(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112912090 A
(43)申请公布日 2021.06.04

(21)申请号 201980051210.4

(22)申请日 2019.06.25

(30)优先权数据
18179641.8 2018.06.25 EP
1814836.1 2018.09.12 GB
1905000.4 2019.04.09 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.02.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2019/066905 2019.06.25

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/002370 EN 2020.01.02

(83)生物保藏信息
NCIMB43042 2018.05.03
NCIMB43171 2018.08.20

(71)申请人 4D制药研究有限公司
地址 英国阿伯丁郡

(72)发明人 萨曼莎·尤伊尔 妮可·雷查德 莎拉·瑞德 苏阿德·艾哈迈德 海琳·萨维尼亚克 伊姆克·伊丽莎白·马尔德 安娜·埃托尔

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限责任公司 11204
代理人 王达佐 洪欣

(51)Int.Cl.
A61K 35/74(2015.01)
A61K 35/741(2015.01)
A61K 9/19(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书60页
序列表2页 附图24页

(54)发明名称

包含细菌菌株的组合物

(57)摘要

本发明提供了包含细菌菌株的组合物,所述组合物用于疗法中。

CN 112912090 A

1.一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物,所述组合物用于疗法中。

2.根据权利要求1使用的组合物,所述组合物用于治疗或预防由组蛋白脱乙酰酶(HDAC)活性介导的疾病或病况。

3.根据任一前述权利要求使用的组合物,所述组合物用于治疗或预防由I类HDAC活性介导的疾病或病况。

4.根据任一前述权利要求使用的组合物,所述组合物用于在由I类HDAC活性介导的病况的治疗中选择性地抑制I类HDAC活性的方法中。

5.根据任一前述权利要求使用的组合物,其中所述组合物用于选择性抑制由HDAC1、HDAC2或HDAC3活性介导的疾病或病况中的HDAC1、HDAC2或HDAC3。

6.根据任一前述权利要求使用的组合物,所述组合物用于HDAC活性升高的患者中。

7.根据任一前述权利要求使用的组合物,所述组合物用于治疗或预防选自由以下组成的列表的疾病或病况:神经退行性疾病,如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病;脑损伤,如中风;行为或精神障碍,如注意力缺陷多动障碍、强迫症、焦虑性障碍、双相障碍或创伤后应激障碍;炎症性或自身免疫性疾病,如哮喘、关节炎、银屑病、多发性硬化症、糖尿病、同种异体移植物排斥、移植物抗宿主病或炎症性肠病,如克罗恩氏病;或癌症,如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌。

8.一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物,所述组合物用于治疗或预防选自由以下组成的列表的疾病或病况:神经退行性疾病,如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病;脑损伤,如中风;炎症性或自身免疫性疾病,如哮喘、关节炎、银屑病、多发性硬化症、糖尿病、同种异体移植物排斥、移植物抗宿主病或炎症性肠病,如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎;或癌症,如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌。

9.如任一前述权利要求使用的组合物,其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

10.如任一前述权利要求使用的组合物,其中所述细菌菌株具有与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一性的16s rRNA基因序列,或其中所述细菌菌株具有由SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2表示的16s rRNA基因序列。

11.如任一前述权利要求使用的组合物,其中所述组合物用于口服施用。

12.如任一前述权利要求使用的组合物,其中所述细菌菌株是冻干的。

13.一种包含如任一前述权利要求所述的组合物的食物产品,所述食物产品如任一前述权利要求使用。

14.一种治疗或预防由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况的方法,所述方法包括向有需要的患者施用包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物。

15.一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。

16.一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,优选用于治疗或预防如权利要求2-8中的一项中所定义的疾病或病况。

17.一种以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。

18.一种以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,优选用于治疗或预防如权利要求2-8中的一项中所定义的疾病或病况。

包含细菌菌株的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及包含从哺乳动物消化道分离的细菌菌株的组合物领域，以及此类组合物在疾病治疗中的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 认为人体肠道在子宫内是无菌的，但出生后立即暴露于多种母体微生物和环境微生物。此后，发生微生物定殖和演替的动态周期，所述动态周期受诸如递送模式、环境、饮食和宿主基因型的因素的影响，所有这些因素都会影响肠道微生物群的组成，尤其是在生命早期中。随后，微生物群稳定并变成成人样[1]。人肠道微生物群含有超过500-1000种不同的种系型，所述种系型基本上属于两个主要细菌分区，拟杆菌门和厚壁菌门[2]。由人肠道的细菌定殖引起的成功共生关系产生了各种各样的代谢、结构、保护和其他有益功能。定殖肠道的新陈代谢活动增强可确保原本难消化的膳食组分随副产物的释放而降解，从而为宿主提供重要的营养物来源。类似地，肠道微生物群的免疫学重要性是公认的，并且在引入共生细菌后功能重建的免疫系统受损的无菌动物中进行了例证[3-5]。

[0004] 在胃肠病症如炎症性肠病(IBD)中记录了微生物群组成的显著变化。例如，梭菌属XIVa簇细菌的水平在IBD患者中降低，而大肠杆菌数量增加，从而表明肠道内共生体和致病体的平衡发生了转变[6-9]。令人感兴趣的是，这种微生物生态失调还与T效应细胞群体的失衡相关。

[0005] 考虑到某些细菌菌株可能对动物肠道具有的潜在积极作用，已提出了各种菌株用于治疗各种疾病(参见例如，[10-13])。此外，某些菌株(主要包括乳杆菌属和双歧杆菌属菌株)已被建议用于治疗不与肠直接相关的各种炎症性和自身免疫性疾病(关于综述，参见[14]和[15])。然而，不同疾病与不同细菌菌株之间的关系以及特定细菌菌株对肠道和全身水平以及对任何特定类型的疾病的精确作用表征不充分。

[0006] 在本领域中需要治疗疾病的新方法。还需要表征肠道细菌的潜在作用，以便可开发使用肠道细菌的新疗法。

发明内容

[0007] 发明人已经开发了可用于疗法中的包含Bariatricus属细菌菌株的新组合物。特别地，本发明人已经开发了包含Bariatricus属菌株的新组合物，所述组合物用于治疗和预防由组蛋白脱乙酰酶(HDAC)活性介导的疾病或病况。本发明人已经鉴定，来自Bariatricus属的细菌菌株可有效降低组蛋白脱乙酰酶活性。组蛋白脱乙酰酶活性已显示出介导多种疾病和病况的病理症状，所述疾病和病况包括但不限于自身免疫性或炎症性疾病和病况，包括但不限于移植物抗宿主病(GVHD)、炎症性肠病(如克罗恩氏病)、神经退行性疾病(如帕金森氏病)、脑损伤(如中风)以及一系列癌症。如此，本发明的组合物可在治疗或预防至少部分地由HDAC活性介导的多种疾病中具有多效性益处。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由增加的HDAC活性介导的疾病。

[0008] 如实施例中所述，口服施用包含Bariatricus的组合物可降低疾病模型中组蛋白

脱乙酰酶的活性。此外，如实施例中所述，口服施用包含Bariatricus的组合物可降低疾病小鼠模型中的多动症。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于治疗或预防与多动症相关的疾病或病况。所述组合物可用于治疗或预防多动症。所述组合物可用于治疗或预防与行为障碍(如注意力缺陷多动障碍)相关的多动症。因此，本发明人已经鉴定了在预防或治疗由HDAC活性介导的疾病中有效的组合物以及在治疗或预防行为障碍中有效的组合物。适于用本发明的组合物进行治疗的行为障碍可以或可以不部分地由HDAC活性介导。

[0009] 在第一实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物所述组合物用于疗法中。

[0010] 在特定实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗和预防由HDAC活性介导的疾病。发明人已经鉴定，用来自此属的细菌菌株进行治疗可降低HDAC的活性，这可在由HDAC活性介导的疾病的治疗中提供临床益处。在一些实施方案中，已经发现本发明的组合物在降低I类HDAC活性方面特别有益。I类HDAC普遍表达，并且最常驻留于细胞核中。I类HDAC使组蛋白赖氨酸残基脱乙酰化，以恢复组蛋白的正电荷，从而增加组蛋白与DNA之间的静电结合。因此，HDAC活性增加染色质紧实度，从而导致下层DNA序列的基因表达的下调。HDAC还通过修饰非组蛋白蛋白靶标而具有另外调节作用。抑制非组蛋白蛋白质靶标的乙酰化可有益于治疗或预防与染色质扩增对基因表达的控制不直接相关的疾病的其他方面。因此，在某些实施方案中，本发明的组合物可用于调控靶基因表达。

[0011] 在特定实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗或预防选自由以下组成的组的疾病或病况的方法中：神经退行性疾病，如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病；脑损伤，如中风；行为或精神障碍，如注意力缺陷多动障碍、强迫症、焦虑性障碍、双相障碍或创伤后应激障碍；炎症性或自身免疫性疾病，如哮喘、关节炎、银屑病、多发性硬化症、糖尿病、同种异体移植物排斥、移植物抗宿主病或炎症性肠病，如克罗恩氏病；或癌症，如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌。对于来自Bariatricus属的细菌菌株所示的对HDAC活性的作用可为由异常的HDAC活性介导的疾病和病况提供治疗益处，如以上列出的那些。在某些实施方案中，本发明的组合物可在HDAC表达增加的疾病或病况的治疗中提供治疗益处。在某些实施方案中，本发明的组合物可在HDAC活性增加的疾病或病况的治疗中提供治疗益处。此外，本发明人已经鉴定，用Bariatricus属的细菌菌株进行治疗可减少LPS对促炎性分子(如IL-6)的激活。由IL-6诱导的慢性炎症可最终导致细胞死亡。因此，本发明的细菌菌株可特别用于治疗或预防炎症性或自身免疫性疾病。在一些实施方案中，所述细菌菌株可用于治疗以IL-6激活增强为特征的炎症性或自身免疫性病症。此外，本发明人已经鉴定，用Bariatricus属的细菌菌株进行治疗可增加MAP2(微管相关蛋白2)激活。MAP2是与MAP2的神经元分化相关的基因，并切被认为对于神经突生成中的微管形成是必不可少的，因此本发明的组合物对于治疗神经退行性疾病或脑损伤可能特别有用。在一些实施方案中，本发明的组合物用于通过激活MAP2或增加MAP2的水平来治疗神经退行性疾病。此外，本发明人已经鉴定，用Bariatricus属的细菌菌株进行治疗可改变肠中地IDO1的表达。在结肠炎的小鼠模型中，结肠中的IDO1表达与疾病的改善相关。因此，本发明的细菌菌株可特别用于治疗或预防炎症性肠疾病。此外，发明人已经鉴定，用Bariatricus属的细菌菌株进行治疗可改变大脑中许多基因的表达，例如

增加海马和前额皮质中BDNF的表达。BDNF对于成人突触可塑性和记忆形成至关重要，并且在阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病患者中观察到BDNF的水平降低。因此，本发明的细菌菌株可特别用于治疗或预防神经退行性疾病，例如阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病。

[0012] 在一些实施方案中，来自Bariatricus属的细菌菌株可在行为障碍的治疗中提供治疗益处，所述行为障碍选自由以下组成的列表：注意力缺陷多动障碍、对立违抗性障碍和品行障碍。发明人已经鉴定，用Bariatricus菌株进行治疗降低小鼠中的多动症，多动症是行为障碍如ADHD的症状。因此，本发明的菌株可用于治疗或预防行为障碍，特别是治疗或预防与多动症相关的行为障碍，如ADHD。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的多动症。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防行为障碍的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。在优选的实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防ADHD的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0013] 在一些实施方案中，来自Bariatricus属的细菌菌株可在GVHD的治疗或预防中提供治疗益处。本发明人已经鉴定，用Bariatricus菌株进行治疗增加小鼠中GVHD的存活率。因此，本发明的菌株可用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防至少部分地由HDAC活性介导的GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的GVHD。

[0014] 在一些实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗或预防由HDAC活性介导的神经退行性疾病的方法中。在一些实施方案中，本发明的组合物可用于治疗或预防由HDAC活性介导的神经退行性疾病的症状。本发明人已经鉴定，本发明的菌株抑制HDAC活性。组蛋白乙酰化和脱乙酰化是基因表达的重要表观遗传调控因子。组蛋白乙酰化失衡一直牵涉于神经退行性疾病如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病和帕金森氏病的发病机制中。在一些实施方案中，本发明的菌株用于治疗或预防年龄相关性神经退行性疾病。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防老年发作性神经退行性疾病，如老年发作性帕金森氏病或老年发作性阿尔茨海默氏病。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防神经退行性疾病的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。在优选的实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0015] 在一些实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗或预防由HDAC活性介导的炎症性肠病的方法中。已表明，抑制HDAC活性可遏制胃肠道中促炎性细胞因子的产生。因此，本发明的组合物可用于治疗炎症性疾病。特别地，本发明的组合物可用于治疗或预防与结肠促炎性细胞因子增加的发病机制相关的病况。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防炎症性肠病。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防溃疡性结肠炎。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防克罗恩氏病。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防炎症性疾病的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。在优选的实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防结肠炎的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0016] 在本发明的某些实施方案中，所述组合物用于治疗脑损伤。本发明的组合物的神经保护活性及其降低组蛋白脱乙酰酶活性(HDAC)的水平的能力可使它们用于治疗脑损伤。在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗中风，如治疗中风引起的脑损伤。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防脑损伤、特别是中风的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0017] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防癌症。癌症中乙酰化途径的失调牵涉于癌细胞存活和肿瘤免疫逃避中。例如，HDAC介导的p53脱乙酰化降低p53的稳定性和半衰期。乙酰化的p53以更大的功效结合细胞周期调控和促凋亡基因并调控所述基因的表达，从而减少癌细胞生长并促进细胞凋亡。因此，p53的脱乙酰化可抑制癌细胞的凋亡，从而增加癌细胞存活率。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防癌症。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗具有非突变的p53的癌症。在一些实施方案中，本发明的组合物用于增加癌细胞的凋亡的方法中。在一些实施方案中，本发明的组合物用于减少肿瘤免疫逃避的方法中。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防HDAC活性增加的癌症。在一些实施方案中，所述组合物用作促凋亡药物，例如用于治疗或预防癌症。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗或预防癌症的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0018] 在另外的优选实施方案中，本发明提供了一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗或预防癌症，如乳腺癌、肺癌或肝癌的方法中。在某些实施方案中，所述组合物用于在癌症的治疗中减小肿瘤大小或预防肿瘤生长的方法中。在某些实施方案中，本发明提供了一种用于治疗癌症的组合物，所述组合物包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株。

[0019] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于在治疗或预防由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况中降低组蛋白脱乙酰酶活性的方法中。

[0020] 在某些实施方案中，所述组合物用于组蛋白脱乙酰酶活性升高的患者中。在某些实施方案中，所述组合物用于I类HDAC活性升高的患者中。所示的Bariatricus菌株对组蛋白脱乙酰酶活性的影响可能对这类患者特别有益。

[0021] 在本发明的某些实施方案中，所述组合物中的细菌菌株是Bariatricus。在本发明的某些实施方案中，所述组合物中的细菌菌株是Bariatricus massiliensis。还可使用密切相关的菌株，如具有与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2具有至少95％、96％、97％、98％、99％、99.5％或99.9％同一性的16s rRNA基因序列的细菌菌株。优选地，用于本发明的细菌菌株具有由SEQ ID NO:1表示的16s rRNA基因序列。优选地，用于本发明中的细菌菌株具有由SEQ ID NO:2表示的16s rRNA基因序列。

[0022] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于口服施用。口服施用本发明的菌株可有效治疗由HDAC活性介导的疾病和病况。在某些实施方案中，口服施用本发明的菌株可有效治疗由I类HDAC活性介导的疾病和病况。此外，口服施用对患者和从业者而言方便，并且允许递送至肠和/或部分或全部定殖于肠。

[0023] 在某些实施方案中，本发明的组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体。

[0024] 在某些实施方案中，本发明的组合物包含已经冻干的细菌菌株。冻干是用于制备

允许细菌递送的稳定组合物的有效且方便的技术。

[0025] 在某些实施方案中,本发明提供了一种包含如上所述的组合物的食物产品。

[0026] 另外,本发明提供了一种治疗或预防由HDAC活性介导的疾病或病况的方法,所述方法包括施用包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物。

[0027] 在开发上述发明中,本发明人已经鉴定和表征了对于疗法特别有用的细菌菌株。已显示本发明的Bariatricus massiliensis菌株可有效治疗本文所述的疾病,如中风、ADHD和GVHD。因此,在另一方面,本发明提供了一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。本发明还提供了包含此类细胞或此类细胞的生物学纯的培养物的组合物。本发明还提供了以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,特别是用于本文所述的疾病。本发明提供了一种以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。本发明还提供了包含此类细胞或此类细胞的生物学纯的培养物的组合物。本发明还提供了以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,特别是用于本文所述的疾病。

[0028] 以下提供本发明的其他编号的实施方案:

[0029] 1.一种包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物,所述组合物用于疗法中。

[0030] 2.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防由组蛋白脱乙酰酶(HDAC)活性介导的疾病或病况。

[0031] 3.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防由I类HDAC活性介导的疾病或病况。

[0032] 4.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于抑制由I类HDAC活性介导的病况中的I类HDAC活性的方法中。

[0033] 5.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于选择性地抑制由I类HDAC活性介导的病况中的I类HDAC活性的方法中。

[0034] 6.根据任一前述实施方案所述的组合物,其中所述组合物用于选择性抑制由HDAC1、HDAC2或HDAC3活性介导的疾病或病况中的HDAC1、HDAC2或HDAC3。

[0035] 7.根据任一前述实施方案所述的组合物,其中所述组合物用于治疗或预防其中抑制HDAC活性是有益的疾病或病况。

[0036] 8.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于HDAC活性升高的患者中。

[0037] 9.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防选自由以下组成的列表的疾病或病况:神经退行性疾病,如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病;脑损伤,如中风;行为或精神障碍,如注意力缺陷多动障碍、强迫症、焦虑性障碍、双相障碍或创伤后应激障碍;炎症性或自身免疫性疾病,如哮喘、关节炎、银屑病、多发性硬化症、糖尿病、同种异体移植物排斥、移植物抗宿主病或炎症性肠病,如克罗恩氏病;或癌症,如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌。

[0038] 10.如实施方案9所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防神经退行性病症,优选地其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0039] 11.如实施方案10所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防帕金森氏病。

[0040] 12.如实施方案10所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防亨廷顿氏病。

[0041] 13.如实施方案10所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防阿尔茨海默氏病。

[0042] 14.如实施方案9所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防行为障碍,优选地其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0043] 15.如实施方案14所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防注意力缺陷多动障碍。

[0044] 16.根据实施方案10所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防行为障碍,优选地其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0045] 17.如实施方案14所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防注意力缺陷多动障碍。

[0046] 18.根据实施方案9所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防多动症,优选地其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0047] 19.根据实施方案9所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防炎症性肠病,优选地其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0048] 20.根据实施方案19所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防溃疡性结肠炎。

[0049] 21.根据实施方案19所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防克罗恩氏病。

[0050] 22.根据实施方案9所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防癌症。

[0051] 23.根据实施方案22使用的组合物,其中所述癌症选自由以下组成的列表:前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌。

[0052] 24.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于治疗或预防炎症性或自身免疫性疾病。

[0053] 25.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用于预防或治疗移植物抗宿主病。

[0054] 26.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0055] 27.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株具有与SEQ ID NO:1具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一性的16s rRNA基因序列。

[0056] 28.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株具有由SEQ ID NO:1表示的16s rRNA基因序列。

[0057] 29.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株具有与SEQ ID NO:2具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一性的16s rRNA基因序列。

[0058] 30.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株具有由SEQ ID NO:2表示的16s rRNA基因序列。

[0059] 31.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述组合物用于口服施用。

[0060] 32.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述组合物包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体。

[0061] 33.如任一前述实施方案所述的组合物,其中所述细菌菌株是冻干的。

[0062] 34.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用作组蛋白脱乙酰酶抑制

药物。

[0063] 35.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用作I类组蛋白脱乙酰酶抑制药物。

[0064] 36.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用作HDAC2抑制药物。

[0065] 37.根据任一前述实施方案所述的组合物,所述组合物用作选择性HDAC2抑制药物。

[0066] 38.一种包含任一前述实施方案所述的组合物的食物产品,所述食物产品用于任一前述实施方案中。

[0067] 39.一种治疗或预防由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况的方法,所述方法包括向有需要的患者施用包含Bariatricus属的细菌菌株的组合物。

[0068] 40.一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。

[0069] 41.一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,优选用于治疗或预防如实施方案2-25中的一项中所定义的疾病或病况。

[0070] 42.一种以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。

[0071] 43.一种以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,优选用于治疗或预防如权利要求2-25中的一项中所定义的疾病或病况。

附图说明

[0072] 图1全细胞组蛋白脱乙酰酶活性(图1A)、细胞溶解产物组蛋白脱乙酰酶活性(图1B)

[0073] 图2Bariatricus massiliensis菌株43042的代谢物产生水平

[0074] 图3I类HDAC的抑制(图3A);HDAC1的抑制(图3B);HDAC2的抑制(图3C);HDAC3的抑制(图3D)

[0075] 图4菌株43042减轻小鼠中的多动症

[0076] 图5施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD体重数据。在研究的持续时间每天对动物进行称重。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0077] 图6施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD体重数据。在研究的持续时间每天对动物进行称重,并且示出相对于第-14天的体重变化百分比。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0078] 图7施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD体重数据。在研究的持续时间每天对动物进行称重,并且示出相对于第0天的体重变化百分比。星号指

示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0079] 图8施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD体重数据,说明了组损耗,对于除第2组外的所有组,在被发现死亡或安乐死的动物的研究持续时间将死亡动物的体重结转。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0080] 图9施用了他克莫司(FK506)的小鼠模型中的GVHD体重数据***:p≤0.005。

[0081] 图10施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的动物存活率

[0082] 图11施用了他克莫司(FK506)的小鼠模型中的动物存活率

[0083] 图12施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD临床评分。每天从第0天至第30天为动物分配临床GVHD评分。使用梯形转换规则计算曲线下面积(AUC),并在插图中显示。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0084] 图13施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的GVHD临床评分。每天从第0天至第30天为动物分配临床GVHD评分。为了说明组损耗,对于除第2组外的所有组,在被发现死亡或安乐死的动物的研究持续时间将死亡动物的GVHD评分结转。使用梯形转换规则计算曲线下面积(AUC),并在插图中显示。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0085] 图14施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的复合GVHD评分中使用的(A)姿势,(B)活动,(C)皮毛质地,(D)皮肤完整性和(E)体重下降。

[0086] 图15施用了他克莫司(FK506)的小鼠模型中的GVHD临床评分

[0087] 图16施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠模型中的结肠炎严重程度评分。在第29天对动物进行视频内窥镜检查以评估结肠炎症。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0088] 图17代表性结肠内窥镜检查图像。

[0089] 图18施用了Bariatricus massiliensis菌株43171的小鼠中的血浆瓜氨酸水平。在安乐死之前,从所有存活动物中收集血液,并进行加工以获得血浆;通过ELISA一式两份地评估血浆瓜氨酸。血浆按1:10稀释用于分析。星号指示与第1组相比的显著性;散列指示与第2组相比的显著性;并且点指示与第3组相比的显著性;除非另外指明。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.005,****p<0.001。数据表示为平均值±SEM。每组n=8-12。

[0090] 图19IL-6分泌的水平。

[0091] 图20MAP2的激活。

[0092] 图21施用了Bariatricus的小鼠的回肠(A)和结肠(B)中的IDO1表达。*p<0.05。

[0093] 图22施用了Bariatricus的小鼠的海马中的糖皮质激素受体(A)、盐皮质激素受体

(B)、BDNF(C)、Grin 2B(D)、CRH(E)、CFR1(F)、CD11b(G)和GABA A2(H)的表达。*p<0.05。

[0094] 图23施用了Bariatricus的小鼠的扁桃腺中的催产素受体(A)、糖皮质激素受体(B)、盐皮质激素受体(C)、Grin 2A(D)和Grin 2B(E)的表达。*p<0.05。

[0095] 图24施用了Bariatricus的小鼠的前额皮质中的BDNF(A)、CRFR1(B)和盐皮质激素受体(C)的表达。*p<0.05,**p<0.01。

具体实施方式

[0096] 细菌菌株

[0097] 本发明的组合物包含Bariatricus属的细菌菌株。实施例证明此属的细菌可用于治疗或预防由HDAC活性介导的疾病和病况。优选的细菌菌株是物种Bariatricus massiliensis。

[0098] 用于本发明中的Bariatricus菌株的实例是物种Bariatricus massiliensis的菌株。Bariatricus是革兰氏反应阳性的杆状专性厌氧菌(Bessis等人2016New Microbe and New Infect 12:54-55)。可从人肠道中分离Bariatricus massiliensis。在实施例中使用的Bariatricus massiliensis菌株的16S rRNA基因序列在本文中公开为SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2。另一种示例性Bariatricus massiliensis菌株描述于(Bessis等人2016New Microbe and New Infect 12:54-55)中。

[0099] 以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis细菌在实施例中进行了测试,并且在本文中被称为菌株43042。所测试的43042菌株的16S rRNA基因序列提供于SEQ ID NO:1中。菌株43042由4D Pharma Research Limited(Life Sciences Innovation Building,Aberdeen,AB25 2ZS,Scotland)于2018年5月18日在国际保藏机构NCIMB,Ltd.(Ferguson Building,Aberdeen,AB21 9YA,Scotland)保藏为“Bariatricus massiliensis”,并且被分配登录号NCIMB 43042。以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis细菌在实施例中进行了测试,并且在本文中被称为菌株43171。所测试的菌株43171的16S rRNA基因序列提供于SEQ ID NO:2中。菌株43171由4D Pharma Research Limited(Life Sciences Innovation Building,Cornhill Road,Aberdeen,AB25 2ZS,Scotland)于2018年8月20日在国际保藏机构NCIMB,Ltd.(Ferguson Building,Craibstone Estate,Bucksburn,Aberdeen,AB21 9YA Scotland)保藏为“Bariatricus massiliensis”,并且被分配登录号NCIMB 43171。

[0100] 与实施例中测试的菌株密切相关的细菌菌株也预期有效治疗或预防由HDAC活性介导的疾病和病况。在某些实施方案中,用于本发明中的细菌菌株具有与SEQ ID NO:1具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一性的16s rRNA基因序列。优选地,用于本发明中的细菌菌株具有由SEQ ID NO:1表示的16s rRNA基因序列。在某些实施方案中,用于本发明中的细菌菌株具有与SEQ ID NO:2具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%同一性的16s rRNA基因序列。优选地,用于本发明中的细菌菌株具有由SEQ ID NO:2表示的16s rRNA基因序列。

[0101] 还预期为以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌的生物型的细菌菌株可有效治疗或预防由HDAC活性介导的疾病和病况。生物型是具有相同或非常相似的生理和生物化学特征的密切相关的菌株。

[0102] 可通过对以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌的其他核苷酸序列进行测序来鉴定为以登录号NCIMB 43042或NCIMB43171保藏的细菌的生物型且适合用于本发明中的菌株。例如,可对基本上全基因组进行测序,并且用于本发明中的生物型菌株可在其全基因组的至少80%上(例如至少85%、90%、95%或99%上或其全基因组上)具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列同一性。用于鉴定生物型菌株的其他合适的序列可包括hsp60或重复序列,如BOX、ERIC、$(GTG)_5$或REP[16]。生物型菌株可具有与以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌的相应序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列同一性的序列。

[0103] 或者,可通过使用登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171和限制性片段分析和/或PCR分析,例如通过使用荧光扩增片段长度多态性(FAFLP)和重复DNA元件(rep)-PCR指纹图谱或蛋白质谱分析,或局部16S或23S rDNA测序来鉴定为以登录号NCIMB 43042或NCIMB43171保藏的细菌的生物型并且适合用于本发明中的菌株。在优选的实施方案中,此类技术可用于鉴定其他Bariatricus菌株。

[0104] 在某些实施方案中,为以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌的生物型并且适合用于本发明中的菌株是当通过扩增核糖体DNA限制分析(ARDRA)进行分析,例如当使用Sau3AI限制酶时提供与以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌相同的模式的菌株(关于示例性方法和指南,参见例如[17]。或者,生物型菌株被鉴定为具有与以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌相同的碳水化合物发酵模式的菌株。

[0105] 可使用任何适当的方法或策略(包括实施例中描述的测定)来鉴定可用于本发明的组合物和方法中的其他Bariatricus菌株,如以登录号NCIMB 43042或NCIMB 43171保藏的细菌的生物型。例如,可通过将细菌施用于HDAC活性测定并评估HDAC活性抑制来鉴定用于本发明中的菌株。具有与NCIMB 43042相当的HDAC抑制活性的细菌菌株适用于本发明中。特别地,与以登录号NCIMB 43042保藏的细菌具有相似的生长模式、代谢类型和/或表面抗原的细菌菌株可用于本发明中。在实施例中使用的测定中,有用的菌株将具有与NCIMB43042菌株相当的HDAC抑制活性和/或相当的减轻多动症的效应,这可通过使用实施例中所描述的培养和施用方案来鉴定。在其他情况下,可通过将细菌施用于实施例中描述的GVHD模型并评估治疗GVHD的功效来鉴定用于本发明中的菌株。在实施例中所阐述的条件下,就GVHD的治疗而言,具有与NCIMB 43171相当的活性的细菌菌株适用于本发明中。

[0106] 本发明的特别优选的菌株是以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis。这是在实施例中测试的示例性43042菌株,并且显示出对于降低HDAC活性和减轻多动症有效。因此,本发明提供了一种以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞(如分离的细胞)或其衍生物。本发明还提供了一种组合物,所述组合物包含以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物。本发明还提供了以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的生物学纯的培养物。本发明还提供了以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞或其衍生物,所述细胞或其衍生物用于疗法中,特别是用于本文所述的疾病。

[0107] 以登录号NCIMB 43042保藏的菌株的衍生物可以是子代菌株(后代)或从原始菌株培养(亚克隆)的菌株。本发明的菌株的衍生物可例如在遗传水平上进行修饰,而不消除生物活性。特别地,本发明的衍生物菌株具有治疗活性。衍生物菌株将具有与原始NCIMB

43042菌株相当的HDAC抑制活性。特别地，衍生物菌株将引发对实施例中所示的HDAC抑制活性或多动症模型相当的作用，其可通过使用实施例中所描述的培养和施用方案来鉴定。NCIMB 43042菌株的衍生物通常将是NCIMB 43042菌株的生物型。

[0108] 提及以登录号NCIMB 43042保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞涵盖具有与以登录号NCIMB 43042保藏的菌株相同的安全性和治疗功效特征的任何细胞，并且此类细胞由本发明涵盖。

[0109] 本发明的另一特别优选的菌株是以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis。实施例中测试的示例性菌株43171显示出在GVHD的治疗方面有效。因此，本发明提供了Bariatricus massiliensis菌株43171的细胞(如分离的细胞)或其衍生物。本发明还提供了一种组合物，所述组合物包含Bariatricus massiliensis菌株43171的细胞或其衍生物。本发明还提供了Bariatricus massiliensis菌株43171的生物学纯的培养物。本发明还提供了Bariatricus massiliensis菌株43171的细胞或其衍生物，所述细胞或其衍生物用于疗法中，特别是用于本文所述的疾病。

[0110] 以登录号NCIMB 43171保藏的菌株的衍生物可以是子代菌株(后代)或从原始菌株培养(亚克隆)的菌株。本发明的菌株的衍生物可例如在遗传水平上进行修饰，而不消除生物活性。特别地，本发明的衍生物菌株具有治疗活性。在实施例中所述的条件下，就GVHD的治疗而言，衍生物菌株将具有与原始NCIMB 43171菌株相当的活性。NCIMB 43171菌株的衍生物通常将是NCIMB 43171菌株的生物型。

[0111] 提及以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞涵盖具有与以登录号NCIMB 43171保藏的菌株相同的安全性和治疗功效特征的任何细胞，并且此类细胞由本发明涵盖。

[0112] 提及以登录号NCIMB 43171保藏的Bariatricus massiliensis菌株的细胞涵盖具有与以登录号NCIMB 43171保藏的菌株相同的安全性和治疗功效特征的任何细胞，并且此类细胞由本发明涵盖。

[0113] 在优选的实施方案中，本发明的组合物中的细菌菌株是有活力的，并且能够部分或全部定殖于肠。

[0114] 治疗用途

[0115] 如实施例中所展示，本发明的细菌组合物可有效降低HDAC活性。特别地，用本发明的组合物进行治疗实现1类HDAC活性的降低。特别地，用本发明的组合物进行治疗实现HDAC2活性的降低。本发明的组合物还在多动症动物模型中显示出临床改善。因此，本发明的组合物可用于治疗或预防由HDAC活性介导的疾病或病况。病况可以是疾病的症状。特别地，本发明的组合物可用于减轻或预防由升高的HDAC活性水平介导的疾病或病况。特别地，本发明的组合物可用于减轻或预防由升高的I类HDAC活性水平介导的疾病或病况。特别地，本发明的组合物可用于减轻或预防由升高的HDAC2活性水平介导的疾病或病况。

[0116] 组蛋白脱乙酰酶是一类从蛋白质靶标除去乙酰基的酶。最丰富的HDAC靶标是组蛋白，但是已知HDAC可使非组蛋白蛋白质靶标的赖氨酸残基脱乙酰化，以暂时调控蛋白质活性。因此，HDAC有时被称为赖氨酸脱乙酰酶。当前存在13种已知的HDAC，其分为四个主要类别：I类(HDAC 1、2、3和8)、IIa类(HDAC 4、5、7和9)和IIb类(HDAC 6和10)、III类(sirt1-sirt7)和IV级(HDAC 11)[7]。每个类别通常具有不同的组织表达模式和亚细胞定位。

[0117] 蛋白质乙酰化/脱乙酰化通常使用蛋白质活性的翻译后控制机制。组蛋白乙酰化/脱乙酰化是公认的转录调控机制。遗传调控由组蛋白脱乙酰酶介导的从组蛋白尾中的赖氨酸氨基酸的ε-N-乙酰基裂解乙酰基而引起。乙酰基的除去恢复组蛋白尾的正电荷，从而导致与带负电荷的磷酸二酯DNA主链的更有利结合。改善的结合导致更紧密的染色体紧实和组蛋白脱乙酰化位点处基因表达的总体减少。

[0118] 组蛋白脱乙酰酶活性一直牵涉于多种疾病和病况中。对组蛋白脱乙酰酶活性的抑制可用于减轻或改善这些疾病或病况。组蛋白脱乙酰酶的全抑制剂(pan-inhibitor)可用于治疗或预防HDAC介导的疾病。同种型特异性HDAC抑制剂可用于治疗或预防由特异性HDAC同种型活性介导的疾病。

[0119] 对HDAC活性的抑制是确立的治疗方式，并且多种HDAC抑制剂是批准的药物，包括：伏立诺他(CTCL)、罗米地辛(CTCL)、西达本胺(PTCL)、帕比司他(多发性骨髓瘤)、贝利司他(T细胞淋巴瘤)，并且许多药物正在临床试验中，包括：帕比司他(CTCL)、丙戊酸(宫颈癌和卵巢癌、脊髓性肌萎缩症)、莫西司他(滤泡性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和急性骨髓性白血病)、艾贝司他(肉瘤)、恩替诺特(霍奇金淋巴瘤、肺癌和乳腺癌)、SB939(复发性或转移性前列腺癌)、瑞米司他(霍奇金淋巴瘤)、吉维司他(难治性白血病和骨髓瘤)、HBI-800(晚期实体瘤，包括黑素瘤、肾细胞癌(RCC)和非小细胞肺癌(NSCLC))、Kevetrin(卵巢癌)、CUDC-101、AR-42(复发性或治疗耐药性多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病或淋巴瘤)、CHR-2845、CHR-3996、4SC-202(晚期血液学适应症)、CG200745(实体瘤)、ACY-1215(多发性骨髓瘤)、ME-344(实体难治性肿瘤)、萝卜硫素和曲古抑菌素(抗炎药)。

