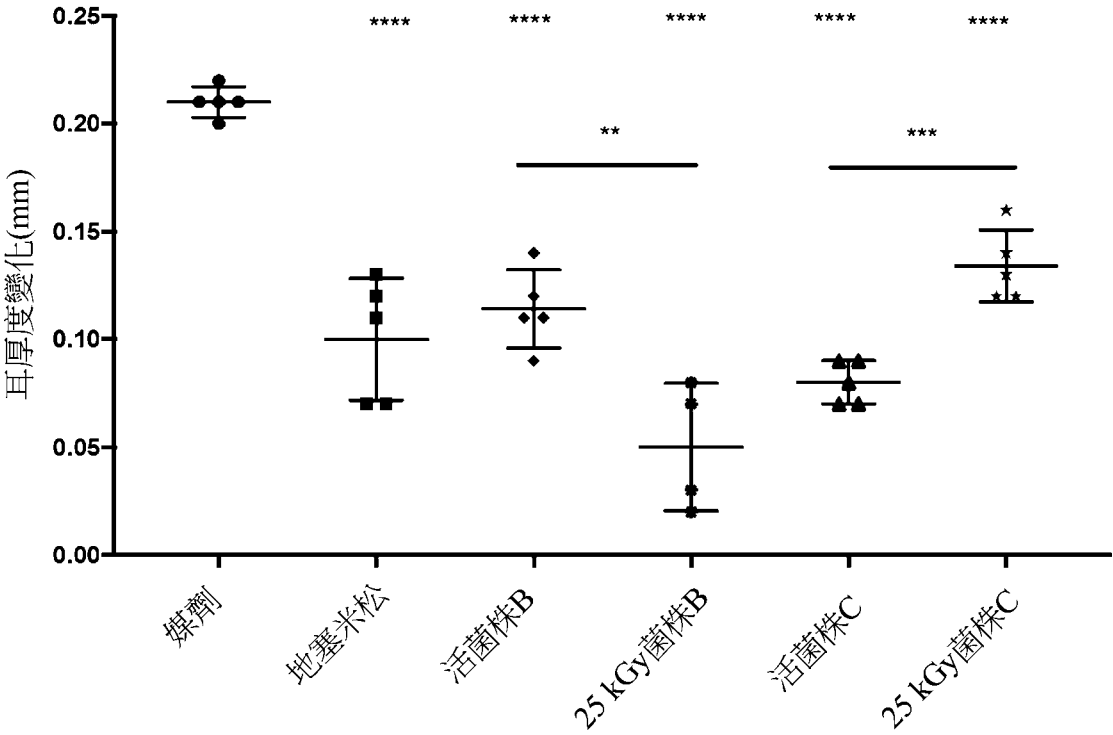
【第133項】

一種在生物反應器中生長細菌之方法，其包含提供如請求項129至132中任一項之生物反應器；及使該細菌醱酵一段時間。

