



(10) 申请公布号 CN 118660712 A

(43) 申请公布日 2024.09.17

(21) 申请号 202280079735.0

(22) 申请日 2022.11.30

(30) 优先权数据

2030011 2021.12.03 NL

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/083885 2022.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/099579 EN 2023.06.08

(71) 申请人 卡勒斯制药有限公司

地址 荷兰齐格韦尔德

申请人 阿姆斯特丹大学医学中心基金会

(72) 发明人 A·G·霍勒博姆 马克斯·纽多普

威廉·门德尔特·德沃斯

(74) 专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

专利代理师 蒋洪之 安玉

(51) Int.Cl.

A61K 35/741 (2006.01)

A23L 33/135 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

权利要求书2页 说明书27页

序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

脂肪肝变性的预防或治疗

(57) 摘要

本发明系关于索氏厌氧丁酸菌(*Anaerobutyricum soehngeni*)或其相关物,其系用于预防及/或治疗脂肪肝变性,尤其非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及/或非酒精性脂肪变性肝炎(NASH),其中该用途系用于增加胆汁酸血浆含量以减轻肝脏发炎及/或用于降低肝坏死性发炎活性评分。该索氏厌氧丁酸菌或其相关物可与至少一种双歧杆菌物种(*Bifidobacterium species*),较佳动物双歧杆菌乳亚种(*Bifidobacterium animalis subspecies lactis*)或其相关物及/或短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)或其相关物组合。或者或另外,该索氏厌氧丁酸菌或其相关物可与至少一种阿克曼氏菌物种(*Akkermansia species*),较佳嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)或其相关物组合。或者或另外,该索氏厌氧丁酸菌或其相关物可与至少一种乳杆菌物种(*Lactobacillus*

species),较佳嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)或其相关物、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)或其相关物及/或罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)或其相关物组合。

1. 一种索氏厌氧丁酸菌 (*Anaerobutyricum soehngeni*) 或其相关物的用途, 其系用于制造用以预防及/或治疗肝脂肪变性的药剂, 其中该索氏厌氧丁酸菌或其相关物具有与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2具有至少97%序列一致性的16S rRNA基因序列, 且其中该药剂进一步包含至少一种双歧杆菌物种 (*Bifidobacterium species*) 或与至少一种双歧杆菌物种组合使用。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中该至少一种双歧杆菌物种系选自:

动物双歧杆菌乳亚种 (*Bifidobacterium animalis subspecies lactis*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:3具有至少97%序列一致性的16S rRNA基因序列; 及/或

短双歧杆菌 (*Bifidobacterium breve*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:6具有至少97%序列一致性的16S rRNA基因序列。

3. 如权利要求1或2所述的用途, 其中该药剂进一步用于降低肝坏死性发炎活性评分。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的用途, 其中该肝脂肪变性为非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 及/或非酒精性脂肪变性肝炎 (NASH)。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的用途, 其中该药剂进一步包含至少一种阿克曼氏菌物种 (*Akkermansia species*) 或与至少一种阿克曼氏菌物种组合使用。

6. 如权利要求5所述的用途, 其中该至少一种阿克曼氏菌物种已经历巴氏杀菌 (pasteurization)。

7. 如权利要求5至6中任一项所述的用途, 其中该至少一种阿克曼氏菌物种为嗜黏蛋白阿克曼氏菌 (*Akkermansia muciniphila*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:12具有至少97%序列一致性的16S rRNA序列。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的用途, 其中该药剂进一步包含至少一种乳杆菌物种 (*Lactobacillus species*) 或与至少一种乳杆菌物种组合使用。

9. 如权利要求8所述的用途, 其中该至少一种乳杆菌物种系选自

嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:14具有至少97%序列一致性的16S rRNA序列;

干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:15具有至少97%序列一致性的16S rRNA序列;

罗伊氏乳杆菌 (*Lactobacillus reuteri*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:16具有至少97%序列一致性的16S rRNA序列; 及/或

鼠李糖乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) 或其相关物, 其具有与SEQ ID NO:17具有至少97%序列一致性的16S rRNA序列。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的用途, 其中该索氏厌氧丁酸菌或其相关物系包含于粪便物质中, 较佳其中该粪便物质系获自健康供体。

11. 如权利要求10所述的用途, 其中该粪便物质系在纯素饮食之后自供体获得。

12. 如权利要求10至11中任一项所述的用途, 其中该粪便物质中包含该索氏厌氧丁酸菌或其相关物的至少10⁸个细胞。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的用途, 其中该索氏厌氧丁酸菌或其相关物系呈微囊封或冻干形式。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的用途, 其中该索氏厌氧丁酸菌或其相关物系包含

于较佳包含生理学上可接受的载剂的组合物中。

15. 如权利要求14所述的用途,其中该索氏厌氧丁酸菌或其相关物系以在10⁴至10¹⁵个菌落形成单位(CFU)范围内的量存在于该组合物中。

16. 如权利要求14至15中任一项所述的用途,其中该组合物为医药组合物,其较佳呈固体剂型,诸如胶囊、锭剂或粉末;及/或食品组合物,其较佳为乳制品,更佳为发酵乳制品,最佳为优格或优格饮料。

肝脂肪变性的预防或治疗

技术领域

[0001] 本发明系关于预防及/或治疗肝脂肪变性的领域。

背景技术

[0002] 非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 被视为全世界最普遍的慢性肝病,且其范围覆盖单纯脂肪变性(非酒精性脂肪肝)至非酒精性脂肪变性肝炎(NASH)、NASH纤维化、肝硬化及肝细胞癌。当前估测的NAFLD的全球发生率系总人口的25%至30%,且在患有代谢症候群及2型糖尿病的个体中高达80%。按照定义,过度饮酒会妨碍NAFLD的诊断。

[0003] NAFLD系指一系列疾病,其中过多脂肪在很少饮酒或不饮酒的患者的肝脏中积聚。NAFLD的最常见形式称为非酒精性脂肪肝(NAFLD)。由于NAFLD的出现及进展系由胰岛素抗性强烈驱动,因此NAFLD的临床开发中的多种治疗策略旨在降低胰岛素抗性。

[0004] NASH系指在肝脂肪变性的情况下由脂毒性引发的肝脏发炎。NASH使得罹患肝硬化及肝细胞癌(HCC)的风险显著增加且其与动脉粥样硬化性心血管疾病增加相关。因为NAFLD/NASH与胰岛素抗性之间的关联性为熟知的,因此降低胰岛素抗性的策略可减缓NAFLD/NASH的疾病进展或症状。

[0005] NAFLD及NASH的发展及发生与肠道微生物相有关。采用基于植物的低动物蛋白饮食的个体中的疾病发生率显著较低,认为此系由肠道微生物相介导。因此,Witjes等人(Hepatology Communications,第4卷,第11期,2020)提出自瘦素食供体移植粪便微生物相作为潜在治疗。

[0006] 然而,在此项技术中需要用于预防及治疗NAFLD及NASH的新的及改良的介入。

[0007] 本发明的目标包括解决此项技术中的上述需求,从而提供用于预防及/或治疗NAFLD及NASH的新的及/或改良的策略。

发明内容

[0008] 本发明人出人意料地发现,向患有肝脂肪变性的个体投与索氏厌氧丁酸菌或其相关物可增加胆汁酸血浆含量,从而减轻肝脏发炎。因此,索氏厌氧丁酸菌或其相关物的投与可应用于预防及/或治疗肝脂肪变性的策略中。

[0009] 另外,发现将索氏厌氧丁酸菌或其相关物与双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种组合可在预防或治疗肝脂肪变性(尤其非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及/或非酒精性脂肪变性肝炎(NASH))中提供协同治疗作用。

[0010] 本发明提供一种新的及改良的用于预防及/或治疗肝脂肪变性、NAFLD及/或NASH的策略。

附图说明

[0011] 图1. 在存在或不存在动物双歧杆菌乳亚种BLC1的情况下的SCFA产生。

[0012] 图2. 在YCFA培养基中,在海藻糖(25mM)上在存在或不存在鼠李糖乳杆菌GG

(*L.rhamnosus* GG)的情况下产生的SCFA。

[0013] 图3.小鼠的组织学评估。A至D:小鼠的发炎等级、纤维化等级、NAS评分或整体NASH评分,E:CRN分类。

具体实施方式

[0014] 本发明系关于索氏厌氧丁酸菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:1及/或SEQ ID NO:2具有至少70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.5、99.9、100%序列一致性的16S rRNA基因序列,其尤其用于预防及/或治疗肝脂肪变性,及/或用于增加肠道内丙酸/丙酸盐及/或丁酸/丁酸盐或其衍生物的产生。

[0015] 根据前述内容,本发明系关于一种用于预防及/或治疗例如有需要的个体中的肝脂肪变性的方法,其涉及例如向该个体投与该索氏厌氧丁酸菌或其相关物。

[0016] 肝脂肪变性为过多脂肪在肝中积聚的病况。存在两种阶段的脂肪肝病:非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 及酒精性肝病。NAFLD系由单纯脂肪肝及非酒精性脂肪变性肝炎 (NASH) 构成。

[0017] 在本发明中,肝脂肪变性可尤其选自非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 及/或非酒精性脂肪变性肝炎 (NASH)。

[0018] 术语『非酒精性脂肪肝病』(NAFLD) 系指很少饮酒或不饮酒的人肝脏中积聚过多脂肪之一组病况。NAFLD的最常见阶段称为脂肪肝。NAFLD与胰岛素抗性及其2型糖尿病密切相关,因此NAFLD的治疗可旨在降低胰岛素抗性。

[0019] 术语『非酒精性脂肪变性肝炎』(NASH) 系指由肝脏中的脂肪堆积引起的肝脏发炎及损伤。NASH与罹患肝硬化及肝细胞癌以及其他不与肝损伤直接相关的疾病的风险显著增加(包括心血管疾病的风险增加)相关。胰岛素抗性与NASH(/NAFLD)的发展之间的关联性为熟知的,且降低胰岛素抗性的策略可减少NASH(/NAFLD)的疾病进展或症状。

[0020] 根据本发明的用途可增加胆汁酸,尤其初级胆汁酸(胆酸及鹅脱氧胆酸)及/或次级胆汁酸(脱氧胆酸及石胆酸)的血浆含量。此进而减轻肝脏发炎(例如藉由如下文所示的小叶发炎评分0至3、微肉芽肿评分0至1、大型脂肉芽肿评分0至1及/或门静脉发炎评分0至1(之总和)所测定;或藉由坏死性发炎活性评分(NAS)所测定)。因此,根据本发明的用途可减轻肝脏发炎(例如藉由如下文所示的小叶发炎评分0至3、微肉芽肿评分0至1、大型脂肉芽肿评分0至1及/或门静脉发炎评分0至1(之总和)所测定;或藉由坏死性发炎活性评分所测定)。

[0021] 作为本发明之一部分的胆汁酸血浆含量的增加系较佳藉由以下方法中之一或更多者指示:薄层层析法、气相层析法、高效液相层析法(HPLC)、液相层析-质谱法(LC-MS)、气相层析-质谱法(GC-MS)、超临界流体层析法及毛细管电泳法、免疫分析法及生物发光分析法。

[0022] 在尤其较佳实施例中,根据本发明的用途系用于降低肝坏死性发炎活性评分。

[0023] 术语肝坏死性发炎活性评分可与术语NAFLD评分及/或NASH评分互换。

[0024] 为了确定肝坏死性发炎活性评分,可使用NASH临床研究网络(NASH Clinical Research Network;NASH-CRN)分类,如Kleiner等人,第41卷,2005年6月6日的期刊所描述,例如使用经苏木素及曙红染色的载片评估脂肪变性、发炎及肿胀,以及使用经天狼星红色的载片评估纤维化。评分较佳为脂肪变性等级(0至3)、小叶发炎(0至3)及肝细胞肿胀(0

至2)的未加权总和,参见下文:

[0025]

脂肪变性 等级	脂肪变性引起的实质受累的低检定力至中等检定力 评估	
	<5%	0
	5%至33%	1
	>33%至66%	2

[0026]

	>66%	3
位置	主要分布形态	
	区3	0
	区1	1
	泛域	2
	全肺泡	3
微囊性脂肪变性*	连续斑点	
	不存在	0
	存在	1
纤维化		
阶段		
	无	0
	窦周或门静脉周	1
	轻度, 区3, 窦周	1A
	中度, 区3, 窦周	1B
	门静脉/门静脉周	1C
	窦周及门静脉/门静脉周性	2
	桥接纤维化	3
	肝硬化	4
发炎		
小叶发炎	所有发炎性病灶的总体评估	
	无病灶	0
	每200×视野<2个病灶	1
	每200×视野2至4个病灶	2
	每200×视野>4个病灶	3
微肉芽肿	巨噬细胞的小聚集体	
	不存在	0
	存在	1
大型脂肉芽肿	通常在门静脉区域中或邻近于中央静脉	
	不存在	0
	存在	1
门静脉发炎	根据低放大率评估	

	无至极少	0
	大于极少	1
肝细胞损伤		
肿胀*		
	无	0
	少量肿胀细胞	1
	许多细胞/显著肿胀	2
嗜酸性体		
	不存在或极少†	0
	许多	1
经着色的巨噬细胞		
	不存在或极少†	0
	许多	1
[0027] 巨型粒线体*		
	不存在或极少†	0
	许多	1
其他发现		
马里洛氏玻璃状体 (Mallory's hyaline)	在常规染色后可见	
	不存在或极少†	0
	许多	1
醣生成核	连续的斑点	
	不存在或极少†	0
	许多	1
诊断分类‡		
无脂肪变性肝炎		0
可能/不明确		1
确定脂肪变性肝炎		2