[0120] 由HDAC活性介导的疾病或病况的实例包括神经退行性疾病(如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病)、脑损伤(如中风)、行为障碍(如注意力缺陷多动障碍)、炎症性肠病(如克罗恩病)、癌症(如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌)。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防这些疾病或病况中的一种。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由HDAC活性介导的这些疾病或病况中的一种。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由I类HDAC活性介导的这些疾病或病况中的一种。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由HDAC2介导的这些疾病或病况中的一种。

[0121] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于疗法中。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由HDAC活性介导的疾病或病况。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在治疗或预防由HDAC活性介导的疾病或病况中降低HDAC活性的方法中。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由I类HDAC活性介导的疾病或病况。在某些实施方案中，本发明的组合物用于抑制I类HDAC活性的方法中。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在治疗或预防由I类HDAC活性介导的疾病中选择性地抑制I类HDAC活性的方法中。本发明人已经鉴定，本发明的某些组合物选择性地抑制I类HDAC。如本文所用，“选择性的”是指例如与它们对来自其他类别的HDAC的抑制作用相比，对I类HDAC具有最大抑制作用的组合物。HDAC的选择性抑制对于需要长期施用治疗剂的疾病的治疗是有利的，例如在患者的整个生命周期中需要治疗疾病或病况的情况。在某些实施方案中，作为I类HDAC选择性抑制剂的本发明的组合物用于姑息治疗或预防由I类HDAC活性介导的疾病或病况。选择性抑制剂通关减少与其他类别的HDAC的不想要的抑制相关的副作用而相对于本领域已知的全抑制

剂是有利的。在某些实施方案中，本发明的组合物是HDAC2选择性抑制剂。在某些实施方案中，本发明的组合物用于选择性地降低HDAC2活性的方法中。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由HDAC2活性介导的疾病。

[0122] 脑损伤

[0123] 实施例证明，本发明的组合物具有神经保护作用，并且具有HDAC抑制活性。HDAC2是从中风中功能性恢复的关键靶标[18]，并且HDAC抑制可预防白质损伤[19]，因此本发明的组合物可用于治疗脑损伤。

[0124] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑损伤。在一些实施方案中，脑损伤是创伤性脑损伤。在一些实施方案中，脑损伤是获得性脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由创伤引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由肿瘤引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由中风引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由脑出血引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由脑炎引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由脑低氧引起的脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由脑却氧引起的脑损伤。

[0125] 在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗中风。实施例中所示的效果与中风的治疗特别相关。当流向大脑至少一部分的血液中断时，发生中风。如果没有足够的血液供应来为脑组织提供氧气和营养物并从脑组织中除去废物，则脑细胞迅速开始死亡。中风的症状取决于受血流量不足影响的大脑区域。症状包括麻痹、肌肉麻木或虚弱、失去平衡、头晕、突然剧烈头痛、语言障碍、记忆力减退、推理能力丧失、突然混乱、视力障碍、昏迷或甚至死亡。中风也称为脑部侵袭或脑血管意外(CVA)。如果在短时间段内恢复足够的血流，则中风的症状可能短暂。然而，如果血液量不足持续相当长的一段段间，则症状可能永久存在。

[0126] 在一些实施方案中，中风是脑缺血。当没有足够的血液流向大脑组织以满足代谢需求时，导致脑缺血。在一些实施方案中，脑缺血是局灶性脑缺血，即局限于脑的特定区域。在一些实施方案中，脑缺血是全脑缺血，即涵盖脑组织的广泛区域。局灶性脑缺血通常在脑血管变得部分或完全阻塞，从而减少流向脑的特定区域的血液时发生。在一些实施方案中，局灶性脑缺血是缺血性中风。在一些实施方案中，缺血性中风是血栓性的，即由血栓或血凝块引起，其在脑血管中发展并限制或阻塞血流。在一些实施方案中，缺血性中风是血栓性中风。在一些实施方案中，缺血性中风是栓塞性的，即由栓子或行进通过血流并限制或阻塞远离其起源点的部位的血流的未附着物质引起。在一些实施方案中，缺血性中风是栓塞性中风。当整体流向大脑的血流受阻或减少时，通常发生全脑缺血。在一些实施方案中，全脑缺血由灌注不足引起，即由于休克所致。在一些实施方案中，全脑缺血是心脏骤停的结果。

[0127] 在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑缺血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有局灶性脑缺血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有缺血性中风。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有血栓性中风。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有栓塞性中风。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有全脑缺血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有灌注不足。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有心脏骤停。

[0128] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑缺血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗局灶性脑缺血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗缺血性中风。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗血栓性中风。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗栓塞性中风。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗全脑缺血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗灌注不足。

[0129] 在一些实施方案中，中风是出血性中风。出血性中风由脑内或周围出血引起，从而导致肿胀、压力以及对脑细胞和组织的损伤。出血性中风通常是虚弱的血管破裂并渗入周围脑部的结果。在一些实施方案中，出血性中风是脑内出血，即由脑组织本身内的出血引起。在一些实施方案中，脑内出血由实质内出血引起。在一些实施方案中，脑内出血由脑室内出血引起。在一些实施方案中，出血性中风是蛛网膜下腔出血，即在脑组织外部、但仍在颅骨内发生的出血。在一些实施方案中，出血性中风是脑淀粉样血管病的结果。在一些实施方案中，出血性中风是脑动脉瘤的结果。在一些实施方案中，出血性中风是脑动静脉畸形(AVM)的结果。

[0130] 在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有出血性中风。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑内出血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有实质内出血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑室内出血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有蛛网膜下腔出血。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑淀粉样血管病。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑动脉瘤。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有脑AVM。

[0131] 在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗出血性中风。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑内出血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗实质内出血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑室内出血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗蛛网膜下腔出血。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑淀粉样血管病。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑动脉瘤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗脑AVM。

[0132] 在一段时间的中断后，恢复至大脑的足够血流虽然可有效缓解与中风相关的症状，但反而可导致对脑组织的进一步损伤。在中断期间，受影响的组织遭受氧气和营养物缺乏，并且血流的突然恢复可通过诱导氧化应激而导致炎症和氧化损伤。这被称为再灌注损伤，并且不仅在中风之后，而且在心脏病发作或其他组织损伤之后在缺血或缺氧一段时间后血液供应返回组织时也得到充分记录。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者由于中风而遭受再灌注损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗由于中风引起的再灌注损伤。

[0133] 短暂性脑缺血发作(TIA)，通常称为小中风，是更严重中风的公认警告信号。因此，患有一种或多种TIA的受试者罹患中风的风险更大。在一些实施方案中，被诊断患有脑损伤的受试者患有TIA。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗TIA。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有TIA的受试者的脑损伤。

[0134] 高血压、高血胆固醇、中风家族史、心脏病、糖尿病、脑动脉瘤、动静脉畸形、镰状细胞病、血管炎、出血性病症、使用非类固醇抗炎药(NSAID)、吸烟、大量饮酒、非法药物滥用、肥胖、缺乏体育锻炼和不健康饮食都被视为中风的风险因素。特别地，已经确定性地证明降

低血压可预防缺血性中风和出血性中风[20,21]。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗具有至少一种中风风险因素的受试者的脑损伤。在一些实施方案中,受试者具有两种中风风险因素。在一些实施方案中,受试者具有三种中风风险因素。在一些实施方案中,受试者具有四种中风风险因素。在一些实施方案中,受试者具有多于四种中风风险因素。在一些实施方案中,受试者患有高血压。在一些实施方案中,受试者患有高血胆固醇。在一些实施方案中,所述受试者具有中风家族史。在一些实施方案中,受试者患有心脏病。在一些实施方案中,受试者患有糖尿病。在一些实施方案中,受试者患有脑动脉瘤。在一些实施方案中,受试者患有动静脉畸形。在一些实施方案中,受试者患有血管炎。在一些实施方案中,受试者患有镰状细胞病。在一些实施方案中,受试者患有出血性病症。在一些实施方案中,受试者具有非类固醇抗炎药(NSAID)的使用史。在一些实施方案中,受试者吸烟。在一些实施方案中,受试者大量饮酒。在一些实施方案中,受试者使用非法药物。在一些实施方案中,受试者是肥胖的。在一些实施方案中,受试者是超重的。在一些实施方案中,受试者缺乏体育锻炼。在一些实施方案中,受试者具有不健康饮食。

[0135] 实施例表明,本发明的组合物可用于在损伤事件发生之前施用时治疗脑损伤和帮助恢复。因此,当施用至有脑损伤(如中风)风险的受试者时,本发明的组合物可特别用于治疗脑损伤。

[0136] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于减轻由潜在脑损伤(优选中风)引起的损伤。当在潜在脑损伤发生之前施用时,特别是当向鉴定为有脑损伤风险的患者施用时,所述组合物可减轻所引起的损伤。

[0137] 实施例表明,本发明的组合物可用于在损伤事件发生之后施用时治疗脑损伤和帮助恢复。因此,当在脑损伤(如中风)之后施用至受试者时,本发明的组合物可特别用于治疗脑损伤。

[0138] 在一些实施方案中,本发明的组合物通过减轻运动损伤来治疗脑损伤。在一些实施方案中,本发明的组合物通过改善运动功能来治疗脑损伤。在一些实施方案中,本发明的组合物通过改善肌肉强度来治疗脑损伤。在一些实施方案中,本发明的组合物通过改善记忆来治疗脑损伤。在一些实施方案中,本发明的组合物通过改善社会认同来治疗脑损伤。在一些实施方案中,本发明的组合物通过改善神经功能来治疗脑损伤。

[0139] 脑损伤的治疗可指例如减轻症状的严重程度。脑损伤的治疗还可指减轻中风后的神经功能障碍。用于治疗中风的本发明的组合物可在中风发作之前提供给受试者,例如在鉴定为有中风风险的患者中。用于治疗中风的本发明的组合物可在中风发生后,例如在恢复期间提供。用于治疗中风的本发明的组合物可在急性恢复期(即中风后至多一周)期间提供。用于治疗中风的本发明的组合物可在亚急性恢复期(即中风后一周至三个月)期间提供。用于治疗中风的本发明的组合物可在慢性恢复期(中风后三个月)期间提供。

[0140] 在某些实施方案中,本发明的组合物与第二活性剂组合使用。在某些实施方案中,本发明的组合物与阿司匹林或组织纤溶酶原激活物(tPA)组合使用。其他第二剂包括其他抗血小板药(如氯吡格雷)、抗凝剂(如肝素、华法林、阿哌沙班、达比加群、依多沙班或利伐沙班)、降压药(如利尿剂、ACE抑制剂、钙通道阻滞剂、β受体阻滞剂或α受体阻滞剂)或他汀类药物。本发明的组合物可改善患者对第二活性剂的应答。

[0141] 在某些实施方案中,本发明的组合物降低缺血对组织的影响。在某些实施方案中,

本发明的组合物减少由缺血引起的对组织的损伤的量。在某些实施方案中，因缺血损伤的组织是脑组织。在某些实施方案中，本发明的组合物减少坏死或坏死细胞的数量。在某些实施方案中，本发明的组合物减少凋亡或凋亡细胞的数量。在某些实施方案中，本发明的组合物减少坏死细胞和凋亡细胞的数量。在某些实施方案中，本发明的组合物预防由于坏死和/或凋亡所致的细胞死亡。在某些实施方案中，本发明的组合物预防由缺血引起的坏死和/或凋亡所致的细胞死亡。在某些实施方案中，本发明的组合物改善因缺血损伤的组织的恢复。在某些实施方案中，本发明的组合物提高坏死细胞和/或凋亡细胞的清除速度。在某些实施方案中，本发明的组合物提高坏死细胞和/或凋亡细胞的清除功效。在某些实施方案中，本发明的组合物改善组织内细胞的替代和/或再生。在某些实施方案中，本发明的组合物改善因缺血损伤的组织内的细胞的替代和/或再生。在某些实施方案中，本发明的组合物改善组织的整体组织学(例如，在活检时)。

[0142] 实施例证明，本发明的组合物激活MAP2(微管相关蛋白2)激活。MAP2是与MAP2的神经元分化相关的基因，并切被认为对于神经突生成中的微管形成是必不可少的，因此本发明的组合物可特别用于治疗脑损伤。在一些实施方案中，本发明的组合物用于通过激活或增加MAP2的水平来治疗脑损伤。此外，由于MAP2促进神经突生长(神经突生长在受损神经元的重组和突触形成中起主要作用)，因此MAP2表达可不仅是神经元分化的标志物，而且指示与神经病理疾病的治疗结果相关的“神经元重新布线”[22]。

[0143] 炎症性和自身免疫性病症

[0144] 实施例证明，本发明的组合物具有HDAC抑制活性。HDAC活性是许多炎症性和自身免疫性病症病理的关键，并且HDAC抑制剂已显示出在治疗许多炎症性和自身免疫性病症方面的功效，如以下有关特定病况的讨论(还参见[23])。因此，本发明的组合物可用于治疗炎症性和自身免疫性病症，特别是由组蛋白脱乙酰酶(HDAC)活性介导的炎整性和自身免疫性病症。

[0145] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防炎症性或自身免疫性病症的方法中。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防炎症性或自身免疫性疾病，其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有炎症性或自身免疫性疾病的患者，其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。在某些实施方案中，患者可能已经被诊断患有慢性炎症性或自身免疫性疾病或病况，或者本发明的组合物可用于预防炎症性或自身免疫性疾病或病况发展为慢性炎症性或自身免疫性疾病或病况。在某些实施方案中，所述疾病或病况可能对使用TNF-α抑制剂的治疗无应答。

[0146] HDAC可能与慢性炎症性和自身免疫性疾病相关，因此本发明的组合物对于治疗或预防如上文所列慢性疾病或病况特别有用。在某些实施方案中，所述组合物用于患有慢性疾病的患者。在某些实施方案中，所述组合物用于预防慢性疾病的发展。

[0147] 本发明的组合物可用于治疗由HDAC介导的疾病和疾患并用于解决HDAC激活，因此本发明的组合物可特别用于治疗或预防慢性疾病、治疗或预防对其他疗法(如用TNF-α抑制剂进行治疗)无应答的患者的疾病和/或治疗或预防与HDAC相关的组织损伤和症状。

[0148] 实施例证明，本发明的组合物减少IL-6产生和分泌，所述组合物可特别用于治疗炎症性和自身免疫性病症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在疾病的治疗中减轻

炎症。在某些实施方案中，本发明的组合物减少IL-6产生和分泌。在某些实施方案中，本发明的组合物减少NFκB启动子的激活。在某些实施方案中，本发明的组合物能够通过有效的促炎性内毒素脂多糖(LPS)来调节IL-6产生的激活。

[0149] -炎症性肠病

[0150] 实施例证明，本发明的组合物具有HDAC抑制活性，并且因此它们可用于治疗炎症性肠病。不同HDAC同种型的过表达已知牵涉于多种疾病病理，包括结肠炎中。此外，丙戊酸一直与DSS结肠炎鼠类模型中的I类HDAC抑制和结肠炎的改善相关[24]。这项研究表明HDAC I类抑制剂在IFN-γ、IL-10、IL-1β和TNF-α抑制中的作用，对结肠炎中的HDAC抑制和功效赋予功能。因此，实施例表明，本发明的组合物可用于治疗炎症性肠病。

[0151] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防炎症性肠病。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防炎症性肠病，其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有炎症性肠病的患者，其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0152] 炎症性肠病(IBD)是可由多种环境和遗传因素引起的复杂疾病。导致IBD发作的因素包括饮食、微生物群、肠渗透性以及对肠道感染的炎症应答增加的遗传易感性。炎症性肠病的症状包括腹痛、呕吐、腹泻、直肠出血、骨盆区域严重内部抽筋/肌肉痉挛、体重下降和贫血。在某些实施方案中，所述组合物用于减轻与IBD相关的一种或多种症状。在某些实施方案中，本发明的组合物用于预防IBD的一种或多种症状。

[0153] IBD可能伴有其他疾病或病况，如关节炎、坏疽性脓皮病、原发性硬化性胆管炎、非甲状腺疾病综合征、深静脉血栓形成、闭塞性细支气管炎机化性肺炎。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防伴随IBD的一种或多种疾病或病况。

[0154] 炎症性肠病通常通过活检或结肠镜检查来诊断。粪便钙卫蛋白的测量对IBD的初步诊断有用。用于诊断IBD的其他实验室测试包括全血细胞计数、红细胞沉降率、全套代谢功能检测、粪便潜血试验或C反应蛋白试验。通常，将实验室检查和活检/结肠镜检查的组合用于确认IBD的诊断。在某些实施方案中，本发明的组合物用于被诊断患有IBD的受试者。

[0155] 在某些实施方案中，炎症性肠病是克罗恩氏病。研究表明，几种HDAC在克罗恩氏病患者的炎症性粘膜中上调。因此，抑制HDAC活性可用于治疗克罗恩氏病。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防克罗恩氏病。

[0156] 克罗恩氏病是具有多种可能的原因的复杂疾病，所述原因包括遗传风险因素、饮食、其他生活方式因素，如吸烟和饮酒以及微生物组组成。克罗恩氏病可在胃肠道的任何地方出现。

[0157] 克罗恩氏病的胃肠道症状在从轻度至重度的范围内，包括腹痛、腹泻、粪便血、回肠炎、肠蠕动增加、肠胃气胀增加、肠狭窄、呕吐和肛周不适。本发明的组合物可用于治疗克罗恩氏病的一种或多种胃肠道症状。

[0158] 克罗恩氏病的全身症状包括生长缺陷，如在青春期无法维持生长、食欲下降、发热和体重下降。克罗恩氏病的肠外特征包括葡萄膜炎、闪光感、巩膜炎、胆结石、血清阴性脊椎关节病、关节炎、肠炎、结节性红斑、坏疽性脓皮病、深静脉血栓形成、肺栓塞、自身免疫性溶血性贫血、杵状指和骨质疏松症。肠外特征是在胃肠道外表现出的与克罗恩氏病相关的另外的病况。患有克罗恩氏病的受试者还表现出对神经系统并发症如癫痫发作、中风、肌病、

周围神经病变、头痛和抑郁症的敏感性增加。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防克罗恩氏病的一种或多种全身症状。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防克罗恩氏病的一种或多种肠外特征。

[0159] 克罗恩氏病的诊断通常包括进行多次检查和外科手术，如胃镜检查和/或结肠镜检查和活检(通常回肠的活检)、放射学检查、全血细胞计数、C反应蛋白试验和红细胞沉降率。在某些实施方案中，本发明的组合物用于被诊断患有克罗恩氏病的受试者。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗已被诊断患有克罗恩氏病的受试者。

[0160] 克罗恩氏病根据受影响的胃肠道区域的程度进行分类[25]。回肠和结肠的疾病都归类为回结肠克罗恩氏病。在一些实施方案中，所述组合物用于治疗或预防回结肠克罗恩氏病。在一些实施方案中，将组合物用于被诊断患有回结肠克罗恩氏病的受试者/如果仅回肠受到影响，则分类为克罗恩氏回肠炎。如果仅结肠受到影响，则分类为克罗恩氏结肠炎。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗或预防克罗恩氏回肠炎。在一些实施方案中，所述组合物用于被诊断患有克罗恩氏回肠炎的受试者。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗或预防克罗恩氏结肠炎。在一些实施方案中，所述组合物用于被诊断患有克罗恩氏结肠炎的受试者。

[0161] 克罗恩氏病可用多种治疗剂进行治疗，如皮质类固醇(如泼尼松)、免疫抑制剂(如硫唑嘌呤)或生物制剂(如英夫利昔单抗、阿达木单抗和戈利木单抗、维多珠单抗以及埃利珠单抗)。在某些实施方案中，本发明的组合物与另外的治疗剂组合用于治疗或预防克罗恩氏病。在某些实施方案中，另外的治疗剂用于治疗或预防克罗恩氏病。

[0162] 实施例表明，本发明的组合物降低肠中IDO1的调节表达，这对于治疗炎症性肠疾病可能特别有用。在某些实施方案中，本发明的组合物增加IDO1表达。

[0163] -多发性硬化症

[0164] 多发性硬化症(MS)是中枢神经系统的自身免疫性炎症性疾病。可通过诱导实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)在动物中模拟MS。在具有过继性EAE的小鼠中，已经显示出HDAC抑制剂减轻临床症状并抑制疾病进展(Dasgupta等人，2003，J Immunol，170(7)，3874-3882)。还已经证明，注射HDAC抑制剂可显著减少具有慢性MS实验模型的小鼠的神经系统损伤和残疾(Camelo等人，2005，J Neuroimmunol，164(1-2)，10-21)。已经建议抑制HDAC活性作为MS的有前景的疗法(Gray等人，2006，Epigenetics，1:2，67-75)。因此，本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的多发性硬化症。

[0165] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防多发性硬化症，其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有多发性硬化症的患者，其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0166] 在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防多发性硬化症。本发明的组合物可实现HDAC抑制，并且因此它们可用于治疗或预防多发性硬化症。多发性硬化症是与神经元的髓鞘受损相关的炎症性病症，尤其是在大脑和脊柱中。多发性硬化症是一种慢性疾病，其逐渐丧失能力并在发作中发展。

[0167] 在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗使得疾病发病率或疾病严重程度降低。在某些实施方案中，本发明的组合物用于降低疾病发生率或疾病严重程度。在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗预防运动功能下降或使得运动功能改善。在某些实

施方案中，本发明的组合物用于预防运动功能下降或用于改善运动功能。在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗预防麻痹的发展。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在多发性硬化症的治疗中预防麻痹。

[0168] 本发明的组合物可用于调节患者的免疫系统，因此在某些实施方案中，本发明的组合物用于预防已被鉴定为有患多发性硬化症的风险或已被诊断出患有早期多发性硬化症或“复发-缓解”型多发性硬化症的患者的多发性硬化症。本发明的组合物可用于预防硬化的发展。

[0169] 本发明的组合物可用于控制或减轻多发性硬化症。本发明的组合物对于减轻与多发性硬化症相关的症状可能特别有用。多发性硬化症的治疗或预防可指例如症状的严重程度减轻，或加重的频率或引起患者问题的触发因素的范围降低。

[0170] -关节炎

[0171] 关节炎是以慢性关节炎症为特征的疾病。类风湿关节炎是通常导致关节肿胀和疼痛的慢性自身免疫性疾病。已经提出了通过多种机制来抑制HDAC以治疗类风湿性关节炎，所述机制包括影响细胞因子产生、抑制T细胞分化、抑制滑膜成纤维细胞的增殖以及通过影响破骨细胞和成骨细胞而减少骨质流失(Vojinov等人，2011，Mol Med，17(5-6)397-403)。在数种关节炎动物模型中，HDAC抑制已显示出强抗炎作用(Joosten等人，2011，Mol Med，17(5-6)，391-396)。因此，本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的关节炎。

[0172] 在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防类风湿性关节炎(RA)。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防类风湿性关节炎，其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗类风湿性关节炎患者，其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0173] 在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗使得关节肿胀减轻。在某些实施方案中，本发明的组合物用于关节肿胀的患者或被鉴定为有关节肿胀风险的患者。在某些实施方案中，本发明的组合物用于减轻RA中的关节肿胀的方法中。

[0174] 在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗使得软骨损伤或骨损伤减少。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在RA的治疗中减少或预防软骨或骨损伤。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗有软骨或骨损伤风险的严重RA患者。

[0175] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于在RA的治疗中预防骨侵蚀或软骨损伤。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗表现出骨侵蚀或软骨损伤的患者或被鉴定为有骨侵蚀或软骨损伤的风险的患者。

[0176] 本发明的组合物可用于调节患者的免疫系统，因此在某些实施方案中，本发明的组合物用于预防已被鉴定为有患RA的风险或已被诊断患有早期RA的患者中的RA。本发明的组合物可用于预防RA的发展。

[0177] 本发明的组合物可用于控制或减轻RA。本发明的组合物对于减轻与关节肿胀或骨破坏相关的症状可能特别有用。RA的治疗或预防可指例如症状的严重程度减轻，或加重的频率或引起患者问题的触发因素的范围降低。

[0178] -哮喘

[0179] 哮喘是慢性炎症性呼吸系统疾病。在慢性哮喘的小鼠模型中，HDAC抑制剂已显示具有缓解气道炎症的抗炎作用、气道重塑和气道超敏反应(Ren等人，2016，Inflamm Res，

65,995-1008)。因此,本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的哮喘。

[0180] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防哮喘,其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗哮喘患者,其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0181] 在某些实施方案中,哮喘是嗜酸性粒细胞性或过敏性哮喘。嗜酸性粒细胞性和过敏性哮喘的特征在于外周血和气道分泌物中嗜酸性粒细胞的数量增加,并且在病理学上与基底膜区增厚相关,切在药理学上与皮质类固醇应答性有关[26]。减少或抑制嗜酸性粒细胞募集或激活的组合物可用于治疗或预防嗜酸性粒细胞性和过敏性哮喘。嗜酸性粒细胞性和过敏性哮喘的特征还在于由T辅助2型淋巴细胞(Th2)进程介导的一系列炎症事件。减少或抑制T辅助2型淋巴细胞(Th2)过程的组合物可用于治疗或预防嗜酸性粒细胞性和过敏性哮喘。

[0182] 在另外的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防嗜中性粒细胞性哮喘(或非嗜酸性粒细胞性哮喘)。嗜中性粒细胞数量高与可能对皮质类固醇治疗不敏感的严重哮喘相关。减少或抑制嗜中性粒细胞募集或激活的组合物可用于治疗或预防嗜中性粒细胞性哮喘。

[0183] 嗜酸性粒细胞性哮喘(也称为Th2-高哮喘)和嗜中性粒细胞性哮喘(也称为Th2-低或非Th2哮喘)具有不同的潜在病理生理机制,并且表现出不同的临床特征。例如,高Th2哮喘通常出现较早,并表现出季节性的症状变化,而Th2低哮喘的发病要晚得多,通常在40岁或更晚。高Th2哮喘的特征还在于免疫球蛋白E(IgE)血液水平升高,而低Th2哮喘则没有这种特征。Th2高哮喘的特征还在于嗜酸性粒细胞的痰液水平高。相比之下,低Th2哮喘可以痰嗜中性粒细胞的水平升高为特征。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗Th2-低或非Th2哮喘。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗Th2-高哮喘。

[0184] 嗜酸性粒细胞性和嗜中性粒细胞性哮喘不是相互排斥的疾病,并且有助于解决嗜酸性粒细胞和嗜中性粒细胞应答的治疗通常可用于治疗哮喘。

[0185] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于在哮喘的治疗或预防中减少嗜酸性粒细胞炎症应答的方法,或在哮喘的治疗或预防中减少嗜中性粒细胞炎症应答的方法。如上所述,哮喘中高水平的嗜酸性粒细胞在病理上与基底膜区增厚相关,因此在治疗或预防哮喘中减轻嗜酸性粒细胞炎症应答可能能够专门解决所述疾病的这一特征。此外,嗜酸性粒细胞(与嗜中性粒细胞升高组合或不存在嗜中性粒细胞升高时)与严重的哮喘和慢性气道狭窄相关。因此,减轻嗜中性粒细胞炎症应答对解决严重哮喘可能特别有用。

[0186] 在某些实施方案中,所述组合物减少过敏性哮喘中的细支气管周围浸润,或用于在过敏性哮喘的治疗中减少细支气管周围浸润。在某些实施方案中,所述组合物减少嗜中性粒细胞性哮喘中的细支气管周围和/或血管周围浸润,或用于在过敏性嗜中性粒细胞性哮喘的治疗中减少细支气管周围和/或血管周围浸润。

[0187] 在某些实施方案中,用本发明的组合物进行治疗提供TNFα水平的降低或预防TNFα水平的升高。

[0188] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗哮喘的方法中,所述方法使得嗜酸性粒细胞和/或嗜中性粒细胞炎症应答减轻。在某些实施方案中,例如,如通过血液采样或

痰分析所鉴定的,待治疗的患者已被或先前已被鉴定为具有升高的嗜中性粒细胞或嗜酸性粒细胞水平。

[0189] 当施用至新生儿或孕妇时,本发明的组合物可用于预防新生儿中哮喘的发展。所述组合物可用于预防儿童中哮喘的发展。本发明的组合物可用于治疗或预防成年发作型哮喘。本发明的组合物可用于控制或减轻哮喘。本发明的组合物对于减轻与因过敏原(如屋尘螨)加重的哮喘相关的症状可能是特别有用的。

[0190] 哮喘的治疗或预防可指例如症状的严重程度减轻,或加重的频率或引起患者问题的触发因素的范围降低。

[0191] -银屑病

[0192] 银屑病是慢性炎症性皮肤疾病。在来自银屑病患者的皮肤活检物中报告了HDAC1的过表达(Tovar-Castillo等人,2007,Int J Dermatol,46,239-46),并且HDAC抑制剂已被证实阻断Foxp3+Treg转化为Foxp3-RORγt+IL-17/Treg(与银屑病疾病进展相关的转变)(Bovenschen等人,2011,J Invest Dermatol,131,1853-60)。因此,本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的银屑病。

[0193] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防银屑病。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防银屑病,其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗银屑病患者,其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0194] -系统性红斑狼疮

[0195] 系统性红斑狼疮(SLE)是一种自身免疫性疾病。基于对SLE的细胞培养物和小鼠模型的研究,HDAC抑制被认为是用于治疗SLE的有前景的治疗方法(Reilly等人,2011,Mol Med,17(5-6),417-425)。因此,本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的系统性红斑狼疮。

[0196] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防SLE。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防SLE,其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗SLE患者,其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0197] -同种异体移植物排斥

[0198] 当移植组织被受体的免疫系统排斥时,发生同种异体移植物排斥。对鼠类心脏移植物的研究表明,相对于对照,HDAC抑制增加移植物中组蛋白3乙酰化,并与Foxp3蛋白(参与控制免疫应答的叉头转录家族成员)的移植物中水平升高、组织架构的维持和缺乏慢性排斥的征象相关(Wang等人,Immunol Cell Biol,1-8)。因此,本发明的组合物可用于治疗或预防受试者中的同种异体移植物排斥。

[0199] 在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防同种异体移植物排斥。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防同种异体移植物排斥,其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗患有同种异体移植物排斥的患者,其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0200] -糖尿病

[0201] 糖尿病是其中低水平的胰岛素和/或外周胰岛素抵抗导致高血糖症的一组疾病。

已经提出HDAC抑制可通过多种机制治疗糖尿病，包括Pdx1的去阻遏(Park等人，2008，J Clin Invest，118，2316-24)、增强转录因子Ngn3的表达以增加内分泌祖细胞的池(Haumaitre等人，2008，Mol Cell Biol，28，6373-83)和增强胰岛素表达(Molsey等人，2003，J Biol Chem，278，19660-6)等。HDAC抑制也是用于晚期糖尿病并发症如糖尿病性肾病和视网膜缺血的有前景的治疗(Christensen等人，2011，Mol Med，17(5-6)，370-390)。因此，本发明的组合物可用于治疗或预防受试者的糖尿病。

[0202] 在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防糖尿病。在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防I型糖尿病。在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防II型糖尿病。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防糖尿病，其中所述治疗或预防通过减少或阻止HDAC激活来实现。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗糖尿病患者，其中所述患者具有升高的HDAC水平或活性。

[0203] -移植物抗宿主病(GVHD)

[0204] 本发明的组合物可用于治疗或预防移植物抗宿主病(GVHD)。GVHD是同种异体组织移植到受试者体内后的医学并发症。GVHD通常发生在干细胞或骨髓移植或实体器官移植之后，特别是在移植物(即供体)和宿主(即受体)的遗传背景不同的情况下。

[0205] GVHD的病理生理学包括三个不同的阶段。首先，在将移植的组织识别为外来物质之后，激活宿主抗原呈递细胞(APC)如树突状细胞(DC)。APC激活先于效应免疫细胞(如常规的细胞毒性T细胞)的募集和激活，这导致外来组织的破坏或排斥。

[0206] HDAC抑制已经显示介导可用于治疗或预防GVHD的有效的多效抗炎作用。HDAC抑制可在GVHD病理生理级联的多个点抑制。例如，HDAC抑制通过以STAT-3依赖性方式增强吲哚胺2,3-二加氧酶的表达来防止体内针对同种异体组织的抗原呈递细胞和树突状细胞激活。[27]STAT-1活性的HDAC抑制还显示在治疗或预防GVHD方面有益[28]。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于通过抑制APC激活来治疗或预防GVHD。

[0207] HDAC抑制还显示在体内扩大Treg细胞群体和活性[29]。HDAC抑制介导的Treg细胞活性的上调已显示抑制常规细胞毒性T细胞活性，这可能通过抑制GVHD病理生理学级联的第2阶段而用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物用于通过降低常规的细胞毒性T细胞活性来治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于降低常规细胞毒性T细胞活性。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于通过上调Treg细胞活性来治疗或预防GVHD。

[0208] 已显示供体NK细胞可通过消除宿主APC来降低GVHD。HDAC抑制已显示可增加NK细胞活性。因此，本发明的组合物可用于增加NK细胞活性，这可通过增加APC的消除而用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于通过增强宿主APC的消除而用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于通过增强NK细胞活性来治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于通过增强NK细胞活性介导的宿主APC的消除来治疗或预防GVHD。

[0209] 在某些实施方案中，本发明的组合物可在宿主接受移植物后施用。在某些实施方案中，可在受试者接受移植物之前将本发明的组合物施用于宿主。在接受移植物之前施用本发明的组合物可用于引发受试者的免疫系统以不引发针对移植组织的炎症性或自身免疫反应。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于预防GVHD或预防GVHD的发作。在某些实

施方案中，本发明的组合物可预防性地用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于预防GVHD。在某些实施方案中，本发明的组合物可用于预防受试者中的移植组织排斥的方法中。

[0210] 在某些实施方案中，本发明的组合物可用于治疗、延迟、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。急性GVHD的症状通常在移植的前100天内表现出来。延迟、治疗或预防急性GVHD对于帮助在移植手术后的直接后果中受试者的恢复可能特别有益。在某些实施方案中，所述组合物可通过抑制HDAC活性来治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。在某些实施方案中，所述组合物可通过上调Treg细胞活性来治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。所述组合物可通过抑制常规细胞毒性T细胞活性来治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。本发明的组合物可通过增强NK细胞活性来治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。本发明的组合物可通过抑制APC激活来治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。

[0211] 在某些实施方案中，当在移植后100天内施用至受试者时，本发明的组合物可治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。在某些实施方案中，当预防性地施用至受试者，例如，当在移植前将组合物施用至受试者时，本发明的组合物可治疗急性GVHD、延迟急性GVHD的发作、预防急性GVHD或预防急性GVHD的发作。在某些实施方案中，本发明的组合物可治疗持续性、晚发性或复发性急性GVHD(如在移植后超过100天发生或复发的急性GVHD)，延迟其发作，预防持续性、晚发性或复发性急性GVHD或预防其发作。