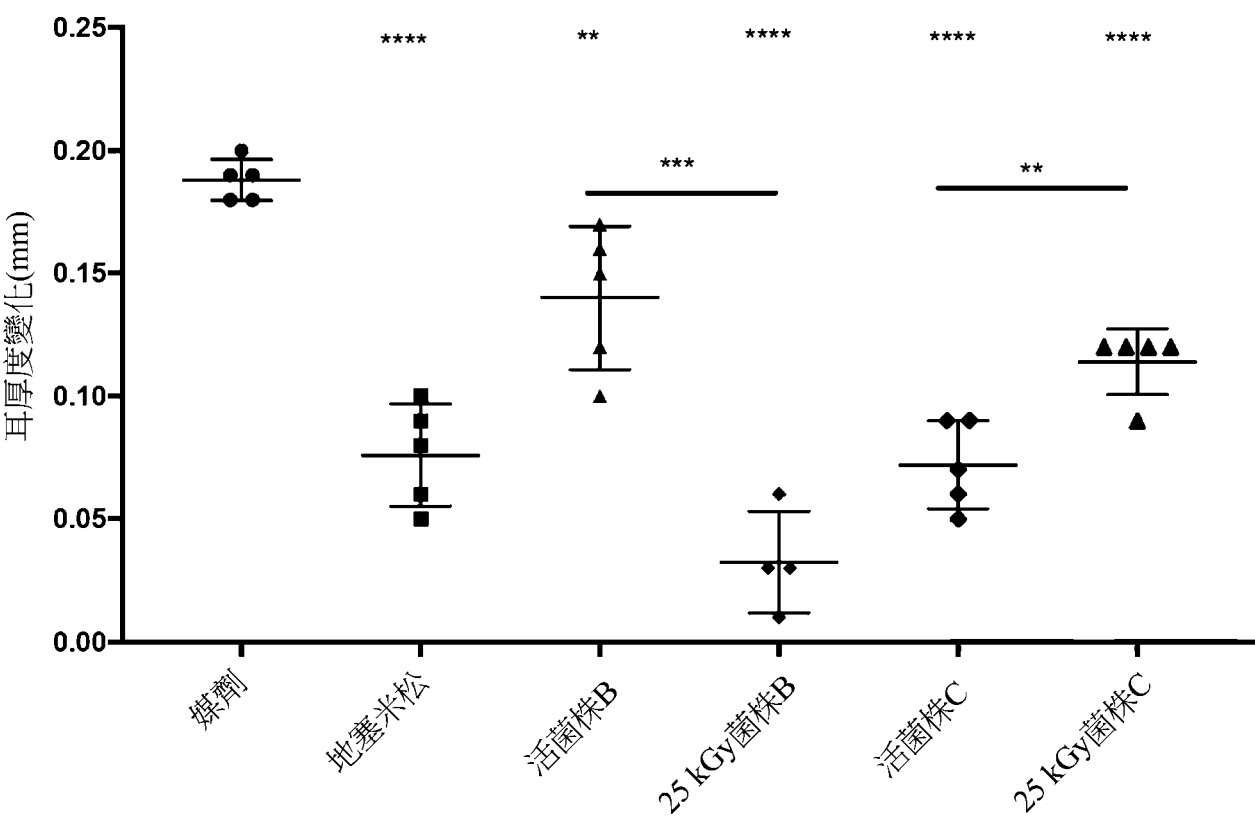
【發明圖式】



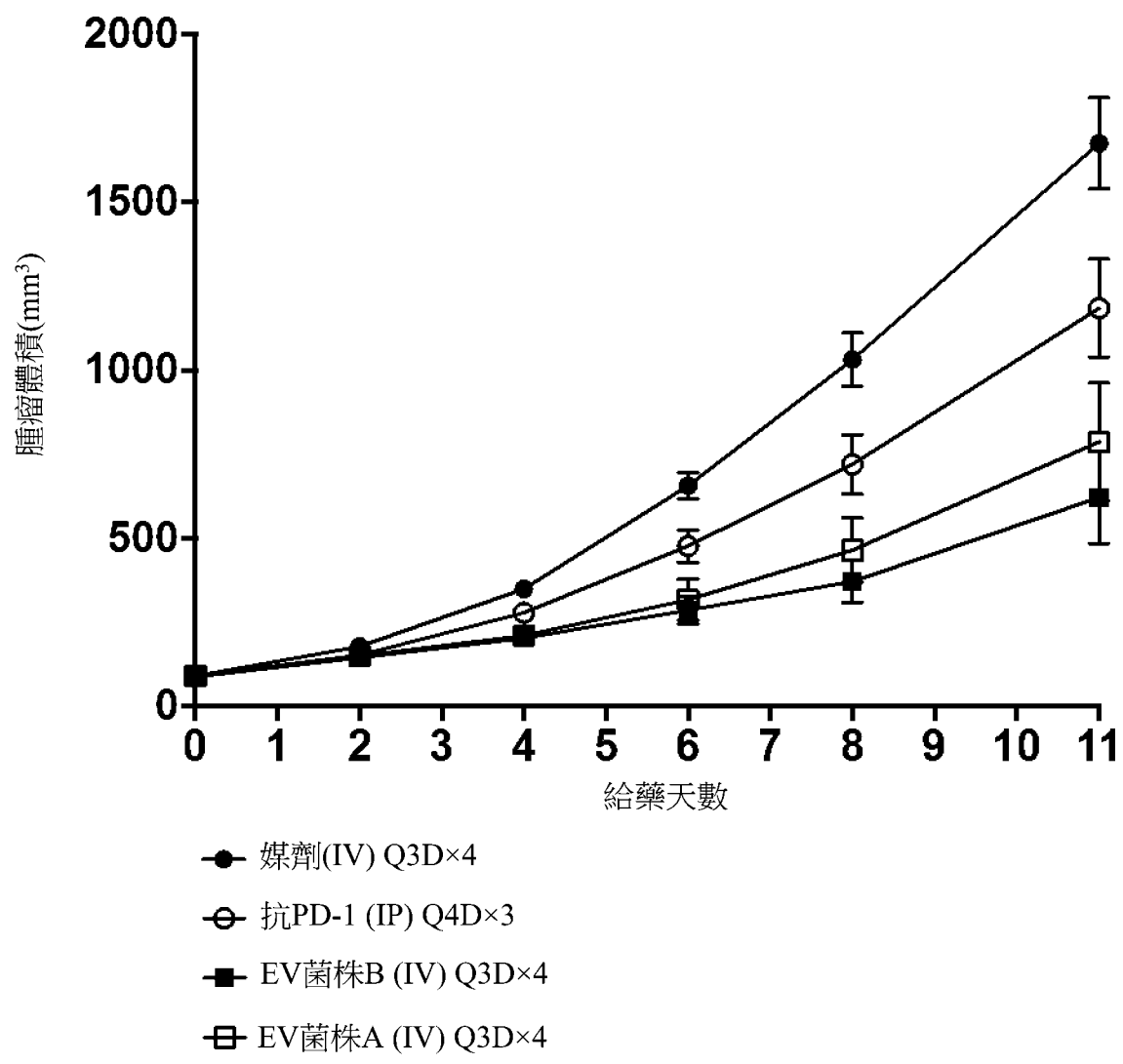