[0028] *肿胀分类:少量指示极少但确定膨胀的肝细胞以及诊断上不明确的情况。

[0029] †「不存在或极少」类别意谓减轻对罕见实例的耗时的搜寻或对诊断上不明确变化的审议的需求。若在合理搜寻之后鉴别特征,则其应编码为「许多」。

[0030] ‡关于成人活检观测结果,诊断分类可能不可用。

[0031] 根据本发明的用途亦可降低

[0032] 尤其如上文所定义的脂肪变性等级评分(评分1、2、3);及/或

[0033] 尤其如上文所定义的纤维化阶段评分(评分1、1A、1B、1C、2、3或4)。

[0034] 根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物系较佳选自厌氧丁酸菌物种 (*Anaerobutyricum* species) 或真杆菌物种 (*Eubacterium* species), 较佳为索氏厌氧丁酸菌 (例如 DSM17630/KCTC15707) 及/或霍氏厌氧丁酸菌 (*Anaerobutyricum hallii*) (DSM3353/ATCC27751)。

[0035] 在 Shetty 等人 (*Int J Syst Evol Microbiol.* 2018 年 12 月; 68 (12): 3741-3746) 之一项研究中, 以前称为霍氏真杆菌 (*Eubacterium hallii*) 的物种已重新分类为两组: 霍氏厌氧丁酸菌及索氏厌氧丁酸菌。索氏厌氧丁酸菌及/或霍氏厌氧丁酸菌两者均被视为属于厚壁菌门的梭菌丛集 XIVa (亦称为毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*)) 的厌氧革兰氏阳性 (Gram-positive)、过氧化氢酶阴性细菌。

[0036] 最佳地, 根据本发明的至少一种厌氧丁酸菌物种为索氏厌氧丁酸菌 (例如 DSM17630/KCTC15707) 或其相关物, 其 16S rRNA 基因序列与索氏厌氧丁酸菌的 16S rDNA 序列 (SEQ ID NO:1) 具有至少 70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.5、99.9、100% 序列一致性。此类基于 16S rDNA 相似性的截止值可定义具有类似特征及/或功能性的物种。

[0037] 或者或另外, 根据本发明的厌氧丁酸菌物种为霍氏厌氧丁酸菌 (例如 DSM3353/ATCC27751) 或其相关物, 其 16S rRNA 基因序列与霍氏厌氧丁酸菌的 16S rDNA 序列 (SEQ ID NO:2) 具有至少 70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.5、99.9、100% 序列一致性。此类基于 16S rDNA 相似性的截止值可定义具有类似特征及/或功能性的物种。

[0038]

索氏厌氧丁酸菌 L2-7 16S rRNA 基因序列

核苷酸序列 (SEQ ID NO:1)*

```

tgatcctggc tcaggatgaa cgctggcggc gtgctaaca catgcaagtc gaacgaagca
  cctttaaga ttctcggat gattgatcgg tgactgagtg gcgacgggt gagtaacgcg
  tgggtaacct gccctgtaca gggggataac agttgaaac ggctgctaat accgcataag
  cgcacgagag gacatcctct tgtgtaaaa actccgggtg tacaggatgg gcccgctct
  gattagctgg ttggcagggt aacggcctac caaggcgacg atcagtagcc ggtctgagag
  gatgaacggc cacattggaa ctgagacacg gtccaaactc ctacgggagg cagcagtggg
  gaatattgca caatggggga aaccctgatg cagcaacgcc gcgtgagtga agaagtattt
  cggatgtaa agctctatca gcaggaaga taatgacgg acctgactaa gaagctccgg

```

```

ctaaatacgt gccagcagcc gcggtataac gtatggagca agcgttatcc ggattfactg
gggtfaaagg gtgcgtaggt ggcaagtcaa gtcagatgtg aaaggccggg gctcaacccc
ggagctgcat ttgaaactgc atagctagag tacaggagag gcagggcgaa ttctagtgt
agcggtgaaa tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcggcc tgctggactg
ttactgacac tgaggcacga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctgtagtcc
acgccgtaaa cgatgaatcc taggtgtcgg ggccgtatag gcttcggtgc cgctgcaaac
gcagtaagta ttccacctgg ggagtacgtt cgcaagaatg aaactcaaag gaattgacgg
ggaccgcac aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag aacctacca
ggctttgaca tccttctgac cactccgtaa tgggagtctt ccttcgggac agaagagaca
gggtgtgcat ggttgtccgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga
gcgcaacccc tatctcagt agccagcagg taaggctggg cactctggag agactgccag
ggataacctg gaggaaggtg gggacgacgt caaatcatca tccccctat gatctgggag
acacacgtgc tacaatggcg gtcacaaagt gaggcaaac tgcgaggggg agcaaacccg
aaaaaggccg tcccagtgc gactgtagtc tgcaaccgca ctacacgaag ctggaatgc
tagtaatgc gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc gggctttgta cacaccgccc
gtcacacat gggagtcgga aatgcccga gccagtgacc caacctttg gagggartg
tcgaagggtg agccggtaac tggggtgaag tcgtaacaag gg

```

霍氏厌氧丁酸菌16S rRNA基因序列

核苷酸序列(SEQ ID NO:2)*

```

tttattgag agttgatcc tgctcagga tgaacgtgg cgccgtgcct aacacatgca
agtcgaacga agcacctac cwgattctc ggatgaaagw ytggtgactg agtggcggac
gggtgagtaa cgcgtgggta acctgccctg tacaggggga taacagctgg aaacggctgc
taataccgca taagcgcacg aggagacatc tccttgtgtg aaaaactccg gtgtacagg
atgggcccgc gtctgattag ctggttggca gggtaacggc ctaccaaggc aacgatcagt
agccggtctg agaggatgaa cggccacatt ggaactgaga cacggtccaa actctacgg
gaggcagcag tggggaatat tgcacaatgg gggaaaccct gatcagcaa cgcgcgctga
gtgaagaagt attcggat gtaaagctct atcagcaggg aagataatga cgttacctga
ctaagaagct cgggtaaat acgtgccagc agccgcggta atactatgg agcaagcgtt
atccggattt actgggtgta aagggtgctt aggtggcagt gcaagtcaga tgtgaaaggc
cggggctcaa ccccgngct gcattgaaa ctgcwyrct agagtacagg agaggcaggc
ggaattccta gtgtagcgtt gaaatgcgta gatattagga ggaacaccag tggcgaaggc
ggcctgctgg actgttactg aactgaggc acgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga
tacctggta gtccacgcc taaacgatga atactaggtg tggggccgt ataggctycg
gtccgccgc taacgcagta agtattccac ctggggagta cgttcgcaag aatgaaactc
aaaggaattg acggggacc gcacaagcgg tggagcatgt ggttaattc gaagnaacgc
gaagaacctt accaggtctt gacatcctc tgaccgcacc ttaatcggtg ctttctctg
ggacagaaga gacaggtggt gcatggtgt cgtcagctc tctcgtgaga tgttgggta
agtccncaa cgagcgnac ccctatctc agtagccagc agtaaggtt gggcactctg
gagagactgc cagggataac ctggaggaag gtggggacga cgtmnaatca tcatgccct
tatgatctgg gcgacacacg tctacnatg gcggtcacag agtgaggcga accygcgang
gggagcaanc cacaaaagg ccgtcccagt tggactgta gctgcaacc cgactacacg
aagctggaat cgctagtaat cgcgaatcag aatgtcggg tgaatcgtt cccnngctt
gtacacaccg nccgtcacac catgggagtc ggaatgccc gaagccagtg acccaacctt
tatggaggga gctgtcgaag gtggagccgg taactgggg

```

* [n] 系指a、t、c或g。

[0039]

[0040] 在较佳实施例中,根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物与至少一种双歧杆菌物种组合。发现此为协同组合,引起肝坏死性发炎活性评分出人意料地降低。

[0041] 双歧杆菌物种可与该索氏厌氧丁酸菌或其相关物分开、依次或同时投与。因此,该双歧杆菌物种可相对于该索氏厌氧丁酸菌或其相关物包含于相同组合物或单独组合物中。

[0042] 双歧杆菌为革兰氏阳性、典型不动、通常分支的厌氧细菌的属。其普遍存在于哺乳动物(包括人类)的胃肠道、阴道及口腔中。双歧杆菌为构成哺乳动物中的胃肠道微生物相的主要细菌属之一。根据本发明的至少一种双歧杆菌物种系较佳能够同化人乳寡糖(HMO)。

- [0043] 本发明的至少一种双歧杆菌物种较佳包括一或多种
- [0044] 动物双歧杆菌乳亚种或其相关物,其具有与动物双歧杆菌乳亚种的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号NR_040867,SEQ ID NO:3)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0045] 婴儿双歧杆菌(能够同化HMO)或其相关物,其具有与婴儿双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号D86184,SEQ ID NO:4)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0046] 长双歧杆菌(能够同化HMO)或其相关物,其具有与长双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号M58739,SEQ ID NO:5)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0047] 短双歧杆菌(能够同化HMO)或其相关物,其具有与短双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号AB006658,SEQ ID NO:6)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0048] 嗜热双歧杆菌或其相关物,其具有与嗜热双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号AB016246,SEQ ID NO:7)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0049] 两歧双歧杆菌或其相关物,其具有与两歧双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号M38018,SEQ ID NO:8)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0050] 青春双歧杆菌或其相关物,其具有与青春双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号M58729,SEQ ID NO:9)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0051] 链状双歧杆菌或其相关物,其具有与链状双歧杆菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号M58732,SEQ ID NO:10)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因;
- [0052] 假链状双歧杆菌或其相关物,其具有与假链状双歧杆菌的模式菌株的16SrRNA基因序列(NCBI寄存编号D86187,SEQ ID NO:11)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因。
- [0053] 在尤其较佳实施例中,双歧杆菌物种系选自:
- [0054] 动物双歧杆菌乳亚种或其相关物,其具有与SEQ ID NO:3具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA基因序列;及/或
- [0055] 短双歧杆菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:6具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA基因序列。

[0056]

动物双歧杆菌乳亚种16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号NR_040867, SEQ ID NO: 3)	
1	agttgatca tggctcagga tgaacgctgg cggcgtgctt aacacatgca agtcgaacgg
61	gatccctggc agcttgctgt cggggtgaga gtggcgaacg ggtgagtaat gcgtgaccaa
121	cctgccctgt gcaccggaat agctcctgga aacgggtggt aataccggat gctccgctcc
181	atcgcatggt ggggtgggaa atgcttttgc ggcatgggat ggggtcgcgt cctatcagct
241	tgttggcggg gtgatggccc accaaggcgt tgacgggtag cggcctgag agggtgaccg
301	gccacattgg gactgagata cggcccagac tctacggga ggcagcagtg gggaatattg
361	cacaatgggc gcaagcctga tgcagcgacg ccgcgtcggg gatggaggcc ttgggttgt
421	aaaccgcttt tgtcaaggc caaggcacgg ttccggccgt gttgagtga ttgtcgaat
481	aagcaccggc taactacgtg ccagcagccg cggtaatacg tagggtcgga gcgttatccg
541	gatttattgg gcgtaaaggc ctcgtaggcg gttcgtcggg tccggtgta aagtcatcg
601	cctaacggtg gatctgcgcc gggtagggc gggctggagt gcggtagggg agactggaat
661	tcccgtgta acggtggaat gttagatat cgggaagaac accaatggcg aaggcagctc
721	tctggccgt cactgacgct gaggagcga agcgtgggga gcgaacagga ttgataccc
781	tggtagtcca cgcgtaaac ggtggatgct ggatgtgggg cctttccac ggtcccgtg
841	tcggagccaa cgcgtaagc atcccgcctg gggagtacgg ccgcaaggct aaaactcaa
901	gaaattgacg ggggcccgca caagcggcgg agcatcgga ttaattgat gcaacgcgaa
961	gaacctacc tgggctgac atgtccgga tcgccgtgga gacacggtt ccttcgggg
1021	ccggtcaca ggtggtgcat ggtcgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt gggtaagtc
1081	ccgcaacgag cgcaaccctc gccgcatgtt gccagcgggt gatgccggga actcatgtgg
1141	gaccgccggg gtcaactcgg aggaagggtg ggatgacgic agatcatcat gcccttacg
1201	tccagggtt cacgcatgct acaatggcgg gtacaacgcg gtgcgacacg gtgacgtggg
1261	gcggatcgt gaaaaccggt ctcagttcgg atcgcagtct gcaactcgac tgcgtgaagg
1321	cggagtcgt agtaatcgg gatcagcaac gcccggtgga atgcgttccc gggccttga
1381	cacaccgcc gtcaagtcat gaaagtgggt agcaccgaa gccggtggcc cgaccctgt
1441	ggggggagcc gtctaagggt agactcgtga ttggactaa gtcgtaacaa ggtagccgta
1501	ccggaagggt cggctggatc acctccta
婴儿双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号D86184, SEQ ID NO: 4)	
1	tttgatcatg gctcaggatg aacgctggcg gcgtgcttaa cacatgcaag tcgaacggga
61	tccatcgggc ttgcttggg ggtgagatg gcgaacgggt gagtaatgcg tgaccgacct
121	gcccataca ccggaatagc tctggaaac ggggtgtaat gccggatgtt ccagttgac