[0212] 在某些实施方案中，本发明的组合物可治疗急性GVHD的一种或多种症状、延迟急性GVHD的一种或多种症状的发作、预防急性GVHD的一种或多种症状或预防急性GVHD的一种或多种症状的发作，所述一种或多种症状选自由以下组成的列表：斑丘疹皮疹、恶心、厌食、腹泻、严重腹痛、肠梗阻和胆汁淤积性高胆红素血症。

[0213] 在某些实施方案中，本发明的组合物可用于治疗慢性GVHD、延迟慢性GVHD的发作、预防慢性GVHD或预防慢性GVHD的发作。慢性GVHD是可累及任何器官并且通常以纤维化为特征的复杂多系统疾病。慢性GVHD可从急性GVHD演变而来，或者可在急性GVHD之后的静止期后出现，或者可从头出现。移植后随时可能出现慢性GVHD的症状。在某些实施方案中，所述组合物可通过抑制HDAC活性而用于治疗慢性GVHD、预防慢性GVHD、预防慢性GVHD的发作或延迟慢性GVHD的发作。所述组合物可通过上调Treg细胞活性来治疗慢性GVHD、延迟慢性GVHD的发作、预防慢性GVHD或预防慢性GVHD的发作。所述组合物可通过抑制常规细胞毒性T细胞活性来治疗慢性GVHD、延迟慢性GVHD的发作、预防慢性GVHD或预防慢性GVHD的发作。本发明的组合物可通过增强NK细胞活性来治疗慢性GVHD、延迟慢性GVHD的发作、预防慢性GVHD或预防慢性GVHD的发作。本发明的组合物可通过抑制APC DC激活来治疗慢性GVHD、延迟慢性GVHD的发作、预防慢性GVHD或预防慢性GVHD的发作。

[0214] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于施用至最近经历干细胞、骨髓或实体器官移植的患者。在某些实施方案中，本发明的组合物用于施用至需要干细胞、骨髓或实体器官移植的患者。

[0215] 在某些实施方案中，本发明的组合物可治疗慢性GVHD的一种或多种症状、延迟慢

性GVHD的一种或多种症状的发作、预防慢性GVHD的一种或多种症状或预防慢性GVHD的一种或多种症状的发作，所述慢性GVHD的一种或多种症状选自由以下组成的列表：色素沉着、新发性脱发、皮肤异色症、扁平苔藓样疹或硬化特征、指甲营养不良或缺失、口腔干燥症、口腔溃疡(如口疮性口炎)、口腔中的苔藓型特征(如苔藓硬化)、干燥性角膜结膜炎、干燥综合征、瘢痕性结膜炎、筋膜炎、肌炎、关节僵直、阴道硬化、溃疡、厌食症、体重下降、食管蹼、黄疸、转氨酶升高、胸腔积液、闭塞性细支气管炎、肾病综合征、心包炎、血小板减少症、贫血和嗜中性粒细胞减少症。

[0216] 本发明人还表明，本发明的组合物可减轻与GVHD相关的结肠炎。结肠炎是在GVHD患者中观察到的炎症性副作用。本发明的组合物还可用于治疗GVHD患者的结肠炎症。因此，在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有GVHD的受试者的结肠炎。在一些实施方案中，本发明的组合物用于降低患有GVHD的受试者的结肠炎的严重程度。在一些实施方案中，本发明的组合物用于在GVHD的治疗中降低结肠炎的严重程度。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗患有GVHD的受试者的结肠炎症。在一些实施方案中，本发明的组合物用于降低患有GVHD的受试者的结肠炎症的严重程度。在一些实施方案中，本发明的组合物用于在GVHD治疗中减轻结肠炎症。

[0217] 本发明人还发现本发明的组合物可用于维持患有GVHD的受试者中的肠道屏障功能。维持肠道屏障功能可减少炎性细胞因子通过肠屏障的转运，从而加剧GVHD的毒性[30]。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在治疗GVHD中维持肠道屏障功能。在一些实施方案中，本发明的组合物用于在GVHD的治疗中减少炎症细胞因子跨过肠道屏障的转运。

[0218] 在某些实施方案中，本发明的组合物可与一种或多种药理剂组合用于治疗或预防GVHD。在某些实施方案中，一种或多种药理剂用于GVHD的药理学预防或治疗。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防正在接受、已经接受或将要接受一种或多种所述药理剂的受试者中的GVHD。在某些实施方案中，所述一种或多种药理剂选自由以下组成的列表：辛二酰苯胺、伏立诺他、ITF2357环孢素、环孢菌素、西罗莫司、喷司他丁、利妥昔单抗、伊马替尼、吗替麦考酚酯、他克莫司、泼尼松、甲氨蝶呤、remestemcel-L和Prochymal，其中所述药理剂以治疗有效量施用以治疗或预防GVHD。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗已接受、正在接受或将要接受体外光泳疗法的受试者中的GVHD。

[0219] 行为和精神障碍

[0220] 实施例表明，本发明的组合物在神经系统疾病的小鼠模型中减轻多动症。因此，本发明的组合物可用于减轻受试者的多动症。多动症是行为和精神障碍的症状，如注意力缺陷多动症(ADHD)、创伤后应激障碍、焦虑性障碍、双相障碍和强迫症。多动症可能是荷尔蒙失调的症状，如甲状腺功能亢进、运动机能亢进和对甲状腺激素的抗性。多动症也可能是神经元病症的症状，如肾上腺脑白质营养不良。多动症也可能是过动症、紧张性精神分裂症、神经性厌食症、脆性X综合征(FXS)、苯丙酮尿症(PKU)、胎儿酒精综合症(FAS)、焦虑症、抑郁症和图雷特综合征的症状。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防行为障碍。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防精神障碍。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗情绪和行为障碍。

[0221] 在某些实施方案中，所述组合物用于在甲状腺机能亢进或对甲状腺激素的抗性的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗被诊断患有甲状腺功能

亢进或对甲状腺激素具有抗性的患者中的多动症。

[0222] 在某些实施方案中,所述组合物用于在肾上腺脑白质营养不良的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有肾上腺脑白质营养不良的患者中的多动症。

[0223] 在某些实施方案中,所述组合物用于在紧张型精神分裂症的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有紧张型精神分裂症的患者中的多动症。

[0224] 在某些实施方案中,所述组合物用于在神经性厌食症的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有神经性厌食症的患者中的多动症。

[0225] 在某些实施方案中,所述组合物用于在脆性X综合征的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有脆性X综合征(FXS)的患者中的多动症。

[0226] 在某些实施方案中,所述组合物用于在苯丙酮尿症的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有苯丙酮尿症的患者中的多动症。

[0227] 在某些实施方案中,所述组合物用于在胎儿酒精综合征的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有胎儿酒精综合征的患者中的多动症。

[0228] 在某些实施方案中,所述组合物用于在焦虑症的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有焦虑症的患者中的多动症。

[0229] 在某些实施方案中,所述组合物用于在抑郁症的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有抑郁症的患者中的多动症。

[0230] 在某些实施方案中,所述组合物用于在图雷特综合征的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有图雷特综合征的患者中的多动症。

[0231] -ADHD

[0232] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防ADHD。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防患有行为障碍的受试者中的多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防患有ADHD的受试者中的多动症。ADHD可在儿童和成人中表现。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防成人中的ADHD。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防儿童中的ADHD。

[0233] 在一些实施方案中,所述组合物用于被诊断患有ADHD的受试者。ADHD的诊断是复杂的程序,通常涉及对显示ADHD症状的受试者进行心理评估,与身体检查结合,以及可能地检测与ADHD相关的生物标志物,如血小板单胺氧化酶表达、尿去甲肾上腺素、尿MHPG和尿苯乙胺水平。

[0234] 正式诊断通常由精神病保健专业人员进行。不同的国家对ADHD的诊断和分类使用不同的度量标准。在一些国家,诊断和分类是根据美国精神病学协会在精神障碍诊断和统计手册(DSM)中定义的标准进行。DSM根据受试者所表现出的一系列症状将ADHD分类为不同的亚型。ADHD可被诊断为主要为注意缺陷为主型的ADHD(ADHD-pi)。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防ADHD-pi。在某些实施方案中,本发明的组合物用于被诊断患有ADHD-pi的受试者。在一些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有ADHD-pi的受试者的方法中。ADHD也可被诊断为多动—冲动为主型的ADHD。在一些实施方案中,所述组

合物用于治疗或预防多动－冲动为主型的ADHD。在一些实施方案中，本发明的组合物用于被诊断患有多动－冲动为主型的ADHD的受试者。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗被诊断患有多动－冲动为主型的ADHD的受试者的方法中。

[0235] ADHD的症状包括容易分心、健忘、做白日梦、混乱、注意力不集中和难以完成任务、过度烦躁不安、多动症、难以等待和保持坐姿、不成熟的行为。破坏性行为也可能存在。对于与ADHD相关的症状，它们必须存在超过六个月，并且必须在一种以上的环境中出现(如在家中和在学校或工作中)。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗或预防ADHD的一种或多种症状。在某些实施方案中，所述组合物用于治疗或预防表现出ADHD的一种或多种症状的受试者。在一些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防多动症。在一些实施方案中，所述组合物用于减轻受试者的多动症的方法中。在一些实施方案中，本发明的组合物用作抗多动症药物。

[0236] 治疗ADHD的其他方法包括心理疗法、行为疗法、认知行为疗法、人际心理疗法、兴奋剂药物(如哌醋甲酯)、非兴奋剂药物(如托莫西汀、安非他酮、胍法辛和可乐定)。在某些实施方案中，本发明的组合物与用于ADHD的另外治疗方法组合使用。

[0237] -强迫症(OCD)

[0238] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防OCD。在某些实施方案中，所述组合物用于在OCD的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗被诊断患有OCD的患者中的多动症。

[0239] OCD是属于焦虑性障碍的异质性、慢性和致残性病症。根据DSM-IV定义，强迫症的基本特征是严重且耗时(每天超过一小时)的反复出现的强迫和/或强制(标准A)，或引起明显的困扰或严重干扰受试者的正常日常活动、职业功能、通常的社交活动或人际关系(标准C)。在疾病过程中的某个时刻，人已经意识到强迫或强制是过度的或不合理的(标准B)。

[0240] 强迫被定义为反复出现的且持续不断的想法、冲动或图像，所述想法、冲动或图像被体验为侵入性和不适当的并引起明显的焦虑或困扰。所述想法、冲动或图像不仅仅是对现实生活问题的过度担心，它们已被患者认为是其自身思想的产物(例如，担心污染、对称性强迫)。人试图忽略、压制或消除对一些其他想法或行为的强迫。

[0241] 强制被定义为人响应于强迫或根据必须严格遵循的规则因感到被驱动执行的重复行为(例如洗手、整理、囤积、检查)或精神行为(例如祈祷、数数、默默重复说话)。

[0242] 强迫症通常与其他精神疾病的合并症发病率相关，包括重度抑郁症、其他焦虑性障碍(广泛性焦虑性障碍、社交焦虑性障碍、恐慌症)、药物滥用和饮食失调(厌食症和贪食症)。

[0243] OCD是可由于微生物群-肠道-脑轴功能障碍而发展或持续的精神障碍。因此，在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者中的OCD。

[0244] 在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解OCD的基本症状特征。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中的复发性强迫和/或强制。在某些实施方案中，强迫是反复出现的且持续不断的想法、冲动或图像，所述想法、冲动或图像被体验为侵入性和不适当的并引起明显的焦虑或困扰。在某些实施方案中，强制是受试者响应于强迫或根据必须严格遵循的规则而感到被驱动执行的重复行为。

[0245] 在某些实施方案中，本发明的组合物根据Y-BOCS和/或NIMH-OC诊断和/或症状量

表改善受试者中的OCD症状。在一些实施方案中,Y-BOCS量表用于监测主要终点的改善。在一些实施方案中,NIMH-OC量表用于监测次要参数的改善。

[0246] 在一些实施方案中,本发明的组合物改善用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中,本发明的组合物对患有ASD的受试者的整体社会功能(关系、工作等)表现出积极作用。在一些实施方案中,整体量表是希恩残疾量表。

[0247] 在优选的实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解OCD的至少一种合并症。OCD的合并症包括重度抑郁症、其他焦虑症(广泛性焦虑性障碍、社交焦虑性障碍、恐慌症)、药物滥用和饮食失调(厌食症和贪食症)、抽动秽语综合征、ADHD(注意缺陷/多动症)和发育障碍。

[0248] 在一些实施方案中,当与另一种用于治疗OCD的疗法组合使用时,本发明的组合物在预防、减轻或缓解OCD方面特别有效。此类疗法包括5-羟色胺和多巴胺再摄取抑制剂;氯米帕明和抗精神病药。

[0249] -焦虑性障碍

[0250] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防焦虑性障碍。在某些实施方案中,所述组合物用于在焦虑性障碍的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗被诊断患有焦虑性障碍的患者中的多动症。

[0251] 焦虑性障碍是一组以焦虑和恐惧感为特征的精神障碍。存在许多焦虑性障碍,包括广泛性焦虑性障碍(GAD);特定恐惧症;社交焦虑性障碍;分离焦虑性障碍;广场恐怖症;恐慌症和选择性缄默症。

[0252] 根据DMS-5的六个标准诊断GAD。第一个标准是超过六个月以上的焦虑或忧虑,其中在许多活动中,大部分时间都存在焦虑或忧虑。第二个标准是受试者不能控制第一标准的症状。第三个标准是发生以下中的至少三种情况(儿童中一种):躁动;容易疲劳;难以集中注意力;易怒;肌肉紧张和睡眠问题。最后三个标准是症状导致严重的社会、职业和功能障碍;症状不是由于药剂、药物或其他身体健康问题所致;并且症状与另一种精神病问题(如恐慌症)不太相称。所有其他焦虑性障碍都可视为GAD的鉴别诊断。

[0253] GAD经常与作为合并症的多种其他精神障碍相关,包括抑郁症;物质使用障碍;应激;IBS;失眠;头痛;疼痛;心脏事件;人际关系问题和ADHD。

[0254] 焦虑性障碍是可由于微生物群-肠道-脑轴功能障碍而发展或持续的精神障碍。因此,在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防受试者的焦虑性障碍。在某些实施方案中,焦虑性障碍是广泛性焦虑性障碍(GAD);特定恐惧症;社交焦虑性障碍;分离焦虑性障碍;广场恐惧症;恐慌症和选择性缄默症。

[0255] 在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中如通过本文列出的DMS-5标准分类的GAD的一种或多种症状。根据DMS-5,相同的症状与其他焦虑性障碍相关。因此,在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中的焦虑性障碍的一种或多种症状。在优选的实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者的焦虑或忧虑。在某些实施方案中,本发明的组合物减少六个月内症状的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解躁动;疲劳;注意力不集中;易怒;肌肉紧张和/或睡眠问题。在一些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解与焦虑性障碍相关的社交、职业

和功能障碍。

[0256] 在一些实施方案中，根据症状或诊断量表，本发明的组合物改善焦虑性障碍的症状。在某些实施方案中，用于评估症状改善的量表包括汉密尔顿焦虑量表(HAM-A)。在一些实施方案中，HAM-A总量表用于评估主要终点。在其他实施方案中，HAM-A精神焦虑因素可用作次要终点。

[0257] 在一些实施方案中，本发明的组合物改善用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中，本发明的组合物对患有焦虑性障碍的受试者的整体社会、职业和功能障碍显示出积极作用。在一些实施方案中，整体量表是希恩残疾量表。

[0258] 在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解GAD和焦虑性障碍的至少一种合并症。GAD的合并症包括抑郁症；物质使用障碍；应激；IBS；失眠；头痛；疼痛；心脏事件；人际关系问题和ADHD。

[0259] 在一些实施方案中，当与另一种用于治疗焦虑性障碍的疗法组合使用时，本发明的组合物在预防、减轻或缓解焦虑性障碍方面特别有效。此类疗法包括选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(文拉法辛、度洛西汀、依他普仑和帕罗西汀)；苯二氮卓类药物(阿普唑仑、劳拉西泮和氯硝西泮)；普瑞巴林(Lyrica®)和加巴喷丁(Neurontin®)；5-羟色胺受体局部激动剂(丁螺环酮和坦度螺酮)；非典型的羟色胺能抗抑郁药(如丙咪嗪和氯米帕明)；单胺氧化酶抑制剂(MAOI)(如吗氯贝胺和苯乙肼)；羟嗪；普萘洛尔；可乐定；胍法辛和哌唑嗪。

[0260] -创伤后应激障碍(PTSD)

[0261] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防PTSD。在某些实施方案中，所述组合物用于在PTSD的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗被诊断患有PTSD的患者中的多动症。

[0262] PTSD是一种严重的且致残性障碍，其基本特征是包含创伤事件作为这种障碍的诱发因素。

[0263] PTSD的症状根据DMS-V标准分为四个主要类别：(i)侵入：实例包括噩梦、创伤事件的不想要的想法、幻觉重现以及对具有情绪困扰或生理反应的创伤提醒的反应；(ii)回避：实例包括避免引发创伤性记忆，包括地点、谈话或其他提醒；(iii)认知和情绪的负面改变：实例包括对创伤事件的自我或他人的歪曲指责、对自己或世界的负面信念、持续的负面情绪(例如恐惧、内疚、羞耻)、感觉疏远和情感受限(例如，无法体验积极情绪)；(iv)唤醒和反应性的改变：实例包括生气、鲁莽或自我破坏性行为、睡眠问题、注意力集中问题、惊吓应答增强和过度警觉。

[0264] 在创伤事件发生后4周内消退的症状符合急性应激障碍的标准。DSM区分急性(症状持续时间少于三个月)和慢性PTSD(症状持续时间超过3个月)。如果症状在应激源后超过6个月开始出现，则所述障碍被定义为迟发性PTSD。

[0265] PTSD与严重的抑郁症和物质使用障碍具有高合并症。

[0266] PTSD是可由于微生物群-肠道-脑轴功能障碍而发展或持续的精神障碍。因此，在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者中的PTSD。根据相似的发病机理，在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防应激障碍。在某些实施方案中，本发明的组合物治疗急性应激障碍。在一些实施方案中，本发明的组合物治疗急性和/或慢性

PTSD。在一些实施方案中，本发明的组合物治疗迟发性PTSD。

[0267] 在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中如通过本文列出的DMS-5标准分类的PTSD(或应激障碍)的一种或多种症状。在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解患有PTSD的受试者的侵入性思维。在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解患有PTSD的受试者的回避行为。在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解患有PTSD的受试者的认知和情绪的负面改变。在优选的实施方案中，本发明的组合物预防患有PTSD的受试者的唤醒和反应性的改变。

[0268] 在一些实施方案中，根据症状或诊断量表，本发明的组合物改善PTSD的症状和应激障碍。在某些实施方案中，用于评估症状改善的量表是临床管理的PTSD(CAPS)量表。

[0269] 在一些实施方案中，本发明的组合物改善用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中，本发明的组合物对患有PTSD和应激障碍的受试者的整体社会、职业和功能障碍显示出积极作用。在一些实施方案中，整体量表是希恩残疾量表。

[0270] 在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解PTSD和应激障碍的至少一种合并症。PTSD和应激障碍的合并症包括MDD、物质使用障碍；应激和焦虑。

[0271] 在一些实施方案中，当与另一种用于治疗PTSD和应激障碍的疗法组合使用时，本发明的组合物在预防、减轻或缓解PTSD和应激障碍方面特别有效。此类疗法包括5-羟色胺能药、三环抗抑郁药、情绪稳定剂、肾上腺素能抑制剂、抗精神病药、苯二氮卓类药物、舍曲林(Zoloft®)、氟西汀(Prozac®)和/或帕罗西汀(Paxil®)。

[0272] -双相障碍

[0273] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防双相障碍。在某些实施方案中，所述组合物用于在双相障碍的治疗中减轻多动症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗被诊断患有双相障碍的患者中的多动症。

[0274] 双相障碍通常是一种慢性疾病。躁狂症是双相障碍的主要症状。根据躁狂和抑郁发作的特定持续时间和方式，存在几种类型的双相障碍。在DMS-5中，区分第I型双相障碍、第II型双相障碍、循环情感性精神障碍、快速循环型双相障碍和双相障碍NOS。

[0275] 根据DSM，躁狂症是异常和持续升高的、膨胀的或烦躁情绪的明显时期。发作必须持续一周，并且情绪必须具有以下症状中的至少三种：自尊心强；睡眠需求减少；语速提高；想法快速跳跃；容易分心；对目标或活动的兴趣增加；精神运动性躁动；增加对具有高危险风险的活动的追求。

[0276] 第I型双相障碍涉及一种或多种躁狂或混合性(躁狂和抑郁)发作和至少一种严重的抑郁发作(有关MDD发作的症状，参见上文)。第II型双相障碍具有一种或多种严重抑郁发作，伴有至少一种轻躁狂发作。没有躁狂或混合发作。轻度躁狂是躁狂的轻度形式。所述症状是造成严重的社会、职业和功能障碍的原因。循环性精神病的特征是随着强度躁狂的发作而改变低水平的抑郁。症状必须在成人中存在至少两年，或在儿童中存在至少一年，然后才能进行诊断。成人和儿童的无症状期分别持续不超过两个月或一个月。快速循环型双相障碍是双相障碍的严重形式。它在一个人在一年内出现至少四次严重抑郁、躁狂、轻度躁狂或混合状态发作时发生。未另说明的(NOS)双相障碍被分类为将不适用于其他类型的双相障碍。当存在多种双相型症状但不足以满足任何其他亚型的标签时，将诊断为NOS。

[0277] 双相障碍与以下合并症有关:ADHD;焦虑性障碍;物质障碍;肥胖症和代谢综合征。

[0278] 双相障碍是可由于微生物群-肠道-脑轴功能障碍而发展或持续的精神障碍。因此,在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防受试者的双相障碍。在某些实施方案中,双相障碍是第I型双相障碍。在某些实施方案中,双相障碍是第II型双相障碍。在某些实施方案中,双相障碍是循环情感性精神障碍。在某些实施方案中,双相障碍是快速循环型双相障碍。在某些实施方案中,双相障碍是双相障碍NOS。

[0279] 在优选的实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中双相障碍的一种或多种症状。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中躁狂发作的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解异常且持续升高的、膨胀的或易怒的情绪的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解一种或多种以下症状:自尊心强;睡眠需求减少;语速提高;想法快速跳跃;容易分心;对目标或活动的兴趣增加;精神运动性躁动;增加对具有高危险风险的活动的追求。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中一种或多种躁狂或混合发作的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物减少受试者中至少一种严重抑郁发作的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解伴有至少一种轻度躁狂发作的至少一种严重抑郁发作的发生。

[0280] 在优选的实施方案中,本发明的组合物治疗双相障碍的急性期和/或预防进一步发作的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物治疗患有双相障碍的受试者的躁狂/抑郁发作的急性期,并且预防进一步躁狂/抑郁发作的发生。

[0281] 在一些实施方案中,根据症状或诊断量表,本发明的组合物改善双相障碍的症状。在某些实施方案中,用于评估躁狂发作的症状改善的量表是躁狂状态评定量表和杨氏躁狂量表。在某些实施方案中,量表是贝克-拉范森躁狂量表(Bech-Rafaelsen Mania Scale)(BRMAS)。在某些实施方案中,用于评估从躁狂发作向抑郁发作的症状改善的量表包括汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Depression Rating Scale)、蒙哥马利-阿斯伯格量表(Montgomery-Asberg Rating Scale)和贝克-拉范森抑郁量表(Bech-Rafaelsen Depression Scale)。

[0282] 在一些实施方案中,本发明的组合物改善用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中,本发明的组合物对患有双相障碍的受试者的整体社会、职业和功能障碍显示出积极作用。

[0283] 在优选的实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解双相障碍的至少一种合并症。在某些实施方案中,所述合并症选自ADHD、焦虑性障碍、物质障碍、肥胖症和代谢综合征。

[0284] 在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防对锂和双丙戊酸无应答的躁狂抑郁症和双相障碍。

[0285] 在一些实施方案中,当与另一种用于治疗双相障碍的疗法组合使用时,本发明的组合物在预防、减轻或缓解双相障碍方面特别有效。在某些实施方案中,此类疗法包括碳酸锂、抗惊厥药(包括丙戊酸盐、双丙戊酸、卡马西平和拉莫三嗪)和抗精神病药(包括阿立哌唑、奥氮平、喹硫平和利培酮)。

[0286] 癌症

[0287] HDAC功能和表达在多种癌症中受到干扰，并且常常导致不良预后。癌症中的HDAC功能与促进细胞增殖和致瘤表型的基因的异常表达或功能相关。在某些癌症中，HDAC主要调控癌症的发作，并且被描述为致癌基因。在其他癌症中，肿瘤融合蛋白募集I类HDAC，以阻抑调控细胞分化或细胞周期控制、从而导致细胞转化的基因的表达。HDAC表达的敲低或抑制已显示具有多种抗癌作用，如细胞周期停滞和抑制增殖、凋亡、分化和衰老以及破坏血管生成。因此，通过抑制HDAC活性，本发明的组合物可用于治疗由HDAC活性介导的癌症。

[0288] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防癌症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防由HDAC活性介导的癌症。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防结肠直肠癌。

[0289] 在某些实施方案中，用本发明的组合物进行治疗使得肿瘤大小减小或肿瘤生长减少。在某些实施方案中，本发明的组合物用于减小肿瘤大小或减少肿瘤生长。本发明的组合物可有效减小肿瘤大小或生长。在某些实施方案中，本发明的组合物用于患有实体瘤的患者。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在癌症的治疗中减少或预防血管生成。由HDAC调控的基因在血管生成中具有重要作用。在某些实施方案中，本发明的组合物用于预防转移。

[0290] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防胃癌。HDAC2已显示在胃癌的发展和结肠直肠肿瘤发生中发挥功能性作用[31,32]。在结肠直肠癌的小鼠模型中，HDAC2的抑制使得肿瘤发生率降低。在某些实施方案中，选择性地抑制HDAC2的本发明的组合物用于治疗或预防结肠直肠癌，特别是由HDAC2活性介导的结肠直肠癌。

[0291] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防乳腺癌。本发明的组合物可有效治疗乳腺癌，并且已经显示HDAC在乳腺癌中上调[33]。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在乳腺癌的治疗中减小肿瘤大小、减少肿瘤生长或减少血管生成。

[0292] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防前列腺癌。本发明的组合物可有效治疗前列腺癌，因为HDAC活性在前列腺癌的发展中起主要作用[34]。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在前列腺癌的治疗中减小肿瘤大小、减少肿瘤生长或减少血管生成。在某些实施方案中，癌症是激素难治性前列腺癌。

[0293] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防肺癌。本发明的组合物可有效治疗肺癌，并且已经显示HDAC在肺癌中上调[35]。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在肺癌的治疗中减小肿瘤大小、减少肿瘤生长或减少血管生成。在优选的实施方案中，癌症是肺癌。在优选的实施方案中，所述组合物用于治疗具有高水平HDAC2表达的肺癌。已显示某些肺癌组织大量表达HDAC2。HDAC2的失活阻抑肺癌细胞生长。高水平的HDAC2活性已显示阻抑p53活性[36]。活性p53阻止细胞分裂，并且最终导致细胞凋亡。在某些实施方案中，抑制HDAC2的本发明组合物用于治疗具有高水平HDAC2活性的肺癌。

[0294] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防肝癌。本发明的组合物可有效治疗肝癌，并且已经显示HDAC在肝癌中上调[37]。在某些实施方案中，本发明的组合物用于在肝癌的治疗中减小肿瘤大小、减少肿瘤生长或减少血管生成。在优选的实施方案中，癌症是肝癌(肝细胞癌)。在某些实施方案中，癌症是低度或早期肿瘤

[0295] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防癌。本发明的组合物对于治疗癌可能特别有效。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防非免疫原性癌症。

本发明的组合物可有效治疗非免疫原性癌症。

[0296] 在其他实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病、肾上腺皮质癌、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨肿瘤、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、脑干神经胶质瘤、脑肿瘤、小脑星形细胞瘤、脑星形细胞瘤/恶性神经胶质瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤、乳腺癌、支气管腺瘤/类癌、伯基特氏淋巴瘤、类癌瘤、宫颈癌、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓性增生病症、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、尤因氏肉瘤、眼内黑素瘤、成视网膜细胞瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠类癌瘤、胃肠间质瘤(GIST)、生殖细胞瘤、神经胶质瘤、儿童期视觉通路和下丘脑、霍奇金淋巴瘤、肉瘤、黑素瘤、胰岛细胞癌、卡波济氏肉瘤、肾细胞癌、喉癌、白血病、淋巴瘤、间皮瘤、成神经细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、咽癌、垂体腺癌、浆细胞瘤、前列腺癌、肾细胞癌、成视网膜细胞瘤、肉瘤、睾丸癌、甲状腺癌或子宫癌。

[0297] 当与其他治疗剂组合使用时，本发明的组合物可能特别有效。当与更直接的抗癌剂组合时，本发明的组合物的HDAC抑制作用可能是有效的。因此，在某些实施方案中，本发明提供了包含Bariatricus属的细菌菌株和抗癌剂的组合物。在优选的实施方案中，抗癌剂是免疫检查点抑制剂、靶向抗体免疫疗法、CAR-T细胞疗法、溶瘤病毒或细胞抑制药物。在优选的实施方案中，所述组合物包含选自由以下组成的组的抗癌剂:Yervoy(伊匹单抗,BMS);Keytruda(帕博利珠单抗,Merck);Opdivo(纳武利尤单抗,BMS);MEDI4736(AZ/MedImmune);MPDL3280A(Roche/Genentech);曲美木单抗(AZ/MedImmune);CT-011(匹地利珠单抗,CureTech);BMS-986015(立鲁单抗,BMS);MEDI0680(AZ/MedImmune);MSB-0010718C(Merck);PF-05082566(Pfizer);MEDI6469(AZ/MedImmune);BMS-986016(BMS);BMS-663513(乌瑞鲁单抗,BMS);IMP321(Prima Biomed);LAG525(Novartis);ARGX-110(arGEN-X);PF-05082466(Pfizer);CDX-1127(伐立鲁单抗;CellDex Therapeutics);TRX-518(GITR Inc.);MK-4166(Merck);JTX-2011(Jounce Therapeutics);ARGX-115(arGEN-X);NLG-9189(indoximod,NewLink Genetics);INCB024360(Incyte);IPH2201(Innate Immotherapeutics/AZ);NLG-919(NewLink Genetics);抗VISTA(JnJ);Epacadostat(INCB24360,Incyte);F001287(Flexus/BMS);CP 870893(University of Pennsylvania);MGA271(Macrogenix);依马珠单抗(Roche/Genentech);盖伦塞替(Eli Lilly);乌洛鲁单抗(BMS);BKT140/BL8040(Biokine Therapeutics);维昔单抗(Peregrine Pharmaceuticals);CC 90002(Celgene);852A(Pfizer);VTX-2337(VentiRx Pharmaceuticals);IMO-2055(Hybridon,Idera Pharmaceuticals);LY2157299(Eli Lilly);EW-7197(Ewha Women's University,Korea);威罗菲尼(Plexxikon)、达拉菲尼(Genentech/GSK);BMS-777607(BMS);BLZ945(Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre);Unituxin(达妥昔单抗,United Therapeutics Corporation);Blincyto(博纳吐单抗,Amgen);Cyramza(雷莫芦单抗,Eli Lilly);Gazyva(奥比妥珠单抗,Roche/Biogen);Kadcyla(阿多-曲妥珠单抗恩他新,Roche/Genentech);Perjeta(帕妥珠单抗,Roche/Genentech);Adcetris(本妥西单抗维多汀,Takeda/Millennium);Arzerra(奥法木单抗,GSK);Vectibix(帕尼单抗,Amgen);Avastin(贝伐单抗,Roche/Genentech);Erbitux(西妥昔单抗,BMS/Merck);Bexxar(托西莫单抗-I131,GSK);Zevalin(替伊莫单抗,Biogen);

Campath(阿仑单抗,Bayer);Mylotarg(吉妥珠单抗奥佐米星,Pfizer);Herceptin(曲妥珠单抗,Roche/Genentech);Rituxan(利妥昔单抗,Genentech/Biogen);伏洛昔单抗(Abbvie);埃文单抗(Abbvie);ABT-414(Abbvie);依洛珠单抗(Abbvie/BMS);ALX-0141(Ablynx);Ozaralizumab(Ablynx);Actimab-C(Actinium);Actimab-P(Actinium);米拉珠单抗-dox(Actinium);Emab-SN-38(Actinium);伊那图莫单抗(Active Biotech);AFM13(Affimed);AFM11(Affimed);AGS-16C3F(Agensys);AGS-16M8F(Agensys);AGS-22ME(Agensys);AGS-15ME(Agensys);GS-67E(Agensys);ALXN6000(萨玛利珠单抗,Alexion);ALT-836(Altor Bioscience);ALT-801(Altor Bioscience);ALT-803(Altor Bioscience);AMG780(Amgen);AMG 228(Amgen);AMG820(Amgen);AMG172(Amgen);AMG595(Amgen);AMG110(Amgen);AMG232(阿德木单抗,Amgen);AMG211(Amgen/MedImmune);BAY20-10112(Amgen/Bayer);利妥木单抗(Amgen);地诺单抗(Amgen);AMP-514(Amgen);MEDI575(AZ/MedImmune);MEDI3617(AZ/MedImmune);MEDI6383(AZ/MedImmune);MEDI551(AZ/MedImmune);帕西妥莫单抗(AZ/MedImmune);MEDI565(AZ/MedImmune);MEDI0639(AZ/MedImmune);MEDI0680(AZ/MedImmune);MEDI562(AZ/MedImmune);AV-380(AVEO);AV203(AVEO);AV299(AVEO);BAY79-4620(Bayer);Anetumab拉夫坦辛(Bayer);万替妥单抗(Bayer);BAY94-9343(Bayer);西罗珠单抗(Boehringer Ingleheim);BI-836845(Boehringer Ingleheim);B-701(BioClin);BIIB015(Biogen);奥比妥珠单抗(Biogen/Genentech);BI-505(Bioinvent);BI-1206(Bioinvent);TB-403(Bioinvent);BT-062(Biotest)BIL-010t(Biosceptre);MDX-1203(BMS);MDX-1204(BMS);奈昔木单抗(BMS);CAN-4(Cantargia AB);CDX-011(Celldex);CDX1401(Celldex);CDX301(Celldex);U3-1565(Daiichi Sankyo);帕曲妥单抗(Daiichi Sankyo);替加珠单抗(Daiichi Sankyo);尼妥珠单抗(Daiichi Sankyo);DS-8895(Daiichi Sankyo);DS-8873(Daiichi Sankyo);DS-5573(Daiichi Sankyo);MORab-004(Eisai);MORab-009(Eisai);MORab-003(Eisai);MORab-066(Eisai);LY3012207(Eli Lilly);LY2875358(Eli Lilly);LY2812176(Eli Lilly);LY3012217(Eli Lilly);LY2495655(Eli Lilly);LY3012212(Eli Lilly);LY3012211(Eli Lilly);LY3009806(Eli Lilly);西妥木单抗(Eli Lilly);弗兰托单抗(Eli Lilly);IMC-TR1(Eli Lilly);雷莫芦单抗(Eli Lilly);他巴鲁单抗(Eli Lilly);扎木单抗(Emergent Biosolution);FG-3019(FibroGen);FPA008(Five Prime Therapeutics);FP-1039(Five Prime Therapeutics);FPA144(Five Prime Therapeutics);卡妥索单抗(Fresenius Biotech);IMAB362(Ganymed);IMAB027(Ganymed);HuMax-CD74(Genmab);HuMax-TFADC(Genmab);GS-5745(Gilead);GS-6624(Gilead);OMP-21M18(登西珠单抗,GSK);马帕木单抗(GSK);IMGN289(ImmunoGen);IMGN901(ImmunoGen);IMGN853(ImmunoGen);IMGN529(ImmunoGen);IMMU-130(Immunomedics);米拉珠单抗-dox(Immunomedics);IMMU-115(Immunomedics);IMMU-132(Immunomedics);IMMU-106(Immunomedics);IMMU-102(Immunomedics);依帕珠单抗(Immunomedics);克立瓦妥珠单抗(Immunomedics);IPH41(Innate Immunotherapeutics);达雷木单抗(Janssen/Genmab);CNTO-95(英妥木单抗,Janssen);CNTO-328(司妥昔单抗,Janssen);KB004(KaloBios);莫格穆里单抗(Kyowa Hakko Kirrin);KW-2871(依美昔单抗,Life Science);索尼普西珠单抗(Lpath);马吉妥昔单抗(Macrogenics);恩利珠单抗(Macrogenics);MGD006(Macrogenics);MGF007