【圖1】



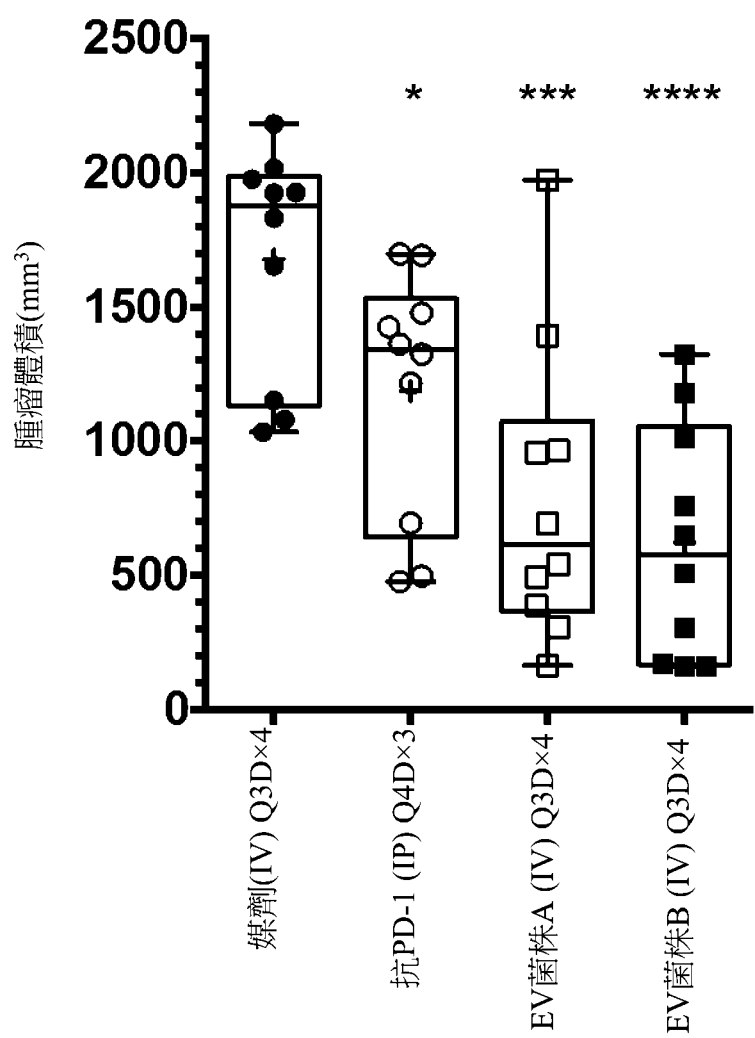
【圖2】



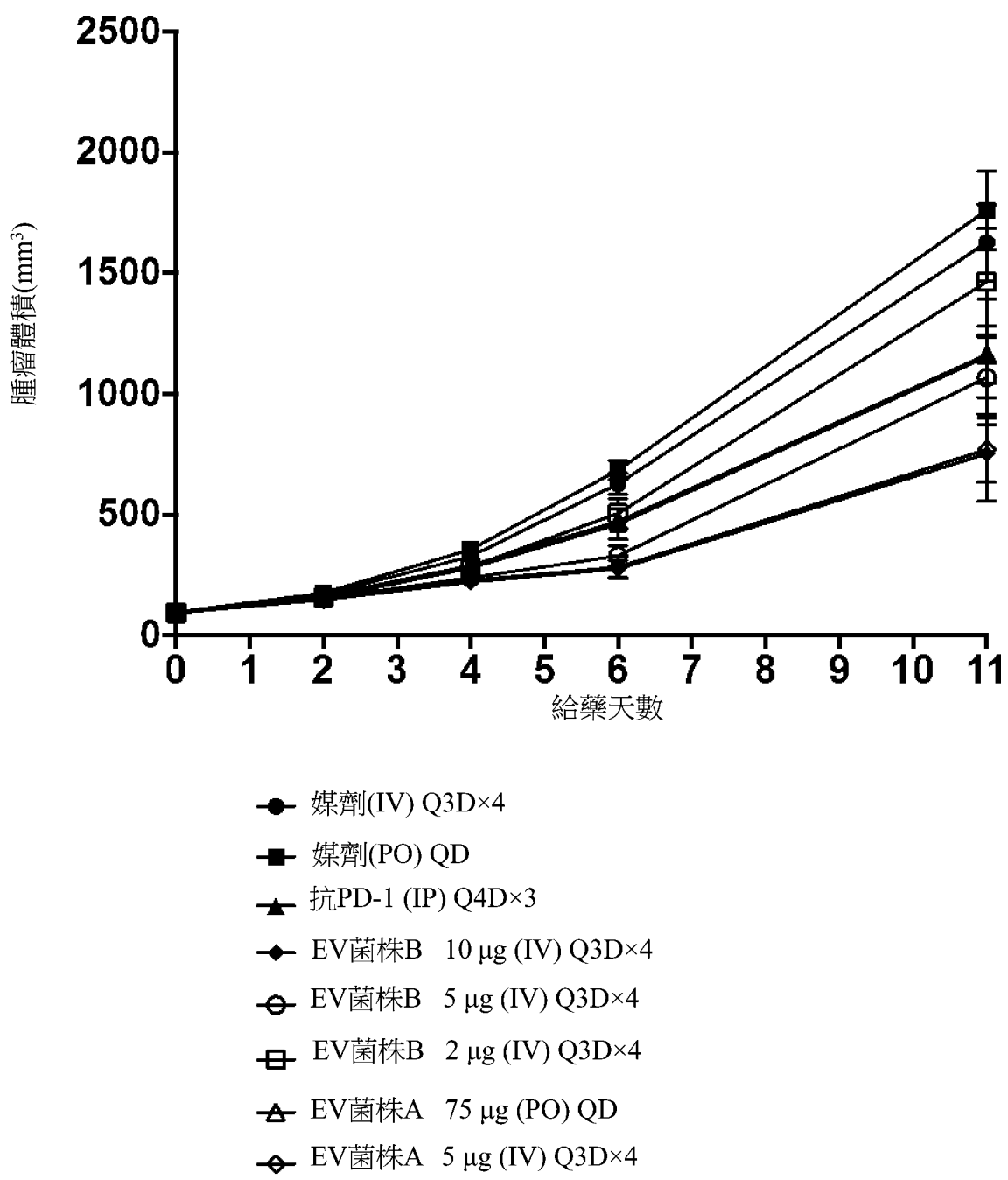