181 gcatggtctt ctgggaaage ttegcggta tgggatgggg tcgctccta tcagcttgac
 241 ggcggggtaa cggcccaccg tggtctcgac gggtagccgg cctgagaggg cgaccggcca
 301 cattgggact gagatacggc ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattgcaca
 361 atgggcgcaa gcctgatgca gcgacgccgc gtgagggatg gaggcctfcg ggttgtaaac
 421 ctcttttacc ggggagcaag cgtgagtgag ttaccctgt gaataagcac cggctaacta
 481 cgtgccagca gccgcggtaa tacgtagggt gcaagcgtta tccggaatta ttgggcgtaa
 541 agggctcgtg ggcgggtcgt cgcgtccggt gtgaaagtcc atcgtctaac ggtggatccg
 601 cgcggggtac gggcgggctt gactgcccga ggggagactg gaattcccgg tgaacgggtg
 661 gaatgttag atacgggaa gaacaccaat ggcgaaggca ggtctctggg cgttactga
 721 cgctgaggag cgaagcgtg gggagcgaac aggattagat accctgtag tccacgccgt
 781 aaacggtgga tgctgtagt ggggccggt ccacgggttc cgtgctggag ctaacgcgtt
 841 aagcatccc cctggggagt acggccgcaa ggctaaaact caaagaatt gacggggggc
 901 cgcacaagcg ggcgagcatg cggattaatt cgtgcaacg cgaagaacct tacctgggt
 961 tgacatgct cgcagatcc cagagatggg gttccctc gggcggggt cacaggtggt
 1021 gcatggtcgt cgtcagctcg tctcgtgaga tgtgggta agtcccga cagcgcac
 1081 cctcggccc gttgcccagc ggattgtcc gggaactcac gggggaccgc cgggggtaac
 1141 tgggaggaag gtggggatga cgtcagatca tcatgccctc tacgtccagg gcttcacgca
 1201 tgctacaatg gccggtaca cgggatgca cgcggcgacg cggagcggat cctgaaaaac
 1261 cggctcagc tggatcgca gctcgaact cactcgtg aaggcggagt cgttagta
 1321 cgcgaatcag caacgtcgc gtgaatgct tcccggcct tctacacacc gccgtcaag
 1381 tcatgaaagt ggcagcacc cgaagccgt ggcctaacc cttgtggat ggagccgt
 1441 aaggtgagc tcgtgattg gactaagtc taacaaggta gccgtaccg aaggtgcgc
 1501 tggatcacct cctta

长双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号M58739, SEQ ID NO: 5)*

[0057]

1 ttttgggag ggtcgttc tggtcagga tgaacgctg cggcgtgct aacacatgca
 61 agtcgaacgg gatccatcaa gctgctgg tggtagagt ggccaacggg tgagtaatgc
 121 gtgaccgacc tgcccatac accggaatag ctctggaaa cgggtggtaa tgcgggatg
 181 tccagttgat cgcaggtct tctgngaaa gcnttccgc gtatgggatg ggtcgcgct
 241 ctatcagctt gacgngggg taacggenna cgtggctc gacgggtagc cggcctgaga
 301 gggcgaccgg ccacattggg actgagatac ggcccngact cctacgggag gcagcagtg
 361 ggaatattgc acaatgggag caagcctgat gcagcgcgc cgcgtgaggg atggaggcct
 421 tggggtgta aacctctt atcggggagc aagcagagt gagttacc gtgaataag
 481 caccggctaa ctacgtcca gcagccgag taatacgtg ggtgcnagc ttatccggaa
 541 ttattgggag taaagggct gtaggcggt cgtcgcgctc ggtgtgaaag tccatcgct
 601 aacggtgat ccgcgccggg tacggggggg cttgagtgc gtaggggaga ctggaattcc
 661 cgggtgaacg gtggaatgt tagatacgg gaagaacacc aatggcgaag gcaggtctct
 721 gggccgttac tgacgtgag gagcgaagc gtggggagcg aacaggatta gataccctg
 781 tagtccacgc cgtaaacggt ggatgctgga tgtggggccn gttccacggg tccgtgctc
 841 gagctaacc gtaagcatc ccgctgggg agtacggccg caaggctaaa actcaagaa
 901 attgacggg gccngcaca cggcgaggc atgaggatta atcgtatgna acgcaagaa
 961 cttacctgg gctgacatg tcccagcg tcgtagatg acggctccc ttcggggcgg
 1021 gttcacaggt ggngcatggt cgtcgtcagc tctgtcgtg agatgtggg ttaagtccc
 1081 caacgagcg aacctcgcc cgtgtgccc agcggattat gccgnaact cacgggnnac
 1141 cgcgggggt aactcggag aaggtgggga tgacgtcaga tcatcatgcc ccttacgtc
 1201 agggcttcac gcatctaca atggccgta caacgggatg gcagcggcg acgaggagcg
 1261 gatccctgaa aacngtctc agltcggatc gcagctgca actcactgc gtgaaggcg
 1321 agtgcctagt aatcgcgat cagcaacgtc gcggtgaatg cgttccngg cctgttac
 1381 accgcccgtc aagncatgaa agtgggcagc accgaagcc ggtggcctaa cccctgtg
 1441 ganggagccg tctaaggta gctcgtgat tgggac

短双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号AB006658, SEQ ID NO: 6)

1 ttcgattctg gctcaggatg aacgctggc gcgtgcttaa cacatgcaag tgaacggga
 61 tccatcgggc tttgctggt ggtgagagt gcgaacgggt gagtaatgc tgaccgacct

121 gccccatgca ccggaatagc tcttggaac ggggtgtaat gccggatgct ccatcacacc
 181 gcatggtgtg ttgggaaagc ctttcggca tgggatgggg tcgctccta tcagcttgat
 241 ggccgggtaa ccgcccacca tggcttcgac gggtagccgg cctgagaggg cgaccggcca
 301 cattgggact gagatacggc ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattgcaca
 361 atgggcgcaa gcctgatgca gcgacgccgc gtgagggatg gaggccttcg ggttgtaaac
 421 ctctttgtt agggagcaag gcactttgtg ttgagtgtac ctttcgaata agcaccggct
 481 aactacgtgc cagcagccgc ggtaatcgt aggggtgcaag cgttatccgg aattattggg
 541 cgtaaagggc tcgtagggcg ttcgtcgcgt ccggtgtgaa agtccatcgc ttaacgggtg
 601 atccgcgccc ggtacgggcg ggcttgatg cggtagggga gactggaatt cccggtgtaa
 661 ccgtggaatg ttagatatac gggaagaaca ccaatggcga aggcaggtct ctgggccgtt
 721 actgacgctg aggagcgaac gcgtggggag cgaacaggat tagatacctt ggtagtccac
 781 gccgtaaacg gtggatgctg gatgtggggc ccgtccacg ggttccgtg cggagctaac
 841 gcgtaagca tcccgcctg ggagtacggc cgcaaggcta aaactcaaag aaattgacgg
 901 gggccgcac aagcggcggg gcatgcggat taattgatg caacgcgaag aacctacct
 961 gggcttgaca tgtcccgcac gatcccagag atgggggttc cttcggggc gggttcacag
 1021 gtggtgatg gtcgtcgtc gtcgtcgtc tgagatgtg ggttaagtc cgcaacgagc
 1081 gcaaccctcg ccccggttg ccagcggatt gtccgggaa ctcacggggg accgcccggg
 1141 ttaactcgga ggaaggtggg gatgacgta gatcatcatg ccccttacgt ccagggttc
 1201 acgcatgcta caatggcccg tacaacggga tgcgacagt cgagctggag cggatccctg
 1261 aaaaccggc tcagttcgga tcgacgtct caactcgact gcgtgaaggc ggagtgccta
 1321 gtaatcgca atcagcaacg tcgcggtgaa tgcgtcccg gccctgtac acaccggccg
 1381 tcaatgatg aaagtgggca gcaccgaag ccggtggcct aacccttcg gggagggagc
 1441 cgtctaaggt gagctcgtg atfgggacta agtcgtaaca aggtagccgt accggaaggt
 1501 gcggtggat cacctccta

嗜热双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号AB016246, SEQ ID NO: 7)

[0058]

1 agagtttgat catggctcag gatgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaa
 61 gggatcctgc gggctttgcc tgcgggtgag agtggcgaac gggtagtaa tgcgtgacca
 121 acctgcccc tgcctcggaa tagctcctg aaacgggtgg taatgccgga tgtcccgcg
 181 ccccgcatgg ggtgcgggga aaagctttg cggcgtggga tggggtcgcg tctatcagc
 241 ttgttgccg ggtgagggcc caccaaggct tcgacgggta gccggcctga gaagggacc
 301 ggccacattg ggactgagat acggcccaga ctctacggg aggcagcagt ggggaatatt
 361 gcacaatggg cgcaagcctg atcagcgcac gccgcgtgcg ggatggagge ctcggggtg
 421 taaaccctt ttgttgga gcaagccct cggggtgagt gtaccttcg aataagcacc
 481 ggctaaatac gtccagcag ccgcggtaat aagtaggggt cgagcgttat ccggattat
 541 tggcgtaaa gggctttag gcggtttgc gcgtccgggt gaaagtcca tcgctaacg
 601 gtggatttc gccgggtacg ggcgggctgg agtgcggtag gggagactgg aatcccgg
 661 gtaacggtg aatgtlaga ttcgggaaag aacaccaatg gcgaaggcag gctttgggc
 721 cgttactgac gctgaggagc gaaagcgtgg ggagcgaaca ggattagata cctggtagt
 781 ccacgccgta aacggtggat gctggatgtg gggcccttc acgggtcccg tgcggggcc
 841 aacgcgttaa gcatcccgc tggggagtac ggccgcaagg ctaaaactca aagaaattga
 901 cgggggcccc cacaagcggc ggagcatcgc gattaattcg atgcaacgcg aaaaacctta
 961 cctgggctt acatgttccc gacgacggca gagatgctg tcccttcgg ggcgggttca
 1021 cagtggtgc atggtcgtc tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggtcaag tcccgaacg
 1081 agcgaacc tcgcccgtg ttccagcgc gtctggcgg gaactaccg gggaccggc
 1141 gggtttacc ggaggaagg ggggatgacg tcagatcacc atgcccctta cgtccagggc
 1201 ttcacggcat gctacaatg ccgggtacag gcgggatgc agacatggt acatggagc
 1261 ggatccctga aaaccgtct cagttcggga tcggagcgtg caaccggct cggtaaggc
 1321 ggagtcggt aagtaatgc ggatcagcaa cgcgcgggt aatgcgttcc cggccttgt
 1381 acacaccgc cgtcaagtca tgaagtggg cagcacccga agccggtggc ctgaccagta
 1441 ttgctgggg gagccgtcta aggtgaggct cgcgattgg agtaagtcgt aacaaggtg
 1501 ccgtaccgga aggtgcggct ggatcacctc ctt

两歧双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号M38018, SEQ ID NO: 8)*

[0059]

```

1 tttttgtgga gggttcgatt ctggctcagg atgaacgctg gggcggtgct taacacatgc
61 aagtcgaacg ggatccatca agcttgcttg gtggtgagag tggcgaacgg gtgagtaatg
121 cgtgaccgac ctgccccatg ctccggaata gctcctggaa acgggtggta atgccgnatg
181 ttccacatga tcgcatgtga ttgtgggaaa gattctatcg gcgtgggatg gggtcngtc
241 ctatcagctt gttggtgagg taacggctca ccaaggcttc gacgggtagc cggcctgaga
301 gggcgaccgg ccacattggg actgagatac ggcccagact cctacgggag gcagcagtg
361 ggaatattgc acaatgggcg caagcctgat gcagcgacgc cgcgtgaggg atggaggcct
421 tcgggttga aacctcttt gtttgggagc aagcctcgg gtgagtgtac ctttcaata
481 agcggcggt aactacgtgc cagcagccgc ggtataactg agggnnnnag cgttatccgg
541 attattggg cgtaaaggcg tcgtaggcgg ctgcctcgt ccggtgtgaa agtccatcgc
601 ttaacggtgg atctgcgcc ggtacgggcg ggcctggagt cggtagggga gactggaatt
661 cccggtgtaa cggtggaatg tglagatac gggagaaca ccgatggcga aggcaggtct
721 ctggcngtc actgacgctg aggagcnaaa gcgtggggag cgaacaggat tagataacct
781 ggtagtccac gccgtaaacg gtggacgctg gatgtggggc acgtccacg tgtccggt
841 cggagctaac gcgttaacg tcccgcctgg ggagtacggc cgcaaggcta aaactcaag
901 aaattgacgg gggccngcac aagcggcgga gcatgcgat taattgaac naacgcgaag
961 aacctacct gggctgaca tgtcccgc gacgccagag atggcgctc cctcggggc
1021 ggggtcacag gtggtgcatg gtcgtctca gctcgtctc tgagatgtg ggttaagtcc
1081 cgcaacgagc gcaaccctcg ccccgtgtg ccagcacgtt atggtgggaa ctcacgggnn
1141 accgccgggg ttaacncgga ggaagggtgg gatgacgta gatcatcat cccctacct
1201 ccaggcctc acgcatgcta caatggccgg tacagcggga tgcgacatgg cgacatggag
1261 cggatccctg aaaaccggtc tcagtccgga tcggagcctg caaccggct ccgtgaaggc
1321 ggagtcgcta gtaatcgcg atcagcaac ccgcggtgaa tgcgtcccg gccctgtac
1381 acaccgccc tcaagtcatg aaagtgggca gcaccgaag ccggtggcct aacccttgt
1441 gggatggagc cgtctaaggt gagctcgtg nttgggacta agnngtaaca agnnnnnngt
1501 accggaagnn nnnnnnngat cacctcctt ct