(Macrogenics)；MK-0646(达洛妥珠单抗,Merck)；MK-3475(Merck)；Sym004(Symphogen/Merck Serono)；DI17E6(Merck Serono)；MOR208(Morphosys)；MOR202(Morphosys)；Xmab5574(Morphosys)；BPC-1C(恩司昔单抗,Precision Biologics)；TAS266(Novartis)；LFA102(Novartis)；BHQ880(Novartis/Morphosys)；QGE031(Novartis)；HCD122(鲁卡木单抗,Novartis)；LJM716(Novartis)；AT355(Novartis)；OMP-21M18(登西珠单抗,OncoMed)；OMP52M51(Oncomed/GSK)；OMP-59R5(Oncomed/GSK)；万替妥单抗(Oncomed/Bayer)；CMC-544(依托珠单抗奥佐米星,Pfizer)；PF-03446962(Pfizer)；PF-04856884(Pfizer)；PSMA-ADC(Progenics)；REGN1400(Regeneron)；REGN910(奈西维单抗,Regeneron/Sanofi)；REGN421(恩替库单抗,Regeneron/Sanofi)；RG7221、RG7356、RG7155、RG7444、RG7116、RG7458、RG7598、RG7599、RG7600、RG7636、RG7450、RG7593、RG7596、DCDS3410A、RG7414(帕萨妥珠单抗)、RG7160(英加妥珠单抗)、RG7159(奥比妥珠单抗)、RG7686、RG3638(奥纳妥珠单抗)、RG7597(Roche/Genentech)；SAR307746(Sanofi)；SAR566658(Sanofi)；SAR650984(Sanofi)；SAR153192(Sanofi)；SAR3419(Sanofi)；SAR256212(Sanofi)、SGN-LIV1A(林妥珠单抗,Seattle Genetics)；SGN-CD33A(Seattle Genetics)；SGN-75(沃瑟妥珠单抗马佛多汀,Seattle Genetics)；SGN-19A(Seattle Genetics)SGN-CD70A(Seattle Genetics)；SEA-CD40(Seattle Genetics)；替伊莫单抗(Spectrum)；MLN0264(Takeda)；甘尼妥单抗(Takeda/Amgen)；CEP-37250(Teva)；TB-403(Thrombogenic)；VB4-845(Viventia)；Xmab2512(Xencor)；Xmab5574(Xencor)；尼妥珠单抗(YM Biosciences)；卡鲁单抗(Janssen)；NY-ESO TCR(Adaptimmune)；MAGE-A-10TCR(Adaptimmune)；CTL019(Novartis)；JCAR015(Juno Therapeutics)；KTE-C19 CAR(Kite Pharma)；UCART19(Cellectis)；BPX-401(Bellicum Pharmaceuticals)；BPX-601(Bellicum Pharmaceuticals)；ATTCK20(Unum Therapeutics)；CAR-NKG2D(Celyad)；Onyx-015(Onyx Pharmaceuticals)；H101(Shanghai Sunwaybio)；DNX-2401(DNAtrix)；VCN-01(VCN Biosciences)；Colo-Ad1(PsiOxus Therapeutics)；ProstAtak(Advantagene)；Oncos-102(Oncos Therapeutics)；CG0070(Cold Genesys)；Pexa-vac(JX-594,Jennerex Biotherapeutics)；GL-ONC1(Genelux)；T-VEC(Amgen)；G207(Medigene)；HF10(Takara Bio)；SEPREHVIR(HSV1716,Virttu Biologics)；OrienX010(OrienGene Biotechnology)；Reolysin(Oncolytics Biotech)；SVV-001(Neotropix)；Cacatak(CVA21,Viralytics)；Alimta(Eli Lilly)、顺铂、奥沙利铂、伊立替康、叶酸、甲氨蝶呤、环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、Zykadia(Novartis)、Tafinlar(GSK)、Xalkori(Pfizer)、Iressa(AZ)、Gilotrif(Boehringer Ingelheim)、Tarceva(Astellas Pharma)、Halaven(Eisai Pharma)、维利帕尼(Abbvie)、AZD9291(AZ)、艾乐替尼(Chugai)、LDK378(Novartis)、Genetespib(Synta Pharma)、Tergenpumatucel-L(NewLink Genetics)、GV1001(Kael-GemVax)、替万替尼(ArQule)；Cytoxan(BMS)；Oncovin(Eli Lilly)；亚德里亚霉素(Pfizer)；Gemzar(Eli Lilly)；Xeloda(Roche)；Ixempra(BMS)；Abraxane(Celgene)；Trelstar(Debiopharm)；Taxotere(Sanofi)；Nexavar(Bayer)；IMMU-132(Immunomedics)；E7449(Eisai)；Thermodox(Celsion)；Cometriq(Exellxis)；Lonsurf(Taiho Pharmaceuticals)；Camptosar(Pfizer)；UFT(Taiho Pharmaceuticals)；以及TS-1(Taiho Pharmaceuticals)。

[0298] 神经退行性疾病

[0299] -阿尔茨海默氏病和痴呆

[0300] 过度磷酸化tau蛋白的异常累积是神经退行性tau蛋白病如阿尔茨海默氏病的标志。HDAC活性的降低可降低过度磷酸化tau的水平并缓解tau驱动的神经系统病症的症状[38]。因此,在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防神经退行性tau蛋白病。在某些实施方案中,本发明的组合物用于治疗阿尔茨海默氏病。

[0301] 在DSM-5中,术语痴呆被术语严重神经认知障碍和轻度神经认知障碍所取代。神经认知障碍是一类异质精神疾病。最常见的神经认知障碍是阿尔茨海默氏病,其次是血管性痴呆或两者的混合形式。其他形式的神经退行性病症(例如路易体病、额颞叶痴呆、帕金森病痴呆、克-雅病(Creutzfeldt-Jakob disease)、亨廷顿氏病和韦尼克-科尔萨科夫综合征(Wernicke-Korsakoff syndrome))都伴有痴呆。

[0302] 阿尔茨海默氏病和痴呆也以神经元丧失为特征,因此本发明组合物的实施例中所示的神经保护作用和神经增生作用表明它们可用于治疗或预防这些病况。

[0303] DSM-5下痴呆的症状标准是从一个或多个选自以下的认知领域中的以前表现水平显著认知衰退的证据:学习和记忆;语言;执行功能;复杂注意力;感知动作和社会认知。认知缺陷必须干扰日常活动的独立性。此外,认知缺陷并非仅在谵妄的情况下发生,并且也不由另一种精神障碍(例如MDD或精神分裂症)更好地解释。

[0304] 除主要症状外,患有神经退行性病症的受试者还表现出行为和精神症状,包括躁动、攻击性、抑郁、焦虑、情感淡漠、精神病和睡眠-觉醒周期障碍。

[0305] 神经退行性病症可能由于微生物菌群-肠道-脑轴的功能障碍而发展或持续。因此,在优选的实施方案中,本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经退行性病症。在优选的实施方案中,神经退行性病症是阿尔茨海默氏病。在其他实施方案中,神经退行性病症选自血管性痴呆;阿尔茨海默氏病和血管性痴呆的混合形式;路易体病;额颞叶痴呆;帕金森病痴呆症;克-雅病;和韦尼克-科尔萨科夫综合征。

[0306] 在优选的实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者的神经退行性疾病的一种或多种症状。在某些实施方案中,本发明的组合物预防、减少或缓解受试者中认知衰退的发生。在某些实施方案中,本发明的组合物改善患有神经退行性病症的受试者在一个或多个选自以下的认知领域中的表现水平:学习和记忆;语言;执行功能;复杂注意力;感知动作和社会认知。在一些实施方案中,本发明的组合物预防、减轻或缓解与选自以下的神经退行性病症相关的一种或多种行为和精神病症状的发生:躁动、攻击性、抑郁、焦虑、情感淡漠、精神病和睡眠-觉醒周期障碍。

[0307] 在某些实施方案中,本发明的组合物通过在临床前阶段干预疑似致病机制来预防、减轻或缓解症状性疾病。在某些实施方案中,本发明的组合物通过减缓或阻止症状进展来改善疾病改进。在一些实施方案中,症状进展的减缓或停止与延迟潜在神经病理学过程的证据相关。在优选的实施方案中,本发明的组合物改善神经退行性病症的症状,包括增强的认知能力和功能改善。在优选的实施方案中,本发明的组合物改善痴呆的行为和精神症状(BPSD)。在优选的实施方案中,本发明的组合物改善患有神经退行性病症的受试者进行日常活动的能力。

[0308] 在优选的实施方案中,本发明的组合物改善患有阿尔茨海默氏病的受试者的认知和功能。在一些实施方案中,本发明的组合物改善患有阿尔茨海默氏病的受试者的认知终

点。在一些实施方案中，本发明的组合物改善患有阿尔茨海默氏病的受试者的功能终点。在优选的实施方案中，本发明的组合物改善患有阿尔茨海默氏病的受试者的认知和功能终点。在其他优选的实施方案中，本发明的组合物改善患有阿尔茨海默氏病的受试者的总体临床应答(整体终点)。

[0309] 在一些实施方案中，根据症状或诊断测试，本发明的组合物改善神经退行性病症的症状。在某些实施方案中，用于评估阿尔茨海默氏病(和其他神经退行性病症)的症状改善的测试选自客观认知、日常生活活动、整体变化评估、健康相关的生活质量测试以及评估神经退行性病症的行为和精神症状的测试。

[0310] 在某些实施方案中，用于评估症状改善的客观认知测试使用阿尔茨海默氏病评估量表认知子量表(ADAS-cog)和经典ADAS量表。在某些实施方案中，使用用于阿尔茨海默氏病的神经生理学测试组合(NTB)评估认知的症状改善。

[0311] 在一些实施方案中，变化的整体评估测试使用用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中，整体量表是基于临床医师的回访加变化印象(CIBIC-plus)。在一些实施方案中，整体量表是阿尔茨海默氏病合作研究单位临床医生的整体变化印象(ADCS-CGIC)。

[0312] 在某些实施方案中，健康有关的生活质量度量是阿尔茨海默氏病相关的QOL(ADRQL)和QOL-阿尔茨海默氏病(QOL-AD)。

[0313] 在某些实施方案中，评估神经退行性病症的行为和精神症状的测试选自阿尔茨海默氏病行为病理学评定量表(BEHAVE-AD)；痴呆行为评定量表(BRSD)；神经精神量表(NPI)；以及Cohen-Mansfield激越行为量表(CMAI)。

[0314] 在一些实施方案中，当与另一种用于治疗神经退行性病症的疗法组合使用时，本发明的组合物在预防、减轻或缓解神经退行性病症方面特别有效。在某些实施方案中，此类疗法包括乙酰胆碱酯酶抑制剂，包括多奈哌齐(Aricept®)、加兰他敏(Razadyne®)和利斯的明(Exelon ®)以及美金刚。

[0315] -帕金森氏病

[0316] 帕金森氏病是神经病理学上常见的神经退行性疾病，其特征是神经细胞(产生多巴胺的细胞)异质群体的变性。帕金森氏病的临床诊断需要运动迟缓和至少一种以下核心症状：静止性震颤；肌肉强直和姿势反射障碍。在疾病进展过程中可能出现或发展的其他体征和症状是自主神经功能紊乱(流涎、皮脂溢、便秘、排尿障碍、性功能、直立性低血压、多汗症)、睡眠障碍以及就嗅觉或温度感觉而言的障碍。帕金森氏病是可能由于HDAC活性而发展或持续的神经退行性疾病。例如，已证明HDAC活性可调控聚集和沉积毒性细胞内蛋白丝，所述蛋白丝是神经退行性疾病(如帕金森氏病)的标志[39]。在帕金森氏病模型中，抑制HDAC活性已显示可减少毒性蛋白错误折叠事件。因此，在优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的帕金森氏病。

[0317] 在其他优选的实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防帕金森氏病的方法中。本发明的组合物可改善帕金森氏病模型中的运动和认知功能。用所述组合物进行治疗可调节中枢、自主神经和肠神经系统中的信号传导；可调节HPA轴途径的活性；可调节神经内分泌和/或神经免疫途径；并且可调节受试者的共生代谢物、炎症标志物和/或胃肠道渗

透性的水平，所有这些都牵涉于帕金森氏病的神经病理学中。在优选的实施方案中，本发明提供了包含物种Bariatricus massiliensis的细菌菌株的组合物，所述组合物用于治疗或预防帕金森氏病的方法中。使用Bariatricus组合物对于治疗帕金森氏病可能特别有效。所述组合物还可包含有机酸。

[0318] 在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中帕金森氏病的一种或多种症状。在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者中帕金森氏病的一种或多种核心症状。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者的运动迟缓。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受试者的静止性震颤；肌肉强直和/或姿势反射障碍。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解与帕金森氏病进展相关的一种或多种症状，所述一种或多种症状选自自主神经功能紊乱(流涎、皮脂溢、便秘、排尿障碍、性功能、直立性低血压、多汗症)、睡眠障碍以及就嗅觉或温度感觉而言的障碍。

[0319] 在优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解与帕金森氏病并存的抑郁症状。在某些实施方案中，本发明的组合物改善言语记忆和/或执行功能。在某些实施方案中，本发明的组合物改善注意力、工作记忆、言语流畅性和/或焦虑。

[0320] 在其他优选的实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解与帕金森氏病并存的认知功能障碍。

[0321] 在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解与帕金森氏病并存的多动症或焦虑样行为。帕金森氏病的小鼠模型已显示表现出多动症。某些模型已经表明，多动症可能是大脑中神经递质水平失衡或在多巴胺能神经元退化之前大脑其他结构内的功能改变的结果。因此，诸如多动症的行为障碍可能是运动障碍发作之前的帕金森氏病的症状。本发明的组合物已经显示在帕金森氏病的小鼠模型中减轻多动症。因此，在某些实施方案中，本发明的组合物可用于预防帕金森氏病中的运动障碍。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防与帕金森氏病相关的行为障碍。

[0322] 在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解帕金森氏病进展。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解之后的运动并发症。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解后期运动波动。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解神经元损失。在某些实施方案中，本发明的组合物改善帕金森氏病痴呆(PDD)的症状。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解执行功能、注意力和/或工作记忆的损害。在某些实施方案中，本发明的组合物改善多巴胺能神经传递。在某些实施方案中，本发明的组合物预防、减轻或缓解受损的多巴胺能神经传递。

[0323] 在一些实施方案中，根据症状或诊断量表，本发明的组合物改善帕金森氏病的症状。在某些实施方案中，用于评估帕金森氏病的运动功能的症状改善的测试是统一帕金森氏病评定量表。特别地，UPDRS II考虑日常生活活动，而UPDRS III考虑运动检查。

[0324] 在一些实施方案中，根据症状或诊断测试和/或量表，本发明的组合物改善与PDD相关的症状。在某些实施方案中，所述测试或量表选自霍普金斯语言学习测试-修订版(HVLT-R)；Delis-Kaplan执行功能系统(D-KEFS)颜色词干扰测试；汉密尔顿抑郁量表(HAM-D 17；抑郁)；汉密尔顿焦虑量表(HAM-A；焦虑)和统一帕金森氏病评定量表(UPDRS；PD症状严重程度)。

[0325] 在一些实施方案中，本发明的组合物改善用于评估精神障碍和神经障碍的临床整体印象-整体改善(CGI-I)量表。在一些实施方案中，本发明的组合物对患有帕金森氏病的受试者的整体社会和职业障碍表现出积极作用。

[0326] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及减少或预防黑质中多巴胺能细胞的损失。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及减少或预防黑质致密部中多巴胺能神经元的变性。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及减少或预防黑质致密部中多巴胺能神经元的变性以及由此导致的纹状体中其突出神经纤维的损失。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及减少或预防黑质纹状体多巴胺能细胞的损失。

[0327] 在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及提高多巴胺水平。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及提高DOPAC水平。在某些实施方案中，本发明的组合物用于治疗或预防受试者的神经系统病症如帕金森氏病，其中所述用途涉及提高多巴胺和DOPAC水平。在某些实施方案中，多巴胺和/或DOPAC水平在纹状体中提高。

[0328] 实施例证明，本发明的组合物激活MAP2(微管相关蛋白2)激活。MAP2是与MAP2的神经元分化相关的基因，并切被认为对于神经突生成中的微管形成是必不可少的，因此本发明的组合物可特别用于治疗神经退行性疾病。在一些实施方案中，本发明的组合物用于通过激活MAP2或增加MAP2的水平来治疗神经退行性疾病，如阿尔茨海默氏病或帕金森氏病。此外，由于MAP2促进神经突生长(神经突生长在受损神经元的重组和突触形成中起主要作用)，因此MAP2表达可不仅是神经元分化的标志物，而且指示与神经病理疾病的治疗结果相关的“神经元重新布线”[22]。

[0329] 实施例表明，本发明的组合物调节脑中许多蛋白质的表达。特别地，本发明的组合物增加海马和前额皮层中BDNF的表达。BDNF对于成人突触可塑性和记忆形成至关重要，并且在阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病患者中观察到BDNF的水平降低。因此，本发明的组合物特别用于治疗阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病。在某些实施方案中，本发明的组合物增加脑中BDNF的表达。

[0330] 施用模式

[0331] 优选地，将本发明的组合物施用至胃肠道，以便实现本发明的细菌菌株递送至肠和/或部分或全部定殖于肠。通常，本发明的组合物经口服施用，但是它们可经直肠、鼻内或经颊或舌下途径施用。

[0332] 在某些实施方案中，本发明的组合物可以泡沫、喷雾剂或凝胶的形式施用。

[0333] 在某些实施方案中，本发明的组合物可以栓剂(如直肠栓剂)的形式施用，例如以可可油(可可脂)、合成硬脂(例如suppocire、witepsol)、甘油-明胶、聚乙二醇或皂甘油组合物的形式施用。

[0334] 在某些实施方案中，本发明的组合物经由诸如鼻胃管、口胃管、胃管、空肠造口管(J管)、经皮内窥镜胃造口术(PEG)的管或端口(如可通向胃、空肠和其他合适的通路端口的

胸壁端口)施用至胃肠道。

[0335] 本发明的组合物可一次施用,或者可作为治疗方案的一部分顺序地施用。在某些实施方案中,本发明的组合物每天一次施用。

[0336] 在本发明的某些实施方案中,根据本发明的治疗伴随着对患者肠道微生物群的评估。如果未能实现本发明菌株的递送和/或部分或全部定殖,从而未观察到功效,则可重复治疗,或者如果递送和/或部分或全部定殖成功并且观察到功效,则可停止治疗。

[0337] 在某些实施方案中,可将本发明的组合物施用至妊娠动物,例如哺乳动物(如人),以预防其子宫内的孩子和/或出生后发展炎症性或自身免疫性疾病。

[0338] 可将本发明的组合物施用至已被诊断患有由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况的患者,或已鉴定为有患由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况的风险的患者。所述组合物还可作为预防性措施来施用,以预防健康患者中由组蛋白脱乙酰酶活性介导的疾病或病况的发展。

[0339] 可将本发明的组合物施用至已被鉴定为具有异常肠道微生物群的患者。例如,患者可能具有减少的Bariatricus,特别是Bariatricus massiliensis定殖或没有定殖。

[0340] 本发明的组合物可作为实物产品(如营养补充剂)施用。

[0341] 一般而言,本发明的组合物用于治疗人类,但是它们可用于治疗动物,包括单胃哺乳动物,如家禽、猪、猫、犬、马或兔。本发明的组合物可用于增强动物的生长和表现。如果施用至动物,则可使用管饲法。

[0342] 组合物

[0343] 通常,本发明的组合物包含细菌。在本发明的优选实施方案中,将组合物配制成冻干形式。例如,本发明的组合物可包含颗粒或明胶胶囊,例如硬明胶胶囊,其包含本发明的细菌菌株。

[0344] 优选地,本发明的组合物包含冻干的细菌。细菌的冻干是充分确立的程序,并且相关的指导可在例如参考文献[40,,42]中获得。

[0345] 或者,本发明的组合物可包含存活的、有活性的细菌培养物。

[0346] 在优选的实施方案中,将本发明的组合物包封以使细菌菌株能够递送至肠。包封保护组合物免于降解直至例如通过化学或物理刺激(如压力、酶活性或物理崩解)破裂而递送在目标位置,这可由pH值的变化而触发。可使用任何适当的包封方法。示例性包封技术包括包埋在多孔基质中、附着或吸附在固体载体表面上、通过絮凝或与交联剂的自聚集以及在微孔膜或微胶囊后的机械容纳。关于可用于制备本发明的组合物的包封的指导可在例如参考文献[43]和[44]中获得。

[0347] 所述组合物可口服施用,并且可呈片剂、胶囊剂或粉末的形式。包封产品是优选的,因为Bariatricus是厌氧菌。可包括其他成分(如,例如维生素C)作为氧清除剂和益生元底物,以改善体内递送和/或部分或全部定殖和存活。或者,本发明的益生菌组合物可作为食物或营养产品(如基于乳或乳清的发酵乳制品)或作为药品口服施用。

[0348] 所述组合物可配制为益生菌。

[0349] 本发明的组合物包含治疗有效量的本发明的细菌菌株。治疗有效量的细菌菌株足以对患者发挥有益作用。治疗有效量的细菌菌株可足以使得递送至患者的肠和/或部分或全部定殖于患者的肠。

[0350] 例如，对于成年人，细菌的合适每日剂量可以是约$1x10^3$至约$1x10^{11}$个菌落形成单位(CFU)；例如约$1x10^7$至约$1x10^{10}$个CFU；在另一个实例中约$1x10^6$至约$1x10^{10}$个CFU；在另一个实例中$1x10^7$至约$1x10^{11}$个CFU；在另一个实施例中$1x10^8$至约$1x10^{10}$个CFU；在另一个实例中约$1x10^8$至约$1x10^{11}$个CFU。

[0351] 在某些实施方案中，细菌的剂量是每天至少10^9个细胞，如每天至少10^{10}个、至少10^{11}个或至少10^{12}个细胞。

[0352] 在某些实施方案中，相对于组合物的重量，所述组合物含有约$1x10^6$至约$1x10^{11}$个CFU/g的量的细菌菌株；例如，约$1x10^8$至约$1x10^{10}$个CFU/g。剂量可以是例如1g、3g、5g和10g。

[0353] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，其中相对于组合物的重量，细菌菌株的量是每克约1×10^3至约1×10^{11}个菌落形成单位。

[0354] 在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中所述组合物以介于500mg与1000mg之间、600mg与900mg之间、700mg与800mg之间、500mg与750mg之间或750mg与1000mg之间的剂量施用。在某些实施方案中，本发明提供上述药物组合物，其中所述药物组合物中的冻干细菌以介于500mg与1000mg之间、600mg与900mg之间、700mg与800mg之间、500mg与750mg之间或750mg与1000mg之间的剂量施用。

[0355] 通常，益生菌(如本发明的组合物)任选地与至少一种合适的益生元化合物组合。益生元化合物通常是在上消化道中不会降解或吸收的不可消化的碳水化合物，如寡糖或多糖或糖醇。已知的益生元包括商业产品，如菊粉和反式半乳寡糖。

[0356] 在某些实施方案中，本发明的益生菌组合物包含相对于组合物的总重量约1重量％至约30重量％(例如5重量％至20重量％)的量的益生元化合物。碳水化合物可选自由以下组成的组：低聚果糖(或FOS)、短链低聚果糖、菊粉、低聚异麦芽酮糖醇、果胶、低聚木糖(或XOS)、低聚壳聚糖(或COS)、β-葡聚糖、阿拉伯胶改性和抗性淀粉、聚右旋糖、D-塔格糖、阿拉伯树胶纤维、角豆树、燕麦和柑橘纤维。在一方面，益生元是短链低聚果糖(为简单起见，在下文中显示为FOSs-c.c)；所述FOSs-c.c不是可消化的碳水化合物，通常是通过甜菜糖的转化而获得，并且包括与三个葡萄糖分子键合的蔗糖分子。

[0357] 本发明的组合物可包含药学上可接受的赋形剂或载体。此类合适的赋形剂的实例可在参考文献[45]中找到。用于治疗用途的可接受的载体或稀释剂在制药领域是众所周知的，并且例如在参考文献[46]中进行了描述。合适的载体的实例包括乳糖、淀粉、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露醇、山梨醇等。合适的稀释剂的实例包括乙醇、甘油和水。药物载体、赋形剂或稀释剂的选择可关于预期的施用途径和标准药学实践来选择。所述药物组合物可包含以下作为载体、赋形剂或稀释剂或除载体、赋形剂或稀释剂之外还可包含任何合适的粘合剂、润滑剂、助悬剂、包衣剂、增溶剂。合适的粘合剂的实例包括淀粉、明胶、天然糖如葡萄糖、无水乳糖、自由流动乳糖、β-乳糖、玉米甜味剂、天然和合成树胶如阿拉伯胶、黄蓍胶或藻酸钠、羧甲基纤维素和聚乙二醇。合适的润滑剂的实例包括油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。可在药物组合物中提供防腐剂、稳定剂、染料以及甚至调味剂。防腐剂的实例包括苯甲酸钠、山梨酸以及对羟基苯甲酸的酯。还可使用抗氧化剂和助悬剂。

[0358] 本发明的组合物可配制为食物产品。例如，除了本发明的治疗效果外，食物产品还可提供营养益处，如在营养补充剂中。类似地，可配制食物产品以通过与普通食品而不是药

物组合物更相似来增强本发明组合物的味道或使组合物对消费更具吸引力。在某些实施方案中，本发明的组合物被配制为乳基产品。术语“乳基产品”是指具有变化的脂肪含量的任何液体或半固体的基于乳或乳清的产品。乳基产品可以是例如牛奶、山羊奶、绵羊奶、脱脂奶、全脂奶、由奶粉和乳清重组而无任何加工的奶，或者是经过加工的产品，如酸奶(yoghurt)、凝乳(curdled milk)、凝乳(curd)、酸奶(sour milk)、酸全脂奶、酪乳和其他酸奶产品。另一种重要组包括乳饮料，如乳清饮料、发酵乳、炼乳、婴儿或幼儿乳；调味奶、冰淇淋；含奶食物，如糖果。

[0359] 在某些实施方案中，本发明的组合物包含单一细菌菌株或物种，并且不含任何其他细菌菌株或物种。此类组合物可仅包含微量或生物无关量的其他细菌菌株或物种。此类组合物可以是基本上不含其他生物物种的培养物。在某些实施方案中，本发明的组合物由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16种细菌菌株或物种组成。在某些实施方案中，所述组合物由1至10、优选1至5种细菌菌株或物种组成。

[0360] 根据本发明使用的组合物可能或可能不需要市场批准。

[0361] 在一些情况下，在施用前将冻干的细菌菌株重构。在一些情况下，通过使用本文所述的稀释剂进行重构。

[0362] 本发明的组合物可包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

[0363] 在某些实施方案中，本发明提供药物组合物，所述药物组合物包含：本发明的细菌菌株；和和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂；其中所述细菌菌株的量足以在施用至有需要的受试者时治疗病症；并且其中所述病症选自由以下组成的组：神经退行性疾病(如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病)、脑损伤(如中风)、行为障碍(如注意力缺陷多动障碍)、炎症性肠病(如克罗恩氏病)、癌症(如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌)。

[0364] 在某些实施方案中，本发明提供了药物组合物，所述药物组合物包含：本发明的细菌菌株；和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂；其中所述细菌菌株的量足以治疗或预防由HDAC介导的疾病或疾患。在优选的实施方案中，所述疾病或病况选自由以下组成的组：神神经退行性疾病(如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病或帕金森氏病)、脑损伤(如中风)、行为障碍(如注意力缺陷多动障碍)、炎症性肠病(如克罗恩病)、癌症(如前列腺癌、结肠直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌或胃癌)。

[0365] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，其中相对于组合物的重量，细菌菌株的量是每克约1×10^{3}至约1×10^{11}个菌落形成单位。

[0366] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，其中所述组合物以1g、3g、5g或10g的剂量施用。

[0367] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，其中所述组合物通过选自由口服、经直肠、皮下、经鼻、经颊和舌下组成的组的方法施用。

[0368] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，所述药物组合物包含选自由以下组成的组的载体：乳糖、淀粉、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露醇和山梨醇。

[0369] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，所述药物组合物包含选自由以下组成的组的稀释剂：乙醇、甘油和水。

[0370] 在某些实施方案中，本发明提供了上述药物组合物，所述药物组合物包含选自由

以下组成的组的赋形剂:淀粉、明胶、葡萄糖、无水乳糖、自由流动乳糖、β-乳糖、玉米甜味剂、阿拉伯胶、黄蓍胶、藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇、油酸钠、硬脂酸钠、硬脂酸镁、苯甲酸钠、乙酸钠和氯化钠。

[0371] 在某些实施方案中,本发明提供了上述药物组合物,所述药物组合物还包含防腐剂、抗氧化剂和稳定剂中的至少一种。

[0372] 在某些实施方案中,本发明提供了上述药物组合物,所述药物组合物包含选自由以下组成的组的防腐剂:苯甲酸钠、山梨酸和对羟基苯甲酸的酯。

[0373] 在某些实施方案中,本发明提供了上述药物组合物,其中所述细菌菌株是冻干的。

[0374] 在某些实施方案中,本发明提供了上述药物组合物,其中当将所述组合物在约4℃或约25℃下储存于密封容器中并将所述容器放置在相对湿度为50%的气氛中时,以菌落形成单位测量的至少80%的细菌菌株在至少约1个月、3个月、6个月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年的时间段后仍然存在。

[0375] 培养方法

[0376] 可使用标准微生物学技术来培养用于本发明中的细菌菌株,所述标准微生物学技术例如在参考文献[47,,49]中详述。

[0377] 用于培养的固体或液体培养基可以是YCFA琼脂或YCFA培养基。YCFA培养基可包含(每100ml,近似值):酪胨(1.0g)、酵母提取物(0.25g)、$NaHCO_3$(0.4g)、半胱氨酸(0.1g)、K_2HPO_4(0.045g)、KH_2PO_4(0.045g)、NaCl(0.09g)、$(NH_4)_2SO_4$(0.09g)、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$(0.009g)、$CaCl_2$(0.009g)、刃天青(0.1mg)、血红素(1mg)、生物素(1μg)、钴胺素(1μg)、对氨基苯甲酸(3μg)、叶酸(5μg)和吡哆胺(15μg)。

[0378] 用于疫苗组合物中的细菌菌株

[0379] 本发明人已经鉴定,本发明的细菌菌株可用于治疗或预防由HDAC介导的疾病或病况。这可能是本发明的细菌菌株对宿主免疫系统所具有的作用的结果。因此,当作为疫苗组合物施用时,本发明的组合物还可用于预防由HDAC介导的疾病或病况。在某些此类实施方案中,本发明的细菌菌株可被杀死、灭活或减毒。在某些此类实施方案中,所述组合物可包含疫苗佐剂。在某些实施方案中,所述组合物用于经由注射,如经由皮下注射施用。

[0380] 总则

[0381] 除非另外指明,本发明的实践将采用本领域技术范围内的化学、生物化学、分子生物学、免疫学以及药学的常规方法。这类技术在文献中有完整阐述。参见例如,参考文献[50]和[51,57]等。

[0382] 术语“包含”涵盖“包括”以及“由……组成”,例如,组合物“包含”X可仅由X组成,或者也可包含另外的物质,例如X+Y。

[0383] 相对于数值x的术语“约”是可选的并且是指例如$x\pm10\%$。

[0384] 词语“基本上”不排除“完全”,例如“基本上不含”Y的组合物可完全不含Y。在必要时,可从本发明的定义中省略词语“基本上”。

[0385] 提及两个核苷酸序列之间的序列同一性百分比是指当比对时,在比较两个序列时相同的核苷酸的百分比。这种比对和同源性或序列同一性百分比可使用本领域中已知的软件程序来确定,例如在参考文献[58]中的章节7.7.18中所描述的那些软件程序。通过Smith-Waterman同源性搜索算法使用仿射空位搜索的具有空位开放罚分(gap open

penalty)为12和空位延伸罚分(gapextension penalty)为2、BLOSUM矩阵为62来确定优选的比对。Smith-Waterman同源性搜索算法公开于参考文献[59]中。

[0386] 除非特别说明,否则包括许多步骤的过程或方法可在所述方法的开始或结束时包括另外的步骤,或者可包括另外的中间步骤。此外,在适当的情况下,步骤可组合、省略或以替代顺序执行。

[0387] 本文描述了本发明的各种实施方案。将理解的是,在每个实施方案中指定的特征可与其他指定的特征组合,以提供其他实施方案。特别地,本文中强调为合适的、典型的或优选的实施方案可彼此组合(除非它们是互斥的)。

[0388] 本发明的实施方式

[0389] 实施例1-细菌对组蛋白脱乙酰酶活性的功效

[0390] 引言

[0391] 本发明人试图研究Bariatricus massiliensis菌株43042及其代谢物对HDAC抑制的有效性。

[0392] 材料和方法

[0393] 细菌培养和无细胞上清液收集

[0394] 在YCFA肉汤中厌氧生长43042个细菌的纯培养物,直到它们达到稳定生长期。将培养物以5,000x g离心5分钟,然后使用0.2μM过滤器(Millipore,UK)过滤无细胞上清液(CFS)。将1mL CFS的等分试样储存在-80℃下直至使用。丁酸钠、己酸和戊酸获自Sigma Aldrich(UK),并且在YCFA肉汤中制备了悬浮液。

[0395] 细菌上清液的SCFA和MCFA定量

[0396] 如下通过MS Omics APS分析和定量细菌上清液中的短链脂肪酸(SCFA)和中链脂肪酸(MCFA)。使用盐酸盐使样品酸化,并且其中添加氘标记的内部标准品。所有样品均按随机顺序进行分析。使用安装在与四极杆检测器(59977B,Agilent)耦合的GC(7890B,Agilent)中的高极性柱Zebron™ZB-FFAP,GC Cap.柱30m x 0.25mm x 0.25μm)进行分析。所述系统由ChemStation(Agilent)控制。使用Chemstation(Agilent)将原始数据转换为netCDF格式,然后使用Johnsen,2017,J Chromatogr A,1503,57-64描述的PARADISe软件在Matlab R2014b(Mathworks,Inc.)中导入和处理数据。