【圖3】



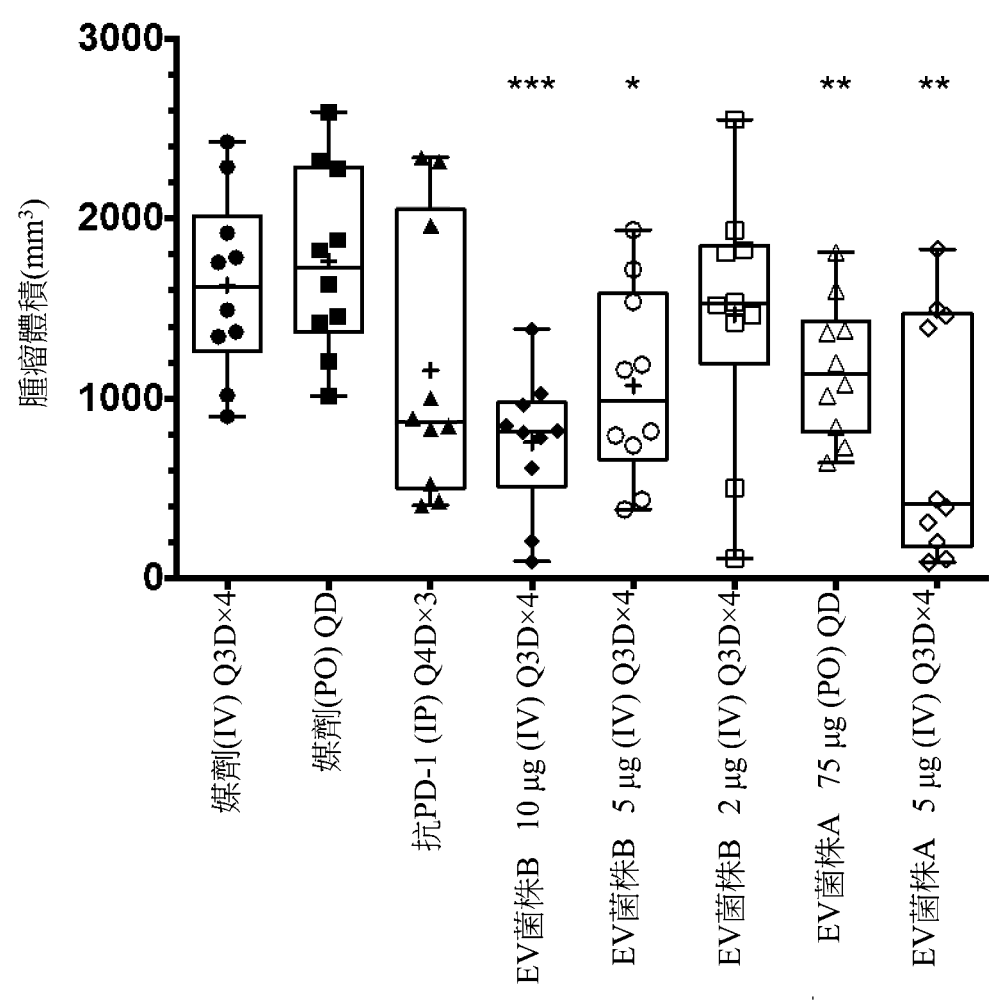
【圖4】



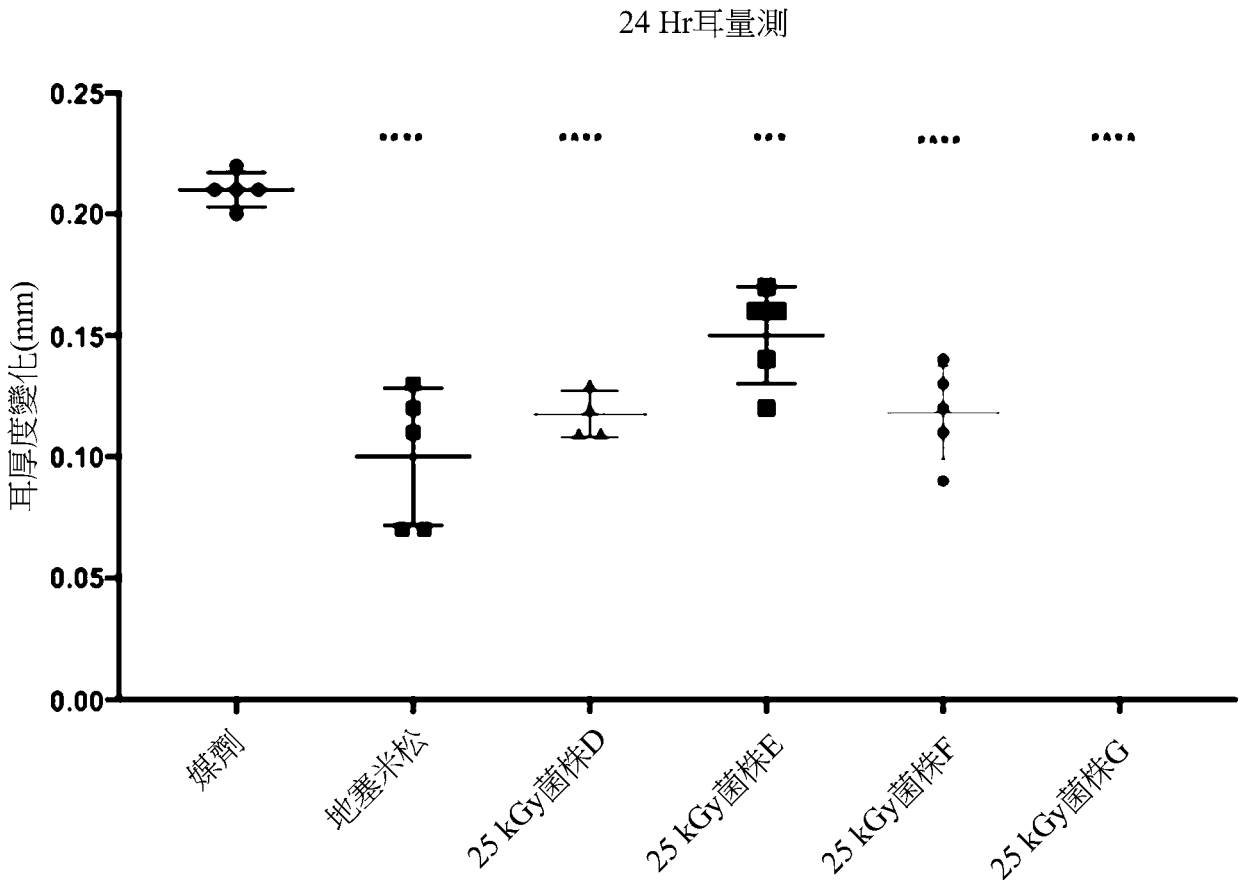