```

青春双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank 寄存编号M58729, SEQ ID NO: 9)*

```

1 nnnntgtgg agggttcgat tctggctcag gatnaacgct ngcggcgtgc ttaacacatg
61 caagtcgaac gggatcggct ngagcttct cggctgtga gagtggcgaa cgggtgagta
121 atgcgtgacc gacctgcccc atacaccgga atagctcctg gaaacgggtg gtaatgccgg
181 atgctccagt tggatgcatg tcttctggg aaagattcta tcggtatggg atggggtcgc
241 gtctatcag ctgatggcg gggtaacggc cncatggc ttcgacgggn agccggcctg
301 agagggcgac cggccacatf gggactgaga tacggccng actctacgg gaggcagcag
361 tgggnaatat tgcacaatgg gcgcaagcct aatgcagcga cggcgctgc gggatgacgg
421 cctcggggt gtaaaccgct tttgactggg agcaagcct cggggtgagt gtaccttctg
481 aataagcacc ggctaactac gtgccagcag cncggtaat acgtagggtg cnagcgttat
541 cgggaattat tggcgtaaa gggctcgtag gcggtctgc gcgtccggtg tgaaagtcca
601 tcgctaacg gtggnlccgc gccgggtacg ggcggnttg agtccggtag ggnagactgg
661 aattcnggt gtaacggtgg aatgtgtaga tatcgggaa aacaccaatg cgaaggcag
721 gtctctgggc ngtnactgac gctgaggagc gaaagcgtgg ggagcgaaca ggattagata
781 cctgtgtagt ccacgccgta aacggtggat gctggatgtg gggaccattc cacggtctcc
841 gtgtcggagc caacgcgta agcatcccgc ctggggagta cggccgcaag gctaaaactc
901 aaagaaattg acgggnncn ncacaagcgg cngagcatgc ggattaatc gatnnaacgc
961 gaagaacctt acctgggctt gatcatgtcc cgacaggccc cagagatggg nmntccttcg
1021 ggncgggntc acaggtggng catggtcgtc gtcagctctg gtcgtgagat gttgggttaa
1081 gtcccgaac gagcgcacc ctgcacctgt gttgccagca cgtcgtggtg gnaactcag
1141 ggngaccgcc ggggtcaact cggaggaagg tgggnatgac gtcagatcat catgccctt
1201 acgtccaggg cttcacgcat gctacaatgg ccggtacaac gggatgcgac ctctgaggg
1261 ggagcggatc cctaaaacc ggnctcagt cggattggag tctgcaacc gactccatga
1321 aggcggagtc gctagtaac gcggtacgc aaccccgcg tnaatgcgt cccgggcctt
1381 gtacacacc cccgtcaagc catgaaagt ggtagcacc gaagccggtg gccnacctt
1441 tttgggggga gccgttaag gtgagnctc gtagtngg

```

链状双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank寄存编号M58732, SEQ ID NO: 10)*

1 nnnttttg agnggtcga ttctggctca ggtgaacgc tggcggcgtg ctaaacat
61 gcaagtcgaa cgggatcagg cagcttctg cctggngaga gtggcgaacg ggnnagtaat
121 gcgtgaccna cctgcennat acaccggaat agctcctgga aacgggtggt aatgccggat
181 gctccgactc ctgcatggg gtgtcggnaa agatttcac ggtatgggat ggggtcngt
241 cctatcaggt agtcggcggg gtaacggcnn nccgagcctn cgacgggtag ccggcctgag
301 agggcgaccg gccacattgg gactgagata cggccnngac tcctacggga ggcagcagtg
361 ggnecatatt cacaatgggc gcaagcctna tgcagcgacg cnnngtcgg gntgacggc
421 tncgggtgt aaacncntt tgatcgggag caagcctcg ggtgagtga cnttgcgat
481 aagcaccggc taactactgt ccagcagccg cgtaatac tagggtcgna gcgtatccg
541 gaattattgg gcgtaaaggc ctgtaggag gtcgtcgcg tccggtgtga aagtcacg
601 ctaacggtg gatctgcgc gggtagggc gggctggagt gcggtagggg ngactggaat
661 tcccgtgta acggtggaat gtgtagata cgggaagaac accaatggcg aaggcngtc
721 tctggcngn nactgacgt gaggagcga agcgtgggga gcgaacagga ttgataccc
781 ttgtagtcca cgcgtaaac ggtggatgct ggtatgggg cnngtccac gggttccgtg
841 tggagctaa cgcgtaagc atcngcctg gggngtncgg cngcaagcnn nnnncnaaa
901 gaaattgang ggggccngca caagcggngg agcatcgga tnatcgan nnaacgcgaa
961 gaacctacc tggcctgac atgtcccg cagccgtaga gatacggcct cccctcggg
1021 cgggnncaca ggtgngcat gtcgtcgtc ngctcgtgc gtgagatgt gggtaagtc
1081 cncacagag cgcaacctc gccctgtgt gccgacacgt catgtngna ctcacgggn
1141 acccccggg tcaactcga ggaaggtgg gatgacgca gatcatcatg cccctacgt
1201 ccaggcctc acgcatgta caatggccg tacaacggga tgcgacatg cgacatggag
1261 cggatccctg aaaaccgnc tcagtcgga ttggagtct caaccgact ccatgaaggc
1321 ggagtcgta gtaatcggg atcagcaac cgcgggtgaa tgcgtcccg ggcctgtac
1381 acaccgncg tcaagncatg aaagtgggta gcaccgaag ccggtggcct naccnttgt
1441 gggatggagc cgtctaaggt gagactcgtg attgggac

[0060]

假链状双歧杆菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank寄存编号D86187, SEQ ID NO: 11)

1 gtttgatc tggtcagga tgaacgctg cggcgtgctt aacacatgca agtcgaacgg
61 gatccatcag gctttgctt gtggtgagag tggcgaacgg gtgagtaatg cgtgaccgac
121 ctccccata caccggaata gctcctgga acgggtggta atgccggatg ctccgactcc
181 tcgatgggg tgcgggaaa gatttcacg gtatgggatg gggtcgcgtc ctatcagga
241 gtcggcggg taacggcca ccgagcctac gacgggtagc cggcctgaga gggcgaccgg
301 ccacattggg actgagatac ggcccagact cctacgggag gcagcagtg ggaatattgc
361 acaatggcg caagcctgat gcagcgacg cgcgtcggg atgacggcct tcgggtgta
421 aaccgcttt gatcgggagc aagcctcgg gtgagtgtac ctctgaata agcaccggct
481 aactacgtc cagcagccg ggtaatacgt aggggtgcaag cgttatccgg aattattggg
541 cgtaaagggc tcgtaggagg ttcgtcgcgt ccggtgtgaa agtccatcgc ttaacgggtg
601 atctgcgcc ggtacggcg ggcctggagt cggtagggga gactggaat cccggtgtaa
661 cggtggaatg ttagatatac gggaagaaca ccaatggcga aggcaggtct ctgggccgt
721 actgacgtg aggagcgaac gcgtggggag cgaacaggat tagatacct ggtagtccac
781 gccgtaaacg gtggtgctg gatgtggggc ccgtccacg ggttccgtg cggagctaac
841 gcgtaagca tcccgcctg ggagtacggc cgcaaggcta aaactcaaag aaattgacgg
901 gggcccgac aagcggcgga gcatcggat taattgatg caacgcgaag aacctacct
961 gggctgaca tgtcccgc agccgtagag atatggctc cctcggggc gggttcacg
1021 gtggtgcatg gtcgtcgtc gctcgtgctg tgagatgtg ggttaagtcc cgcaacgagc
1081 gcaacctcg cctgtgtg ccagcacgtc atggtgggaa ctcacggggg accgccggg
1141 tcaactgga ggaaggtgg gatgacgca gatcatcatg cccctacgt ccaggcctc
1201 acgcatgta caatggccg tacaacggga tgcgacacg gcagctggag cggatccctg
1261 aaaaccggtc tcagtcgga ttggagtct caaccgact ccatgaaggc ggagtgcgta
1321 gtaatcggg atcagcaac cgcgggtgaa tgcgtcccg ggcctgtac acaccgccg
1381 tcaagtcag aaagtgggta gcaccgaag ccggtggcct aaccttgt ggtaggagcc
1441 gtctaagggt agactcgtg ttgggactaa gtcgtaacaa ggtagccgta ccggaagggtg

[0061]

1501 cggtggate acctcctta

* [n] 系指a、t、c或g。

[0062] 在另一尤其较佳实施例中,根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或至少一种双歧杆菌物种与至少一种阿克曼氏菌物种组合,较佳其中该至少一种阿克曼氏菌物种经巴氏杀菌/已经历巴氏杀菌(亦即加热至55至99、较佳65至80°C持续5至60秒或1至60分钟,较佳60至80°C持续20至40分钟,更佳65至75°C持续25至35分钟)。发现,此为另一协同组合,引起肝坏死性发炎活性评分的出人意料的降低。

[0063] 至少一种阿克曼氏菌物种可与该索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或该至少一种双歧杆菌物种分开、依序或同时投与。因此,该阿克曼氏菌物种可相对于该索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或至少一种双歧杆菌物种包含于相同组合物或单独组合物中。

[0064] 较佳地,根据本发明的至少一种阿克曼氏菌物种为嗜黏蛋白阿克曼氏菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:12具有至少90、95、97、99或100%序列一致性的16S rRNA序列。

[0065] 阿克曼氏菌属为疣微菌门(Verrucomicrobia)中的属。发现,阿克曼氏菌物种改良肠黏膜障壁功能或肠障壁功能,其系指确保非所需管腔内含物在肠道中的适当容纳同时保持吸收养分的能力的肠黏膜的特性。其在保护黏膜组织及循环系统免于暴露于促炎性分子(诸如微生物、毒素及抗原)中的作用对维持健康状况及健康至关重要。因此,阿克曼氏菌物种可预防或用于治疗肠黏膜障壁功能障碍,其涉及许多健康病况,诸如:食物过敏、微生物感染、大肠急躁症、发炎性肠病、乳糜泻、代谢症候群、非酒精性脂肪肝病、糖尿病及败血性休克。参见Collado等人2007(*Appl Environ Microbiol* 2007年12月;73(23):7767-70)。或参*Appl Environ Microbiol*.2020年3月18日;86(7):e03004-19。

[0066] 本发明的至少一种阿克曼氏菌物种较佳包括一或多种

[0067] 嗜黏蛋白阿克曼氏菌(能够同化HMO)或其相关物,其具有与嗜黏蛋白阿克曼氏菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号AY271254,SEQ ID NO:12)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因。

[0068] 嗜聚糖阿克曼氏菌(*Akkermansia glycanipila*)或其相关物,其具有与嗜聚糖阿克曼氏菌的模式菌株的16S rRNA基因序列(NCBI寄存编号NR152695,SEQ ID NO:13)具有至少90、95、97、98、99、100%序列一致性的16S rRNA基因。

嗜黏蛋白阿克曼氏菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank寄存编号AY271254, SEQ ID NO: 12)

1 aacgaacgct ggcggcgtgg ataagacatg caagtcgaac gagagaattg ctagcttgc
 61 aataattctc tagtggcgca cgggtgagta acactgagtg aacctgcccc cgagagcggg
 121 atagccctgg gaaactggga ttaataccgc atagatcga aagattaaag cagcaatgcg
 181 cttggggatg ggctcggcgc ctattagtta gttggtgagg taacggctca ccaagggcat
 241 gacgggtagc cggctgaga ggatgtccgg ccacactgga actgagacac ggtccagaca
 301 cctacgggtg gcagcagtcg agaatcattc acaatggggg aaacctgat ggtgcgacgc
 361 cgcgtggggg aatgaaggtc ttcgattgt aaacctctgt catgtgggag caaattaaaa
 421 agatagtacc acaagaggaa gagacggcta actctgtgcc agcagccgcg gtaatacaga
 481 ggtctcaagc gttgtcga atcactgggc gtaaagcgtg cgtaggctgt ttcgtaagtc
 541 gtgtgtgaaa ggcgcgggct caaccgcgg acggcacatg atactgcgag actagagtaa
 601 tggaggggga accggaattc tcggtgtagc agtgaatgc gtagatcgc agaggaacac
 661 tcgtggcgaa ggcggggtcc tggacattaa ctgacgctga ggcacgaagg ccagggggagc
 721 gaaagggatt agataccct gtagtctgg cagtaaacgg tgcacgcttg gtgtcgggg
 781 aatcgacccc ctgcgtgccc gagtaacgcg ttaagcgtgc cgcctgggga gtagcgtgc
 841 aagattaaaa ctcaaagaaa ttgacgggga cccgcacaag cggtgagta tgtggcttaa
 901 ttcgatgcaa cgcgaagaac cttacctggg cttgacatgt aatgaacaac atgtgaaagc
 961 atcgactct tcggaggcgt tacacaggtg ctgcatggcc gtcgtagct cgtgctgta
 1021 gatgttgggt taagccagc aacgagcga acccctgtg ccagttacca gcacgtgaag
 1081 gtggggactc tggcgagact gccagatca actgggagga aggtggggac gacgtcaggt
 1141 cagtatggcc cttatccca gggctgcaca cgtactaca tgcccagtc agagggggcc
 1201 gaagcccgca ggcgggagaa atcctaaaaa ctgggccag ttcggactgt aggctgcaac
 1261 ccgctacac gaagccggaa tcgctagtaa tggcgcac gctacggcgc cgtgaatagc
 1321 ttcccgggtc ttgtacacac cgcccgtcac atcatggaag ctggtcgcac ccgaagtac
 1381 tgaagccaac cgcaaggagg cagggtccta aggtgagact ggtaactggg atg