[0397] 整体HDAC活性分析

[0398] 通过离心和在0.22uM过滤器中过滤来分离固定相43042培养物的全细胞和无细胞上清液。在汇合后3天使用HT-29细胞,并在实验开始前24小时逐步下降至1mL DTS中。用在DTS中稀释的10%无细胞上清液激发HT-29细胞,并将其温育48小时。然后使用Sigma Aldrich核酸酶提取试剂盒提取核酸酶蛋白,并在HDAC活性测量之前将样品速冻。使用Sigma Aldrich(UK)试剂盒对HDAC活性试剂盒进行荧光分析评估。

[0399] 特异性HDAC活性分析

[0400] 使用针对每种类型的HDAC的荧光测定试剂盒(BPS Bioscience,CA)对HDAC1、2、3、4、5、6、9的特异性HDAC抑制活性进行了分析。根据制造商的说明进行测定,并且每个样品一式两份进行。将无细胞上清液以1:10的比例稀释,并暴露于试剂盒中提供的特异性HDAC蛋白,以维持方法之间的一致性。

[0401] 结果

[0402] 43042全细胞和无细胞上清液降低整体HDAC活性

[0403] 图1中显示的结果表明,43042全细胞和CFS使整体HDAC活性降低统计学上显著的量。

[0404] 43042产生HDAC抑制代谢物丁酸酯

[0405] 43042上清液显示出强烈的HDAC抑制,并且发现产生大量的丁酸酯(图2A)。

[0406] 为了研究哪些代谢物负责菌株诱导的HDAC抑制,测量了不同浓度的己酸、戊酸和丁酸钠对全HT-29细胞和HT-29细胞溶解产物的HDAC抑制。图2B中的结果表明丁酸钠对全细胞以及对细胞溶解产物均具有显著(P<0.05)的HDAC活性抑制,而己酸确实显示显著抑制活性。戊酸抑制总HDAC活性(*(p<0.05),**(p<0.005),***(P<0.001),****(p<0.0001))。

[0407] 有效的总HDAC抑制剂研究了靶标I类HDAC。

[0408] 研究了测试细菌菌株的特异性HDAC抑制谱。针对I类HDAC进行了特异性HDAC抑制测定(BPS Bioscience,CA)。分析了细菌菌株抑制HDAC酶的能力。结果(图3)证明43042是1类HDAC酶(HDAC1、2和3)、特别是HDAC2的有效抑制剂。

[0409] 讨论

[0410] 令人感兴趣地,特异性HDAC活性的结果表明,所测试的菌株是I类HDAC、并且特别是HDAC2的有效抑制剂(图3)。I类HDAC(HDAC1、2、3和8)位于细胞核中,并在几种人细胞类型中普遍表达。HDAC 1-3具有超过50%的同源性,但具有独特的结构和细胞功能[60]。它们主要参与细胞存活、增殖和分化,并且因此抑制可适用于多种疾病[61,62,63,64,65]。这些数据表明,本发明的组合物可用于治疗由HDAC介导的疾病。

[0411] 实施例2-细菌对多动症的功效

[0412] 引言

[0413] 本研究的目的是使用MPTP损伤小鼠评价厌氧细菌的作用。从疾病诱导前14天开始,每天经由管饲法用43042、媒介物或参考化合物对72只受MPTP损伤的小鼠(6组,每组n=12只动物)进行处理持续18天。一组n=12只动物充当假病变对照并用媒介物进行处理。

[0414] 材料和方法

[0415] 动物

[0416] 所有动物都被圈养在单独的通风笼(IVC)中,并且没有病原体,但没有置于SPF下。另外,在层流下打开笼子。

[0417] 小鼠被圈养在来自两个不同供应商的单独通风笼中,并具有三种不同尺寸:来自Ehret公司的聚碳酸酯笼,类型-1长:426cm^2或类型-2-长:530cm^2;或来自Tecniplast“greenline”的聚砜笼:500cm^2。两种空气通风系统均包括符合现行标准的HEPA过滤器系统(HEPA 14类)。

[0418] 为了评价动物的健康状况,使用了标记动物。

[0419] 使用成年(至少8周)、雌性(以避免雄性之间的攻击)CD1小鼠作为标记。标记每笼成对安置。

[0420] 针对动物圈养维持以下参数:

[0421] -12小时明暗周期(夏季时间:上午6点至下午6点开灯,下午6点至上午6点关灯;冬季时间:上午5点至下午5点开灯,下午5点至上午5点关灯)

[0422] -光强度:临界值:小鼠[<400Lux]

[0423] -音量:临界值:[<60dB]

[0424] -在低音量下的连续背景噪声(例如,在光照阶段打开收音机)

[0425] -室温:20℃-24℃

[0426] -湿度:30%-70%

[0427] -湿度和室温由警报系统集中监测。

[0428] -作为睡垫材料,使用木质粒状材料,所述材料具有高吸力性质,并且显示较少细料部分(例如Lignocel)

[0429] -作为集中筑窝材料,使用"Nestlets"

[0430] -使用了用于小鼠和大鼠的标准维持食物或用于繁殖动物的繁殖食物(例如Altromin)

[0431] -普通自来水用作供水

[0432] 遵守当前法规和科学完整性使用最少量的动物。在执行程序的数量和程度方面考虑了动物的福利。

[0433] 在测试设施内运行的安全预防措施已应用于研究。

[0434] 所用动物的详细信息

[0435]

小鼠品系:	C57BL/6J (JAX™小鼠品系)
	JAX™小鼠原种编号
	000664
提供者:	Charles River Laboratories
开始时的年龄:	约 10 周

[0436] 动物环境适应

[0437] 这些动物一到达QPS Austria,便被带到指定的动物室,被打开包装并检查其健康状况。事先交叉检查了有关运输系统的信息和由Charles River Laboratories(CRL)提供的数据。生成了动物列表,包括IRN、产仔年龄和性别。在研究开始之前,使动物适应至少一周。

[0438] 圈养

[0439] 将动物分为两组。室温保持在约20℃-24℃,并且相对湿度介于30%至70%之间。将动物圈养在恒定光照周期中(12小时明/暗;(夏季时间:上午6点至下午6点开灯,下午6点至上午6点关灯;冬季时间:早上5点至下午5点开灯,下午5点至上午5点关灯)。随意给动物提供干燥的团粒状标准啮齿动物食物(Altromin)以及普通自来水。

[0440] 鉴定

[0441] 如果到达时尚不存在,则通过经典打耳标对动物进行连续编号。

[0442] 每个笼子用彩色卡片标识,所述卡片指示研究编号、性别、动物的个体登记号(IRN)、产仔年龄和处理组分配。

[0443] 组分配

[0444] 仅健康状况良好的动物才被纳入研究。将动物根据体重、基线IRWIN测试结果分配至处理组,并相应地分配至笼中的组合物。

[0445] 适当的标准操作规程中包含未在本研究计划的后续章节中指明的方法的详细信息。

[0446] 动物的特殊处理和随机化

[0447] 在每个处理组之间都必须更换手套,并在同一组的每个笼子之间用70%的乙醇溶液喷洒,以使动物处理(例如:处理、行为测试、清洁和组织采样)时的污染风险最小化。

[0448] 处理必须随机进行,并且每天交替进行,以防止同一组每天在同一时间接受处理。行为测试也必须以伪随机顺序进行,每天交替进行,以防止在同一时间点处理相同的动物。在组织取样时,每个笼子也将动物随机化。

[0449] 处理组分配,处理

[0450] 将72只雄性小鼠分为5个不同的处理组。每天经由管饲法用43042(C组)或媒介物(PBS)(A、B和E组)或媒介物(厌氧PBS-D组)对各组进行处理持续18天。在MPTP病变前14天开始口服处理。E组动物接受每日媒介物(PBS)口服处理,并在第0天在第一次MPTP之前30分钟和之后90分钟i.p.(腹膜内)注射参考药物。用于口服和媒介物处理的施用体积是每只小鼠200µl。43042来自甘油储备液(gly)。对于口服处理,将用于施用的强饲物储存在含有70%乙醇的小瓶中,并在每次使用前后用蒸馏水冲洗。每个处理组都有自己的管和乙醇小瓶以及蒸馏水小瓶。在处理之前,直接将每个注射器用N2冲洗。

[0451] 在第0天,在B、C、D和E组的动物中腹膜内注射MPTP(20mg/kg b.w.,4次,处理间间隔2小时)。通过腹膜内施用MPTP媒介物(0.9%盐水)对一组动物(A)进行假病变。施用量是每g体重10µl。在MPTP处理之前对动物进行称重,以根据动物的实际体重对其进行给药。之后,动物接受每日口服处理。

[0452] 旷场试验。

[0453] 在第2天进行了旷场试验。

[0454] 通过评价以下参数在旷场中评估自发活动和焦虑:多动症,活动。为此,使用了Plexiglas旷场(48x48 cm;TSE-System®)。红外光束被放置在盒子周围1.4cm的距离内。为了检测后腿直立(站立在后爪上),在第一个光束上方4cm处安装了另一行光束。每次试验阶段持续5分钟,以检查小鼠在新环境中的行为,因为旷场试验的第一分钟最适合展示动物的探索行为。此后,将粪便团的数量计数为情绪的量度。在每只小鼠后用70%乙醇清洁旷场,以消除气味痕迹。在昼夜节律周期的光照阶段,在标准房间照明条件下进行测试。

[0455] 统计学

[0456] 进行了基本的统计分析,因此使用Kolmogorow-Smirnow检验对原始数据进行正态检验。如果确定正态分布,则使用T检验来测试两组之间的差异,或者使用单向方差分析来测试多于两组之间的差异。如果数据不是正态分布,则使用曼-惠特尼检验检验来测试两组之间的差异,或使用克鲁斯卡尔-沃利斯(Kruskal-Wallis)检验来测试多于两组之间的差异。邦弗朗尼(Bonferroni)事后检验用作单向方差分析的事后检验,而邓恩(Dunn)检验用作克鲁斯卡尔-沃利斯检验的事后检验。通过使用双向方差分析,然后进行邦弗朗尼事后检验来测试随时间推移的组差异。在适当地情况下,数据以评均值±或+平均值的标准误差(SEM)表示。

[0457] 通过将所有组与A(阳性对照)、B(阴性对照)、E(参考项目)进行比较并且将C与D(C组媒介物)进行比较来进行统计分析。

[0458] 结果

[0459] 总体观察结果和健康状况

[0460] 动物对细菌菌株的施用耐受良好。在MPTP病变日并且如果必要的话在第二天，用红色灯为动物取暖。如果动物处于次优条件(感觉寒冷、脱水、异常行为)，则在必要时为它们提供湿食物和皮下生理盐水处理。在研究过程中，由于未知原因，以下6只动物死亡。

[0461] 旷场测试

[0462] 在研究过程的第2天(MPTP病变后2天)，对动物进行了旷场试验。所述测试表明，与A组的假病变和媒介物处理的动物相比，多动症和活动在C组(43042)和D组(媒介物(厌氧PBS))的动物中显著减少(图84)。还与参考项目E组(7-硝基吲唑)相比，G组动物在旷场测试中显示出显著降低的多动症。

[0463] 讨论

[0464] 与仅媒介物对照相比，施用了43042 7的小鼠中多动症的明显降低突出表明43042可用于治疗或预防与多动症相关的病况或疾病，如行为障碍(包括ADHD)和帕金森氏病。多动症与帕金森氏病患者的焦虑增加相关。

[0465] 实施例3-Bariatricus massiliensis菌株43171在增强从GVHD存活方面的功效

[0466] 目的

[0467] 本发明人试图确定Bariatricus massiliensis菌株43171对在Balb/C小鼠中诱导的移植物抗宿主病(GVHD)的作用。

[0468] 材料和方法

[0469] -动物

[0470] 从Charles River Laboratories(Wilmington,MA)获得平均起始体重(±SEM)为20.67±0.11g的雄性Balb/C小鼠(BALB/cAnNCrl;6-8周龄;n＝125)。从同一销售商处获得另外的n＝75只雄性C57Bl/6(C57Bl/6NCrl;6-8周龄)。在研究开始之前使动物适应环境。在此期间，每天对动物进行观察，以排除状况不佳的任何动物。

[0471] -圈养

[0472] 所述研究在提供了HEPA过滤空气的动物房间中进行，温度为70±5oF，并且相对湿度为50％±20％。将动物以每笼4-6只动物的组进行圈养。具体地，8只动物/组的组以n＝4/笼圈养；10只动物/组的组以n＝5/笼圈养；并且每组12只动物的组以n＝6/笼圈养。将动物饲养在HEPA过滤的独立通风的笼子中。笼子在机架上按地理位置分开，以最大程度地减少组之间的交叉污染。动物房设置为每小时至少维持12至15次换气。房间里有自动定时器，光照/黑暗周期分别为12小时和12小时，没有黄昏。使用了Alpha-dri®睡垫(辐照)。除睡垫外，每个笼子还配有enviro-dri和shepherd shack(集中)。每天清扫地板，并至少每周两次用市售清洁剂擦拭地板。墙壁和笼架每月至少用稀释漂白剂擦拭一次。使用带有鉴定研究、剂量、动物编号和处理组所必需的适当信息的笼卡或标签来标记所有笼。在研究期间记录温度和相对湿度，并保留记录。所有技术人员在进入实验室/动物园和与动物一起工作之前都要穿戴PPE(实验室外套、手套、护目镜)。

[0473] -饮食

[0474] 用LabDiet 5053无菌(辐照)啮齿动物饲料喂养动物，并随意提供水(反渗透)。没有提供基于食物的集中。

[0475] -动物随机化和分配

[0476] 在研究开始时将动物随机分为5组。每组包括8至12只小鼠。将每组进一步细分为A组和B组(每群组每组n＝4-6只小鼠);群组具有错开的疾病时间线。

[0477] -NCIMB 43171的生长动力学的分析

[0478] 在施用NCIMB 43171之前,确定生长曲线/最大OD,并确定最大OD600和清洗后的虚拟菌落计数(VCC)。生长曲线/最大OD分析如下进行。上午6点,将每种冷冻细菌原液的一只管分别放入放入Coy室。将管解冻,通过上下吸移小心混合,并且将两个装有9.5mL预还原、预温热(37℃)YCFA肉汤的管(一式两份)接种500μL细菌储备液。这些是预培养物。将预培养物在Coy室中于37℃温育24小时。第二天(即温育24小时后)上午6点,从Coy室中取出每种培养物的一小份等分试样,并通过nanodrop测定OD600。通过颠倒混合管,然后取出等分试样进行OD600测量。24小时培养物的剩余部分(使用如上所确定的OD600较高的管)一式两份如下进行培养:250μL的NCIMB 43171 24小时培养用于接种两个装有24.75mL预温热YCFA肉汤的管。将这些培养物在37℃的Coy箱中温育24小时,并且从Coy箱中取出一小份等分试样,每2小时测量OD600,持续16小时(即在8AM、10AM、12PM、2PM、4PM、6PM、8PM和10PM)以及24小时(第二天6AM)。通过颠倒混合管,然后取出等分试样进行OD600测量。

[0479] 在最大OD分析下的VCC如下发生:将一管NCIMB 43171储备液引入Coy室。将管解冻,通过上下吸移小心混合,并且将两个装有9.5mL预还原、预温热YCFA肉汤的管(一式两份)接种500μL细菌储备液。这些是预培养物。将预培养物在Coy室中于37℃温育24小时。第二天(温育24小时后),从Coy箱中取出一小部分预培养物,并通过nanodrop测定OD600。通过颠倒混合管,然后取出等分试样进行OD600测量。24小时的剩余部分(使用具有较高OD的管)如下一式两份进行培养:250μL用于接种两个装有24.75mL预温热的YCFA肉汤的管。这些是主要培养物。在指定的时间从Coy室中取出主要培养物的一小部分等分试样,并通过nanodrop测定OD600。通过颠倒混合管,然后取出等分试样进行OD600测量。剩余储备液的VCC如下确定:在PBS中制备单个稀释系列(未稀释、1:103、1:104、1:105和1:106)。然后将每种培养物的剩余部分转移至50mL锥形管,并将所述管从Coy室中取出并离心(3500xg;15分钟)。一旦离心完成,就将管放回Coy室,并除去上清液(注意避免干扰团块),并进行测量。将团块重悬浮于与去除的上清液相等体积的PBS中,并用移液管小心混合(不涡旋)。在PBS中制备单个稀释系列(未稀释、1:103、1:104、1:105和1:106)。将两个稀释系列(肉汤和PBS悬浮)一式三份(20μL)点样接种在预还原的YCFA琼脂板的一个象限中。将板在Coy室中于37℃温育48小时,并计数以5-20CFU/点产生斑点的任一稀释液的VCC。将三个斑点的VCC/斑点值取平均值,以确定肉汤中并离心/在PBS中重悬的过夜培养物的VCC/mL。

[0480] -NCIMB 43171剂量准备

[0481] 在每个给药时间点的前两天,将每株NCIMB 43171冷冻原种的一个管(1mL/管)放入Coy室。使管解冻,并用0.5mL的每种细菌储备液接种两个15mL管,每个管各自含有9.5mL的预还原和预温热的YCFA肉汤。这些是预培养物(管1和2)。将预培养物在Coy室中于37℃温育24小时。

[0482] 在温育24小时后,在每个给药时间点的前一天,将培养物倒置混合,并且从Coy室中取出培养物的一小份等分试样(20μL),以通过nanodrop测定OD600。每种菌株中具有较高OD600值的每个管(1或2个)如下一式两份用于主要培养物:使用250μL的OD600更高的预培

养物接种于50mL锥形瓶中的24.75mL预温热的YCFA肉汤(一式两份;管A和B)。将这些主要培养物在Coy室中(在37°)温育14小时。

[0483] 在每个给药日(在上述主要培养物温育之后),通过倒置混合培养物,并从Coy室中取出培养物的一小份等分试样(20μL)用于通过nanodrop测定OD600。然后将管从Coy室移出并离心(3500xg;15分钟)。一旦离心完成,就将管放回Coy室,并通过移液管移除上清液(注意避免干扰团块)。将团块重悬于2.04ml PBS中。通过移液(无涡旋)小心地混合团块。将每种菌株的等分试样(0.5mL)吸移到Eppendorf管中,并保留在Coy室中。将每种菌株的剩余部分从Coy室中取出并用于给药(每只动物0.1mL),在重悬后要注意尽快向动物给药。

[0484] 保留在Coy室中的每种菌株的0.5mL等分试样用于制备于预还原的MRD中的单个稀释系列;将1:107、1:108、1:109和1:1010稀释液一式三份在预还原的YCFA琼脂板的一个象限中一式三份进行点样接种(20μL)。将板在Coy室中于37℃温育48小时,并计数以5-20CFU/点产生斑点的任一稀释液的VCC。将三个斑点的VCC/斑点值取平均值,以确定实验性给药材料的VCC/mL。

[0485] -预处理阶段

[0486] 在开始研究之前,将所有动物称重并按重量随机分为处理组。在第-1天和第0天进行GVHD诱导之前,从第-14天开始,每天用PBS(第1-4组)、NCIMB 43171(第5组)或丁酸盐对照(第6组)对所有动物进行预处理(PO)。丁酸盐被用作阳性对照,因为已在GVHD患者的肠道中鉴定了丁酸盐缺乏症。随机将处理施用至各组,并且每天交替进行组处理,以防止每天在同一时间对相同组进行处理。一旦开始测试物品给药,就要注意使组间的交叉污染最小化:技术人员在处理组之间更换手套,并在同一组的每个笼子之间喷洒70%异丙醇。

[0487] -GVHD建模

[0488] 在第-1天使用单次急性剂量的8Gy全身辐照(TBI)在小鼠中诱导GVHD。在第0天,向这些受体小鼠给予静脉内注射PBS中的来自供体C57Bl/6小鼠的T细胞耗减的骨髓细胞和脾细胞的组合。使用标准冲洗实践分离骨髓细胞,并使用CD3生物素试剂盒(Miltenyi Biotec目录130-094-973),使用细胞表面T细胞抗原CD3耗减T细胞。使用Miltenyi GentleMACS Dissociators分离脾细胞。第1组中的动物充当初次接受试验的对照并且既不接受TBI也不接受细胞转移。第2组的动物充当辐照对照,并在第-1天接受8Gy的TBI,但在第0天不接受细胞转移。第3组的动物充当同基因过继转移对照;这些动物在第-1天接受了8Gy的TBI,并静脉注射于无菌PBS中的来自供体Balb/C小鼠的T细胞耗减的骨髓细胞和脾细胞的组合。

[0489] 在研究持续时间(第-14天至第30天),每天继续进行测试物品给药。每天记录动物存活,作为GVHD严重程度的指示。还对动物进行称重,观察并在GVHD诱导后的研究持续时间每天给予临床GVHD评分。给予五个标准(表21)通过标准评分系统评估GVHD评分:体重变化百分比、姿势(驼背)、活动、皮毛质地和皮肤完整性(最高评分=10)。

[0490] 表1:移植小鼠中GVHD的评估(每日评分)

[0491]

标准	0级	1级	2级
体重下降	<10%	>10% <25%	>25%
姿势	正常	只在休息时注意到驼背	步态严重，运动受阻
活性	正常	轻度至中度下降	静止直到刺激
皮毛质地	正常	轻度至中度皱褶	严重皱褶和/或梳理不良
皮肤完整性	正常	爪子和/或尾巴剥落	裸露皮肤的明显区域

[0492] 向体重减轻20％的动物皮下施用流体(SID;盐水)，并提供软化食物。如果任何个体研究动物需要软化食物，则向所有研究动物提供软化食物，直到挽救个体动物的体重下降。继续治疗直至计划的安乐死或体重下降大于30％。对无法自我矫正、触摸冰冷或垂死的动物实施安乐死。

[0493] 在第29天，所有存活动物均进行内窥镜检查以监测结肠炎症。拍摄图像并使用表2中所示的评分量表对结肠炎严重程度和粪便稠度进行评分。

[0494] 表2:内窥镜检查结肠炎评分量表

[0495]

得分	说明：
0	正常
1	血管分布丧失
2	血管分布丧失和脆性
3	脆性和糜烂
4	溃疡和出血

[0496] 在第30天，通过RO采血收集血液;血液(大约150-300μL)被收集到两个管中-大约三分之二的血液被收集到K2EDTA管中，并且剩余的三分之一被收集到锂-肝素管中。将两个样品离心并加工以获得血浆，并清楚标记血浆管以指示所使用的抗凝剂。对于K2EDTA样品，将血浆如下等分:25μL(用于下游瓜氨酸测定)，以及剩余部分。将所有血浆冷冻在-80℃。完成研究后，通过ELISA针对瓜氨酸对所有K2EDTA样品进行评估。

[0497] 在研究的TBI阶段，通过CO2吸入和颈椎脱位进行安乐死，对于未按计划安乐死的动物无器官收集。在研究的GVHD阶段，仅通过颈椎脱位进行安乐死，对于未按计划安乐死的动物进行器官收集。终末收集发生在工作台上。开始之前，用70％异丙醇和市售消毒剂清洁工作台。在动物之间用70％异丙醇清洁器械，并且在各组之间用商业消毒剂清洁器械。

[0498] -统计分析

[0499] 通过单向ANOVA与Tukey多重比较检验对参数数据进行分析，以将所有组彼此进行比较。通过克鲁斯卡尔-沃利斯检验与邓恩多重比较检验来对非参数数据进行分析，以将所有组彼此进行比较。所有统计分析均使用GraphPad Prism 7(La Jolla,CA)进行。

[0500] 结果和讨论

[0501] -体重

[0502] 在研究的持续时间每天对动物进行称重，并且在研究过程中所有组的平均体重在图5中示出。计算相对于第-14天(图6)或第0天(图7)的体重变化。为了确定组之间相对于第-14天或第0天的平均体重或平均体重变化的统计学上显著的差异，使用梯形转换规则计算曲线下面积(AUC)，并在图5、6和7的插图中示出。为了说明组损耗，所示的相对于第0天的体重变化，对于被发现死亡或安乐死的动物在研究的持续时间将死亡动物的体重结转(除第2组外的所有组)在图8中以AUC插图示出。

[0503] 在预处理期间，任何组均未观察到平均体重的主要差异(图5)。从第0天至第3天，暴露于TBI的所有组均表现出体重下降。第3组中动物的平均体重(PBS-TBI+同基因转移)从这一点开始恢复并最终返回至基线。第2组动物的平均体重(仅PBS-TBI)未能在所述组中所有动物死亡之前恢复。对于所有其他研究组，平均体重继续下降直至第7天，增加直至第14天，并且随后下降直至研究的持续时间。在研究过程中，与第1组(PBS-初次接受试验)相比，第2、5和6组的平均体重显著降低。相比之下，在研究过程中，与第2组相比，第3-6组的平均体重显著增加。最后，在研究过程中，与第3组相比，第5和第6组的平均体重显著下降。当比较处理组(第5和6组)与第4组(PBS-TBI+同种异体转移)时，观察到在研究过程中平均体重无显著差异。当向小鼠施用免疫抑制剂他克莫司(一种已知的GVHD疗法)时，观察到了这种相同的趋势(图9)。

[0504] 在预处理期间，所有组相对于第-14天的平均体重变化(图6)均增加，并且从第0天起相对于第-14天的体重变化动力学与针对平均体重所观察到的相似。与第1组和第3组相比，第2组和第4-6组中的动物在研究过程中均表现出显著增加的体重下降。

[0505] 从第0天至第3天，对于所有暴露于TBI的组，相对于第0天的平均体重变化(图7和图8)均下降，此时第3组中的动物的体重增加开始;所有其他组的体重下降持续到第4天。从第7天至第14天，相对于第0天的体重变化增加;并且从第14天到第30天研究结束，观察到第4-6组的平均体重下降。尽管相对于第0天体重变化的总体模式是相似的，而不管死亡动物的体重是否结转，但组之间的统计学显著差异是不同的。与第1、2、3组相比，对于第4-6组(无论有和无死亡动物的体重结转)观察到显著增加的体重下降，这再次与施用了已知GVHD疗法他克莫司的小鼠中观察到的趋势相似(图9)。

[0506] -存活

[0507] 每天评估动物的存活或死亡情况，并且显示研究持续时间的存活率的卡普兰-迈耶曲线在图10中示出。存活率在第1和3组中为100％，在第2组中为0％，并且在第5组中为75％。与第4组和第6组相比，在第5组中观察到的存活率显著提高。这是显著的，因为丁酸酯已被提出作为GVHD的治疗[66]。存活率与施用了已知GVHD治疗他克莫司的小鼠对照相当(FK506-图11)

[0508] -GVHD得分

[0509] 从第0天至第30天研究结束评估所有动物的GVHD得分(根据表2中所示的多参数评分)。图12中示出所有组的平均GVHD得分，并且图13种示出在死亡动物的GVHD得分进行了结转的情况下呈现的这一相同数据。为了确定组之间总GVHD得分的统计显著性差异，使用梯形转换规则计算了AUC，并且这在图12和13的插入中示出。分配给每只动物的临床GVHD得分是由姿势(图14A)、活动(图14B)、皮毛质地(图14C)、皮肤完整性(图14D)和体重下降(图

14E)组成的复合得分。

[0510] 静脉注射同种异体脾细胞和骨髓细胞在第19天左右开始在所有组中诱导GVHD,并且其严重程度逐渐提高,直至研究结束。初始GVHD得分在第0-7天之间增加,可能是由于TBI和移植物所致;超过这一点的动物存活率证实了移植细胞的成功植入。尽管GVHD得分动力学相似,无论是否对死亡动物的GVHD得分进行结转,但组之间的统计显著性差异是不同的。对于有和没有结转死亡动物的GVHD得分的第1组和第2组相比,第3-6组中的动物均显示出显著增加的平均GVHD得分;同样,第4-6组的动物在这两种情况下均显示出与第3组相比显著增加的平均GVHD得分。在施用了免疫抑制剂他克莫司(其是一种已知的GVHD疗法)的GVHD小鼠模型中也观察到了这种趋势(图15)。

[0511] -内窥镜检查

[0512] 在第29天对动物进行内窥镜检查以评估结肠炎症。在视觉上以五分量表(范围从对于正常为0到对于严重溃疡为4)对结肠炎进行评分(表3)。平均结肠炎严重程度在图16中示出。

[0513] 与初次接受试验的小鼠(第1组)相比,菌株43171处理和丁酸酯处理的动物的平均结肠炎严重程度得分增加。然而,与丁酸酯处理的小鼠相比,在菌株43171处理的小鼠中结肠炎显著更少。这是重要的,因为已建议纠正丁酸酯缺乏症作为结肠炎的治疗[67]。代表性的内窥镜检查图像在图17中示出。

[0514] -血浆瓜氨酸

[0515] 在安乐死之前,从所有存活动物中收集血液,并进行加工以获得血浆。通过ELISA一式两份将血浆瓜氨酸评估为肠渗透性的标志物。血浆瓜氨酸水平的降低对应于上皮细胞量的减少,从而指示肠道屏障渗透性的增加。维持肠道屏障功能(即维持肠不渗透性)对于治疗GVHD是重要的[68]。结果在图18中示出。与施用丁酸盐(第6组)的小鼠相比,施用菌株43171的小鼠维持较高水平的血浆瓜氨酸,考虑到丁酸盐在维持正确的屏障功能中的作用,这是显著的。

[0516] 实施例3-稳定性测试

[0517] 将本文所述的含有至少一种本文所述的细菌菌株的组合物储存在25℃或4℃的密封容器中,并将所述容器置于具有30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%相对湿度的气氛中。在1个月、2个月、3个月、6个月、1年、1.5年、2年、2.5年或3年后,应保留至少50%、60%、70%、80%或90%的细菌菌株,如以通过标准方案确定的菌落形成单位所测量。

[0518] 实施例4-细菌接种物减少IL-6分泌的功效

[0519] 引言

[0520] 促炎性细胞因子的激活与炎症性疾病的损害相关。脂多糖(LPS)是促炎性细胞因子IL-6的已知刺激物。将U373细胞用包含本发明的43042菌株与LPS的组合的组合物进行处理以观察其调节IL-6的水平的能力。

[0521] 方法

[0522] U373是人成胶质细胞瘤星形细胞瘤细胞系。将细胞(在第20代至第37代之间使用)保持在25ml MEME 4.5g/L D-葡萄糖中,所述葡萄糖补充有10%热灭活的FBS、4mM L-谷氨酰胺、100U/ml青霉素、100μg/ml链霉素和5μg/ml纤溶酶、1%非必需氨基酸、1%丙酮酸钠

(通篇称为完全生长培养基)。

[0523] 将细胞以100,000个细胞/孔的密度接种在24孔板上的1ml完全生长培养基中,并在37℃/5%CO2下静置72小时。在处理当天,从每个孔中移除培养基,用0.5ml洗涤培养基(无血清MEME)冲洗细胞,将含1μg/ml LPS的0.9ml刺激培养基(含2%FBS的MEME培养基)添加至适当的孔中,并在37℃和5%CO2下温育。预培养1小时后,将细胞从CO2温育箱中取出,并用100μl来源于菌株43042的细菌上清液处理。培养基对照用作对照。然后将细胞在37℃/5%CO2下再温育24小时,然后收集无细胞上清液,并以10,000g在4℃下离心3分钟。将样品等分在1.5ml微管中,并储存在-80℃以进行hIL-6和hIL-8ELISA。

[0524] 结果

[0525] 这些实验的结果在图19中示出。用LPS和细菌菌株处理细胞导致分泌的IL-6的水平降低。

[0526] 实施例5-MAP2的激活

[0527] 研究了菌株43042对与神经元分化相关的基因-微管相关蛋白2(MAP2)的表达的影响。qPCR分析揭示,在SH-SY5Y成神经细胞瘤细胞中MAP2转录物通过43042上调到高于培养基对照样品(参见图20)。

[0528] SH-SY5Y细胞是成神经细胞瘤细胞系。使细胞在补充有2mM L-谷氨酰胺、10%热灭活FBS、100U/ml青霉素和100μg/ml链霉素的50%MEM和50%营养混合物F-12Ham培养基中生长。将SH-SY5Y细胞以0.5x 106个细胞的密度接种在6孔板中。在24小时后,将细胞在含有10%细菌上清液或YCFA+或10uM RA的分化培养基(含有1%FBS且无RA的生长培养基)中处理24小时。收集细胞,并根据RNeasy微型试剂盒方案(Qiagen)分离总RNA。使用High Capacity cDNA逆转录试剂盒(Applied Biosystems)制备cDNA。通过qPCR测量基因表达。GAPDH用作内部对照。根据2^(-ΔΔCt)方法计算倍数变化。

[0529] 用于通过qPCR进行体外基因表达分析的引物的列表。

[0530]

基因ID	正向序列	反向序列
ACTB	GATCAAGATCATTGCTCCTC	TTGTCAAGAAAGGGTGTAAC
GAPDH	GGTATCGTGGAAGGACTCATG	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTC
MAP2	CTCAGCACCGCTAACAGAGG	CATTGGCGCTTCTCTCCTC

[0531] 实施例6-对肠中功能标志物的表达的影响

[0532] 概述

[0533] 这项研究调查了Bariatricus massiliensis菌株43042对肠中的紧密连接蛋白和功能标志物表达的影响。吲哚胺2,3双加氧酶-1(IDO1)是沿产生多种生物活性基于犬尿氨酸的代谢物的途径引发色氨酸分解代谢的酶。色氨酸羟化酶-1(TPH-1)催化从L-色氨酸形成5-羟基-L-色氨酸(5-HTP),这是5-HT生物合成中的第一和限速步骤。

[0534] 方法

[0535] 雄性BALB/c小鼠连续6天接受1X 10^9CFU的细菌菌株的管饲(200μL体积)。在第7

天,对动物实施安乐死。切除肠组织(回肠和结肠的1cm区段)。根据制造商的建议,使用mirVana™miRNA分离试剂盒(Ambion/Llife technologies,Paisley,UK)提取总RNA,并用DNA酶处理(无Turbo DNA,Ambion/life technologies)。根据制造商的说明书,使用NanoDrop™分光光度计(Thermo Fisher Scientific Inc.,Wilmington,Delaware,USA)对RNA进行定量。根据制造商的程序,使用Agilent Bioanalyzer(Agilent,Stockport,UK)评估RNA质量,并计算RNA完整性指数(RIN)。RIN值>7的RNA用于后续实验。根据制造商的说明书,使用Applied Biosystems High Capacity cDNA试剂盒(Applied Biosystems,Warrington,UK)将RNA逆转录为cDNA。简言之,作为RT主混合物的一部分添加Multiscribe逆转录酶(50U/μL),在25℃温育10分钟,在37℃温育2小时,在85℃温育5分钟,并储存在4℃。使用由Applied Biosystems设计的探针(6羧基荧光素-FAM)针对小鼠特异性靶向基因进行定量PCR,同时使用β-肌动蛋白作为内源性对照。扩增反应含有1μl cDNA、5μl的2X PCR主混合物(Roche)和900nM的每种引物,并通过添加无RNA酶的水使反应总量达到10μl。所有反应均在LightCycler®480系统上使用96孔板一式三份进行。根据制造商(Roche)的建议,热循环条件为55个循环。为了检查扩增子污染,对于所用的每个探针,每次运行均不包含一式三份的模板对照。记录循环阈值(Ct)。使用β-肌动蛋白对数据进行标准化,并使用2-ΔΔCT方法进行转换,并显示为相对于对照组的倍数变化。