【圖5】



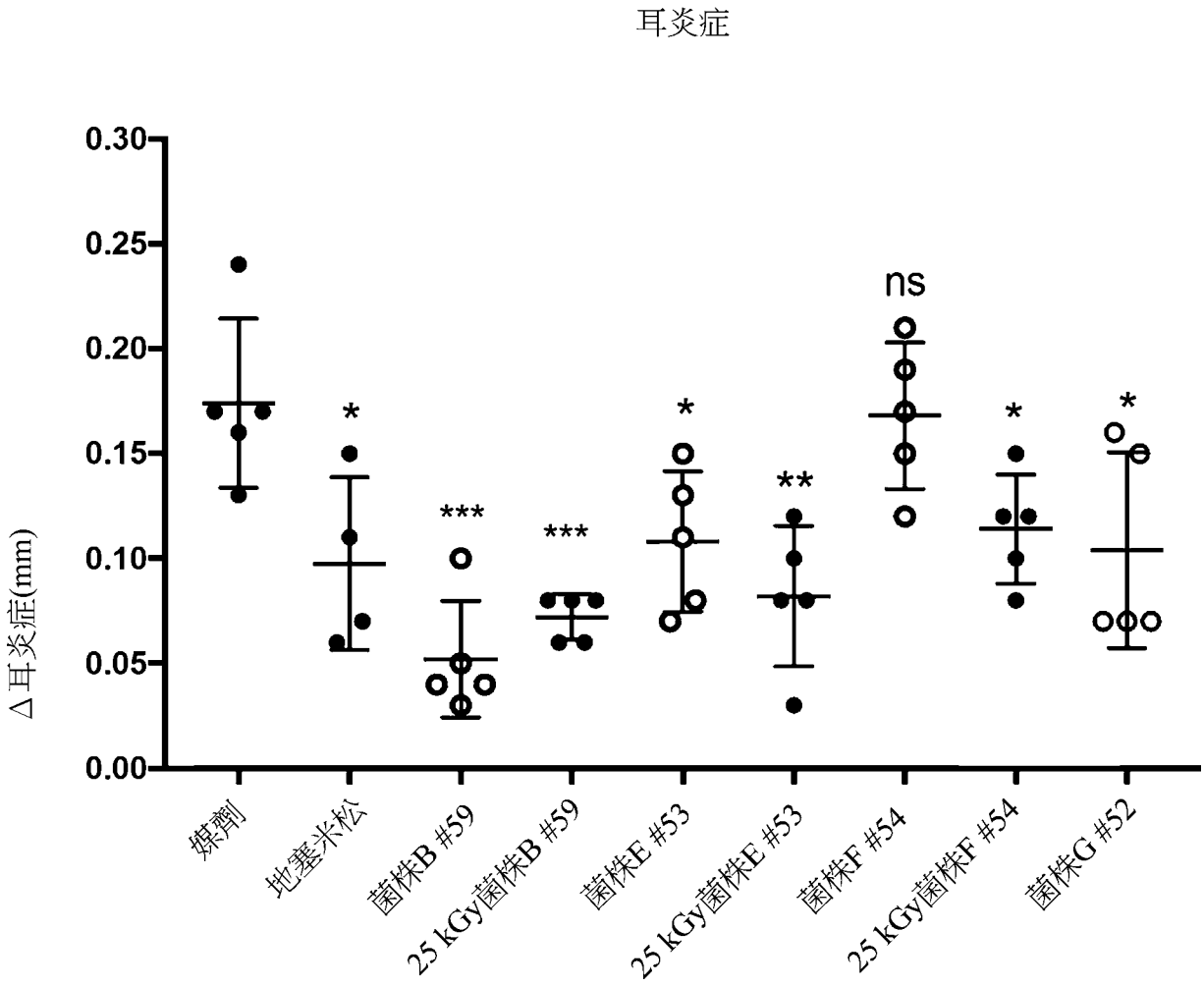
【圖6】



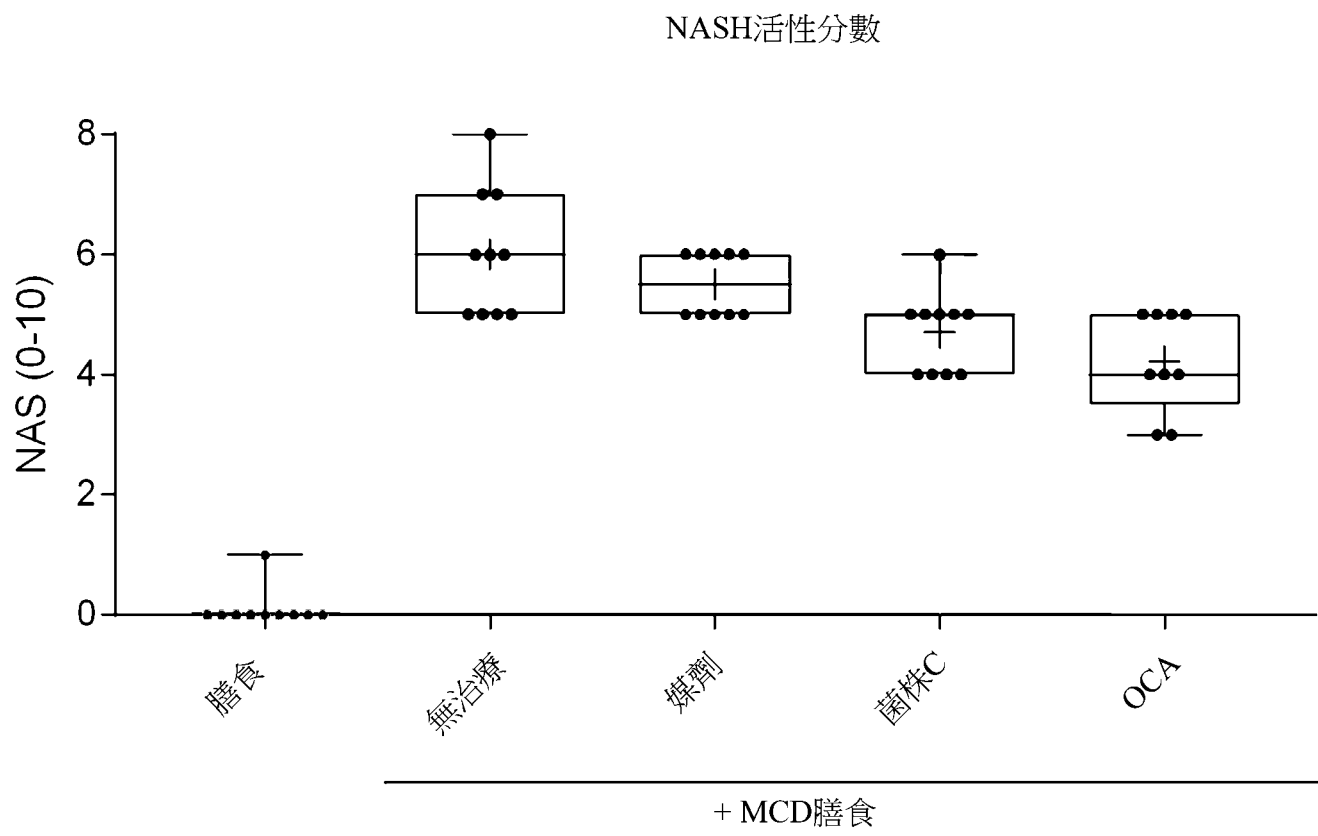