[0069]

嗜聚糖阿克曼氏菌16S rRNA基因(NCBI/Genbank寄存编号NR152695, SEQ ID NO: 13)

1 aacgaacgct ggcggcgtgg ataagacatg caagtcgaac ggagaagcaa tagcttcta
 61 atgcttcta gtggcgacg ggtgagtaac acgtgagcaa cctgccttcg agacgggaa
 121 agccctggga aaccgggatt aatgcccgat agactcgcaa gagtaaacgc agcaatgccc
 181 ttgaagaggg gctcggcggc tattagttag ttggtgaggt aacggctcac caagggcatg
 241 acgggtagcc ggtctgagag gatgtccggc cacactggaa ctgagacacg gtccagacac
 301 ctacgggtgg cagcagtcga gaatcattca caatggggga aacctgatg gtgcgacgcc
 361 gcgtggggga agaaggtctt cggattgtaa acccctgtca tgtgggagca aggcgcaagc
 421 ttgatagtac cacaagagga agagacggct aactctgtgc cagcagccgc ggaatacag
 481 aggtctcaag cgtgttcgg aatcactggg cgtaaaggtt acgtaggctg catcataagt
 541 cggcgctgaa aggcaggggc tcaaccctg gactgcgctt gatactgtga tctagagtc
 601 atggaggggg aaccggaact ctcggtgtag cagtgaatg cgtagatc gagaagaaca
 661 ctcgtggcga aggcgggttc ctggacatgt actgacgctg aggtacgaag gctaggggag
 721 cgaagggat tagatacccc ttagtccta gcagtaaagc gtgcacgctt ggtgtgtggg
 781 gaatcgacce cccactgccc ggagcaaagc cgttaagcgt gccgctggg gactacggtc
 841 gcaagattaa aactcaaaga aattgacggg gaccgcaca agcgggtggag tatgtggctt
 901 aattcgatgc aacgcgaaga acctacctg ggcttgacat gtgatgaaca acatgtgaaa
 961 gcatgtgaca cctcgggtgc gtcacacagg tctgcatgg ccgtcgtcag ctcgtgtct
 1021 gagatgttg gtaagtcca gcaacgagc caaccctgt tgccagttac cagcagttta
 1081 tgggggggac tctggcgaga ctgccagat caactgggag gaaggtgggg acgacgtcag
 1141 gtcagtatgg ccttatgcc cagggtgca cacgtactac aatgcccagt acagagggta
 1201 ccgaaccgc gagggggagg caatccatga aaactgggcc cagttcggat ttaggctgc
 1261 aactgccta catgaagatg gaatcgttag taatggcgca tcagctacgg cggcgtgaa

[0070]

1321 acgttcccgg gtctgtaca caccgccct cactcatgg aagccggtc caccggaagt
 1381 atctgaagcc aaccgcaagg aggcagggtc ctaaggtgag actgtaact gggatgaa

[0071] 在另一尤其较佳实施例中,根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或至少一种双歧杆菌物种及/或至少一种阿克曼氏菌物种与至少一种乳杆菌物种组合。发现此为另一协同组合,引起肝坏死性发炎活性评分出人意料降低。

[0072] 至少一种乳杆菌物种可与该索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或该至少一种双歧杆菌物种及/或该至少一种阿克曼氏菌物种分开、依次或同时投与。因此,该乳杆菌物种可相对于该索氏厌氧丁酸菌或其相关物及/或至少一种双歧杆菌物种及/或至少一种阿克曼氏菌物种包含于相同组合物或单独组合物中。

[0073] 该乳杆菌物种较佳选自

[0074] -嗜酸乳杆菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:14具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA序列;

[0075] -干酪乳杆菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:15具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA序列;

[0076] -罗伊氏乳杆菌或其相关物,其具有与SEQ ID NO:16具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA序列;及/或

[0077] -鼠李糖乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) 或其相关物,其具有与SEQ ID NO:17具有至少90、95、97、99、100%序列一致性的16S rRNA序列。

嗜酸乳杆菌16S rRNA序列(NCBI NR_043182.1) (SEQ ID NO:14)

[0078]

```

1 tctggctca ggacgaacg tggcggcgtg cctaatacat gcaagtcgag cgagctgaac
61 caacagattc acttcggtga tgacgttggg aacgcgagcg gcggatgggt gagtaacacg
121 tggggaacct gccccatagt ctgggatacc acttggaaac aggtgctaata accggataag
181 aaagcagatc gcatgatcag cttataaaaag gcggcgtaag ctgtcgctat gggatggccc
241 cgcggtgcat tagctagtgt gtagggtaac ggcctaccaa ggcaatgatg catagccgag
301 ttgagagact gatcggccac attgggactg agacacggcc caaactccta cgggaggcag
361 cagtagggaa tcttcacaa tggacgaaag tctgatggag caacgcccg tgagtgaaga
421 aggtttcgg atcgtaaagc tctgttgtg gtgaagaagg atagaggtag taactggcct
481 ttattgacg gtaatcaacc agaaagtcac ggctaactac tgcccagcag ccgcggtaat
541 acgtaggtgg caagcgttgt ccggatttat tgggcgtaaa gcgagcgcag gcggaagaat
601 aagtctgatg tgaagccct ccgctaacc gaggaactgc atcgaaact gttttcttg
661 agtgcagaag aggagagtgg aactccatgt gtagcgggtg aatgcgtaga tatatggaag
721 aacaccagtg gcgaaggcgg ctctctggtc tgcaactgac gctgaggctc gaaagcatgg
781 gtagcgaaca ggattagata ccctgtagt ccatgccgta aacgatgagt gctaagtgtt
841 gggaggtttc cgctctcag tgctgcagct aacgcattaa gcactccgcc tggggagtac
901 gaccgcaagg ttgaaacta aaggaattga cgggggccc cacaagcggg ggagcatgtg
961 gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtctt acatctagt caatccgtag
1021 agatacggag tcccctcgg ggacactaag acaggtggtg catggctgtc gtcagctcgt
1081 gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgaac gagcgaacc cttgcatta gttgccagca
1141 ttaagttggg cactctaatg agactgccgg tgacaaaccg gaggaaggtg gggatgacgt

```

[0079]

<p>1201 caagtcatea tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggac agtacaacga 1261 ggagcaagcc tgcgaaggca agcgaatctc ttaaagctgt tctcagttcg gactgcagtc 1321 tgcaactcga ctgcacgaag ctggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcac gcccggtga 1381 atacgttccc gggccttcta cacaccgccc gtcacccat gggagtctgc aatgccaaa 1441 gccggtggcc taacctcgg gaaggagccg tctaagcc</p>
<p>干酪乳杆菌16S rRNA序列(NCBI MT994696) (SEQ ID NO:15)</p>
<p>1 gttggagaag aatggtcggc agagtaactg ttgtcggcgt gacggtatcc aaccagaaag 61 ccacggctaa ctacgtgcca gcagccgagg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggat 121 ttattggcgc taaagcgagc gcagcgggtt ttttaagtct gatgtgaaag ccctcggctt 181 aaccgaggaa gcgcatcggc aactgggaaa cttgagtcca gaagaggaca gtggaactcc 241 atgtgtagcg gtgaaatcgc tagatatac gaagaacacc agtggcgaag gcgctgtct 301 ggctgtaac tgacgtgag gctcgaagc atgggtagcg aacaggatta gataccctgg 361 tagtccatgc cgtaaacgat gaatgctagg tgttgagggg ttccgccct tcagtggcgc 421 agtaacgca ttaagcattc gcctgggga gtacgaccg aaggtgaaa ctcaaaggaa 481 ttgacggggg cccgcacaag cgtggagca tgtggttaa ttcgaagca cgcgaagaac 541 ctaccaggt ctgacatct tttgatcac tgagagatca ggttccctc tcgggggcaa 601 aatgacaggt ggtgcatgtt gtcgtcagct cgtgctgta gatgttgggt taagtccgc 661 aacgagcgt a</p>
<p>罗伊氏乳杆菌16S rRNA序列(NCBI NR_025911) (SEQ ID NO:16)</p>
<p>1 agagttgat cctggctcag gatgaacgc ggcagtgtc ctaatacatg caagtcgtac 61 gcactggccc aactaaitga tgggtcttc tgaattgacg atggatcacc agtgagtggc 121 ggacgggtga gtaacacgta ggtaacctgc cccggagcgg ggaataacat ttggaacag 181 atgtaatac cgcataaca caaaagccc atggttttc tggaaagatg gctttggcta 241 tcaactctgg atggacctgc ggtgcattc gctagtgtg aagtaacgg cttaccaag 301 gcgatgatc atagccgagt tgagagactg atcggccaca atgggaactg agacacggtc 361 cataactct acgggaggca gcagtaggga atctccaca atgggcgcaa gctgatggag 421 caacaccgc ttattaagaa agggttcgg ccgcttaac tctgtgtg gagaagaac 481 tgcgttaga taactgttac gcagtgcgg tatccaacca gaaagtcacg gctaactacg 541 tgccagcagc cgcgtaata cgtaggtggc aagcgttacc cggattatt gggcgtaaag 601 cgagcgcagg cgggtgcta ggtctgatg ggaaactcgg ctaaccgaa gaagtgcac 661 gaaaccggg cgactgagt gcagaagagg acagtggac tccatgtga gcggtggaat 721 gcgtagatc atggaagaac accagtggc aaggcggctg tctggtctgc aactgacgt 781 gaggtcgaag agcatgggta gcgaacagga ttagataccc tggtagtcca tgccgtaaac 841 gatgagtgt aggtgttga gggttccgc cctcagtc ctgttctaac gattaatgc 901 actccgctg gggagtacga ccgaaggtt gaaactcaaa ggaattgacg ggggcccga 961 caagcgggtga agcatgtgt ttaattcga gctacgcgaa gaacctacc aggtctgac 1021 atcttgcgt aaccttagag ataaggcgtt ccctcgggg acgttaata caggtgtg 1081 atggtcgtc tcagctcgtc tctgagatg ttgggtaag tcccgaacg agcgaaccc 1141 ttgttactag ttccagcat taagtgggg actctagtga gactgccggt gacaaaccg 1201 aggaaggtgg ggacgacgc agatcatcat gcccttatg accctgggct acacacgtg 1261 tacaatggac ggtacaacga gtcgcaaact cgcgagagta agctaactc ttaaagcgt 1321 tctcagttcg gactgtaggc tgcaactcgc ctacacgaag tcggaatcgc tagtaatcgc 1381 ggatcagcat gcccggtga atacttccc gggccttcta cacaccgccc gtcacaccat 1441 gggagtittg aacgccaaa gttegggtgc ctaacctta tggacgggta cctaaggcg 1501 ggacagatga tctggggtga agtcgtaaca aggta</p>
<p>鼠李糖乳杆菌16S rRNA序列(NCBI NR_043408.1) (SEQ ID NO:17)</p>
<p>1 grtsaacgct sgcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac gagttctgat tattgaaag 61 tcttgcac tgaattaat ttgaaacgag tggcggacgg gtgagtaaca cgtgggtaac 121 ctgccctaa gtgggggata acatttgaa acagatgcta ataccgata aatccaagaa 181 ccgatggtt cttggctgaa agatggcgt agctatcgt tttgatgga cccgcggcgt 241 attagctagt tggtaggta acggctcacc aaggcaatga tacgtagccg aactgagagg</p>

[0080]

```

301 ttgatcgcc acattgggac tgagacacgg cccaaactct acgggagga gcaagtagga
361 atcttcaca atggacgcaa gtctgatga gcaacgccgc gtgagtnaag aaggtcttcg
421 ggctgtaaaa ctctgtgtt ggagaagaat ggctggcaga gtaactgtt tggcgctgac
481 ggtatccaac cagaaagcca cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtaggtg
541 gcaagcgta tccggattta ttggcgtaa agcgagcga gccgggttt taagtctgat
601 gtgaaagccc tcggctaac cgaggaagtg catcggaac tgggaaact gagtncagaa
661 gaggacagt gaactccatg tgtagcgtg aatgcgtag atatatgaa gaacaccagt
721 ggcgaaggcg gctgtctgt ctgtaactga cgtgaggct gaaagcatg ggtagcgaac
781 aggattagat acctggtag tccatgccg aaacgatgaa tgctaggtg tggagggtt
841 ccgccctca gtccgcagc taacgatta agcattccg ctggggagta cgaccgcaag
901 gttgaaact aaaggaattg acgggggcc gcacaagcg tggagcatg ggttaattc
961 gaagcaacg gaagaacct accaggtct gacatcttt gatcactga gagatcagt
1021 tccccctcg ggggcaaat gacaggtgt gcatggtgt cgtcagctc tctcgtgaga
1081 tgtgggta agtccgcaa cgagcgaac cttatgact agttgccagc atttagttg
1141 gactctagt aagactgcc gtgacaaacc ggaggaagt ggggatgac tcaatcacc
1201 atgccctta tgacctggc tacacacgt ctacaatga tggtaaacg agttgcgaga
1261 ccgcgagtc aagctaact cttaaagcca ttctcagtc ggactgtag ctgcaactc
1321 cctacagaa gtggaatc ctagtaatc cggatcagca gccgcggtg aatacgttc
1381 cgggcctgt acacaccgc cgtcacacca tgagagttg taacaccga agccggtgc
1441 gtaaccttt tagggagca gccgtctaag gtgggnaaa tgattaggt gaagtcgtaa
1501 caagtagcc gtagagaac c