[0536] 结果

[0537] 在所测试的基因中,与接受媒介物的动物相比,IDO1表达在接受细菌菌株的小鼠中不同。在回肠中存在显著增加(图21A),并且在结肠中存在显著减少(图21B)。在结肠炎的小鼠模型中,结肠中IDO1的表达与疾病改善相关[69]。因此,Bariatricus属的细菌菌株可用于治疗或预防炎症性肠病。

[0538] 实施例7-对脑中基因表达的影响

[0539] 概述

[0540] 这项研究调查了Bariatricus massiliensis菌株43042对脑中某些目标基因表达的影响。在扁桃腺;海马和前额皮层(PFC)中评估了催产素系统(催产素受体和加压素受体)、内分泌系统(盐皮质激素(Nr3c1)、糖皮质激素受体(Nr3c2)、皮质酮释放因子(CRF)和受体、脑源性神经营养因子(BDNF))、免疫系统(Il-6、TNF-α、TLR-4)和神经递质系统(NMDA受体2A(Grin2A);NMDA受体2B(Grin2B);GABAA受体亚基A2;GABAB受体亚基B1;血清素2C)的标志物的mRNA水平,它们是参与情绪应答的边缘系统的关键脑区域。

[0541] 材料和方法

[0542] 方法

[0543] 雄性BALB/c小鼠连续6天接受1X 10^9CFU的细菌菌株的管饲(200μL体积)。在第7天,对动物实施安乐死。快速切除脑,解剖,并将每个脑区域在干冰上速冻,并储存在-80℃以进行进一步分析。如实施例6所述定量mRNA表达。

[0544] 结果

[0545] 如图22所示,在所测试的基因中,观察到海马中糖皮质激素受体(A)、盐皮质激素受体(B)、BDNF(C)、Grin 2B(D)、CRH(E)、CFR1(F)、CD11b(G)和GABAA2(H)表达的显著增加。如图23所示,催产素受体(A)、糖皮质激素受体(B)、盐皮质激素受体(C)、Grin 2A(D)和Grin 2B(E)在扁桃腺中显示出显著更高的表达。作为用细菌处理的结果,在前额皮质中,BDNF

(A)、CRFR1(B)和盐皮质激素受体(C)显著上调(图24)。

[0546] 这表明,Bariatricus可用于治疗或预防可能受益于脑中这些蛋白质的表达水平的调节的病症或病况,例如CNS疾病和病症。特别地,BDNF及其受体对于成人突触可塑性和记忆形成至关重要[70]。在患有阿尔茨海默氏病的个体的海马中观察到BDNF mRNA的降低[71]。荟萃分析研究还显示,阿尔茨海默氏病患者具有降低的血清BDNF水平[72]。在患有亨廷顿氏病的患者的尾状和壳状脑区域中也观察到了BDNF蛋白的减少[73]。因此,本发明的细菌菌株可用于治疗神经退行性疾病,例如阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病。

[0547] 序列

[0548] SEQ ID NO:1-43042 16S rRNA基因序列(使用Geneious组装的共有序列2读段)

[0549]
AGCTCCCTCCTTTCGGTTGGGTCACTGACTTCGGGCGTTACTGACTCCCATGGTGTGACG
GGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGCGACATTCTGATTCGCGATTACTA
GCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGACGTTATTTTT
GGGATTTGCTCCGCCTCGCGGCCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGCACGTGTGT
AGCCCTGATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGGTTATCC
CTGGCAGTCTCTCTAGAGTGCCCACCTTAAATGCTGGCTACTAAAGATAAGGGTTGCGC
TCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACC
TGTCTCCAGTGCCCCGAAGGGAAAGTACATTACATACTCTGTCACCGGGATGTCAAGAC
CAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTC
CCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCATTCTTGCGAACGTACTCCCCAGGTGGAATACTTACTG
CGTTTGCTGCGGCACCGAATGGCTTTGCCACCCGACACCTAGTATTCATCGTTTACGGCG
TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGAGCATCAACGTCAGTC
ATCGTCCAGTAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCCAATATCTACGCATTTCACCGC
TACACTGGGAATTCCACTTACCTCTCCGACACTCTAGCTGCATAGTTTCCAAAGCAGTCC
CGGGGTTGAGCCCCGGGCTTTCACTCCAGACTTACACAGCCGTCTACGCTCCCTTTACAC
CCAGTAAATCCGGATAACGCTTGCACCATACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTT
AGCCGGTGCTTCTTAGTCAGGTACCGTCATTTTCTTCCCTGCTGATAGAGCTTTACATAC
CGAAATACTTCTTCGCTCACGCGGCGTCGCTGCATCAGGGTTTCCCCCATTGTGCAATAT
TCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGGTCA
CCCTCTCAGGTCGGCTACTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCGTTACCCCGCCAACCAGCTAA
TCAGACGCGGGTCCATCTCATACCACCGGAGTTTTTACCACCGCACCATGCGGTGCTGTG
GTCTTATACGGTATTAGCAGCCATTTCTAACTGTTATCCCCTTGTATGAGGCAGGTTACC
CACGCGTTACTCACCCGTCCGCCACTCAGTCACGAAAACCTTCCTTCCGAAGAAATCGA
GTTCTAAGTGCTTCGTCGACTGCA

[0550] SEQ ID NO:2-43171菌株16S rRNA基因序列(使用Geneious组装的共有序列2读段)

[0551] ACCCGGGAACGTATTCACCGCGACATTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCAT
GTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGACGTTATTTTTGGGATTTGCTCCGCCT
CGCGGCCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCTGATCATAAGG
GGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGGTTATCCCTGGCAGTCTCTCTAG
AGTGCCCACCTTAAATGCTGGCTACTAAAGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA
CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTCCAGTGCCCCG
AAGGGAAAGTACATTACATACTCTGTCACCGGGATGTCAAGACCAGGTAAGGTTCTTCG
CGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTG
AGTTTCATTCTTGCGAACGTACTCCCCAGGTGGAATACTTACTGCGTTTGCTGCGGCACC
GAATGGCTTTGCCACCCGACACCTAGTATTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT
CTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGAGCATCAACGTCAGTCATCGTCCAGTAAGCCG
CCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCCAATATCTACGCATTTCACCGCTACACTGGGAATTCCA
CTTACCTCTCCGACACTCTAGCTGCATAGTTTCCAAAGCAGTCCCGGGGTTGAGCCCCGG
GCTTTCACTCCAGACTTACACAGCCGTCTACGCTCCCTTTACACCCAGTAAATCCGGATA
ACGCTTGCACCATACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTTAGCCGGTGCTTCTTAGT

[0552] CAGGTACCGTCATTTTCTTCCCTGCTGATAGAGCTTTACATACCGAAATACTTCTTCGCT
CACGCGGCGTCGCTGCATCAGGGTTTCCCCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCC
CGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGGTCACCCTCTCAGGTCGGCTA
CTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCGTTACCCCGCCAACCAGCTAATCAGACGCGGGTCCAT
CTCATACCACCGGAGTTTTTACCACCGCACCATGCGGTGCTGTGGTCTTATACGGTATTA
GCAGCCATTTCTAACTGTTATCCCCTTGTATGAGGCA

[0553] 参考文献

[0554] [1]Spor et al.(2011)Nat Rev Microbiol.9(4):279-90.

[0555] [2]Eckburg et al.(2005)Science.10:308(5728):1635-8.

[0556] [3]Macpherson et al.(2001)Microbes Infect.3(12):1021-35

[0557] [4]Macpherson et al.(2002)Cell Mol Life Sci.59(12):2088-96.

[0558] [5]Mazmanian et al.(2005)Cell 15;122(1):107-18.

[0559] [6]Frank et al.(2007)PNAS 104(34):13780-5.

[0560] [7]Scanlan et al.(2006)J Clin Microbiol.44(11):3980-8.

[0561] [8]Kang et al.(2010)Inflamm Bowel Dis.16(12):2034-42.

[0562] [9]Machiels et al.(2013)Gut.63(8):1275-83.

[0563] [10]WO 2013/050792

[0564] [11]WO 03/046580

[0565] [12]WO 2013/008039

[0566] [13]WO 2014/167338

[0567] [14]Goldin and Gorbach(2008)Clin Infect Dis.46 Suppl 2:S96-100.

[0568] [15]Azad et al.(2013)BMJ.347:f6471.

[0569] [16]Masco et al.(2003)Systematic and Applied Microbiology.26:557-563.

[0570] [17]Srutková et al.(2011)J.Microbiol.Methods,87(1):10-6.

[0571] [18]Tang.et al.(2017)J Am Hcart Assoc.6(10).

[0572] [19]Wang et al.(2015)PNAS 112(9):2583-2858

[0573] [20]Psaty et al.(2003)JAMA,289(19):2534-44

[0574] [21]Lancct.(1995)346(8991-8992):1647-53

[0575] [22]Abdanipour,Schluesener,Tiraihi,&Noori-Zadeh,2015 Neurol Res,37(3),223-228.doi:10.1179/1743132814Y.0000000438

[0576] [23]Leoni et al.(2005)Mol.Med.,11(1-12):1-15.

[0577] [24]Glauben,et al.(2006)Journal of Immunology.176(8):5015-5022

[0578] [25]Gasche et al 200 Inflammatary Bonel Diseases 6:8-15

[0579] [26]Fahy(2009)Proc Am Thorac Soc 6.256-259

[0580] [27]Reddy et al(2008)J Clin.Invest.;18:2562-73

[0581] [28]Leng et al(2006)Exp.Hematol.34:776-787

[0582] [29]Tao et al(2007)Nat.Med.13:1299-1307

[0583] [30]Johansson and Ekman(2004)Blood 104:5075

[0584] [31]Song et al(2005)APMIS 113:264-268

[0585] [32]Zimmerman et al(2007)Cancer Res 67:9074-54

[0586] [33]Zhang et al(2005)Breast Cancer Res Treat 94:11-16

[0587] [34]Abbas and Gupta(2008)Epigenetics 3:300-309

[0588] [35]Minamiya et al(2011)Lung Cancer 74:300-4

[0589] [36]Jung et al(2012)J Cell Biochem 113:2167-2177

[0590] [37]Quint et al 2011 Virchows Arch 459:129-139

[0591] [38]Cook et al(2014)Hum Mol Genet 23:104-106

[0592] [39]Simoes-Pires et al(2013)Mol Neurodegen 8:7

[0593] [40]Miyamoto-Shinohara et al.(2008)J.Gen.Appl.Microbiol.,54,9-24.

[0594] [41]Cryopreservation and Freezc-Drying Protocots.ed.by Day and McLellan,Humana Press.

[0595] [42]Leslie et al.(1995)Appl.Environ.Microbiol.61.3592-3597.

[0596] [43]Mitropoulou et al.(2013)J Nuir Metab.(20(3)716861.

[0597] [44]Kailasapathy et al.(2002)Curr Issties Intest Microbiol.3(2):39-48.

[0598] [45]Handbook of Pharmaceutical Excipiehts.2nd Edition,(1994).Edited by A Wade and PJ Weller

[0599] 146]Remington's Phannaceutical Sciences,Mack PublishingCo.(A.R.Gennaro edit.1985)

[0600] [47]Handbook of Microbiological Media.Fourth Edition(2010)Ronald Atlas,CRC Press.

[0601] [48]Malnialrting Culiures for Biotechnology and Industry(1996)Jennie C.Hunter-Cevera Acndemic Press

[0602] [49]Strobel(2009)Methods Mol Biol.581:247-61.

[0603] [50]Gennaro(2000)Remington:The Science and Practice of Pharrnacy.20th edition,ISBN:0683306472.

[0604] [51]Molecular Biology Techniques.An Intersive Loboratry Course,(Ream et al.,eds.,1998,Academic Press).

[0605] [52]Methods In Enxymology(S.Colowick and N.Kaplan.eds.,Academic Press、Inc.)

[0606] [53]Handbook of Experimental Immunology.Vols.1-IV(D.M.Weir and C.C.Blackwell,eds,1986,Blackwell Scientific Publications)

[0607] [54]Sambrook et al.(2001)Molecular Cloning:A Laboratory Manuol,3rd edition(Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[0608] [55]Handbook of Surface and Colloidal Chemistry(Birdi.K.S.ed.,CRC Press.1997)

[0609] [56]Ausubel et al.(eds)(2002)Short protocols in motecular biology,5th edition(Current Protocols).

[0610] [57]PCR(Introduction to Biotechniques Series),2nd ed.(Newton&Graham eds.,1997,Springer Verlag)

[0611] [58]Current Prutocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel et al.,eds.,1987)Supplement 30

[0612] [59]Smith&Waterman(1981)Adv,Appl.Math.2:482-489

[0613] [60]West and Johnstone.(2014)J Clin Invest.124.30-39

[0614] [61]Glauben et al(2006)J Immunol.176,5015-5022

[0615] [62]Angiolilli et al.(2017)Ann Rhcum Dis.76,277-285

[0616] [63]Gonneaud et al(2014).J Inflamm.11:43

[0617] [64]Alenghat el al.(2013).Nalure.504:153-157

[0618] [65]Felice et al(2015).Ailment Pharmacol Ther.4):26-38

[0619] [66]Matthewson et al(2016)Nature Immunoloyy15:505-513

[0620] [67]Baas.T(2013)SciBX6:doi:10.1038/scibx.2013.1310

[0621] [68]Johansson and Ekman(2004)Blood 104:5075

[0622] [69]Coquerelle et al.(2009)Gat.58:1363-1373.

[0623] [70]Ardero et al.(2014)Prog Mol Biol Trunsl Sci.122:169-92.

[0624] [71]Philips et al.(1991)Neuron.7:695-702.

[0625] [72]Ng et al.(2019)Int J Mol Scl.20:pii:E257.

[0626] [73]Ferrer et al.(2000)Brain Res.866:257-61.

PCT

（电子版原件）

（该页不是国际申请的一部分，并且也不应视为国际申请的页）

0-1	**表 PCT/RO/134 关于已保藏的微生物或其它生物材料的说明 (PCT 细则 13 之二)**	
0-1-1	准备使用	**PCT 在线提交 版本 3.51.000.263e MT/FOP 20141031/0.20.5.20**
0-2	**国际申请号**	
0-3	**申请人或代理人档案号**	**P073035WO**

[0627]

1	**下面是对说明书中所涉及的已保藏的微生物或其它生物材料进行的说明：**	
1-1	**页数**	**13**
1-2	**行数**	**1**
1-3	**保藏证明**	
1-3-1	保藏单位名称	**NCIMB 国家工业、食品和海洋细菌保藏中心 (NCIMB)**
1-3-2	保藏单位地址	**NCIMB 有限公司，弗格森大厦，克莱伯斯通庄园，巴克斯伯恩，亚伯丁，AB21 9YA，英国**
1-3-3	保藏日期	**2018 年 5 月 3 日 (03.05.2018)**
1-3-4	保藏号	**NCIMB 43042**
1-5	**为哪个指定国而作**	**所有指定国**
2	**下面是对说明书中所涉及的已保藏的微生物或其它生物材料进行的说明：**	
2-1	**页数**	**13**
2-2	**行数**	**7**
2-3	**保藏证明**	
2-3-1	保藏单位名称	**NCIMB 国家工业、食品和海洋细菌保藏中心 (NCIMB)**
2-3-2	保藏单位地址	**NCIMB 有限公司，弗格森大厦，克莱伯斯通庄园，巴克斯伯恩，亚伯丁，AB21 9YA，英国**
2-3-3	保藏日期	**2018 年 8 月 20 日 (20.08.2018)**
2-3-4	保藏号	**NCIMB 43171**
2-5	**为哪个指定国而作**	**所有指定国**

PCT

（电子版原件）

（该页不是国际申请的一部分，并且也不应视为国际申请的页）

由受理局填写

[0628]

0-4	**本表已经和国际申请一起收到：**(是或否)	是的
0-4-1	授权官员	Brell, Eva

由国际局填写

0-5	**国际局收到本表日期：**	
0-5-1	授权官员	

序列表

<110> 4D制药研究有限公司(4D Pharma Research Limited)

<120> 包含细菌菌株的组合物

<130> P073035WO

<140> EP....

<141> 2019-06-25

<150> EP18179641.8

<151> 2018-06-25

<150> GB1814836.1

<151> 2018-09-12

<150> GB1905000.4

<151> 2019-04-09

<160> 2

<170> SeqWin2010, version 1.0

<210> 1

<211> 1398

<212> DNA

<213> Bariatricus massiliensis

<400> 1

agctccctcc tttcggttgg gtcactgact tcgggcgtta ctgactccca tggtgtgacg 60
ggcggtgtgt acaagacccg ggaacgtatt caccgcgaca ttctgattcg cgattactag 120
cgattccagc ttcatgtagt cgagttgcag actacaatcc gaactgagac gttatttttg 180
ggatttgctc cgcctcgcgg cctcgcttcc ctttgtttac gccattgtag cacgtgtgta 240
gccctgatca taaggggcat gatgatttga cgtcatcccc accttcctcc aggttatccc 300
tggcagtctc tctagagtgc ccaccttaaa tgctggctac taaagataag ggttgcgctc 360
gttgcgggac ttaacccaac atctcacgac acgagctgac gacaaccatg caccacctgt 420
ctccagtgcc ccgaagggaa agtacattac atactctgtc accgggatgt caagaccagg 480
taaggttctt cgcgttgctt cgaattaaac cacatgctcc accgcttgtg cgggtccccg 540
tcaattcctt tgagtttcat tcttgcgaac gtactcccca ggtggaatac ttactgcgtt 600
tgctgcggca ccgaatggct ttgccacccg acacctagta ttcatcgttt acggcgtgga 660
ctaccagggt atctaatcct gtttgctccc cacgctttcg agcatcaacg tcagtcatcg 720
tccagtaagc cgccttcgcc actggtgttc ctcccaatat ctacgcattt caccgctaca 780
ctgggaattc cacttacctc tccgacactc tagctgcata gtttccaaag cagtcccggg 840
gttgagcccc gggctttcac tccagactta cacagccgtc tacgctccct ttacacccag 900
taaatccgga taacgcttgc accatacgta ttaccgcggc tgctggcacg tatttagccg 960
gtgcttctta gtcaggtacc gtcattttct tccctgctga tagagcttta cataccgaaa 1020
tacttcttcg ctcacgcggc gtcgctgcat cagggtttcc cccattgtgc aatattcccc 1080
actgctgcct cccgtaggag tttgggccgt gtctcagtcc caatgtggcc ggtcaccctc 1140

tcaggtcggc tactgatcgt cgccttggtg ggccgttacc ccgccaacca gctaatcaga 1200
cgcgggtcca tctcatacca ccggagtttt taccaccgca ccatgcggtg ctgtggtctt 1260
atacggtatt agcagccatt tctaactgtt atccccttgt atgaggcagg ttacccacgc 1320
gttactcacc cgtccgccac tcagtcacga aaaccttcct tccgaagaaa tcgagttcta 1380
agtgcttcgt cgactgca 1398

<210> 2

<211> 1233

<212> DNA

<213> Bariatricus massiliensis

<400> 2

acccgggaac gtattcaccg cgacattctg attcgcgatt actagcgatt ccagcttcat 60
gtagtcgagt tgcagactac aatccgaact gagacgttat ttttgggatt tgctccgcct 120
cgcggcctcg cttccctttg tttacgccat tgtagcacgt gtgtagccct gatcataagg 180
ggcatgatga tttgacgtca tccccacctt cctccaggtt atccctggca gtctctctag 240
agtgcccacc ttaaatgctg gctactaaag ataagggttg cgctcgttgc gggacttaac 300
ccaacatctc acgacacgag ctgacgacaa ccatgcacca cctgtctcca gtgccccgaa 360
gggaaagtac attacatact ctgtcaccgg gatgtcaaga ccaggtaagg ttcttcgcgt 420
tgcttcgaat taaaccacat gctccaccgc ttgtgcgggt ccccgtcaat tcctttgagt 480
ttcattcttg cgaacgtact ccccaggtgg aatacttact gcgtttgctg cggcaccgaa 540
tggctttgcc acccgacacc tagtattcat cgtttacggc gtggactacc agggtatcta 600
atcctgtttg ctccccacgc tttcgagcat caacgtcagt catcgtccag taagccgcct 660
tcgccactgg tgttcctccc aatatctacg catttcaccg ctacactggg aattccactt 720
acctctccga cactctagct gcatagtttc caaagcagtc ccggggttga gccccgggct 780
ttcactccag acttacacag ccgtctacgc tccctttaca cccagtaaat ccggataacg 840
cttgcaccat acgtattacc gcggctgctg gcacgtattt agccggtgct tcttagtcag 900
gtaccgtcat tttcttccct gctgatagag ctttacatac cgaaatactt cttcgctcac 960
gcggcgtcgc tgcatcaggg tttcccccat tgtgcaatat tccccactgc tgcctcccgt 1020
aggagtttgg gccgtgtctc agtcccaatg tggccggtca ccctctcagg tcggctactg 1080
atcgtcgcct tggtgggccg ttaccccgcc aaccagctaa tcagacgcgg gtccatctca 1140
taccaccgga gtttttacca ccgcaccatg cggtgctgtg gtcttatacg gtattagcag 1200
ccatttctaa ctgttatccc cttgtatgag gca 1233

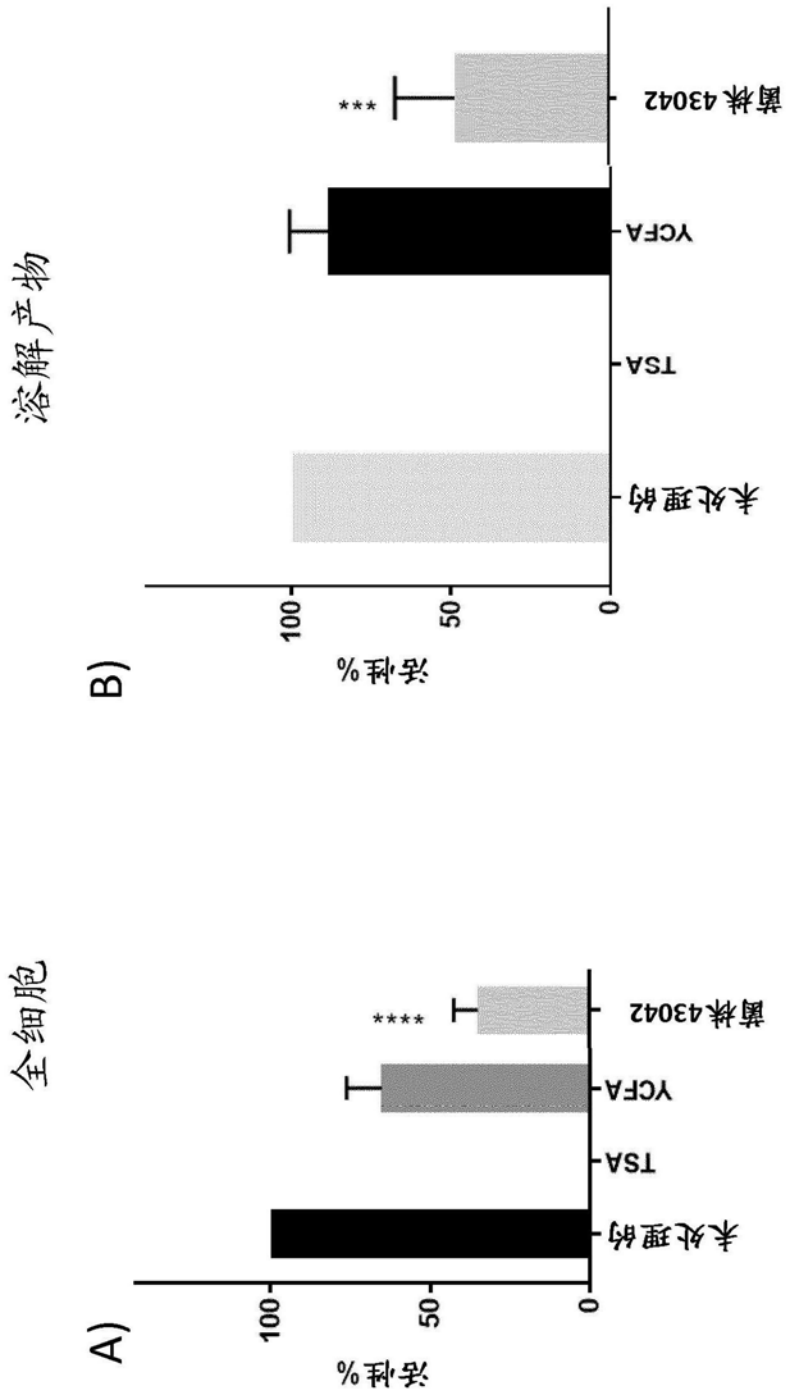

B)
溶解产物
活性%
100
50
0
未处理的
TSA
YCFA
菌株43042
***
A)
全细胞
活性%
100
50
0
未处理的
TSA
YCFA
菌株43042
****

图1

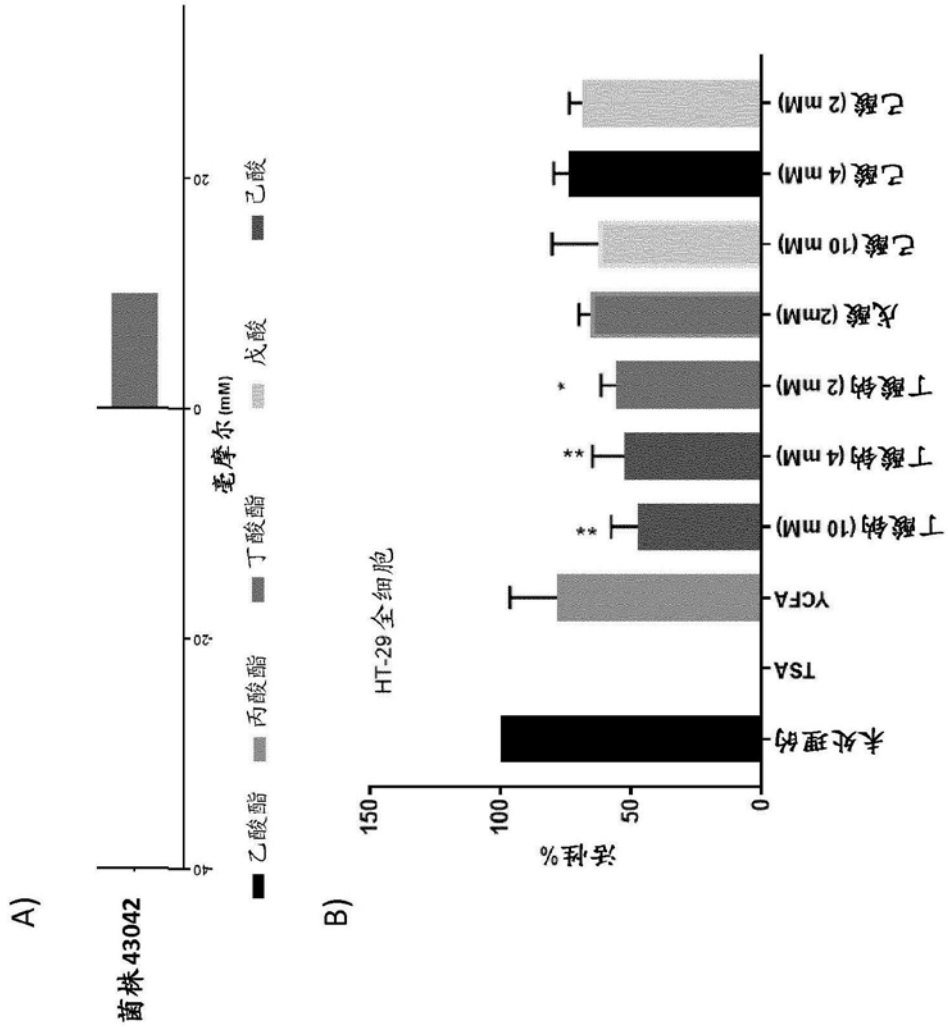

A)
菌株43042
乙酸酯
丙酸酯
丁酸酯
戊酸
己酸
毫摩尔 (mM)
B)
HT-29 全细胞
活性%
未处理的
TSA
YCFA
丁酸钠(10 mM)
丁酸钠(4 mM)
丁酸钠(2 mM)
戊酸(2mM)
己酸(10 mM)
己酸(4 mM)
己酸(2 mM)

图2

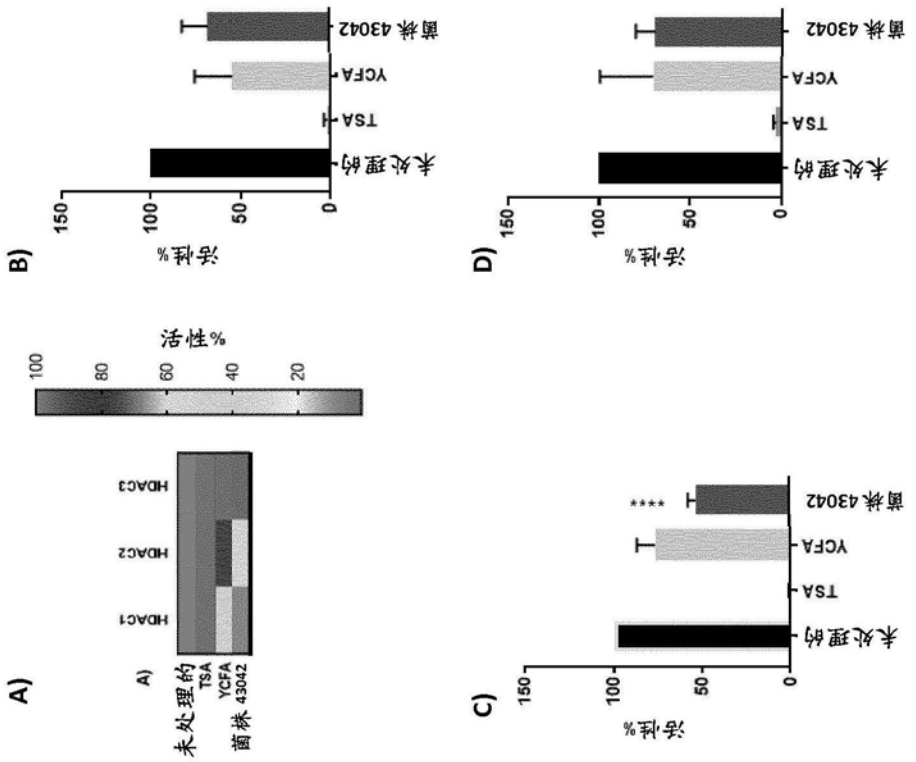

A)
未处理的
TSA
YCFA
菌株 43042
HDAC1
HDAC2
HDAC3
活性%
100
80
60
40
20
B)
活性%
150
100
50
0
未处理的
TSA
YCFA
菌株 43042
C)
活性%
****
D)
活性%

图3

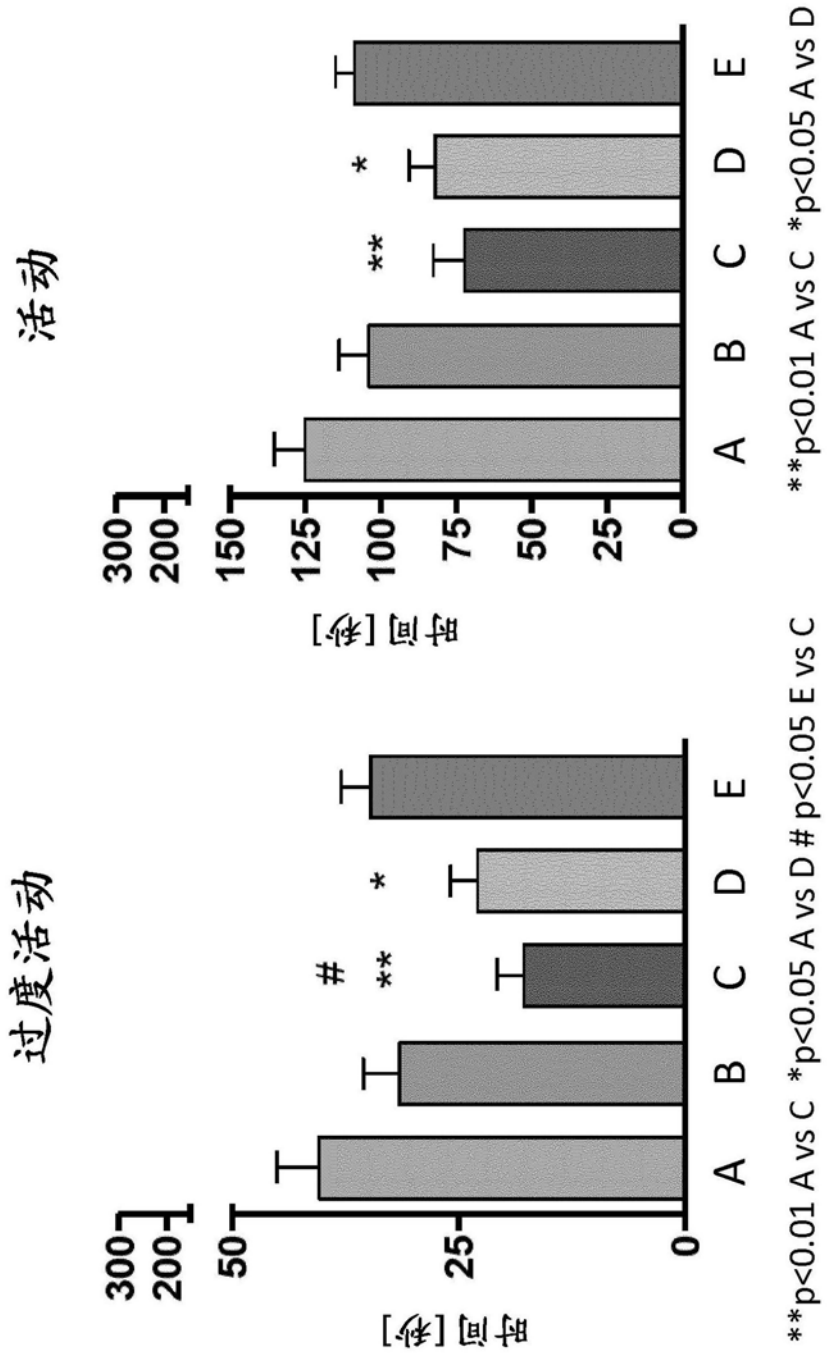

过度活动
时间 [秒]
300
200
50
25
0
A B C D E
** *
**p<0.01 A vs C *p<0.05 A vs D # p<0.05 E vs C
活动
时间 [秒]
300
200
150
125
100
75
50
25
0
A B C D E
** *
**p<0.01 A vs C *p<0.05 A vs D