【圖7】



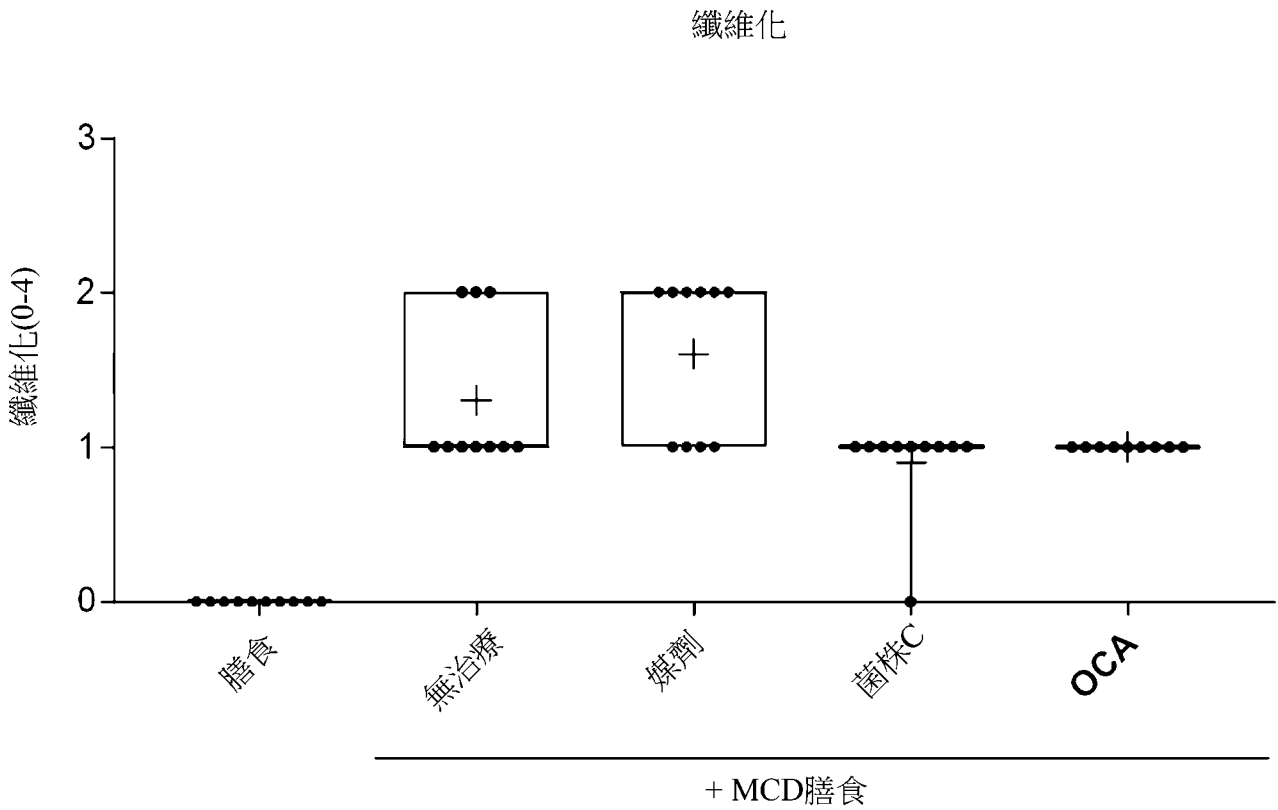
【圖8】



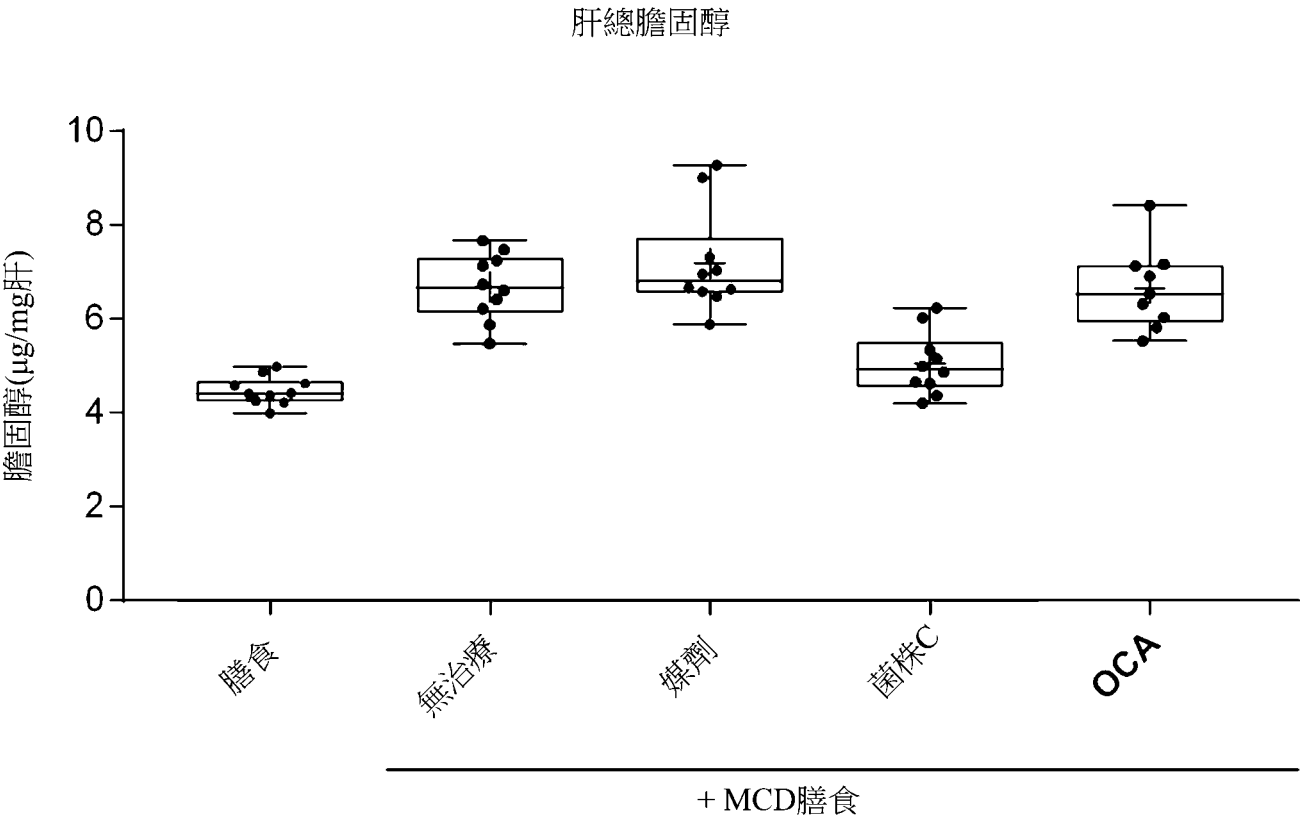