```

[0081] 在较佳实施例中,本发明不包括任何瘤胃球菌物种(*Ruminococcus species*) (例如生黄瘤胃球菌(*Ruminococcus flavefaciens*)、扭链瘤胃球菌(*R. torques*)或粪便瘤胃球菌(*R. faecis*))、任何粪杆菌物种(*Faecalibacterium species*) (例如普氏栖粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*))及/或任何普雷沃氏菌物种(*Prevotella species*) (诸如人体普雷沃氏菌(*Prevotella copri*))的用途(例如藉由共同投药)。

[0082] 本发明可包括或不包括任何丁酸弧菌物种(*Anaerostipes species*) (尤其是鼠李糖丁酸弧菌(*Anaerostipes rhamnivorans*))或任何粪杆菌物种(例如普氏栖粪杆菌),其系用于改良根据本发明的预防及/或治疗中的作用。

[0083] 据设想,粪便物质包含如根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种。

[0084] 根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种可为或衍生自(例如获自一或多种供体个体的)粪便物质。如本文中所使用的术语「供体」指代供给粪便物质的个体。因此,根据本发明的粪便物质衍生自供体且可向受体投与。视情况在处理之后,向受体投与粪便物质。一或多个供体个体较佳为哺乳动物,较佳为人类。受体亦较佳为哺乳动物,较佳为人类。

[0085] 较佳地,粪便物质系获自至少一个健康(人类)供体、更佳至少一个遵循(或已遵循)素食饮食(最佳纯素饮食)的(人类)供体。素食饮食不包括任何肉、家禽或海产食品,或每月至多0.1、0.5、1kg肉、家禽或海产食品。纯素饮食不包括任何肉、家禽、海产食品或任何来自动物来源的食品,或每月至多0.1、0.5、1kg肉、家禽或海产食品或来自动物来源的食品。可例如将健康供体视为未患有如Lise Sofie等人(2019, *Transfusion and Apheresis Science*, 第58卷, 第1期, 第113-116页)的表1中所提及的病况的供体。

[0086] 所选择的供体个体较佳具有在18至27,较佳在20至25kg/m²之间的BMI。如本文中所使用的术语「身体质量指数(Body Mass Index)」或「BMI」指代个人的质量除以个人身高的平方所得出的值,以kg/m²表示。

[0087] 所选择的供体个体较佳具有低于30岁或低于35岁的年龄。举例而言,至少一个供体个体具有在18与30岁之间,诸如20至25岁之间的年龄。或者或另外,所选择的供体遵循(或已遵循)富含(增加粪便中的丁酸盐产生的)益菌助生质纤维(诸如WholeFiber)的饮食,参见W02021/204719(例如每月至少0.1、0.5、1kg益菌助生质纤维)。

[0088] 或者或另外,至少一个供体个体具有至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30%的粪便物质中的双歧杆菌物种的相对丰度(与其他属的物种数目相比)。或者或另外,至少一个供体个体具有至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30%的粪便物质中的阿克曼氏菌物种的相对丰度(与其他属的物种数目相比)。

[0089] 在较佳实施例中,该粪便物质中包含该索氏厌氧丁酸菌或其相关物的至少 10^8 或 10^8 个细胞。类似地,该粪便物质中包含该双歧杆菌物种的至少 10^8 或 10^8 个细胞。类似地,该粪便物质中包含该阿克曼氏菌物种的至少 10^8 或 10^8 个细胞。类似地,该粪便物质中包含该乳杆菌物种的至少 10^8 或 10^8 个细胞。

[0090] 换言之,粪便物质中较佳富含如根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种,亦即索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种细胞的数目比其在先前技术粪便物质中的数目高,例如将索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种细胞添加至粪便物质中,或将粪便物质暴露于有利于该索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种生长的条件中。若粪便物质中包含根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种,则该粪便物质(例如每毫升或每公克粪便物质)包含较佳至少 10^4 、 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 、 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 、 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 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} 个细胞。较佳地,索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种为粪便物质中的第一、第二、第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九及/或第十最主要的细菌物种,亦即与粪便物质中所含有的其他细菌物种相比具有最高细胞计数,或至少在前10。

[0091] 较佳地,在根据本发明的组合物为粪便物质的情况下,粪便物质可为粪便或其部分,较佳为其经纯化的部分。藉由纯化粪便物质,可更方便地投与粪便物质。在特定实施例中,50至150mg粪便物质样品可与含有例如10%甘油的5至15mL等张生理盐水组合且可在 -80°C 下冷冻直至递送。举例而言,1mL可与母乳或经巴氏杀菌的库乳混合至总体积10mL,且可向受体投与5mL。

[0092] 如本文中所使用的粪便物质的一部分指代一或多种特定组分的群,其包括(但不限于):酶、蛋白质、脂质、分子、微生物、病毒、细菌、真菌、酵母菌、古菌、化合物、复合物、固体、液体、粒子及纤维。

[0093] 如本文中所使用的粪便物质的经纯化的部分指代粪便物质中不存在非所需组分的群。

[0094] 较佳地,根据本发明所使用的粪便物质系包含于液体培养基中及/或不包含具有超过10、25、50、75、100、200、400、600、800或1000 μm 的直径的固体,较佳藉由将同种异体粪

便与水性介质混合及随后的过滤及/或离心来获得。此大幅降低黏度且增强粪便物质的流动,促进向接受个体投与粪便物质。液体培养基可包含水或另一类型的液体,其可补充有诸如盐的其他组分以提供等张溶液。

[0095] 根据本发明的一个态样,根据本发明的粪便物质系包含于组合物(诸如医药组合物,更佳液体剂型)中以促进向受体投与粪便物质。

[0096] 亦设想,根据本发明的粪便物质系以冻干及/或微囊封形式存在(以使其在胃环境中受到保护)。根据本发明的用途可涉及向受体分开投与获自至少一个供体个体的粪便物质1、2、3、4、5、6、7、8、9、10次,较佳该分开投与之间具有至少1、2、3、4、5、6、7、8周的间隔。

[0097] 或者,如根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种系包含于粪便物质中。

[0098] 如根据本发明的至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可包含于组合物中。

[0099] 根据本发明的组合物可经肠投与,较佳经口投与、经鼻投与或直肠投与及/或经鼻十二指肠管投与。

[0100] 根据本发明的组合物可用作药剂及/或附有生理学上可接受的载剂,其可为任何惰性载剂。举例而言,适合的生理学上或医药学上可接受的载剂的非限制性实例包括任何熟知的生理学或医药学载剂、缓冲液、稀释剂及赋形剂。将了解,对于适合的生理学载剂的选择将取决于如本文中所教导的组合物的预期投药模式(例如,经口)。熟习此项技术者知道如何选择适合于如本文中所教导的所使用组合物或与该等组合物兼容的生理学上可接受的载剂。

[0101] 据设想,根据本发明的组合物系包含于(肠溶)包衣中及/或由(肠溶)包衣囊封,较佳其中该包衣在受体的胃环境中不会溶解及/或崩解。此类包衣可有助于组合物到达便于递送的预期部位(例如十二指肠)而不会由于胃的酸性环境而分解。较佳的(肠溶)包衣系藉由呈现在胃中所发现的高度酸性pH下为稳定的但在较低pH下更快速地分解的表面来起作用。举例而言,其将不溶解于胃的胃酸(pH约3)中,但其将溶解于存在于小肠或十二指肠中的碱性(pH 7至9)环境中。

[0102] 在一个实施例中,本发明系关于适用作益生菌的组合物。因此,如本文中所使用的『益生菌』系指当以有效量投与或摄入时给宿主(例如人类或哺乳动物)带来健康益处的微生物,诸如肠道细菌。较佳地,益生菌在向个体投与时应为活的或有活力的以允许益生菌拓殖宿主的大肠。然而,在某些条件下,益生菌在投与时亦可为死亡的,其限制条件为由益生菌产生的物质仍对宿主发挥益生菌的有益作用。

[0103] 在一个实施例中,如本文中所教导的本发明组合可用作共生体。如本文中所使用的术语『共生体』或『共生体产品』通常系指将益生菌及一或多种促进GI微生物生长及/或活性的化合物(诸如益菌助生质)组合成一种产品的组合物及/或营养补充剂。共生体系藉由改善益生菌在胃肠道中的存活及拓殖,藉由选择性地刺激益生菌的生长及/或藉由活化益生菌的代谢来有益地影响宿主,从而改善宿主福利。熟习此项技术者非常熟悉共生体且知道如何选择可组合成共生体的成分。

[0104] 本发明人进一步出人意料地发现,如根据本发明的至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种的微

囊封可提供预防或治疗肝脂肪变性、NAFLD及/或NASH的另一协同治疗作用。

[0105] 术语『微囊封』系用于描述将细菌囊封于基质、包衣或膜(一般为保护性基质或保护性膜)中。微胶囊的(平均)直径可在50nm与2mm之间,较佳在100nm与1mm之间。基质、包衣或膜通常包含乳汁、乳蛋白及/或聚合物。除其他可能的目的外,微囊封的目的可为保护细菌及其组分免受周围环境,诸如胃肠道环境的破坏。细菌的微囊封亦可支持改良细菌并入乳制品、食品、医药调配物及/或医药组合物中。细菌的微囊封亦可支持治疗作用。

[0106] 各种材料可用于细菌的微囊封,诸如豌豆蛋白、乳汁、乳蛋白、乳清蛋白、酪蛋白、黄原胶、海藻酸盐、明胶、几丁聚糖、羧甲基纤维素、淀粉及/或角叉菜胶及其组合。在较佳实施例中,如根据本发明的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种系微囊封于一或多种聚合物中。

[0107] 接受如本文中所教示的组合或组合物的个体可选自由以下组成的群:人类、非人类灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、牛及猪。在较佳实施例中,个体为人类。

[0108] 如根据本发明的至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可以在 10^4 至 10^{15} 个菌落形成单位(CFU)范围内的量包含于组合或组合物中。举例而言,至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可以(例如每剂量或每毫升或每公克包含该等菌种的调配物或组合物) 10^6 CFU至 10^{13} CFU、较佳 10^7 CFU至 10^{12} CFU、较佳 10^8 CFU至 10^{11} CFU、更佳 10^9 CFU至 10^{11} CFU的量包含于组合中。

[0109] 在一个实施例中,如本文中所教示的组合或组合物中的至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可以冻干形式及/或微囊封形式并入(藉由例如Solanki等人BioMed Res.Int.2013,论文ID 620719所综述)或以任何其他形式保持细菌菌株的活性及/或活力。

[0110] 在一个实施例中,如本文中所教示的组合或组合物可包含一或多种成分,其适用于促进如本文中所教示的细菌或自其衍生的菌株在储存期间及/或在暴露于胆汁期间及/或在通过哺乳动物(例如人类)的胃肠道期间的存活及/或活力。此类成分的非限制性实例包括肠溶包衣及允许通过胃的控释剂。熟习此项技术者知道如何选择适合的成分来维持如本文中所教示的细菌的活力及功能,亦即能够执行预期功能。

[0111] 将一或多种益菌助生质成分添加至如本文中所教示的组合中可为有利的,例如用以补充如本文中所教示的细菌的作用(例如生产丙酸/丙酸盐及/或丁酸/丁酸盐或其衍生物)。益菌助生质成分亦可增强如本文中所教示的细菌或自其衍生的菌株的活性及/或刺激其生长。如本文中所使用的『益菌助生质』通常系指促进肠道中有益微生物生长的不可消化的食品成分。益菌助生质或益菌助生质产品主要由可酸酵的纤维或不可消化的碳水化合物组成。益生菌对此等纤维的酸酵促进有益最终产物,诸如SCFA,尤其丁酸盐的生产。适合的益菌助生质的非限制性实例包括纤维,诸如菊寡糖、果胶及抗性淀粉,以及纤维二糖、麦芽糖、甘露糖、水杨苷、海藻糖、扁桃苷、阿拉伯糖、蜜二糖、山梨糖醇、鼠李糖及/或木糖。熟习此项技术者非常熟悉益菌助生质领域且知道如何选择具有益菌助生质活性的成分。

[0112] 除预防及/或治疗肝脂肪变性、NAFLD及/或NASH之外或作为其替代方案,本发明可用于(增强)丁酸及/或丁酸盐产生,较佳原位,亦即在小肠中。类似地,根据本发明的组合亦能够例如原位降低小肠中的乳酸盐含量(乳酸盐已知为肠道中的非所需化合物)。