图4

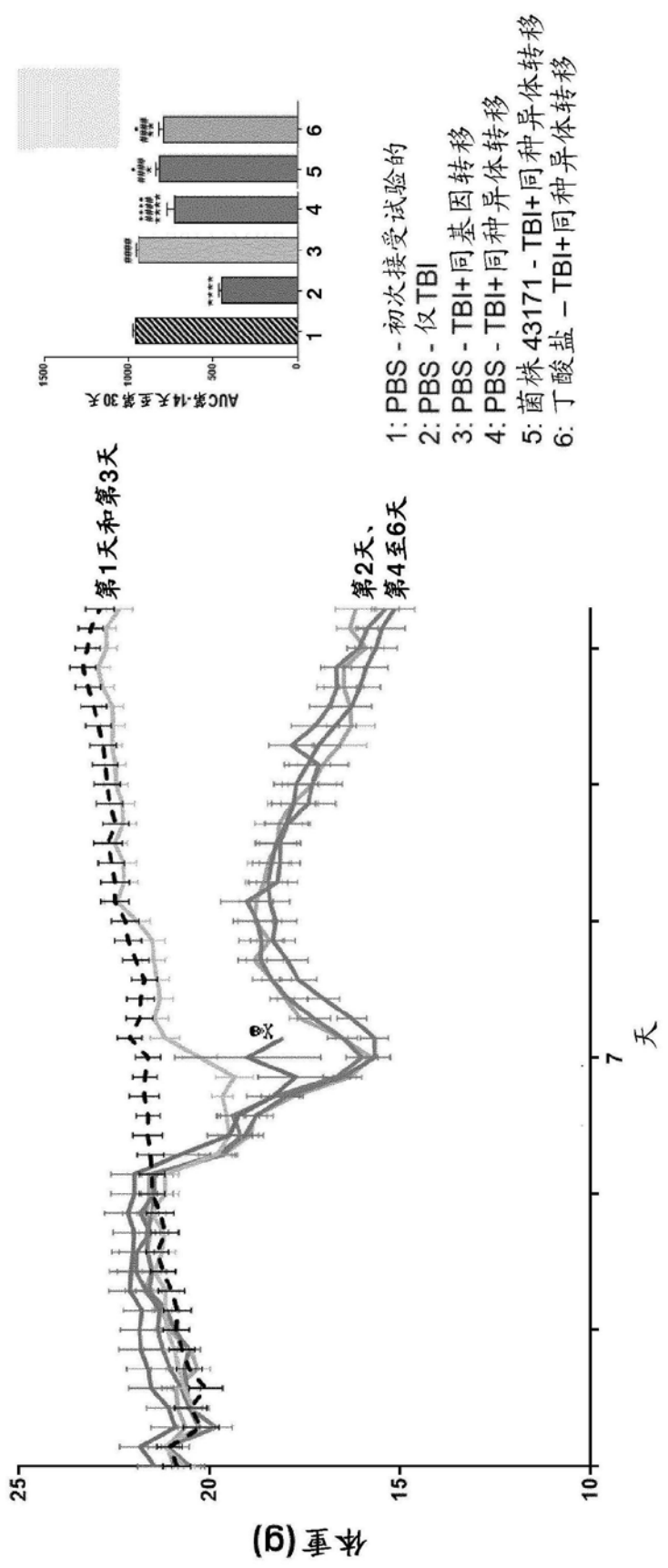

1: PBS - 初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株 43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移
第1天和第3天
第2天、
第4至6天
体重(g)
天

图5

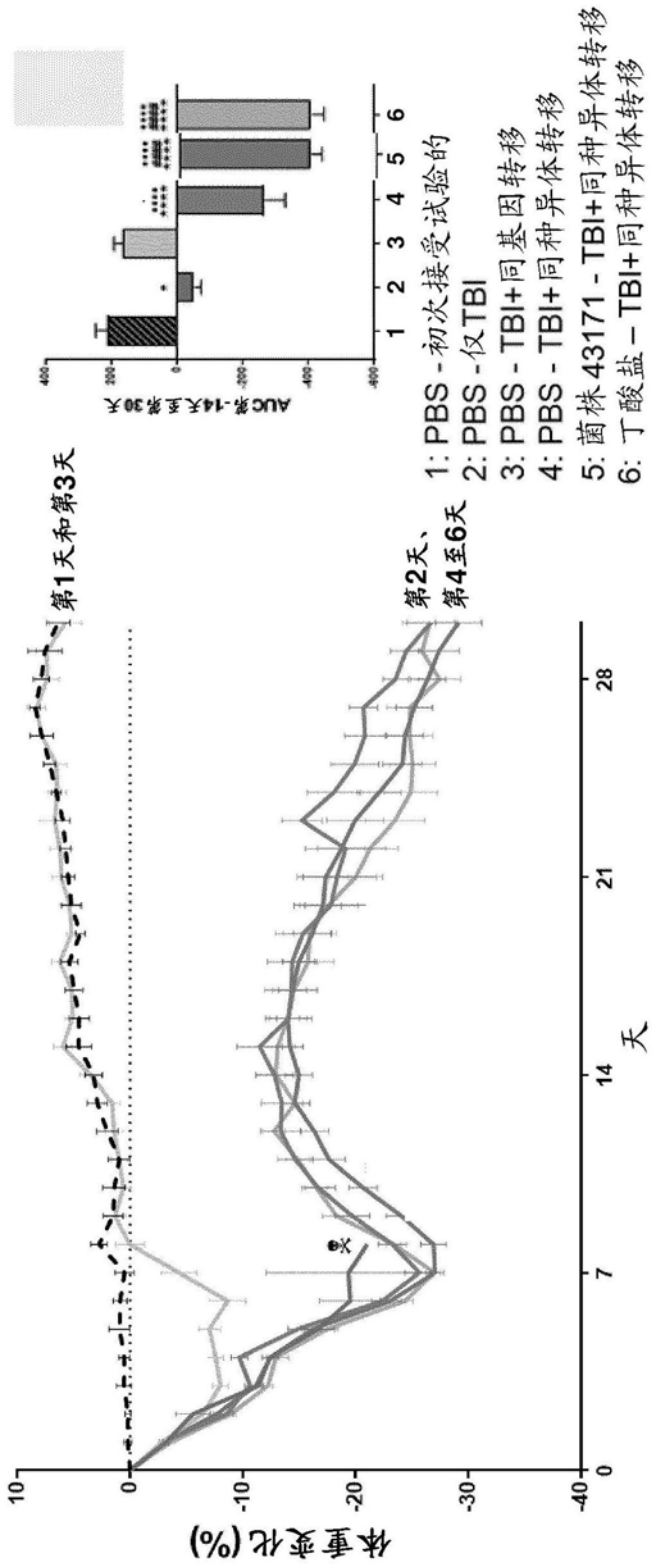

体重变化(%)
10
0
-10
-20
-30
-40
0
7
14
21
28
天
第1天和第3天
第2天、
第4至6天
1: PBS - 初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移
1 2 3 4 5 6

图6

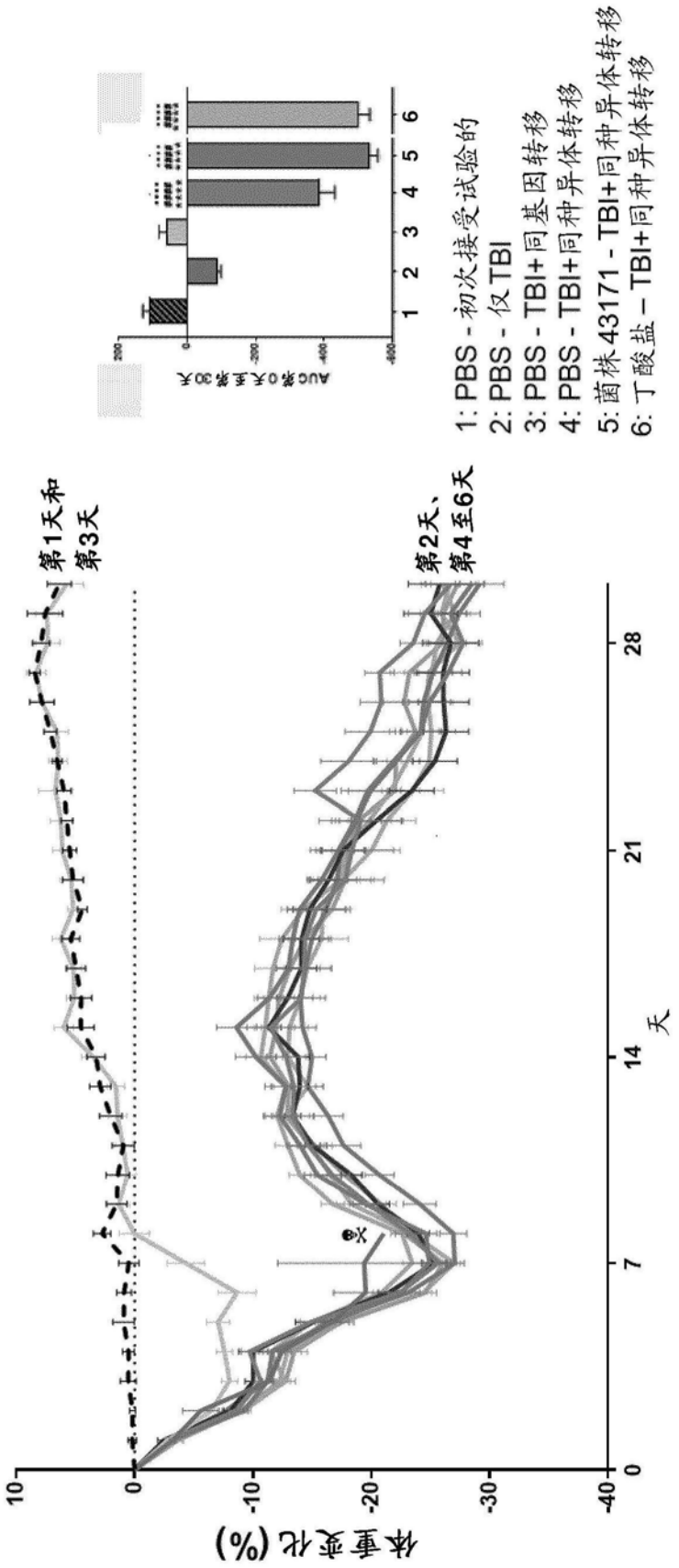

1: PBS - 初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移
第1天和
第3天
第2天、
第4至6天
体重变化 (%)
天

图7

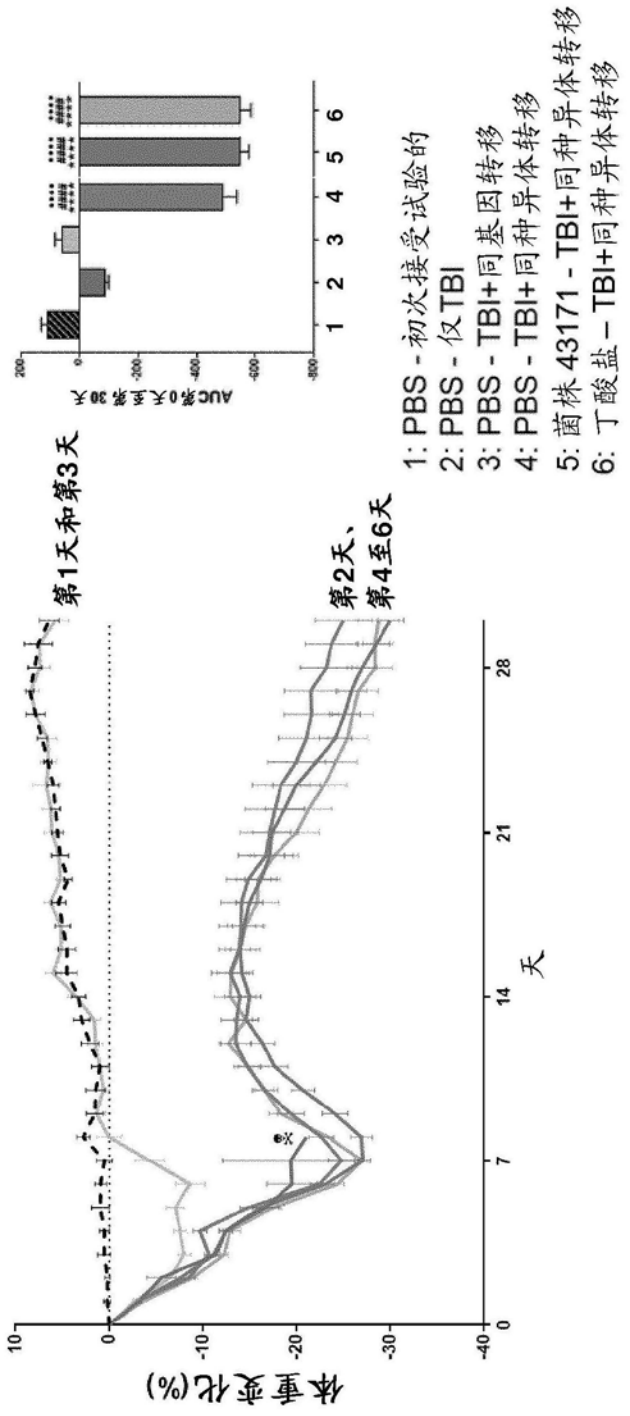

体重变化(%)
天
第1天和第3天
第2天、
第4至6天
1: PBS - 初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株 43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移

图8

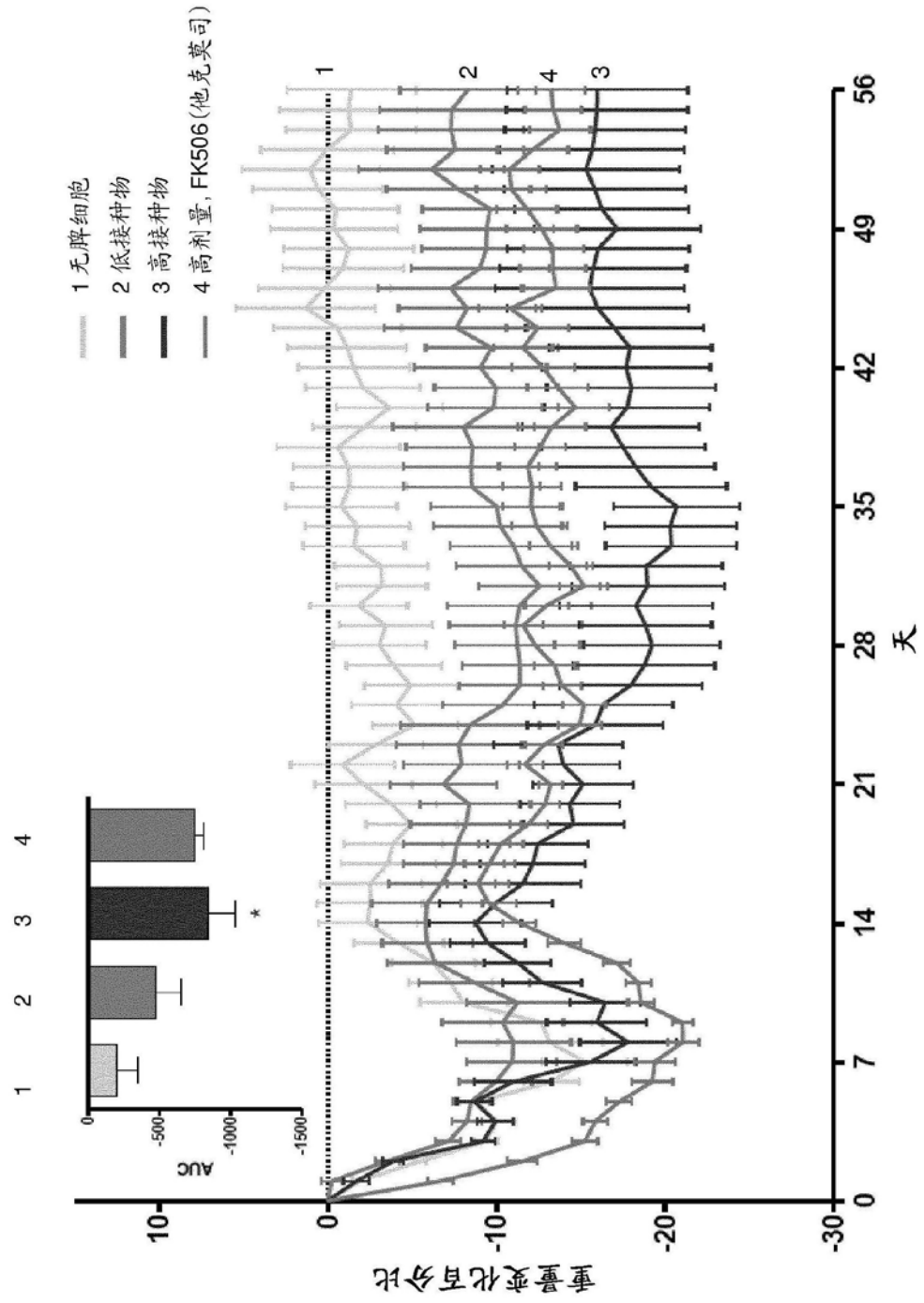


图9

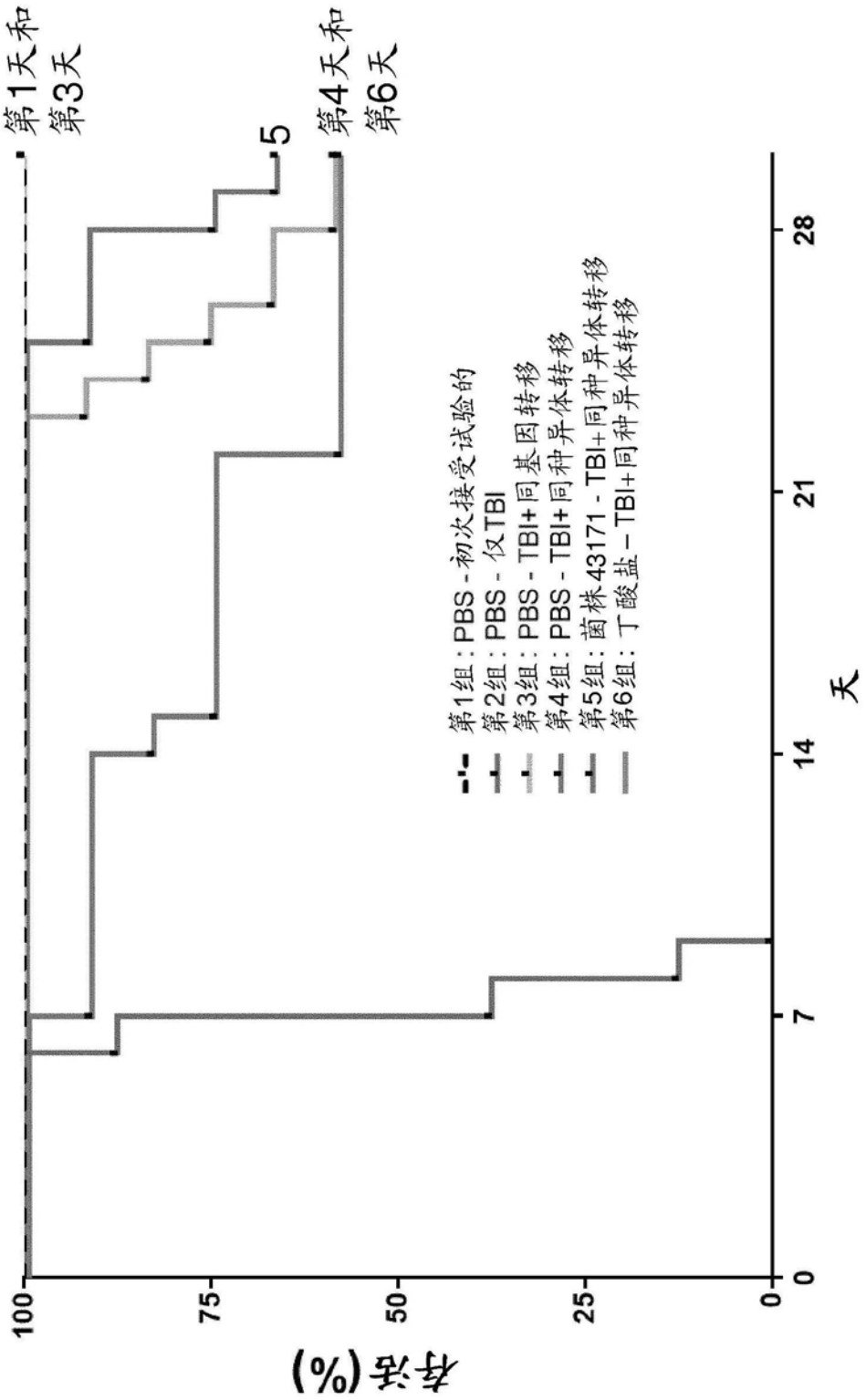

第1天和
第3天
5
第4天和
第6天
第1组：PBS -初次接受试验的
第2组：PBS - 仅TBI
第3组：PBS - TBI+同基因转移
第4组：PBS - TBI+同种异体转移
第5组：菌株43171 - TBI+同种异体转移
第6组：丁酸盐 – TBI+同种异体转移
存活(%)
100
75
50
25
0
0
7
14
21
28
天

图10

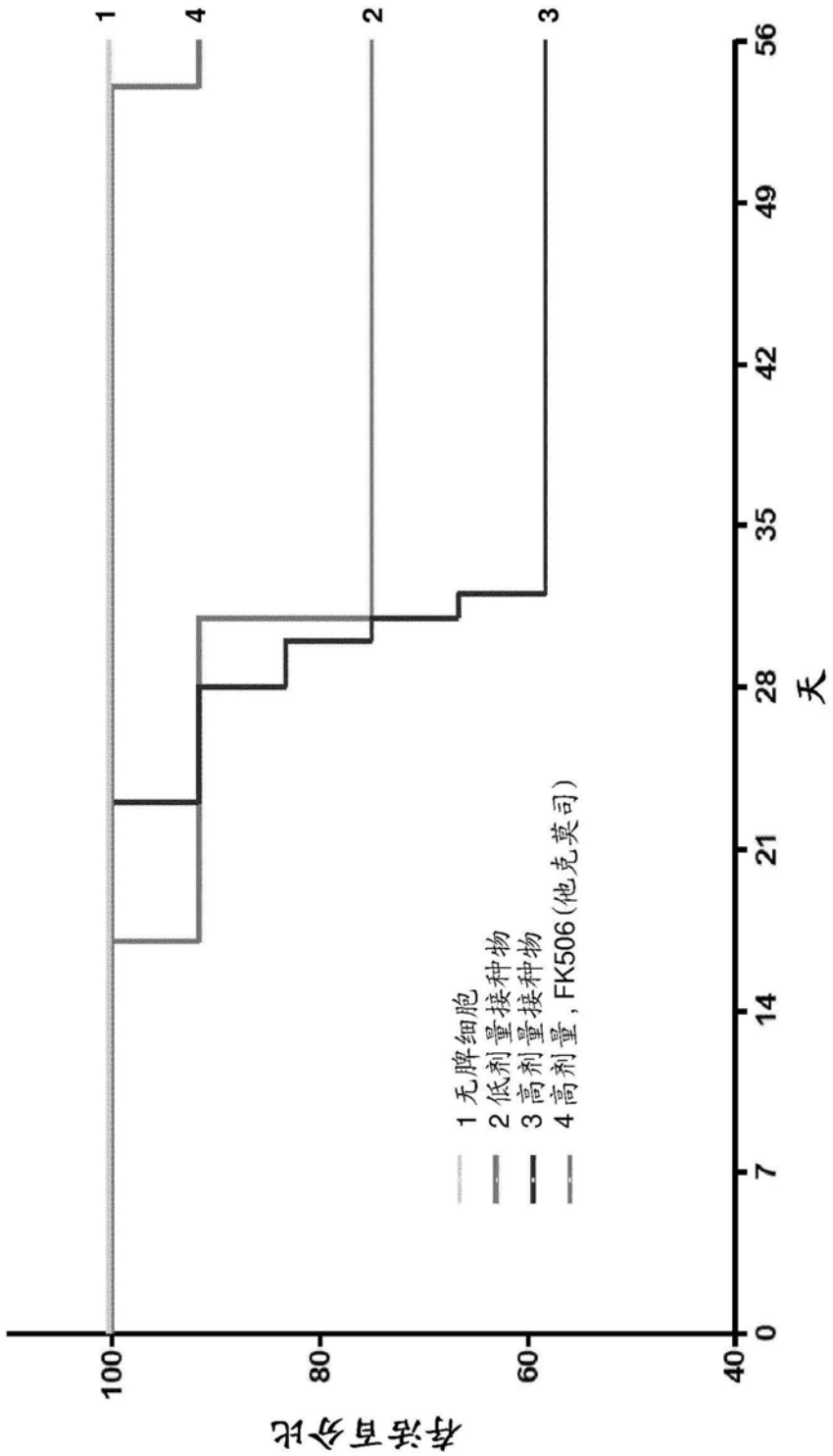

存活百分比
100
80
60
40
0
7
14
21
28
35
42
49
56
天
1 无脾细胞
2 低剂量接种物
3 高剂量接种物
4 高剂量，FK506(他克莫司)
1
4
2
3

图11

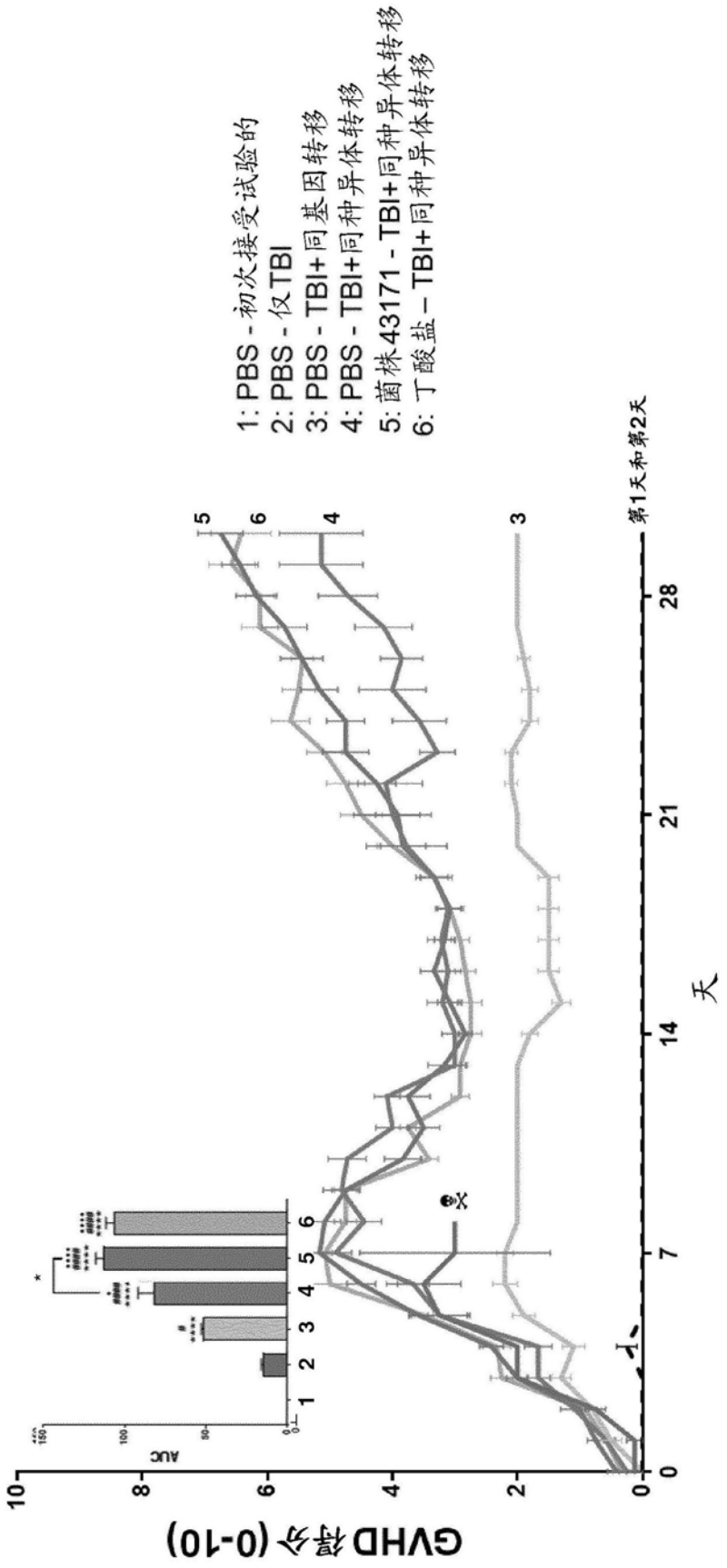

1: PBS - 初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移
GVHD得分(0-10)
天
第1天和第2天
AUC

图12

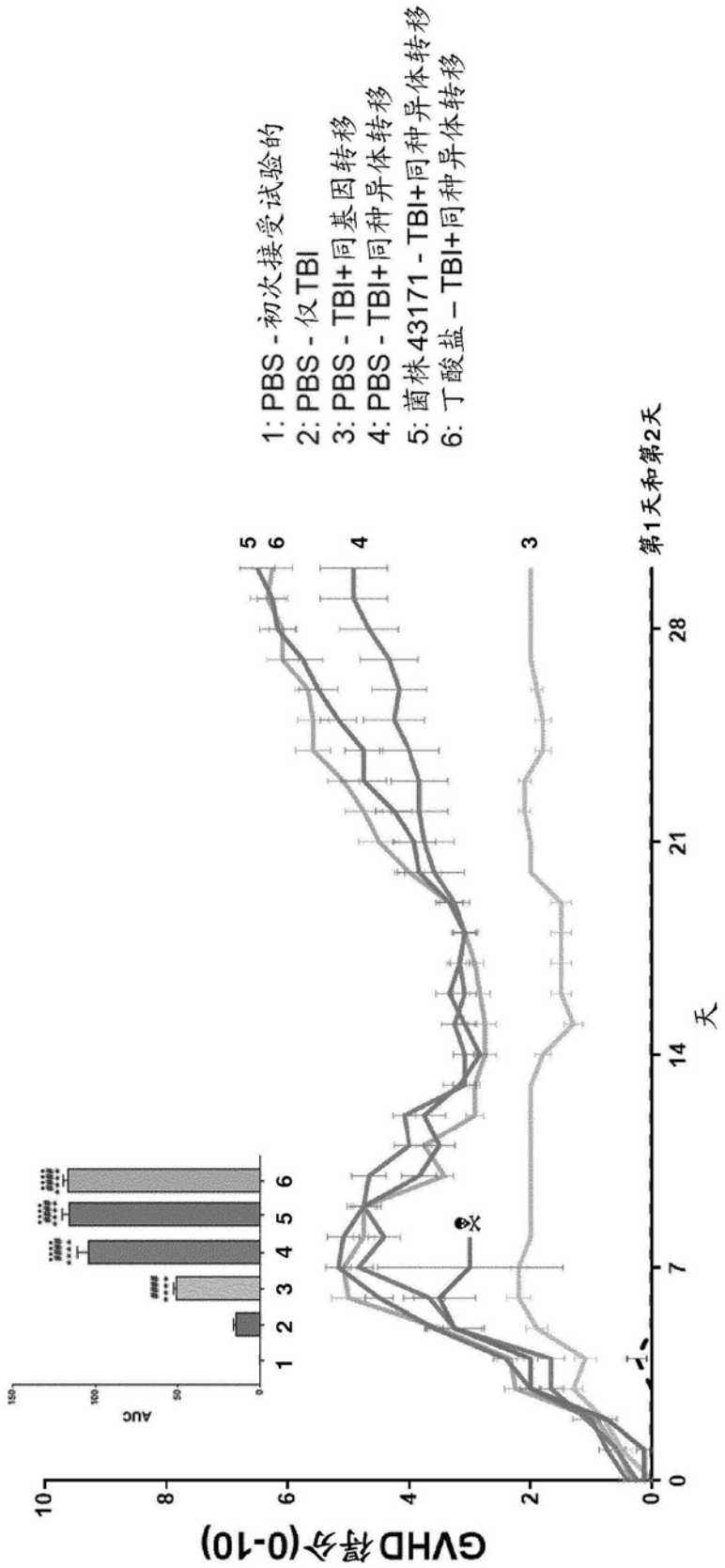

1: PBS -初次接受试验的
2: PBS - 仅TBI
3: PBS - TBI+同基因转移
4: PBS - TBI+同种异体转移
5: 菌株43171 - TBI+同种异体转移
6: 丁酸盐 – TBI+同种异体转移
GVHD得分(0-10)
天
第1天和第2天
AUC

图13

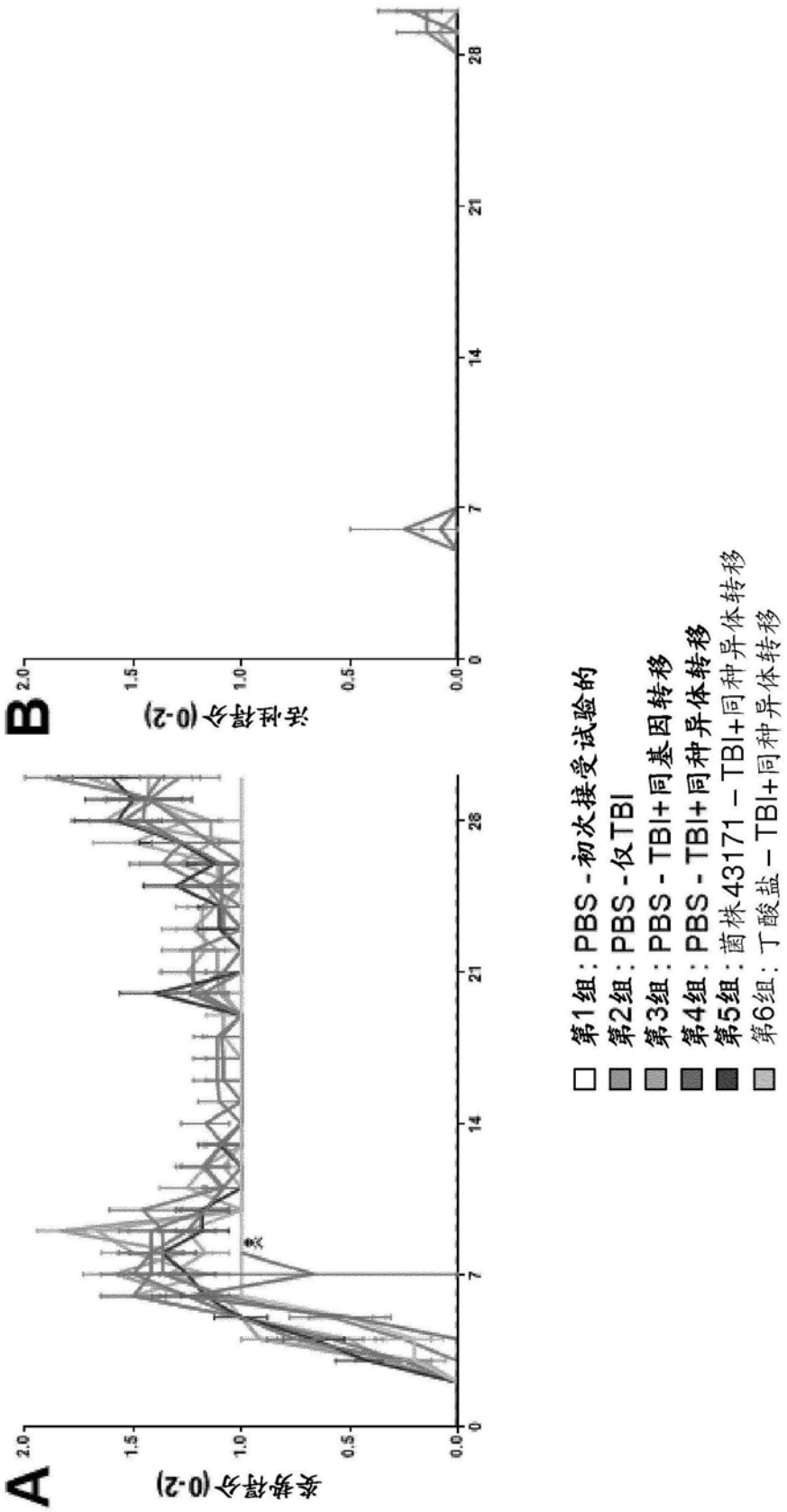

A
B
疾病得分(0-2)
活性得分(0-2)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
0
7
14
21
28
*
第1组：PBS -初次接受试验的
第2组：PBS -仅TBI
第3组：PBS - TBI+同基因转移
第4组：PBS - TBI+同种异体转移
第5组：菌株43171 – TBI+同种异体转移
第6组：丁酸盐 – TBI+同种异体转移