【圖9】



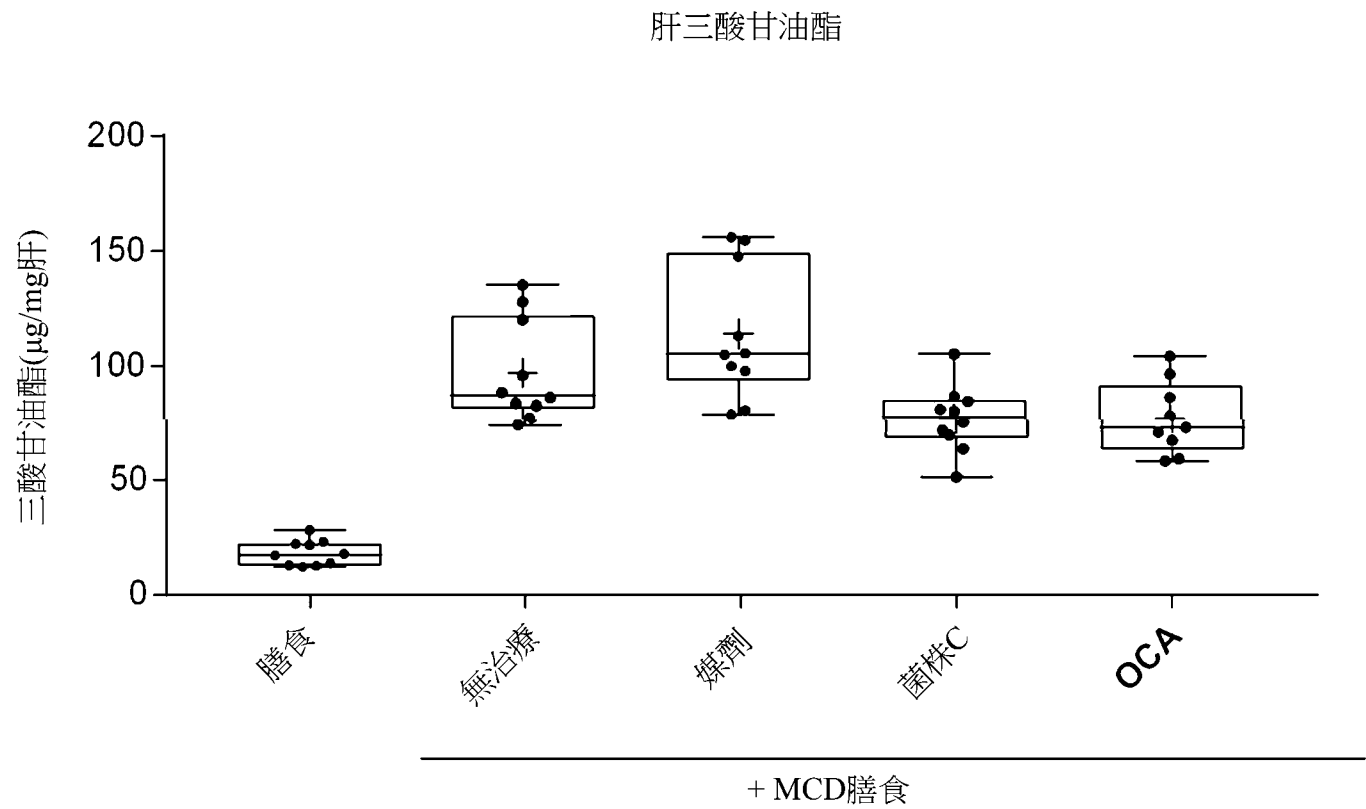
【圖10】



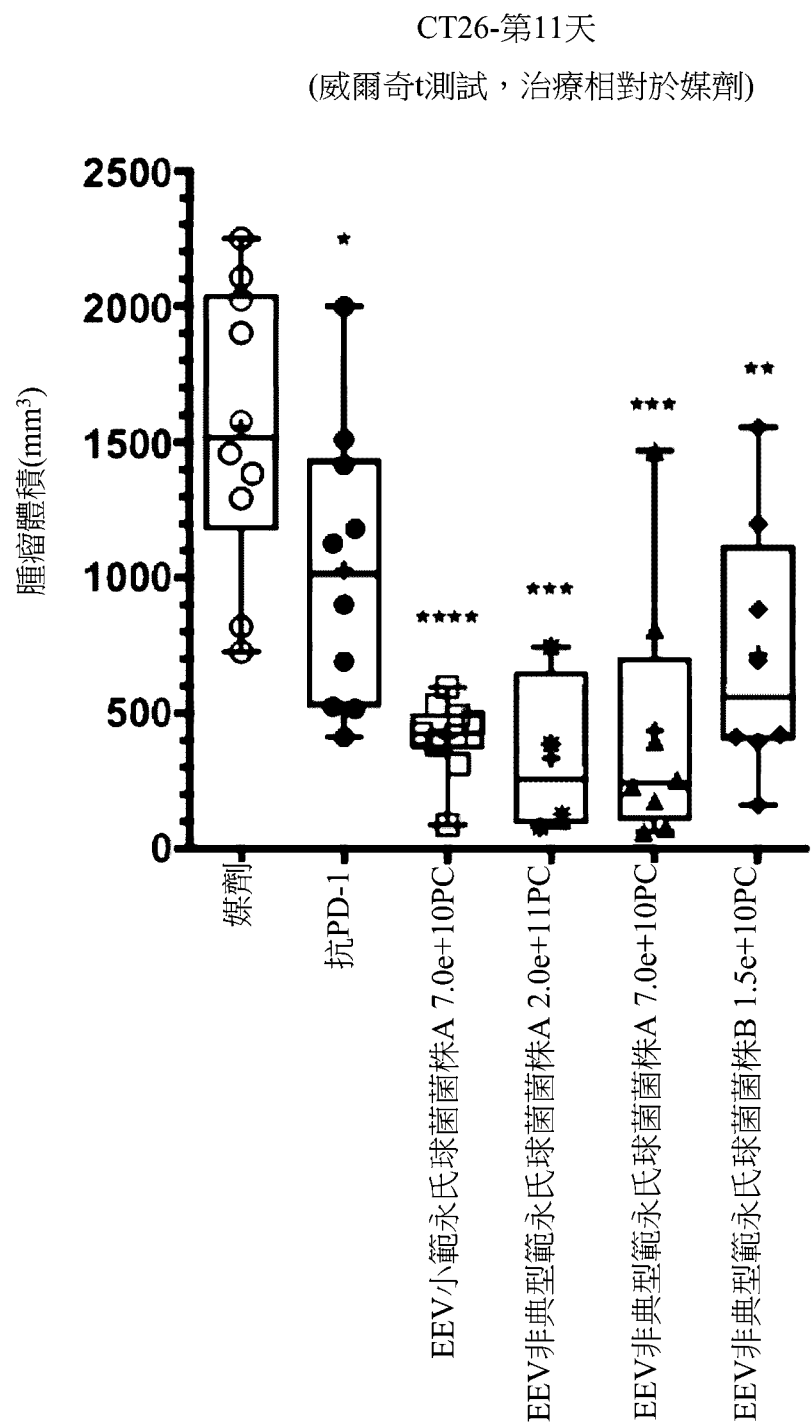