[0113] 如本文中所使用的术语『丁酸盐』或『丁酸 (butyric acid) 』(亦根据系统命名称为丁酸 (butanoic acid)) 系指具有结构式 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 的羧酸。该术语可包括其衍生物,亦即衍生自丁酸的化合物且包括丁酸的盐及酯,其称为丁酸盐或丁酸酯。丁酸盐的非限制性实例包括丁酸钠、丁酸钙、丁酸镁、丁酸锰、丁酸钴、丁酸钡、丁酸锂、丁酸锌、丁酸钾、丁酸亚铁及其类似丁酸盐。丁酸酯(亦即丁酸的酯)的非限制性实例包括乙酸丁酸纤维素、丁酸甲酯、丁酸乙酯、丁酸丁酯、丁酸戊酯及其类似丁酸酯。

[0114] 在不希望受任何理论束缚的情况下,咸信根据本发明的菌株,当向人类投与时或当被人类以足够量摄入时,能够存活且至少短暂地拓殖该人类的胃肠道。此拓殖通常可使原位产生的丁酸/丁酸盐更多,但不能排除其他机制。原位产生增加可至少部分地构成如本文中所教示的组合中的有益作用(例如,预防及/或治疗肝脂肪变性、非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 及/或非酒精性脂肪变性肝炎 (NASH)) 的基础。

[0115] 在一个实施例中,至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可包含于食品调配物、饲料调配物、饲料补充调配物、食品补充调配物或医药调配物中。同时或替代地,至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可包含于液体、液体饮料(包括乳制品饮料及发酵饮料)、优格、奶酪、凝胶、明胶、明胶胶囊、粉末、糊状物、锭剂或胶囊中。

[0116] 食品或食品补充调配物较佳为乳制品,更佳为发酵乳制品,最佳为优格或优格饮料。

[0117] 医药调配物可为例如液体或固体形式,更佳为固体形式的固体剂型,例如可为胶囊、锭剂或粉末。较佳地,医药调配物与纯水或包含超过99wt%水的水性介质无关。

[0118] 如本文中所教示的包含根据本发明所使用的组合的调配物可进一步包含任何可接受的载剂,其适用于使如根据本文中的索氏厌氧丁酸菌或其相关物、双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种保持存活直至被个体(例如人类或动物)消耗。举例而言,适合于此目的的可接受的载剂的非限制性实例包括任何熟知的生理学或医药学载剂、缓冲液及赋形剂。将了解,适合的生理学或医药学载剂的选择将取决于如本文中所教示的调配物的预期投药模式(例如经口)及调配物的预期形式(例如饮料、优格、粉末、胶囊及其类似形式)。熟习此项技术者知道如何选择适合于如本文中所教示的调配物的生理学或医药学载剂。

[0119] 如本发明中所教示的至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可以在 10^4 至 10^{15} 个菌落形成单位 (CFU) 范围内的量包含于组合物中。举例而言,至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种可以(例如每剂量或每毫升或每公克包含该等菌种的调配物或组合物) 10^6 CFU至 10^{13} CFU、较佳 10^7 CFU至 10^{12} CFU、较佳 10^8 CFU至 10^{11} CFU、更佳 10^9 CFU至 10^{11} CFU的量包含于组合中。或者,选择至少一种索氏厌氧丁酸菌或其相关物、至少一种双歧杆菌物种、至少一种阿克曼氏菌物种及/或至少一种乳杆菌物种的量及/或投药频率以使其介于 10^6 至 10^{13} 、较佳 10^7 至 10^{12} 、较佳 10^8 至 10^{11} 、更佳 10^9 至 10^{11} 之间,均以CFU/天计。

[0120] 如本文中所使用,术语『包含 (comprising) 』或『包含 (comprise) 』及其变化形式系

指该等术语系以其非限制性意义使用以意谓包括该词之后的项目,但不排除未特定提及的项目的情形。其亦涵盖限制性更强的动词『基本上由……组成(consist essentially of)』及『由……组成(consist of)』。

[0121] 除非上下文明确要求有一个且仅有一个要素,否则藉由不定冠词『一(a)』或『一(an)』提及一要素并不排除存在多于一个要素的可能性。因此,不定冠词『一(a)』或『一(an)』通常意谓『至少一个』。

[0122] 术语『增加』及『增加的含量』以及术语『降低』及『降低的含量』系指显著增加或显著降低的能力,或显著增加的含量或显著降低的含量。一般而言,当含量比对照组或参照组的相应含量分别高或低至少5%,诸如10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%时,该含量为增加或降低的。或者,当样品中的含量与对照组或参照组中的含量相比在统计学上显著增加或降低时,该含量可为增加或降低的。

[0123] 如本文中所使用,术语『一致性』系指核苷酸序列或胺基酸序列的一致性的量度。一般而言,对序列进行比对以获得最高阶匹配。『一致性』本身具有此项技术中公认的含义且可使用公开技术来计算。参见例如:(COMPUTATIONAL MOLECULAR BIOLOGY,Lesk,A.M.编,Oxford University Press,New York,1988;BIOCOMPUTING:INFORMATICS AND GENOME PROJECTS,Smith,D.W.编,Academic Press,New York,1993;COMPUTER ANALYSIS OF SEQUENCE DATA,PART I,Griffin,A.M.及Griffin,H.G.编,Humana Press,New Jersey,1994;SEQUENCE ANALYSIS IN MOLECULAR BIOLOGY,von Heinje,G.,Academic Press,1987;及SEQUENCE ANALYSIS PRIMER;Gribskov,M.及Devereux,J.编,M Stockton Press,New York,1991)。虽然存在多种方法来量测两个聚核苷酸或多肽序列之间的一致性,但术语『一致性』为熟习此项技术者所熟知的(Carillo,H.及Lipton,D.,SIAM J.Applied Math (1988) 48:1073)。通常用于确定两个序列之间的一致性 or 相似性的方法包括(但不限于)GUIDE TO HUGE COMPUTERS,Martin J.Bishop编,Academic Press,San Diego,1994以及Carillo,H.及Lipton,D.,SIAM J.Applied Math(1988) 48:1073中所揭示的方法。确定一致性及相似性的方法编码于计算机程序中。举例而言,具有标准设置的NCBI Nucleotide Blast(blastn,https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)。确定两个序列之间的一致性 and 相似性的较佳计算机程序方法包括(但不限于)GCS程序包(Devereux,J.等人,Nucleic Acids Research (1984) 12(1):387)、BLASTP、BLASTN、FASTA(Atschul,S.F.等人,J.Molec.Biol. (1990) 215:403)。

[0124] 作为说明,藉由与参考核苷酸序列具有至少例如95%『一致性』的核苷酸序列意欲该核苷酸序列与参考序列一致,但参考多肽序列的每100个核苷酸可能存在至多五个点突变。换言之,为了获得与参考核苷酸序列至少95%一致的核苷酸序列,至多5%的参考序列中的核苷酸可缺失及/或经另一个核苷酸取代,及/或至多5%的参考序列中的总核苷酸的核苷酸数目可插入参考序列中。在序列表中,『n』可指代a、t、g或c。

[0125] 若本说明书中所揭示的序列与序列表中所揭示的序列之间存在不一致,则本说明书中所揭示的序列为较佳的。或者,可使用序列表的序列。

[0126] 实验实例1

[0127] 已证实索氏厌氧丁酸菌(*A. soehngenii*)可对小肠中的葡萄糖代谢及胰岛素抗性发挥作用。在回肠的活体外模型中,在存在合成微生物相的情况下,索氏厌氧丁酸菌的贡献

仅限于SCFA产生。进行实验以观察此SCFA产生是否可藉由补充可商购的益生菌动物双歧杆菌乳亚种BLC1来增强(Bottacini等人2011, JBacteriol 193:6387-6388)。

[0128] 简言之,将细菌的合成共生物在包含以下上肠道细菌及支持受质的回肠-M-SHIME模型(人类肠道微生物生态系统的仿真物(Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem))中稳定14天:乳杆菌属(Lactobacillus spp.)、链球菌属(Streptococcus spp.)、肠球菌属(Enterococcus spp.)、系结梭菌(Clostridium nexile)、普氏栖粪杆菌、范永氏球菌属(Veillonella spp.)、产黑色普雷沃氏菌(Prevotella melaninogenica)及卵形布劳特氏菌(Blautia obeum)。

[0129] 用索氏厌氧丁酸菌或索氏厌氧丁酸菌及婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)的组合对总计7ml的此经稳定的共生物种进行接种且在37°C下在存在3mM胆汁盐的情况下在厌氧条件下进行培育。培养基的初始pH为7.5。

[0130] 获取样品且在24小时之后分析SCFA(乙酸盐、丙酸盐及丁酸盐)。结果表明,与在仅存在索氏厌氧丁酸菌的情况下的SCFA含量相比,在存在索氏厌氧丁酸菌及婴儿双歧杆菌两者的情况下的所有SCFA明显增加(图1)。

[0131] 此表明在上肠道条件下,索氏厌氧丁酸菌与婴儿双歧杆菌之间的代谢协同作用。

[0132] 实验实例2

[0133] 类似地,在用各种碳源进行的培育中证实索氏厌氧丁酸菌L2-7与各种乳杆菌属之间的协同作用。索氏厌氧丁酸菌与商购的益生菌菌株鼠李糖乳杆菌GG(Kankainen等人2009 106:17193-8)的组合显示在海藻糖(存在于肠道中的常见糖)上的生长期间的明显协同作用:索氏厌氧丁酸菌不利用海藻糖,但鼠李糖乳杆菌GG将海藻糖转化为乳酸盐及乙酸盐而两种菌株的组合显示海藻糖转化为丁酸盐,其为索氏厌氧丁酸菌的主要代谢最终产物。参见图2。

[0134] 实验实例3

[0135] 向两组C57BL6/J小鼠(每组10只)投喂在饮用水中富含15%果糖的西式饮食(WDF)持续20周的时段。向10只小鼠的对照组投喂饲料饮食持续相同时间。WDF产生非酒精性脂肪变性肝炎的饮食诱导的肥胖小鼠模型(体重比对照小鼠高25%)。自第12周,藉由每周 10^8 CFU的索氏厌氧丁酸菌的经口管饲或用安慰剂来治疗DIO-NASH小鼠。在第20周,杀死小鼠且收集包括血液的门静脉样品以及肝脏及肠道样品。由WDF诱导的DIO-NASH模型在诱导NASH方面作用良好:在第20周,平均组织学脂肪变性等级为3,平均NAS评分为4且平均纤维化等级为1(中枢周或门静脉周纤维化)。

[0136] 在投与索氏厌氧丁酸菌后,与安慰剂相比,观测到发炎等级、纤维化等级、NAS评分或整体NASH评分的明显降低。此外,与安慰剂相比,显示NASH的小鼠的数目减少(图3)。

[0137] 实验实例4

[0138] 本发明人发现,索氏厌氧丁酸菌或霍氏厌氧丁酸菌与双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种的共同投与对患有肝脂肪变性或具有罹患肝脂肪变性的风险的患者具有有益及协同作用。

[0139] 方法

[0140] 参与者

[0141] 包括藉由超音波检查而发现患有肝脂肪变性的高加索人、未经治疗、杂食性个体。

主要纳入准则为年龄系21至69岁、身体质量指数(BMI) $>25\text{kg}/\text{m}^2$ 、藉由先前超音波检查发现患有肝脂肪变性且怀疑患有NAFLD(基于升高的肝酶、葡萄糖耐量异常及超音波显示的脂肪变性的严重程度)的男性或停经后的女性。排除准则为心血管疾病、T2DM、肾病、胆囊切除术或免疫性受损的任何病史;在过去3个月中使用质子泵抑制剂、抗生素或抗凝剂;当前使用药物;中度至重度饮酒史(每天 >12 公克);或除NAFLD以外的肝病其他病因(例如血色素沉着症、自体免疫肝炎、肝硬化、B型或C型肝炎、血色素沉着症、 α -1抗胰蛋白酶缺乏症、酒精性肝病)。

[0142] 介入

[0143] 根据表1中所示的单一或组合治疗组治疗个体至少24周。在基线处及在治疗之后量测肝坏死性发炎活性评分(NAFLD活性评分)。微生物相治疗系每日一次以胶囊形式提供,每粒胶囊具有 10^{10} 个活单位。

[0144] 肝脏生检

[0145] 根据当地标准程序,基于临床适应症进行经皮肝脏生检。所有组织学样本均由对任何其他结果不知情的肝脏病理学家来评分。使用经苏木素及曙红染色的载片(针对脂肪变性、发炎及肿胀)以及经天狼星红染色的载片(用于评估纤维化)来评定NASH临床研究网络(NASH-CRN)分类(Kleiner等人,第41卷,2005年6月6日的期刊)。如本文中所描述,测定坏死性发炎活性评分(NAS)。

[0146] 血浆量测

[0147] 藉由液相层析串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry;LC-MS/MS)测定胆汁酸血浆含量。

[0148] 结果

[0149] 如所示,本发明人测定索氏厌氧丁酸菌或霍氏厌氧丁酸菌在单独投与时或在与双歧杆菌物种、阿克曼氏菌物种及/或乳杆菌物种组合投与时的治疗作用。

[0150] 单独的索氏厌氧丁酸菌或霍氏厌氧丁酸菌的改良坏死性发炎活性评分的能力有限。然而,单独的索氏厌氧丁酸菌或霍氏厌氧丁酸菌使初级胆汁酸(胆酸及鹅脱氧胆酸)以及次级胆汁酸(脱氧胆酸及石胆酸)的血浆含量增加。胆汁酸的此等增加的血浆含量活化法尼醇-X-受体(Farnesoid-X-Receptor;FXR)及G蛋白偶合的胆汁酸受体GPBAR1(TGR5),其引起GLP-1的分泌增加,从而减少肝脏中的脂肪生成且减轻肝脏发炎(Chiang, Liver Res. 2017年6月;1(1):3-9)。