图14

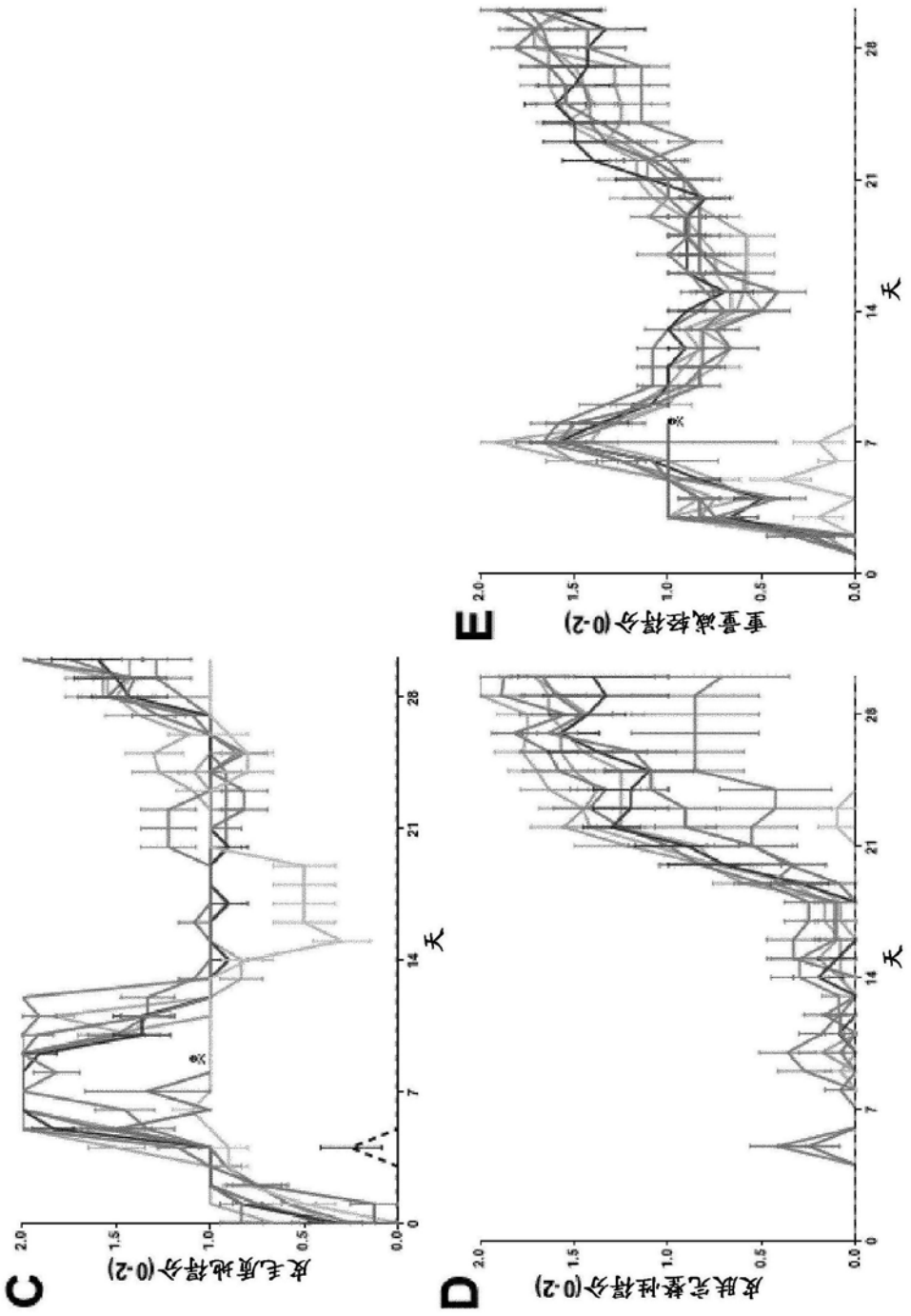


图14续

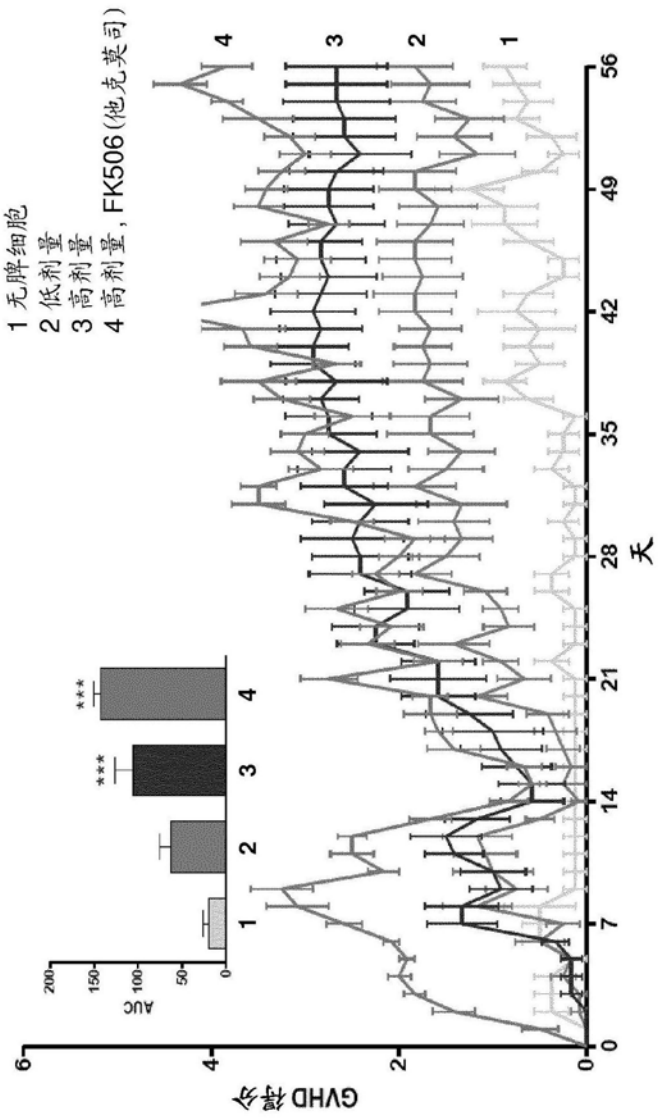


图15

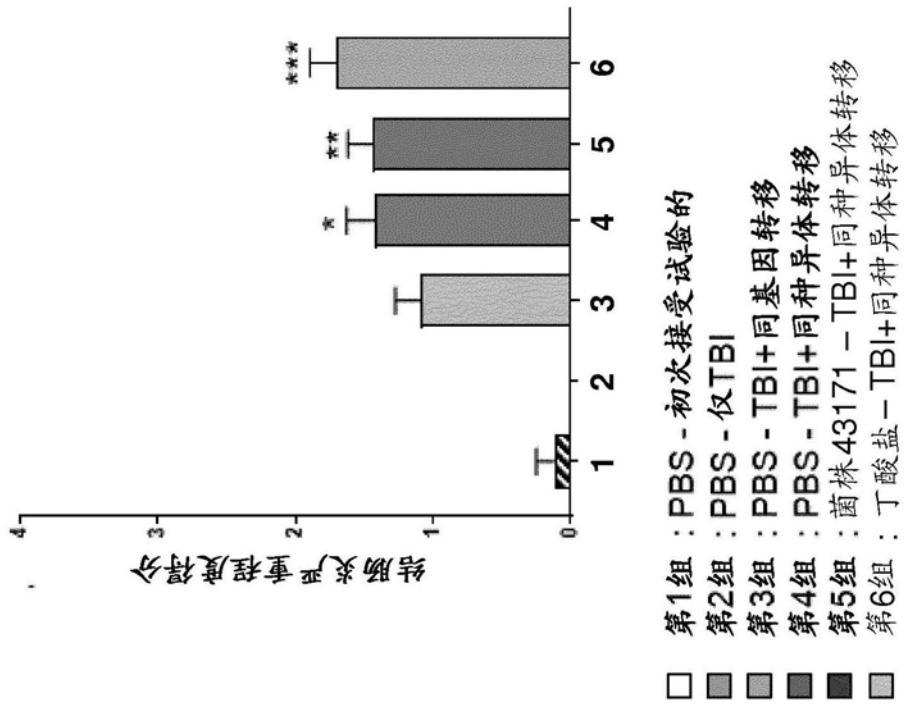

外周炎症重症度得分
0
1
2
3
4
1
2
3
4
5
6
*
**
***
第1组 ：PBS - 初次接受试验的
第2组 ：PBS - 仅TBI
第3组 ：PBS - TBI+同基因转移
第4组 ：PBS - TBI+同种异体转移
第5组 ：菌株43171 – TBI+同种异体转移
第6组 ：丁酸盐 – TBI+同种异体转移

图16

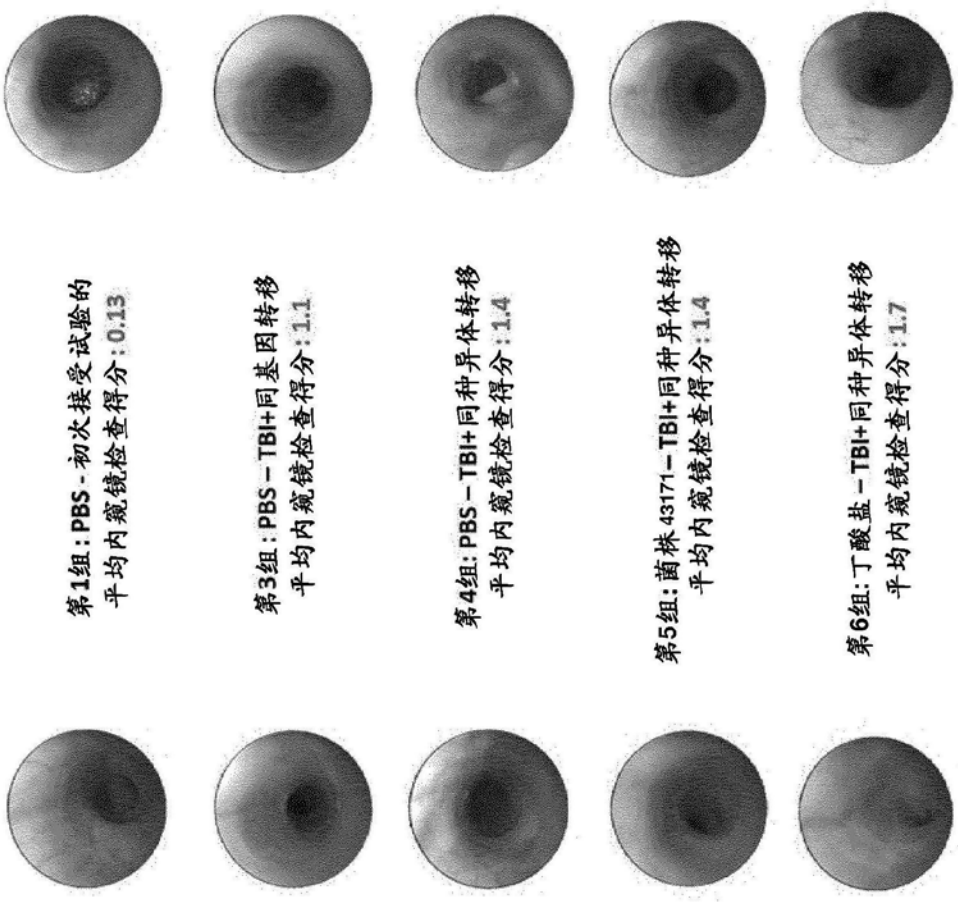

第1组：PBS - 初次接受试验的
平均内窥镜检查得分：0.13
第3组：PBS – TBI+同基因转移
平均内窥镜检查得分：1.1
第4组：PBS – TBI+同种异体转移
平均内窥镜检查得分：1.4
第5组：菌株 43171 – TBI+同种异体转移
平均内窥镜检查得分：1.4
第6组：丁酸盐 – TBI+同种异体转移
平均内窥镜检查得分：1.7

图17

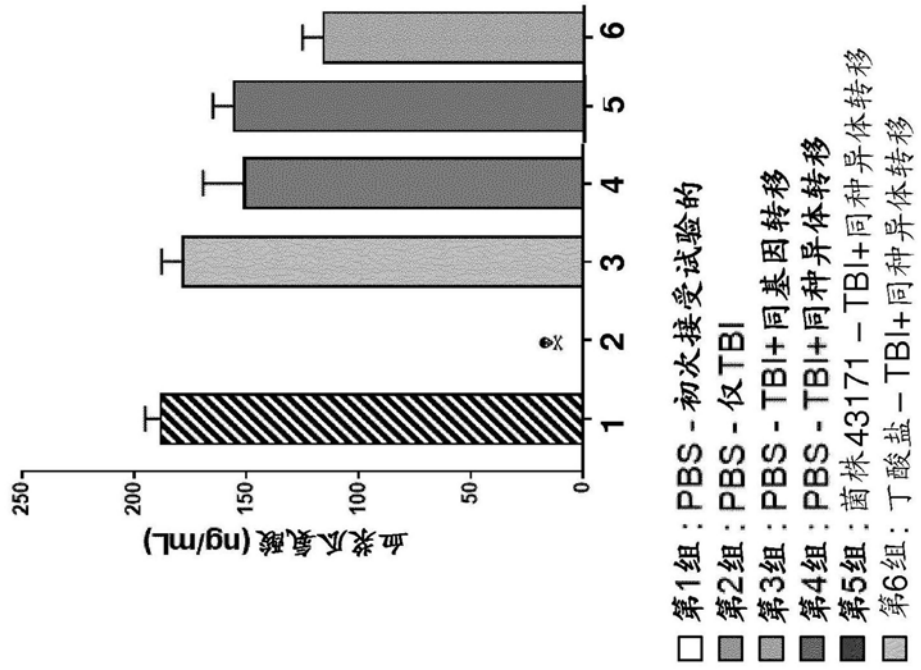

250
200
150
100
50
0
1
2
3
4
5
6
□ 第1组：PBS - 初次接受试验的
□ 第2组：PBS - 仅TBI
□ 第3组：PBS - TBI+同基因转移
□ 第4组：PBS - TBI+同种异体转移
■ 第5组：菌株43171 – TBI+同种异体转移
□ 第6组：丁酸盐 – TBI+同种异体转移

图18

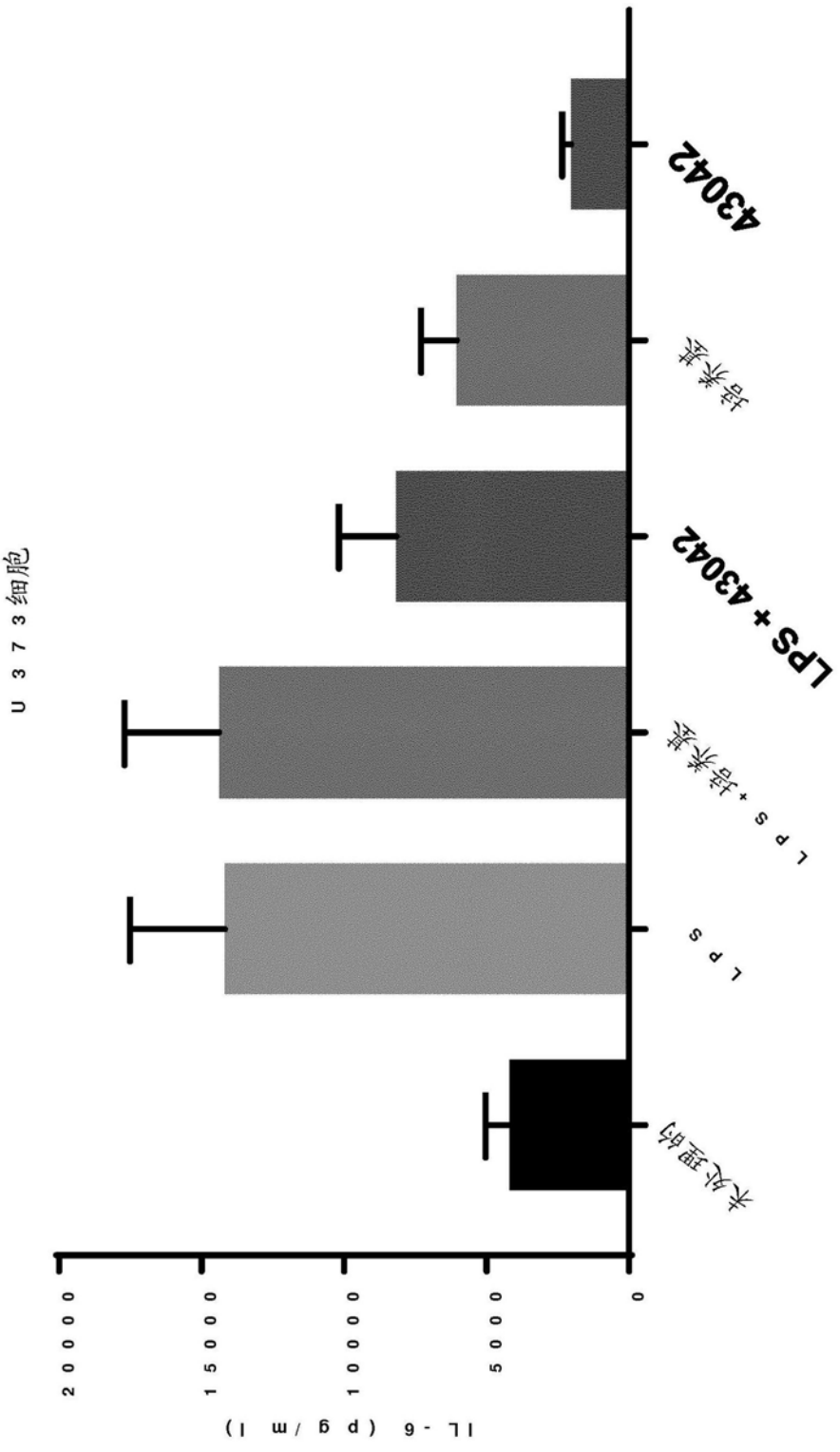

U373细胞
IL-6 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
未处理的
LPS
LPS+游泳者
游泳者
LPS+43042
43042

图19

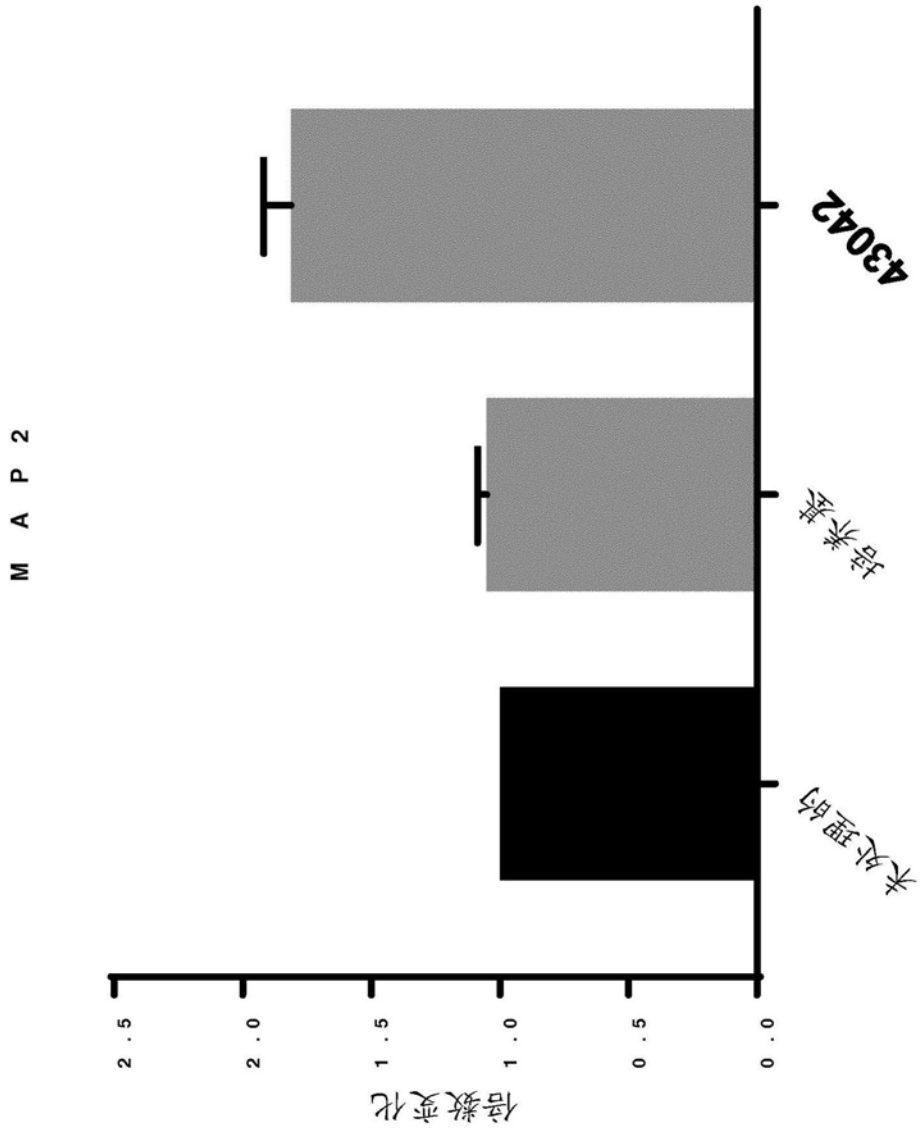


图20

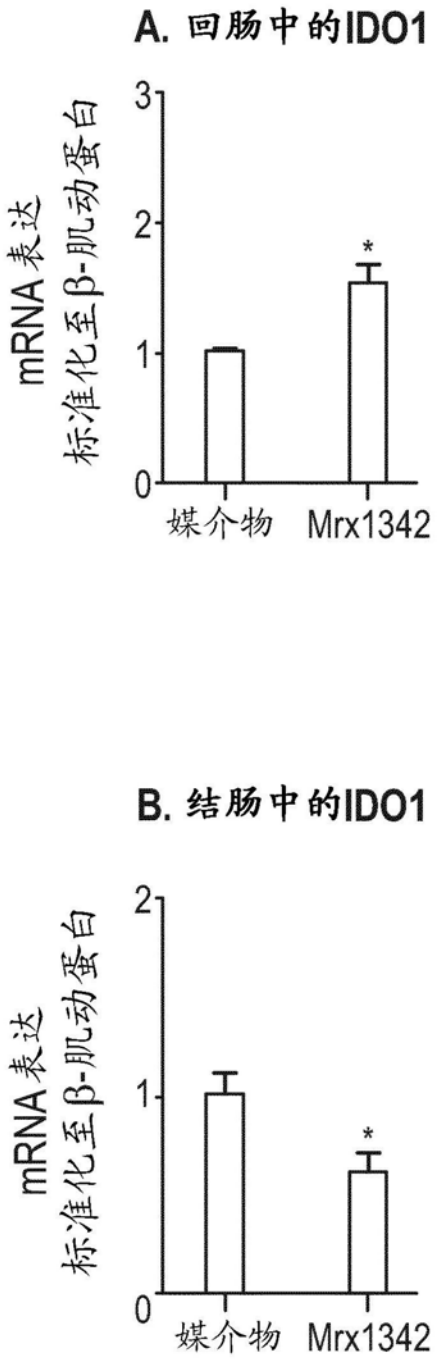

A. 回肠中的IDO1
mRNA表达
标准化至β-肌动蛋白
3
2
1
0
*
媒介物
Mrx1342
B. 结肠中的IDO1
mRNA表达
标准化至β-肌动蛋白
2
1
0
*
媒介物
Mrx1342

图21

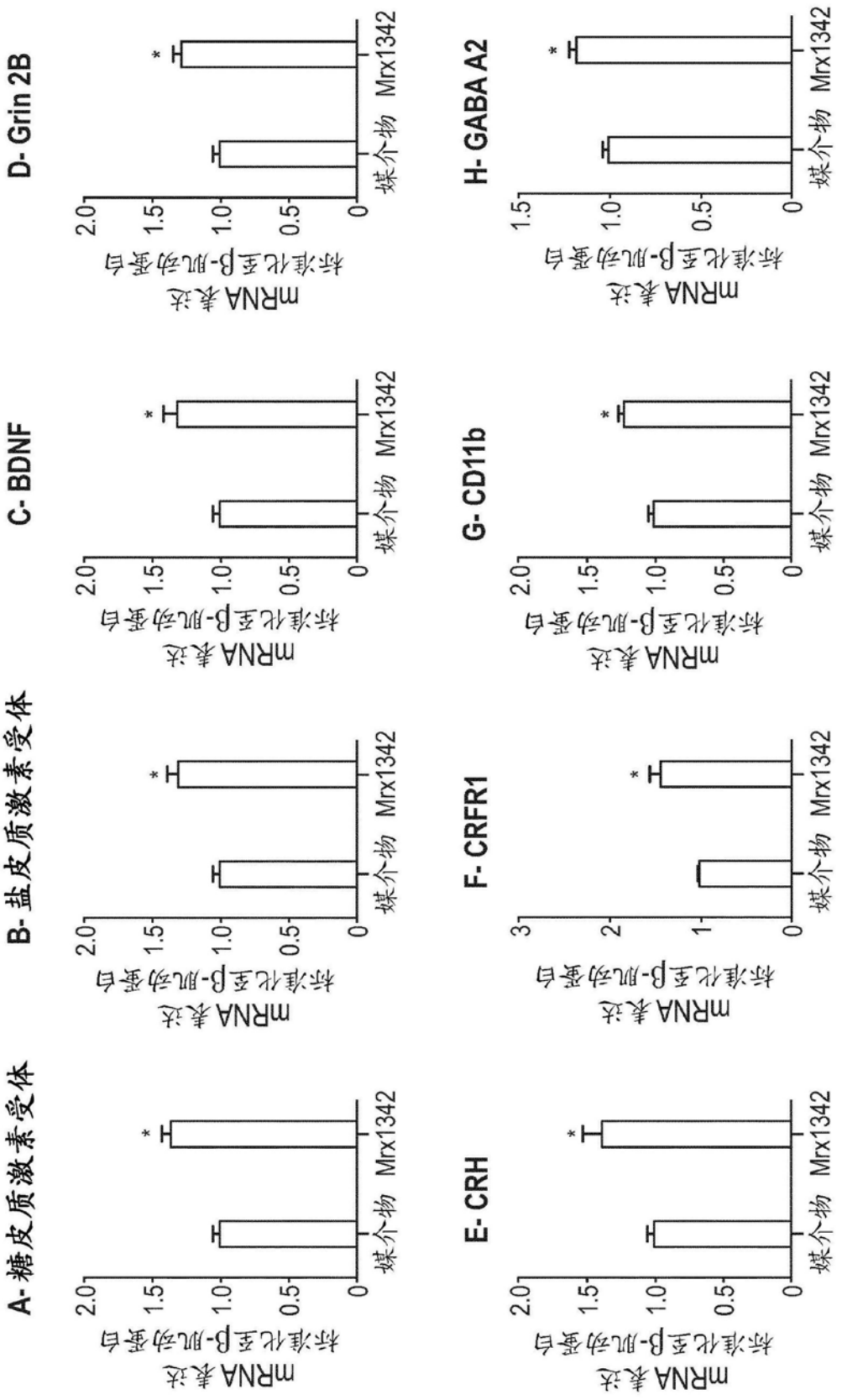

A- 糖皮质激素受体
B- 盐皮质激素受体
C- BDNF
D- Grin 2B
E- CRH
F- CRFR1
G- CD11b
H- GABA A2
mRNA 表达
标准化至β-肌动蛋白
媒介物
Mrx1342
*

图22

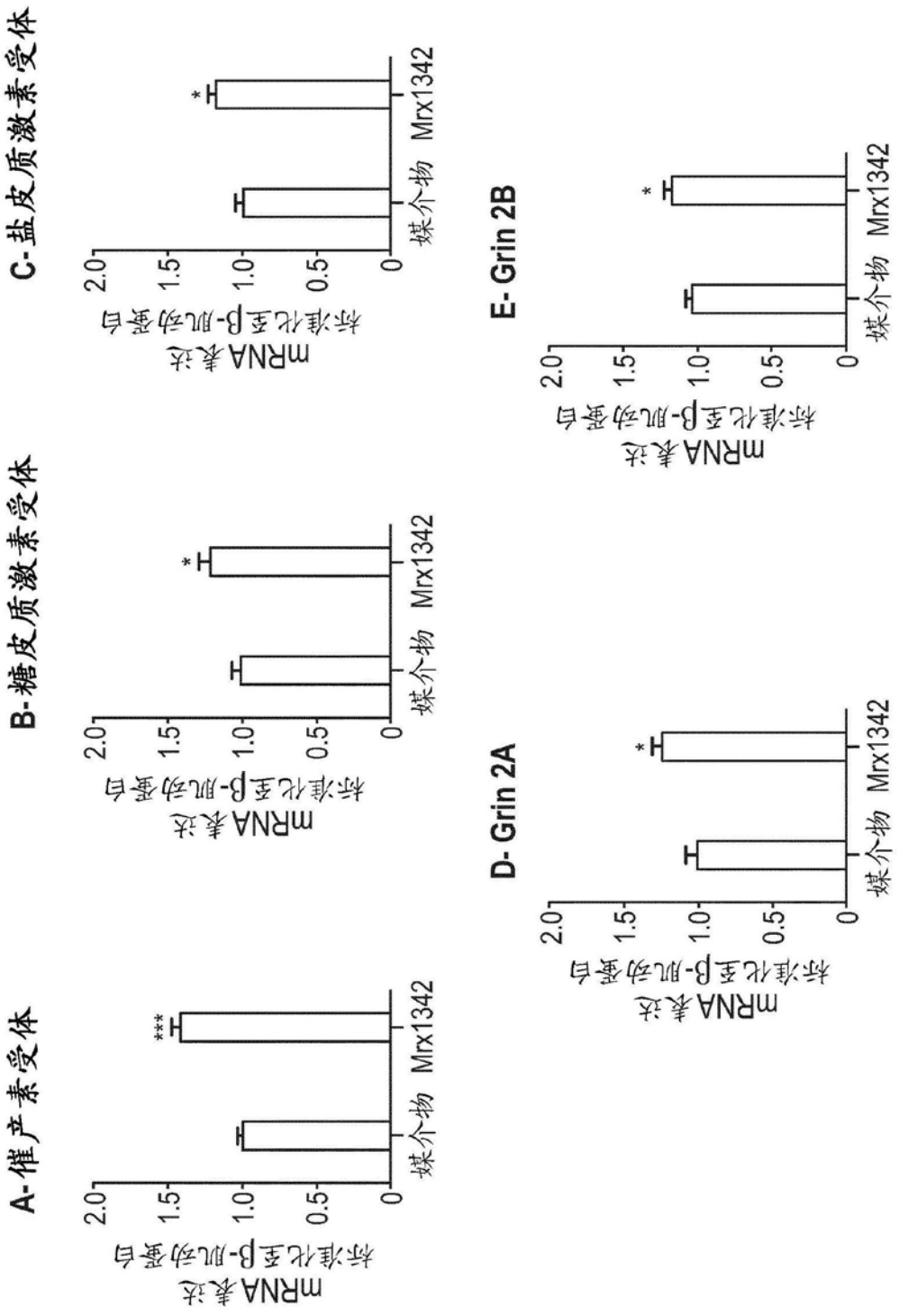

A-催产素受体
B-糖皮质激素受体
C-盐皮质激素受体
D- Grin 2A
E- Grin 2B
mRNA表达
标准化至β-肌动蛋白
2.0
1.5
1.0
0.5
0
媒介物
Mrx1342
***
*

图23

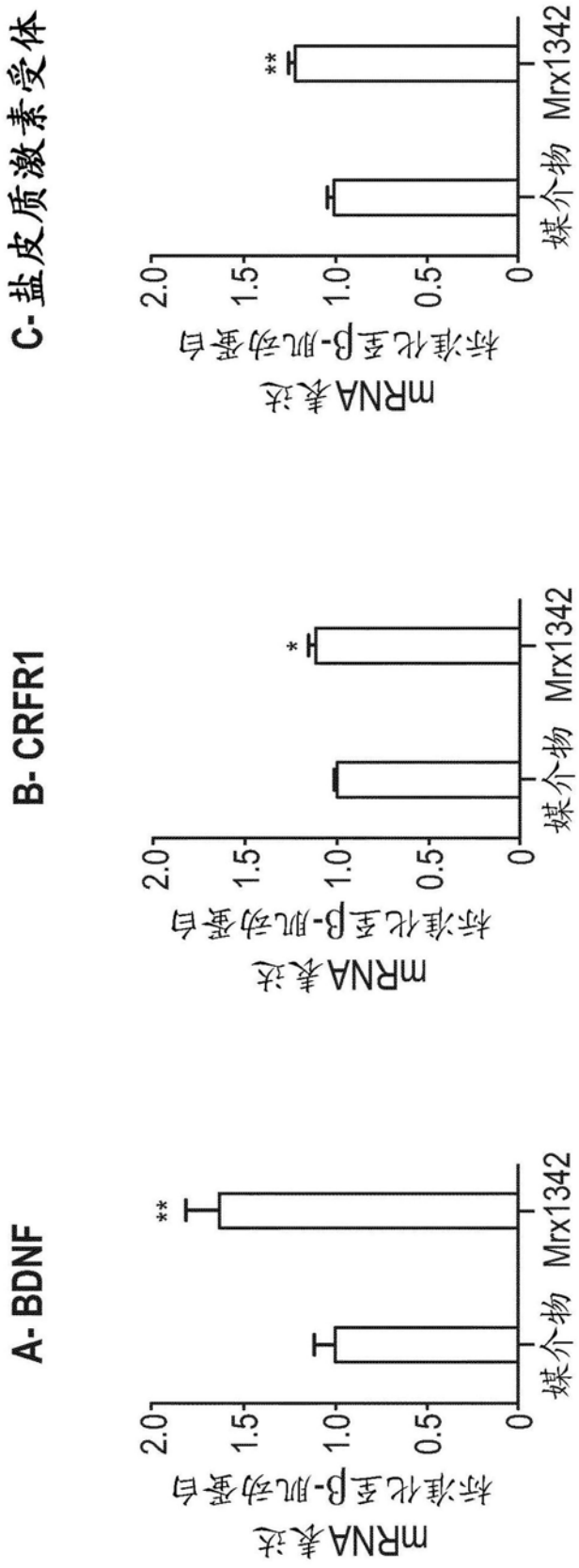

A- BDNF
B- CRFR1
C- 盐皮质激素受体
mRNA表达
标准化至β-肌动蛋白
2.0
1.5
1.0
0.5
0
媒介物
Mrx1342
**
*
**

图24