【圖11】



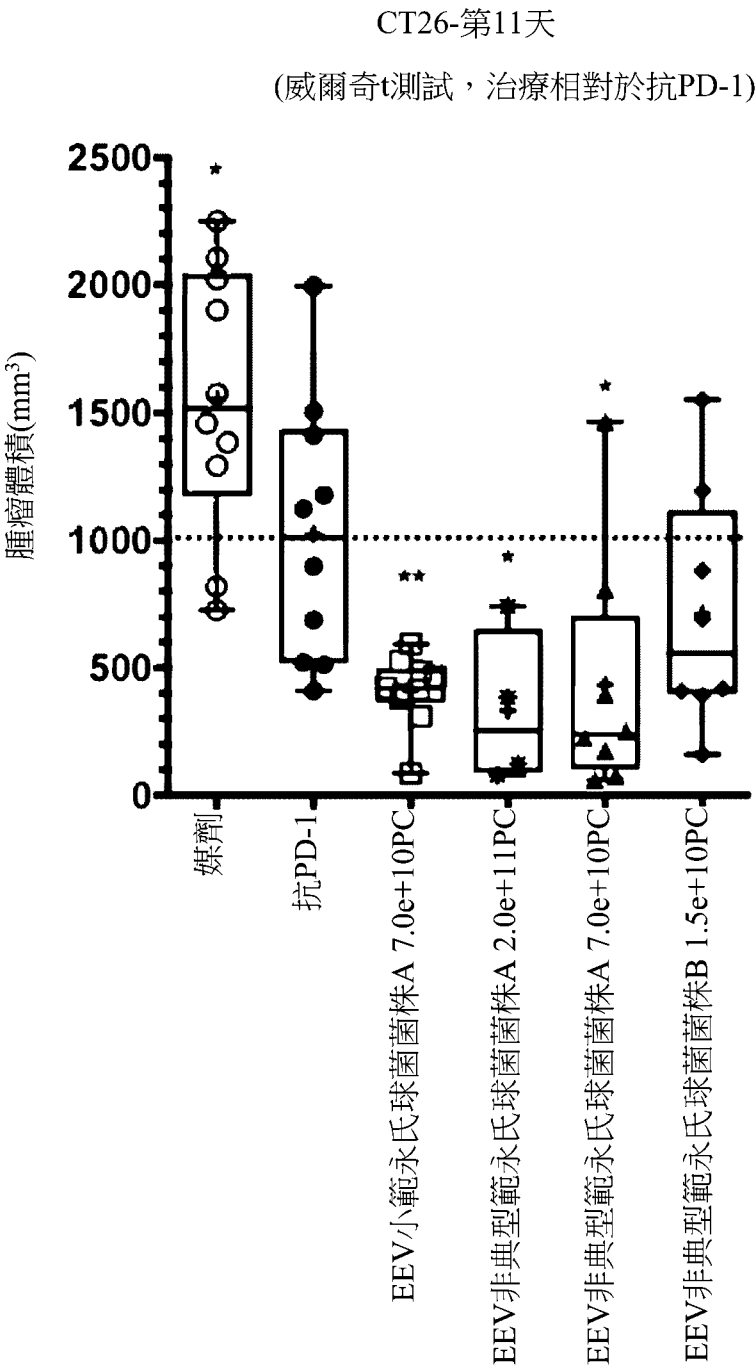
【圖12】



【圖13】



【圖14】



【圖15】