[0151] 根据以下评级系统,在表1中显示治疗之后对胆汁酸血浆含量的作用及降低坏死性发炎活性评分的功效,其中第一等级描述最低作用且最后一个等级描述最高作用:『不可量测』、『极低』、『低』、『低/中等』、『中等』、『高』、『极高』。在健康个体中,较低坏死性发炎活性评分可预防肝脂肪变性、NAFLD及/或NASH的发作。预期可在更大的患者群中获得与如表1中所示的推定作用类似的结果。

表1：治疗方案及对胆汁酸血浆含量/降低之坏死性发炎活性评分(NAS)的作用

细菌	安慰剂	动物双歧杆菌乳亚种	短双歧杆菌	长双歧杆菌	两歧双歧杆菌	嗜黏蛋白阿克曼氏菌	鼠李糖乳杆菌	干酪乳杆菌	嗜酸乳杆菌	罗伊氏乳杆菌
安慰剂	无变化/不可量测	无变化/不可量测	无变化/不可量测	无变化/不可量测	无变化/不可量测	对NAS之轻微增加/极低作用	无变化/不可量测	无变化/不可量测	无变化/不可量测	无变化/不可量测
索氏厌氧丁酸菌	胆汁酸之中等增加/NAS之中等作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用
霍氏厌氧丁酸菌	胆汁酸之中等增加/NAS之中等作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之极大增加/NAS之极大作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用
霍氏厌氧丁酸菌、黄瘤胃球菌、普拉氏梭杆菌 (F. prausnitzii) 及人体普雷沃氏菌	胆汁酸之低度增加/对NAS之低度作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之大量增加/对NAS之明显作用	胆汁酸之中等增加/对NAS之中等作用	胆汁酸之中等增加/对NAS之中等作用	胆汁酸之中等增加/对NAS之中等作用	胆汁酸之中等增加/对NAS之中等作用

[0152]

[0153] 实验实例5

[0154] 微囊封

[0155] 如此实验中所示, 本发明人比较未经微囊封的细菌的作用与经囊封的细菌的作用。

[0156] 使用与实验实例4中所描述相同的个体纳入准则及量测方法。使用与如实验实例4中所描述相同的评级系统以展示功效。所应用的细菌剂量比实验实例1低100倍, 以例示细菌微囊封的作用。细菌系每日一次以胶囊形式提供, 每粒胶囊具有 10^8 个活单位。

[0157] 结果

[0158] 结果显示于表2中。

[0159] 表2: 治疗方案

补充细菌	对坏死性发炎评分的作用
安慰剂	不可量测
索氏厌氧丁酸菌	低
[0160]	经微囊封的索氏厌氧丁酸菌
索氏厌氧丁酸菌与动物双歧杆菌乳亚种	低/中等
索氏厌氧丁酸菌与经微囊封的动物双歧杆菌乳亚种	高
索氏厌氧丁酸菌与嗜黏蛋白阿克曼氏菌	低/中等
索氏厌氧丁酸菌与经微囊封的嗜黏蛋白阿克曼氏菌	高

[0161] 预期亦可在更大的患者群中获得与如表2中所示类似的作用。

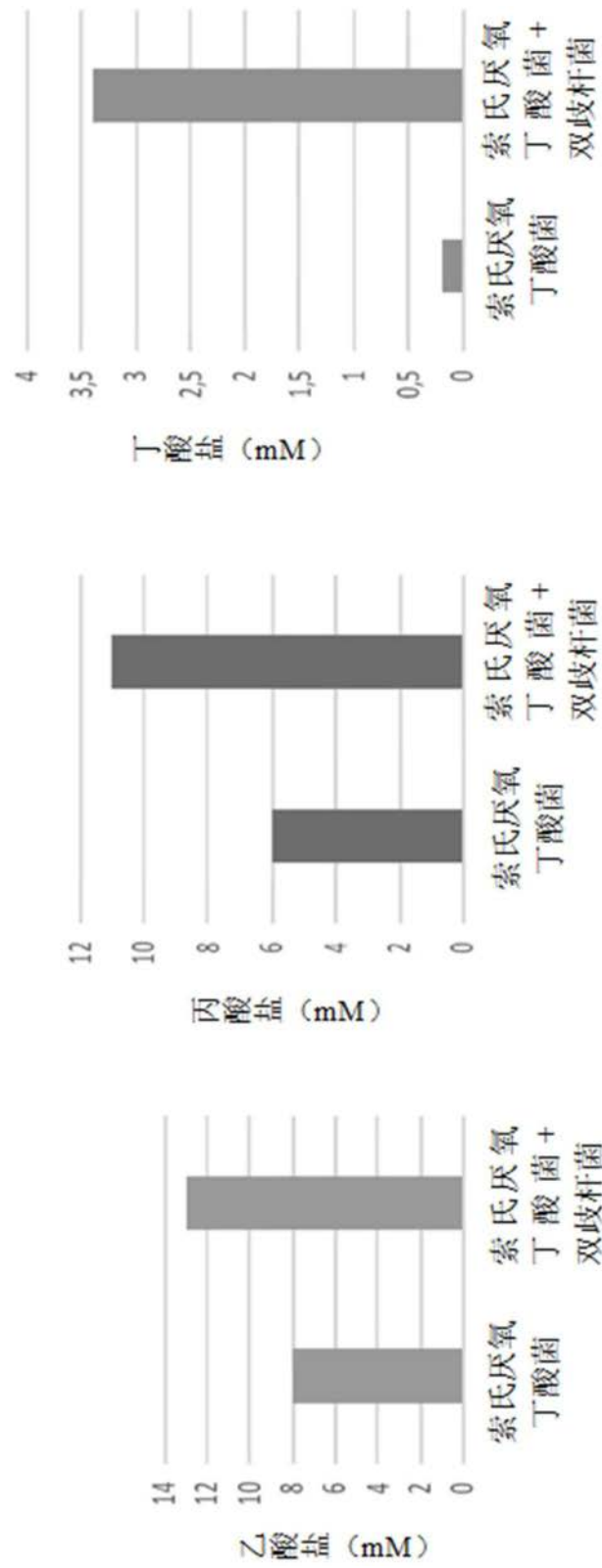


图1

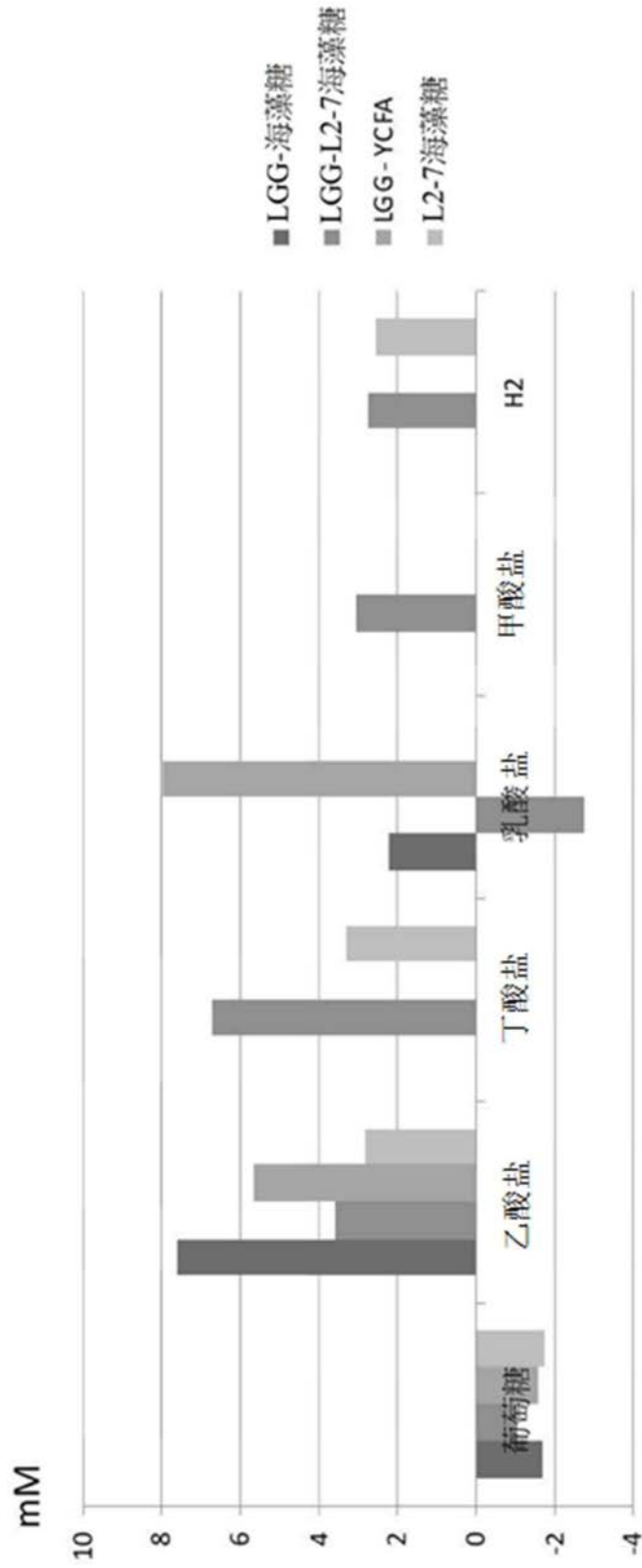


图2

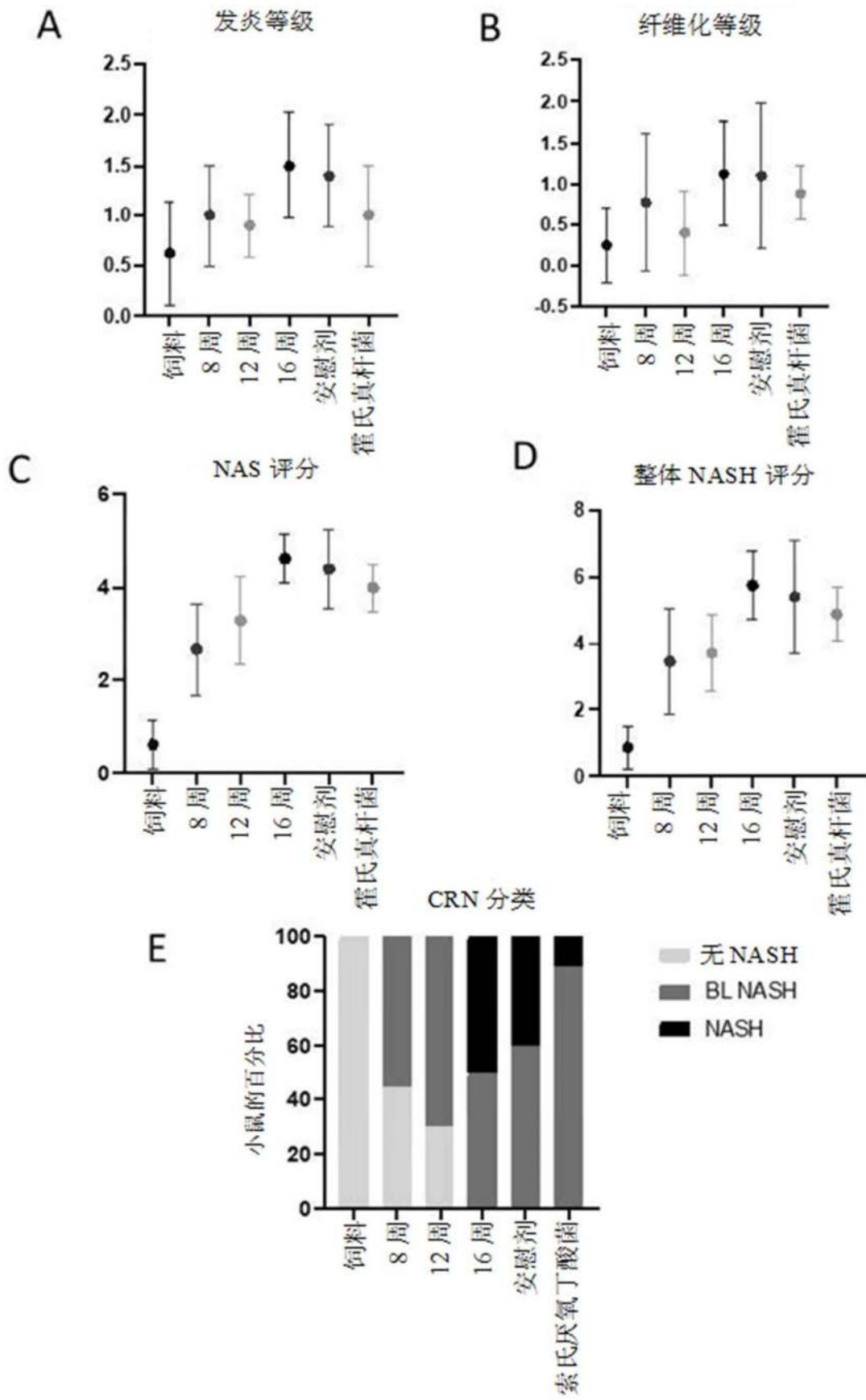


图3